AUTOREFERAT

z opisem osiągnięć naukowych związanych z postępowaniem habilitacyjnym

dr Mariola Kozłowska

Wydział Nauk o Żywności
Katedra Chemii
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2019

Spis treści

1. Imię i Nazwisko ... 3
2. Posiadane dyplomy, tytuły i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej ... 3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych ... 3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) ... 4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego ... 4
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego ... 4
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania ... 6
4.3.1. Wstęp ... 6
4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników ... 9
4.3.3. Ocena wpływu sposobu ekstrakcji tłuszczu z surowca roślinnego na jego aktywność przeciwutleniającą ... 9
4.3.4. Ocena wpływu ekstraktów roślinnych na jakość produktu finalnego, tj. wyrobu ciastkarskiego ... 13
4.3.5. Ocena wpływu etanolowo-wodnych ekstraktów roślinnych na stabilność olejów z użyciem DSC i EPR ... 17
4.3.6. Podsumowanie ... 23
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych ... 25
5.1. Synteza i badanie właściwości biologicznych wybranych fluorowcopochodnych benzimidazolu i puryny ... 26
5.2. Surowce zielarskie jako źródło związków biologicznie aktywnych ... 31
5.3. Stabilność oksydacyjna tłuszczów naturalnych i po modyfikacji enzymatycznej ... 36
5.4. Związki niepożądane w żywności ... 41
6. Podsumowanie pracy naukowo-badawczej ... 42
7. Inne osiągnięcia związane z aktywnością naukową, dydaktyczną i organizacyjną ... 45
7.1. Działalność naukowa ... 45
7.2. Działalność dydaktyczna ... 47
7.3. Działalność organizacyjna ... 49

1. **Imię i Nazwisko**

   Mariola Kozłowska (Andrzejewska)

2. **Posiadane dyplomy, tytuły i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

   24.11.2004 **Dr nauk farmaceutycznych**, Akademia Medyczna w Warszawie (obecnie Warszawski Uniwersytet Medyczny), Wydział Farmaceutyczny.
   Praca doktorska pt. „Synteza i badanie właściwości biologicznych i fizykochemicznych wybranych fluorowcopochodnych benzimidazolu i puryny" pod kierunkiem Prof. dr hab. Zygmunta Kazimierczuka

   19.06.1998 **Magister chemii**, Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii.
   Praca magisterska pt. Synteza podstawionych pochodnych trifluoroacetofenonu – jonoforów do oznaczania CO_2 w płynach ustrojowych pod kierunkiem dr hab. Józefa Mieczkowskiego

   16.06.1992 **Technik analityki medycznej**, Medyczne Studium Zawodowe, Wydział Analityki Medycznej w Mińsku Mazowieckim

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

   30.12.2006 – obecnie **adiunkt**, Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

   01.10.2002 – 29.12.2006 **asystent**, Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności), Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

   01.10.2002 – 30.09.2004 **asystent** (urlop bezpłatny w związku z rozpoczęciem dziennych studiów doktoranckich), Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

   01.10.2000 – 30.09.2004 **doktorant**, dzienne studia doktoranckie, Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Naturalne przeciwutleniacze jako związki stabilizujące wybrane oleje roślinne"

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

H1. Krzyczkowska J., **Kozłowska M.**, **2017**. Effect of oils extracted from plant seeds on the growth and lipolytic activity of *Yarrowia lipolytica* yeast. Journal of the American Oil Chemists Society, 949(5), 661-671. DOI: 10.1007/s11746-017-2975-1

IF_{2017} = 1,601, $MNiSW_{2017}$ = 30 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, współudziale w planowaniu doświadczeń i opracowaniu metodyki badań, otrzymaniu i przygotowaniu materiału do badań, wykonaniu doświadczeń związanych z częścią chemiczną, opracowaniu otrzymanych wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 60 %.

H2. **Kozłowska M.**, Gruczyńska E., Ścibisz I., Rudzińska M., **2016**. Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. Food Chemistry, 213, 450-456. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.06.102

IF_{2016} = 4,529, $MNiSW_{2016}$ = 40 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 40 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, współudziale w planowaniu doświadczeń, otrzymaniu i przygotowaniu materiału do badań, współudziale w wykonaniu badań związanych z częścią chemiczną oraz w analizie i interpretacji wyników badań, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 70%.

H3. **Kozłowska M.,** Żbikowska A., Gruczyńska E., Żontała K., Półtorak A., **2014**. Effects of spice extracts on lipid fraction oxidative stability of cookies investigated by DSC. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 118(3), 1697-1705. DOI: 10.1007/s10973-014-4058-y

IF_{2014} = 2,042, $MNiSW_{2014}$ = 25 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 25 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy i zaplanowaniu badań, współudziale w przygotowaniu materiału do badań i uzyskaniu produktów wyjściowych oraz wykonaniu badań, a także ich analizie statystycznej i interpretacji wyników badań, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 70%.

H4. Kozłowska M., Żbikowska A., **2013**. Wpływ dodatku ekstraktów z przypraw na jakość i trwałość krakersów. Żywność-Nauka Technologia Jakość, 6(91), 79-90.

IF_{2013} = 0,311, $MNiSW_{2013}$ = 15 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 15 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współopracowaniu koncepcji pracy i zaplanowaniu badań, współudziale w przygotowaniu materiału do badań i uzyskaniu produktów wyjściowych oraz wykonaniu badań, a także interpretacji otrzymanych wyników badań, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 60%.

H5. Kozlowska M., Kowalska D., Gruczynska E., Kowalski B., **2013**. Effect of ethanolic extracts from marjoram, thyme and oregano on thermooxidative degradation of rapeseed oil. Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, 90(1), 43-48.

IF_{2013} = 0,396, $MNiSW_{2013}$ = 15 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 15 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wiodącym udziale w planowaniu doświadczeń, przygotowaniu próbek do badań, wykonaniu zaplanowanych wszystkich badań, współudziale w analizie i interpretacji wyników badań, sformułowaniu wniosków, współudziale w przygotowaniu manuskryptu i wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

H6. Kozłowska M., Gruczyńska E., **2018**. Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. Chemical Papers, 72(10), 2607-2615 DOI: 10.1007/s11696-018-0516-55

$IF_{2017\ (na\ rok\ 2018\ nie\ został\ obliczony)}$ = 0,963, $MNiSW_{2017}$ = 20 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy i zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu badań i ich przeanalizowaniu, współudziale w interpretacji wyników badań, graficznym i tabelarycznym przedstawieniu wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 95%.

H7. Kozłowska M., Szterk A., Zawada K., Ząbkowski T., **2012**. New opportunities of the application of natural herb and spice extracts in plant oils: application of electron paramagnetic resonance in examining the oxidative stability. Journal of Food Science, 77 (9), C994-C999. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02856.x

IF_{2012} = 1,775, $MNiSW_{2012}$ = 35 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 30 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziale w planowaniu doświadczeń, wiodącym udziale w wykonaniu badań, współudziale w analizie i interpretacji wyników badań, graficznym i tabelarycznym przedstawieniu wyników, sformułowaniu wniosków, współudziale w przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 75%.

H8. Kozłowska M., Zawada K., **2015**. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils enriched with herb extracts by EPR spectroscopy. Chemical Papers, 69(7), 950-957. DOI: 10.1515/chempap-2015-0102

IF_{2015} = 1,326, $MNiSW_{2015}$ = 20 pkt, $MNiSW_{2017}$ = 20 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, współudziale w planowaniu doświadczeń i wykonaniu zaplanowanych badań, współudziale w analizie i interpretacji wyników badań oraz ich graficznym i tabelarycznym przedstawieniu, sformułowaniu wniosków, współudziale w przygotowaniu manuskryptu, wykonaniu korekty zgodnie z zaleceniami recenzentów i prowadzeniu korespondencji z redaktorem czasopisma (autor korespondujący). Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Sumaryczny **IF** prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi **12,943** (z roku ukazania się prac). Suma punktów według punktacji MNiSW, obliczona zgodnie z rokiem publikacji, wynosi **195**, a według aktualnego komunikatu MNiSW z dnia 25.01.2017 wynosi **190.** Odpowiednie oświadczenia Współautorów przedstawiono w załączniku 5.

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

4.3.1. Wstęp

Stabilność przeciwutleniająca jest jednym z ważniejszych wyróżników jakości tłuszczów i olejów jadalnych, spożywanych oddzielnie lub jako dodatek do produktów spożywczych, np. wyrobów ciastkarskich. Tłuszcz stosowany do produkcji takich wyrobów wpływa nie tylko na ich właściwości sensoryczne czy fizyczne, lecz także na ich wartość żywieniową [Żbikowska i Rutkowska, 2008]. Należy on jednak do labilnych składników żywności, które pod wpływem światła, temperatury i tlenu ulegają niekorzystnym przemianom, prowadzącym do powstawania szkodliwych dla zdrowia związków, m.in. pierwotnych i wtórnych produktów utleniania. Pierwotnymi produktami utleniania tłuszczów są nietrwałe wodoronadtlenki lipidowe, które w wyniku dalszych przemian stają się źródłem lotnych związków, nadających produktom spożywczym smak i zapach zjełczałego tłuszczu [Choe i Min, 2006]. Procesy utleniania tłuszczów przebiegają tym łatwiej, im więcej nienasyconych wiązań występuje w strukturze zawartych w nich kwasów tłuszczowych [Drozdowski, 2007]. Kwas linolowy (C18:2) ulega utlenianiu 10-40 razy szybciej niż kwas oleinowy (C18:1), a kwas linolenowy (C18:3) 2-4 razy szybciej niż kwas linolowy. Wymienione kwasy tłuszczowe wchodzą w skład większości olejów roślinnych, których regularne spożywanie opóźnia lub zapobiega powstawaniu chorób cywilizacyjnych, takich jak nadciśnienie, miażdżyca lub cukrzyca. Spożywane powinny być tłuszcze, bogate w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) i witaminy, o możliwie największej

stabilności, m.in. odporności na utlenianie, z jak najmniejszą zawartością wtórnych produktów utleniania.

Jednym ze sposobów poprawy stabilności przeciwutleniającej tłuszczów jest stosowanie przeciwutleniaczy syntetycznych (estry kwasu galusowego, butylohydroksyanizol - BHA) lub naturalnych (tokoferole, polifenole). Polifenole stanowią największą grupę wśród naturalnych przeciwutleniaczy, zróżnicowaną pod względem struktury, masy cząsteczkowej oraz właściwości fizykochemicznych i biologicznych [Gumul i wsp., 2005]. Ich źródłem są surowce pochodzenia roślinnego, tj. owoce, warzywa, nasiona strączkowe, ziarna zbóż, chętnie spożywane i przetwarzane przez konsumentów. W wielu ziołach i przyprawach związki fenolowe są reprezentowane głównie przez diterpeny fenolowe, kwasy fenolowe i flawonoidy [Szajdek i Borowska, 2004].

Od wieków przyprawy są stosowane w celu poprawy atrakcyjności potraw i przedłużania ich przydatności do spożycia. Przyprawami roślinnymi mogą być różne części anatomiczne roślin, np. korzenie, liście, owoce, nasiona, które cechują się specyficznymi walorami sensorycznymi i wywieraniem korzystnego wpływu na procesy trawienne. W przemyśle spożywczym ogranicza się stosowanie przypraw w sposób tradycyjny, czyli w postaci wysuszonych, całych lub rozdrobnionych surowców, z uwagi na możliwość wprowadzenia za ich pośrednictwem do żywności różnego rodzaju drobnoustrojów [Ahene i wsp, 2011]. Dlatego można byłoby je dodawać w postaci ekstraktów, otrzymanych z użyciem rozpuszczalników lub ich mieszanin z wodą, np. ekstraktów etanolowo-wodnych. Ekstrakty otrzymane w ten sposób, po zastosowaniu w żywności, mogłyby przyczynić się do ograniczenia liczby zatruć pokarmowych w wyniku hamowania wzrostu bakterii, zmniejszyć straty finansowe związane z psuciem się żywności, spowodowanym działalnością drobnoustrojów, oraz poprawić jej wartość sensoryczną i żywieniową w wyniku ograniczenia procesu utleniania lipidów. Zastosowanie ekstraktów roślinnych, jako naturalnych przeciwutleniaczy w produktach spożywczych ze zwiększoną zawartością tłuszczu, związane jest z koniecznością określenia ilości ekstraktu, jak i składu chemicznego (m.in. zawartości polifenoli), niezbędnych do podwyższenia stabilności przeciwutleniającej badanych tłuszczów.

Opracowano wiele metod kontroli przebiegu procesu utleniania tłuszczów i oceny ulegających autooksydacji produktów. Często są one oparte na klasycznych oznaczeniach przejściowych lub stabilnych produktów autooksydacji, badaniach spektroskopowych lub pomiarach szybkości zużywania się tlenu w procesie autooksydacji. Oprócz wyznaczenia liczby nadtlenkowej czy anizydynowej stosowane są także przyspieszone testy utleniania

opracowywane na potrzeby danej gałęzi przemysłu spożywczego. Ocenić stabilność tłuszczów można także przy użyciu różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oraz spektrometrii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). DSC jest jedną z termoanalitycznych metod, pozwalającą na wyznaczenie parametrów utleniania tłuszczów bez udziału środków chemicznych [Ostrowska-Ligęza i wsp., 2009]. Wykonanie serii oznaczeń pozwala na wyznaczenie temperatury ekstrapolowanego początku utleniania tłuszczów (t_{on}) oraz temperatury maksymalnej szybkości wydzielania ciepła (t_{max}), a następnie obliczenia parametrów kinetycznych procesu rozkładu termoutleniającego badanych tłuszczów. Niejednokrotnie uzyskane wartości t_{on} i t_{max} stosuje się jako parametry różnicujące odporność tłuszczów na utlenianie, tzn. tłuszcze z dodatkiem przeciwutleniaczy powinny charakteryzować się wyższymi ich wartościami niż tłuszcze wyjściowe. Z kolei EPR jest techniką analityczną szczególnie pomocną przy detekcji i identyfikacji krótko żyjących indywiduów chemicznych (rodników). Została ona użyta w ocenie stabilności oksydacyjnej oliwy z oliwek extra virgin [Papadimitriou i wsp., 2006]. Otrzymane wyniki korespondowały z uzyskanymi w teście Rancimat, i wyraźnie korelowały z zawartością obecnych w składzie oliwy tokoferoli i polifenoli. Zatem interesujące wydaje się wzbogacenie tłuszczowych produktów spożywczych, w etanolowo-wodne ekstrakty otrzymane z surowców roślinnych, w celu oceny ich przydatności w podwyższeniu odporności na utlenianie zawartego w nich tłuszczu, np. metodą DSC lub EPR.

Rafinacja olejów przeprowadzona metodą fizyczną lub chemiczną powoduje usuwanie niepożądanych związków (metali, produktów utlenienia lipidów), ale jednocześnie substancji biologicznie czynnych, takich jak tokoferole i polifenole [Nogala-Kałucka i wsp., 2003]. Jednym ze sposobów uzupełnienia tych związków, a tym samym poprawy stabilności przeciwutleniającej olejów, mogłoby być zastosowanie ekstraktów roślinnych bogatych w te związki. Można również podjąć próbę podwyższenia stabilności produktów spożywczych o wysokiej zawartości tłuszczu, przez wzbogacenie ich w inne preparaty olejowe wyodrębnione z surowca roślinnego, charakteryzujące się wysoką zawartością kwasów *cis*-monoenowych oraz odpowiednim stosunkiem kwasów omega-6 do omega-3.

Tłuszcz w roślinach jest gromadzony w mikrosomach komórek nasion jako materiał zapasowy [Onacik-Gür i wsp., 2014]. Najczęściej pozyskuje się go z owoców, pestek, kiełków roślinnych w wyniku tłoczenia lub ekstrakcji. Surowiec stanowić mogą nie tylko rośliny oleiste (rzepak, słonecznik), ale również te pochodzące z mniej tradycyjnych źródeł, np. nasiona kolendry lub pestki czarnego bzu. W zależności od sposobu pozyskiwania takiego tłuszczu, może on charakteryzować się zróżnicowanym składem chemicznym,

w tym zawartością związków o właściwościach przeciwutleniających. W przyszłości mogłyby on znaleźć zastosowanie w produkcji i stabilizacji lipidów strukturyzowanych lub jako substrat lipidowy w podłożach hodowlanych dla gatunku drożdży *Yarrowia lipolytica*, do syntezy enzymów lipolitycznych wykorzystywanych w przemyśle farmaceutycznym, chemicznym oraz spożywczym [Houde i wsp. 2004].

Wymienione zagadnienia, stały się podstawą do podjęcia przeze mnie badań nad wykorzystaniem surowca pochodzenia roślinnego jako źródła naturalnych przeciwutleniaczy, np. w branży spożywczej.

4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników

Celem zaprezentowanych w cyklu publikacji badań, stanowiących osiągnięcie naukowe, była analiza zawartości naturalnych przeciwutleniaczy oraz możliwości wykorzystania ekstraktów roślinnych do zwiększania stabilności przeciwutleniającej wybranych tłuszczów, a także do oceny ich przydatności technologicznej. Na główny cel badawczy składały się poniższe cele szczegółowe:

- ocena wpływu sposobu ekstrakcji tłuszczu z surowca roślinnego na jego aktywność przeciwutleniającą (**publikacje H1**, **H2**),
- ocena wpływu ekstraktów roślinnych na jakość produktu finalnego, tj. wyrobu ciastkarskiego (**publikacje H3**, **H4**),
- ocena wpływu etanolowo-wodnych ekstraktów roślinnych na stabilność olejów z użyciem DSC i EPR (**publikacje H5**, **H6**, **H7**, **H8**).

4.3.3. Ocena wpływu sposobu ekstrakcji tłuszczu z surowca roślinnego na jego aktywność przeciwutleniającą

Tłuszcze pozyskiwane z surowców roślinnych są bogatym źródłem fitosteroli, tokoferoli oraz polifenoli, wykazujących udokumentowane właściwości przeciwutleniające [Huyut i wsp., 2017]. Na zawartość tych naturalnych przeciwutleniaczy w tłuszczu ma wpływ zarówno jakość użytego surowca, jak i sposób wyodrębnienia z niego tłuszczu. Najczęściej stosowane jest tłoczenie na zimno, ekstrakcja z użyciem rozpuszczalnika organicznego (np. *n*-heksanu) lub mieszaniny rozpuszczalników (metoda Folcha). W warunkach laboratoryjnych prowadzona jest także ekstrakcja ciągła w aparacie Soxhleta. Heksan jest rozpuszczalnikiem o wysokiej lotności, łatwym do usunięcia, pozwalającym na

wyodrębnienie z surowca roślinnego niepolarnych lipidów oraz lotnych związków chemicznych. Stosując metodę Folcha, można wyekstrahować z tkanek zarówno niepolarne, jak i polarne lipidy. Tłuszcze wyizolowane tą metodą mogą również charakteryzować się wyższą odpornością na utlenianie, wynikającą z obecności naturalnych przeciwutleniaczy, m.in. związków polifenolowych, łatwiej ekstrahowanych z surowca z użyciem polarnych rozpuszczalników. Naturalne przeciwutleniacze polifenolowe mogą chronić tłuszcze przed utlenianiem, a tym samym zmianą smaku i wartości odżywczej produktów spożywczych. Z kolei obecne w tłuszczach sterole roślinne wykazują działanie hipocholesterolemiczne, polegające na obniżaniu zarówno poziomu cholesterolu całkowitego, jak i frakcji LDL w surowicy krwi. Hamują one również proliferację nowotworowych linii komórkowych raka okrężnicy, prostaty, piersi i wykazują działanie przeciwutleniające [Kopeć i wsp., 2011].

W badaniach opisanych w publikacjach **H1** i **H2**, ekstrahowałam tłuszcz z wybranych surowców roślinnych (z nasion kolendry, owoców migdałów i orzechów laskowych), z użyciem *n*-heksanu w aparacie Soxhleta oraz mieszaniny rozpuszczalników chloroform:metanol według metody opisanej przez Folcha [1957]. Wydajność ekstrakcji tłuszczu przeprowadzona z użyciem *n*-heksanu była niższa, w porównaniu z ekstrakcją, z użyciem mieszaniny rozpuszczalników (**H1**). Najwyższą wydajność ekstrakcji tłuszczu metodą Folcha otrzymano, gdy jako surowca użyto owoców orzecha laskowego (57,5%), a najniższą nasion kolendry (16,6%). Tłuszcze te zostały zbadane pod względem ich aktywności przeciwutleniającej poprzez oznaczenie zdolności do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowych), wyrażonej w formie współczynnika TEAC (mikromolach równoważników Troloksu na gram tłuszczu). Wszystkie wyekstrahowane tłuszcze wykazywały zdolność do zmiatania rodników $DPPH^{\cdot}$. Była ona najwyższa w przypadku tłuszczu wyekstrahowanego z nasion kolendry metodą Folcha (5,16 μmola TEAC/g tłuszczu), a najniższa dla tłuszczu z migdałów wyodrębnionego z użyciem *n*-heksanu w aparacie Soxhleta (0,42 μmola TEAC/g tłuszczu). Tłuszcze wyekstrahowane z użyciem *n*-heksanu wykazały niższą aktywność przeciwutleniającą niż ich odpowiedniki wyodrębnione z użyciem mieszaniny rozpuszczalników (chloroform:metanol), z wyjątkiem tłuszczu z owoców orzecha laskowego. Podobnie kształtowała się aktywność przeciwutleniająca metanolowych ekstraktów uzyskanych z badanych tłuszczów oraz zawartość polifenoli ogółem oznaczonych w tych ekstraktach. Najwyższą zawartością polifenoli ogółem charakteryzował się tłuszcz pozyskany z nasion kolendry, zarówno przy zastosowaniu metody Folcha (210,12 μg GA/g tłuszczu), jak i aparatu Soxhleta (165,08 μg

GA/g tłuszczu). Uzyskane wyniki wskazują na to, że ekstrakcja przy użyciu mieszaniny rozpuszczalników umożliwia otrzymanie tłuszczów, charakteryzujących się wyższą zawartością polifenoli ogółem, a tym samym zdolnością do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$. Jednak tłuszcz wyekstrahowany z nasion kolendry, który charakteryzował się najwyższą zawartością polifenoli ogółem oraz aktywnością przeciwutleniającą, okazał się być najmniej efektywnym induktorem aktywności lipolitycznej drożdży *Y. lipolytica*, wykorzystywanych w syntezie kwasów organicznych, słodzików, karotenoidów [Groenewald i wsp., 2014]. Zdolność tych drożdży do syntezy lipolitycznych enzymów zależy od wielu czynników, wśród których istotną rolę odgrywa skład podłoża, zawierającego substancje będące źródłem azotu i węgla. Hydrofobowymi substratami rozważanymi jako potencjalne źródło węgla mogą być także tłuszcze pozyskane z surowców roślinnych, zarówno tych bogatych w tłuszcze, jak i tych o mniejszej ich zawartości. Dodany do podłoża tłuszcz z migdałów spowodował wzrost aktywności lipolitycznej drożdży *Y. lipolytica* już po ich 24 godzinnej hodowli (**H1**). Najwyższe wartości uzyskano w przypadku zastosowania tłuszczu wyekstrahowanego z migdałów *n*-heksanem. Warto zauważyć, że po 24 h hodowli były one zbliżone do wartości uzyskanej, gdy w podłożu znajdowała się handlowa oliwa z oliwek, uważana za doskonałe źródło węgla. Tłuszcz z migdałów, wyodrębniony z użyciem aparatu Soxhleta, charakteryzował się najmniejszą wśród zastosowanych tłuszczów zawartością polifenoli ogółem oraz aktywnością przeciwutleniającą. Z kolei obecność w podłożu tłuszczu z nasion kolendry, wyodrębnionego z użyciem *n*-heksanu, wpłynęła na dwukrotne zmniejszenie zdolności lipolitycznych drożdży *Y. lipolytica* po 48 h hodowli, w porównaniu do wprowadzonego do podłoża tłuszczu z migdałów, oraz trzykrotne zmniejszenie w porównaniu do podłoża, w którego składzie znajdowała się oliwa z oliwek. Jest bardzo prawdopodobne, że ekstrakcji tłuszczu z nasion kolendry w aparacie Soxhleta towarzyszyło wyodrębnienie, charakterystycznych dla olejków eterycznych, związków chemicznych, wykazujących właściwości przeciwbakteryjne. Związkiem chemicznym dominującym w olejku z kolendry jest linalol. Wydajność jego ekstrakcji z surowca roślinnego wzrasta wraz ze wzrostem temperatury prowadzonego procesu. Poza tym, tej ekstrakcji mogą również towarzyszyć inne związki wykazujące aktywność przeciwbakteryjną, w tym także wobec *Y. lipolytica*, jak γ-terpinen, octan geranylu, kamfora czy β-pinen. Zatem, aby jednoznacznie stwierdzić, że tłuszcze wyodrębnione z surowca roślinnego w aparacie Soxhleta z użyciem *n*-heksanu, charakteryzujące się niższą zawartością naturalnych przeciwutleniaczy, takich jak polifenole, i aktywnością przeciwutleniającą, w porównaniu do tych wyodrębnionych metodą Folcha, mogą wpływać na poprawę zdolności

lipolitycznych drożdży *Y. lipolytica*, należy przeprowadzić dalsze badania Obecnie są one realizowane w ramach innych prac badawczych.

Zawartość polifenoli ogółem oraz aktywność przeciwutleniającą określiłam także w przypadku tłuszczów uzyskanych metodą Soxhleta i Folcha z gałki muszkatołowej, anyżu, nasion białej gorczycy oraz kminku (**H2**). Podobnie jak w publikacji **H1**, tłuszcze wyodrębnione z użyciem mieszaniny rozpuszczalników (chloroform:metanol) charakteryzowały się wyższą zawartością polifenoli ogółem niż ich odpowiedniki ekstrahowane *n*-heksanem. Najwyższa zawartość tych naturalnych przeciwutleniaczy znajdowała się w tłuszczach z gałki muszkatołowej i anyżu. Zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ była także wyższa dla tłuszczów otrzymanych z surowców roślinnych po ekstrakcji metodą Folcha, jak i uzyskanych z nich metanolowych ekstraktów, w porównaniu do tych tłuszczów, które zostały wyodrębnione z użyciem aparatu Soxhleta. Badane tłuszcze, biorąc pod uwagę ich wzrastającą aktywność przeciwutleniającą, ustawiono w następującej kolejności: tłuszcz z anyżu < białej gorczycy < kminku < gałki muszkatołowej. Test Pearsona wykazał dobrą korelację pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a ich zdolnością do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ w badanych tłuszczach. Często obecność polifenoli i możliwość interakcji z innymi komponentami może wpływać na podwyższenie aktywności przeciwutleniającej tłuszczów. Na zawartość polifenoli w tłuszczach może mieć wpływ nie tylko rodzaj zastosowanej ekstrakcji, ale także polarność użytego rozpuszczalnika. Ważne jest również pochodzenie surowca roślinnego, klimat i obszar, na którym był on uprawiany, czy stopień dojrzałości otrzymanych nasion.

Tłuszcze z gałki muszkatołowej, anyżu, nasion białej gorczycy oraz z kminku charakteryzowały się także określonym składem kwasów tłuszczowych oraz steroli. Najwyższą zawartość steroli stwierdzono w tłuszczu z białej gorczycy, wyodrębnionym *n*-heksanem, a najniższą - w tłuszczu z gałki muszkatołowej wyizolowanym z użyciem tego samego rozpuszczalnika. Z kolei w tłuszczu z anyżu zawartość tych związków była zdecydowanie wyższa, gdy do ekstrakcji użyto mieszaninę rozpuszczalników (chloroform:metanol) niż w przypadku zastosowania *n*-heksanu. Dominującym sterolem był *β*-sitosterol. Największą jego zawartość oznaczono w tłuszczu z anyżu po ekstrakcji metodą Folcha oraz w tłuszczu z białej gorczycy, otrzymanym w aparacie Soxhleta. Wśród badanych tłuszczów także tłuszcz z anyżu charakteryzował się największą ilością nasyconych (SFA) i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). Z kolei jednonienasycone kwasy tłuszczowe (MUFA) dominowały w strukturze triacylogliceroli tłuszczu z nasion białej gorczycy. Wszystkie badane tłuszcze były źródłem kwasu

oleinowego, ale w największej ilości występował on w tłuszczu z gałki muszkatołowej, wyodrębnionym w aparacie Soxhleta.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że tłuszcze otrzymane z użyciem rozpuszczalnika niepolarnego (*n*-heksanu) charakteryzowały się mniejszą zawartością naturalnych przeciwutleniaczy, do których zaliczane są polifenole, i aktywnością przeciwutleniającą, w porównaniu z tłuszczami wyekstrahowanymi metodą Folcha. Natomiast skład kwasów tłuszczowych i zawartość steroli był charakterystyczny dla rodzaju surowca poddanego ekstrakcji.

Wiedza o zawartości naturalnych przeciwutleniaczy, w tym polifenoli i tokoferoli, oraz aktywności przeciwutleniającej otrzymanych tłuszczów może być istotna w odniesieniu do oceny aktywności lipolitycznej *Y. lipolytica*. Poza tym, tłuszcze pochodzące z nietradycyjnych źródeł, np. z nasion kolendry, będące źródłem kwasów tłuszczowych, fitosteroli oraz polifenoli, mogłyby zostać wykorzystane w otrzymywaniu strukturyzowanych lipidów o zwiększonej stabilności przeciwutleniającej.

4.3.4. Ocena wpływu ekstraktów roślinnych na jakość produktu finalnego, tj. wyrobu ciastkarskiego

Wyroby ciastkarskie cieszą się dużą popularnością wśród konsumentów na całym świecie. Do ich produkcji używa się najczęściej tłuszczów pochodzenia roślinnego, dostosowanych do rodzaju wytwarzanego wyrobu. Tłuszcze te odgrywają ważną rolę w kształtowaniu właściwości fizycznych i sensorycznych gotowego produktu oraz wpływają na jego wartość żywieniową. Podczas procesu pieczenia jest on poddawany działaniu wysokiej temperatury, która sprzyja wystąpieniu niepożądanych przemian, takich jak utlenianie, polimeryzacja lub cyklizacja nienasyconych kwasów tłuszczowych [Żbikowska i Rutkowska, 2008]. Powstawanie szkodliwych dla zdrowia wtórnych produktów utleniania tłuszczów spożywczych może nasilać procesy oksydacyjne w organizmie człowieka, a tym samym prowadzić do szybszego powstawania zmian miażdżycowych i nowotworowych [Penumetcha i wsp., 2000]. Dotychczas nie ustalono zaleceń odnośnie maksymalnych dopuszczalnych zawartości produktów utleniania w tłuszczu, w wyrobach spożywczych, szczególnie tych z dużą zawartością tłuszczu, takich jak krakersy, w których stanowi on średnio 22% składu recepturowego. Aby zapewnić odpowiednią jakość produktom bogatym w tłuszcz przez cały okres ich przydatności do spożycia, należy je chronić przed działaniem światła, powietrza, tlenu, podwyższonej temperatury. Istotne jest zachowanie odpowiedniej

stabilności przeciwutleniającej zawartych w nich tłuszczów. Osiąga się to najczęściej poprzez zastosowanie syntetycznych przeciwutleniaczy, takich jak BHA i BHT. Jednak badania przeprowadzone na szczurach wykazały ich szkodliwy wpływ na organizm (uszkodzenie nerek, zaburzenia w krzepnięciu krwi) [Gawlik-Dziki, 2004]. Alternatywą dla syntetycznych przeciwutleniaczy mogą być naturalne związki występujące w przyprawach i ziołach, które zapewniają potrawom swoisty aromat, smak oraz barwę. Poza olejkami eterycznymi zawierają one także naturalne przeciwutleniacze polifenolowe, wykazujące właściwości przeciwbakteryjne lub przeciwutleniające [Reddy i wsp., 2005]. Często takie przyprawy, jak rozmaryn czy szałwia, są wprowadzane do produktów spożywczych w sposób tradycyjny, tj. w postaci wysuszonych, całych lub rozdrobnionych surowców. Aby uniknąć trudności z ich standaryzacją i dozowaniem, a przede wszystkim przyczynić się do zmniejszenia liczby bakterii przetrwalnikujących z rodzaju *Bacillus* oraz pleśni z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*, można je dodać w formie ekstraktów.

W publikacji **H3,** stosując 70% wodny roztwór etanolu, otrzymałam ekstrakty z tymianku i rozmarynu. Wykazałam, że wśród tych ekstraktów wyższą zawartością polifenoli ogółem i aktywnością przeciwutleniającą, określoną metodą ABTS, charakteryzował się ekstrakt z tymianku niż z rozmarynu. Z kolei ekstrakt z rozmarynu zawierał wyższą (niż ekstrakt z tymianku) zawartość kwasu rozmarynowego, określoną metodą HPLC. Otrzymane ekstrakty, zostały dodane w ilości 0,02 oraz 0,2% do ciasta (w odniesieniu do użytego tłuszczu), na bazie którego wypieczono ciastka kruche. Po wypieku tych ciastek oraz ich termostatowaniu przez 21 dni w temperaturze 60°C (przyspieszony test przechowalniczy), wyekstrahowano tłuszcz metodą Folcha i oceniono jego stabilność przeciwutleniającą przy pomocy DSC. Bezpośrednio po wypieku, ciastka z dodatkiem ekstraktów sporządzonych na bazie tymianku i rozmarynu oraz te zawierające syntetyczny przeciwutleniacz (BHA) poddano także analizie barwy, w systemie CIE L*a*b*, przy użyciu kolorymetru Minolta CM-3600d. Badania wykazały różnice w jasności (parametr L*) oraz wartościach współrzędnych trójchromatyczności (parametry a* i b*) pomiędzy badanymi ciastkami. Biorąc pod uwagę parametr L*, zaobserwowano, że ciastka zawierające większe stężenie ekstraktów roślinnych charakteryzowały się mniejszymi jego wartościami w porównaniu z ciastkami z mniejszą ich zawartością. Chociaż ciastka z dodatkiem 0,2% ekstraktu z rozmarynu i tymianku były ciemniejsze od swoich odpowiedników użytych w stężeniu 0,02%, to jednak były one jaśniejsze od ciastek zawierających BHA oraz tych bez dodatku przeciwutleniaczy. Wartości parametru a* wszystkich badanych ciastek były dodatnie, czyli ciastka te charakteryzowały się większym

udziałem barwy czerwonej. Najwyższą jego wartość miały ciastka z dodatkiem BHA oraz 0,2% ekstraktu z rozmarynu. Natomiast najmniejszy udział barwy czerwonej był obserwowany w przypadku ciastek zawierających ekstrakty z tymianku. Największy udział barwy żółtej (b^*) stwierdzono w próbkach ciastek z dodatkiem 0,2% ekstraktu z rozmarynu i z tymianku, a najmniejszy w ciastkach wzbogaconych w 0,02% ekstrakt z rozmarynu. Badania te wykazały, że ciastka z większą zawartością ekstraktów z tymianku i rozmarynu były ciemniejsze oraz charakteryzowały się większym udziałem barwy czerwonej i żółtej w porównaniu z ciastkami zawierającymi mniejsze ich stężenie.

W ocenie ogólnej akceptowalności ciastek nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między wyrobami z dodatkiem ekstraktów roślinnych oraz BHA, chociaż za najmniej pożądane uznano ciastka zawierające 0,02% ekstrakty z tymianku i rozmarynu. Zapach i teksturę tych ciastek również uznano za najmniej korzystny wyróżnik ich jakości sensorycznej. Z kolei wyroby z dodatkiem 0,02% ekstraktu z rozmarynu cechowały się zbliżonymi do ciastek bez dodatków notami opisującymi ich smak, wygląd zewnętrzny oraz aromat. Ten ostatni wyróżnik oceny sensorycznej ciastek jest skorelowany z reakcjami chemicznymi zachodzącymi podczas procesu ich pieczenia. Przykładem takich reakcji są reakcje Maillarda. W ich wyniku oraz na skutek karmelizacji powstają substancje, nadające określone cechy sensoryczne takim wyrobom.

Po pozytywnej ocenie sensorycznej otrzymanych ciastek zbadano metodą DSC stabilność przeciwutleniającą wyekstrahowanych z nich frakcji lipidowych. Frakcje lipidowe otrzymane bezpośrednio po wypieku ciastek charakteryzowały się wysoką stabilnością. Zastosowane dodatki ekstraktów z tymianku i rozmarynu nieznacznie wpłynęły na jej poprawę. Po 7 dniach termostatowania ciastek w temperaturze 60°C, obserwowano niższe wartości temperatury ekstrapolowanego początku utleniania (t_{on}) w przypadku większości frakcji lipidowych wyekstrahowanych z ciastek, z wyjątkiem tych wzbogaconych w ekstrakty z tymianku. Dodatek ekstraktów z tymianku spowodował wzrost wartości t_{on} frakcji lipidowych wyekstrahowanych z ciastek, podczas całego okresu ich termostatowania w temperaturze 60°C. Po 21 dniach termostatowania ciastek z ekstraktem z rozmarynu zaobserwowano, że frakcje lipidowe z nich wyodrębnione charakteryzowały się największą odpornością na utlenianie. Uzyskano najwyższe wartości t_{on}, będące ważnym parametrem, różnicującym odporność tłuszczów na utlenianie. Podobnie jak wartości t_{on} kształtowały się wartości energii aktywacji. Były one najwyższe dla frakcji lipidowych wyekstrahowanych z ciastek zawierających ekstrakty z tymianku po ich 14 dniach termostatowania, natomiast po 21 dniach termostatowania ciastek, najwyższą wartość

energii aktywacji odnotowano, gdy próbki wzbogacono w 0,02% ekstrakt z rozmarynu. Z kolei, biorąc pod uwagę czas indukcji (τ), służący do porównania odporności tłuszczów na utlenianie oraz skuteczności działania użytych ekstraktów roślinnych, kolejność wyodrębnionych frakcji lipidowych odpornych na utlenianie po 21 dniach termostatowania ciastek była następująca: frakcja z ciastek zawierających 0,02% ekstrakt z rozmarynu > frakcja z ciastek zawierających 0,2% ekstrakt z rozmarynu > frakcja z ciastek zawierających 0,2% ekstrakt z tymianku > frakcja z ciastek zawierających BHA > frakcja z ciastek zawierających 0,02% ekstrakt z tymianku > frakcja z ciastek bez dodatków. Uzyskane wyniki wykazały, że obecność w wyrobach ciastkarskich naturalnych przeciwutleniaczy, występujących w ekstraktach z tymianku i rozmarynu może poprawić stabilność przeciwutleniającą tłuszczów stosowanych w tego typu wyrobach.

W publikacji **H4** dokonano analizy sensorycznej krakersów wzbogaconych w etanolowo-wodne ekstrakty z tymianku i rozmarynu oraz bazylii i oregano, instrumentalnej analizy ich barwy oraz oceniono stabilność przeciwutleniającą frakcji lipidowych z nich wyodrębnionych. Krakersy z 0,2% dodatkiem ekstraktu z oregano i z tymianku zostały najwyżej ocenione pod względem ich ogólnej jakości sensorycznej. Zespół oceniający również uznał krakersy zawierające 0,2% dodatek ekstraktu z oregano za najrównomierniej wypieczony wyrób. Poza tym, charakteryzowały się one zapachem ziołowym, uznanym przez oceniających za cechę pożądaną. Stwierdzono także, że krakersy wzbogacone w ekstrakty o wyższym stężeniu cechowały się większym udziałem barwy żółtej i czerwonej w porównaniu z odpowiednikami z mniejszą ich zawartością.

Bezpośrednio po wypieku krakersów, niezawierających dodatku ekstraktów, zaobserwowano największy przyrost ilości pierwotnych produktów utleniania we frakcji lipidowej określonej zmianami liczby nadtlenkowej. Po 7 dniach ich termostatowania w temperaturze 60°C szybkość przemian oksydacyjnych była znacząca w przypadku większości badanych próbek tłuszczu, z wyjątkiem tych wzbogaconych w ekstrakty z tymianku w stężeniu 0,02 % i 0,2%. Najmniej efektywne okazały się ekstrakty z oregano, które zarówno po 14, jak i 21 dniach termostatowania krakersów nie poprawiły stabilności wyekstrahowanego z niego tłuszczu, osiągając najwyższe wartości liczby nadtlenkowej. Niezależnie od badanego wariantu, po 28 dniach testu stwierdzono ubytek pierwotnych produktów utleniania tłuszczu wraz z przyrostem wtórnych produktów utleniania, określonych zmianami liczby anizydynowej. Wysoka temperatura podczas termostatowania przyspiesza rozkład nadtlenków i wodoronadtlenków nienasyconych kwasów tłuszczowych

i powoduje, że tłuszcze, którym wcześniej towarzyszył znaczny stopień degradacji oksydatywnej, mogą charakteryzować się małymi wartościami liczby nadtlenkowej.

Stwierdzono, że zarówno przyrost ilości pierwotnych jak i wtórnych produktów utleniania tłuszczu był najwolniejszy w przypadku tłuszczu wyekstrahowanego z krakersów wzbogaconych w ekstrakty z tymianku, szczególnie o stężeniu 0,02%. Dlatego może on być rozważony jako potencjalny zamiennik BHA, a różnice w działaniu poszczególnych ekstraktów mogą zależeć od rodzaju i ilości związków o właściwościach przeciwutleniających, obecnych w ich składzie chemicznym oraz od ewentualnego efektu synergistycznego lub antagonistycznego pomiędzy nimi a związkami zawartymi w tłuszczach.

4.3.5. Ocena wpływu etanolowo-wodnych ekstraktów roślinnych na stabilność olejów z użyciem DSC i EPR

Tłuszcze roślinne, do których należą oleje roślinne, są ważne zarówno ze względów technologicznych, jak i żywieniowych. Zapewniają one właściwą strukturę fizyczną produktom (np. kruchość ciasta francuskiego) oraz są źródłem niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). Niekorzystne zmiany w olejach mogą być spowodowane procesami biochemicznymi i autooksydacją, zainicjowanymi już w nasionach roślin oleistych [Kruszewski i wsp., 2013]. Zmiany typu oksydacyjnego spowodowane są działaniem tlenu atmosferycznego rozpuszczonego w tłuszczu i oddziaływującego na jego powierzchnię. Im większa powierzchnia tłuszczu narażona jest na kontakt z tlenem, tym utlenianie zachodzi szybciej. Poza tym na szybkość zmian oksydacyjnych w olejach ma także wpływ budowa chemiczna kwasów tłuszczowych w cząsteczce triacylogliceroli, liczba wiązań nienasyconych oraz obecność substancji o właściwościach przeciwutleniających i inhibujących [Drozdowski, 1994]. Powstające w procesie utleniania lipidów wodoronadtlenki mogą ulegać homolitycznemu rozkładowi, tworząc rodniki, które uczestniczą w reakcjach łańcuchowych substratu albo rozpadają się w wyniku rozczepienia wiązań C-C, dając produkty odpowiedzialne za nieprzyjemny zapach tłuszczu. Wodoronadtlenki te mogą też reagować z tlenem, tworząc szereg wtórnych produktów, jak epoksywodoronadtlenki, które rozpadają się do związków lotnych lub ulegają kondensacji do związków wielkocząsteczkowych. Istnieje wiele metod badania stabilności olejów i tłuszczów [Trojáková i wsp., 2000].

W publikacji **H5** oceniłam wpływ etanolowych ekstraktów z majeranku, tymianku i oregano na stabilność przeciwutleniającą rafinowanego oleju rzepakowego (RSO), a w publikacji **H6** ich etanolowo-wodnych odpowiedników oraz sporządzonych na ich bazie mieszanin na stabilność rafinowanego oleju sojowego (SBO) i słonecznikowego (SFO). Badanie prowadziłam, stosując system termoanalityczny DSC Q200 z komorą grzejną Q Series DSC Pressure Cell (TA Instruments) [**H5**] oraz aparat DSC 820 (Mettler Toledo) [**H6**]. W obu przypadkach zastosowałam metodę dynamiczną z programowanym liniowo wzrostem temperatury w atmosferze tlenu od 30 do 300°C z odpowiednio 7 oraz 5 szybkościami ogrzewania próbek (β). Z otrzymanych krzywych DSC odczytałam temperatury ekstrapolowanego początku utleniania (t_{on}), które przeliczyłam na temperatury w skali bezwzględnej T_{ON}. Odpowiadają one stałemu stopniowi przereagowania układu i tym samym mogą stanowić podstawę do analizy kinetycznej procesu [Ozawa, 1970]. Wyznaczenie liniowych zależności $\beta = f(T_{ON})$, które spełniają równanie $\log\beta = aT_{ON}^{-1} + b$, pozwala na obliczenie energii aktywacji (E_a), współczynników przedpotęgowych *Z* oraz czasów indukcji (τ). Wprowadzenie ekstraktów roślinnych jako naturalnych przeciwutleniaczy do olejów, powinno wpłynąć na poprawę ich odporności na rozkład termoutleniający poprzez opóźnienie początkowej fazy tego rozkładu, czyli spowodować wydłużenie czasu potrzebnego do zapoczątkowania reakcji utleniania tłuszczu. W przypadku wszystkich badanych próbek zaobserwowano wzrost wartości t_{on} wraz ze wzrostem szybkości ogrzewania. Dodanie do olejów zarówno syntetycznego przeciwutleniacza (BHA), jak i ekstraktów z roślin przyprawowych, w porównaniu do olejów bez dodatków, spowodowało wydłużenie czasu zapoczątkowania reakcji rozkładu termoutleniającego. Najwyższe wartości t_{on} uzyskano w przypadku SFO wzbogaconego w ekstrakty z oregano w stężeniu 0,03 i 0,07% oraz w mieszankę, składającą się z ekstraktu z tymianku i BHA (0,005% każdy). Obecność w tym oleju ekstraktów z majeranku i tymianku także poprawiła jego odporność na utlenianie, ale była ona mniej znacząca niż po wprowadzeniu syntetycznego przeciwutleniacza. Z kolei, oceniając stabilność przeciwutleniającą SBO w oparciu o t_{on}, wykazano, że była ona najwyższa po wzbogaceniu SBO w ekstrakt z tymianku oraz mieszankę ekstraktu z tymianku i oregano (0,015% każdy). Stwierdzono także, że użycie ekstraktów w wyższych stężeniach (0,07%) nie wykazało prooksydatywnego działania, ale też nie zwiększyło odporności na utlenianie badanego oleju w porównaniu do próbek zawierających ekstrakty w stężeniu 0,03%. Poza tym zauważono, że ekstrakty użyte w wyższych stężeniach były najbardziej efektywne w poprawie stabilności przeciwutleniającej RSO tylko przy szybkości ogrzewania $\beta \leq 5$°C/min.

Natomiast przy $\beta \geq 7{,}5^{\circ}$C/min, uzyskane wyniki nie były tak jednoznaczne. Dlatego nie powinno się określać stabilności przeciwutleniającej olejów tylko na podstawie wyników otrzymanych dla jednej wybranej szybkości ogrzewania. Dopiero pomiary przy kilku szybkościach ogrzewania stanowią podstawę do obliczenia parametrów kinetycznych, m.in. energii aktywacji. Stwierdzono najwyższą wartość energii aktywacji dla próbek RSO wzbogaconych w 0,03% ekstrakt z tymianku, dla SFO z dodatkiem 0,07% ekstraktu z oregano, a dla SBO z 0,07% dodatkiem ekstraktu z tymianku. Z kolei skuteczność działania użytych ekstraktów przyprawowych, na podstawie wyliczonych czasów indukcji, była następująca (rozpatrując je w kolejności malejącej ich efektywności): dla SFO - oregano 0,07% > majeranek 0,07% > BHA > tymianek 0,07%; dla SBO - tymianek 0,07% > majeranek 0,07% > oregano 0,07%; dla RSO - oregano 0,03% > tymianek 0,03% > majeranek 0,03%.

Badając oleje o zróżnicowanych składach kwasów tłuszczowych, obserwuje się związek między stopniem ich nienasycenia a odpornością na utlenianie. Stwierdzona, mniejsza stabilność przeciwutleniającą SFO w porównaniu z SBO, może być związana z wyższym udziałem kwasów wielonienasyconych (szczególnie kwasu linolowego) i niższym kwasów nasyconych w składzie SFO niż w SBO. Poza tym, zawartość związków polifenolowych w użytych ekstraktach mogła także wpłynąć na stabilność przeciwutleniającą badanych olejów. Najwyższą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono bowiem w ekstraktach z oregano, następnie w tymianku i majeranku. Ekstrakt z oregano okazał się także najbardziej skutecznym przeciwutleniaczem w poprawie odporności na utlenianie SFO i RSO. Ponadto, ekstrakty te są również źródłem innych związków, które mogą wzmacniać efekt przeciwutleniający obecnych w nich związków polifenolowych, ale też może dochodzić pomiędzy nimi do reakcji antagonistycznych. Zbadanie możliwych interakcji pomiędzy polifenolami oraz polifenolami i składnikami żywności jest w obrębie moich obecnych zainteresowań badawczych.

W publikacji **H7** zbadałam wpływ etanolowo-wodnych ekstraktów z majeranku, tymianku, oregano oraz szałwii, bazylii, cząbru i mięty pieprzowej na stabilność przeciwutleniającą rafinowanego oleju SBO, CORN (oleju kukurydzianego), SFO i RSO z użyciem rodników $DPPH^{\cdot}$ metodą EPR. Trwały rodnik $DPPH^{\cdot}$ jest wykorzystywany w tej technice jako wzorzec zewnętrzny do określania współczynnika rozszczepienia spektroskopowego badanego rodnika, jak również do oceny skali intensywności sygnału. Badanie to wykonałam z użyciem spektrometru EPR (Miniscope MS 2000 firmy Magnettech), pracującego w paśmie X o częstotliwości promieniowania mikrofalowego

wynoszącej 9,3 GHz. Najwyższą zdolnością zmiatania stabilnych rodników DPPH , określoną po 10 minutach reakcji pomiędzy tymi rodnikami a roztworami ekstraktów roślinnych, charakteryzował się ekstrakt z oregano, a najniższą - ekstrakty z szałwii i cząbru. Ta wysoka aktywność przeciwutleniająca ekstraktu z oregano może korelować z zawartością polifenoli ogółem oznaczoną w publikacji **H5**. Nie tylko liczba grup hydroksylowych czy metoksylowych, powiązanych z pierścieniem benzenowym występującym w strukturze polifenoli, ale także ich wzajemne położenie wpływa na aktywność przeciwutleniającą badanych ekstraktów roślinnych. Szczególnie podstawienie w pozycji *orto*- grupy z donorem elektronów zwiększa stabilność i właściwości przeciwutleniające kwasów fenolowych [Gawlik-Dziki, 2004]. Ekstrakty z oregano są bogate w kwas rozmarynowy, który w pierścieniu aromatycznym zawiera grupy hydroksylowe w położeniu *orto* [Capecka i wsp., 2005]. Obecność tych grup i wzajemne położenie mogło odpowiadać za wzmocniony efekt przeciwutleniający ekstraktów z oregano w porównaniu z pozostałymi badanymi ekstraktami. Chociaż ekstrakt z majeranku, który zawiera podobny skład związków polifenolowych, wykazał nieco niższą niż ekstrakt z oregano zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$, to z wyników przedstawionych w publikacji **H7** wynikało, że oleje SBO i CORN, wzbogacone w etanolowo-wodne ekstrakty roślinne, charakteryzowały się wyższą zdolnością wyłapywania rodników $DPPH^{\cdot}$ niż ich odpowiedniki bez tych dodatków. Poza tym, zdolność ta wzrastała wraz z zwiększaniem ilości ekstraktów roślinnych dodanych do tych olejów, z wyjątkiem ekstraktów z majeranku. Oleje SBO i CORN, wzbogacone w ekstrakty z majeranku o najniższym stężeniu (0,01%), charakteryzowały się wyższą stabilnością przeciwutleniającą niż te, do których dodano najwyższe stężenie ekstraktów z majeranku (0,07%). W przypadku dodatku ekstraktu z szałwii w stężeniu 0,03% do SBO zaobserwowano istotniejszą poprawę stabilności przeciwutleniającej tego oleju, niż po użyciu tego ekstraktu w stężeniach 0,05 czy 0,07%. Biorąc pod uwagę najwyższe stężenie dodanych ekstraktów, stwierdzono, że najbardziej efektywny w podnoszeniu stabilności przeciwutleniającej SBO był dodatek ekstraktów z cząbru, bazylii, oregano i mięty pieprzowej. W przypadku oleju CORN były to ekstrakty z cząbru, bazylii i tymianku. Natomiast, określając wpływ ekstraktów użytych w stężeniu 0,01% na stabilność przeciwutleniającą SBO, najbardziej skuteczne okazały się ekstrakty z majeranku, szałwii i cząbru. W odniesieniu do CORN były to także ekstrakty z majeranku oraz bazylii i oregano. Uzyskane wartości $DPPH^{\cdot}$ tych ekstraktów były także wyższe od tych przypisanych obydwu olejom wzbogaconym w syntetyczny przeciwutleniacz. Po 9 tygodniach przechowywania SBO i CORN z dodatkiem i bez dodatków ekstraktu,

stwierdzono, że ekstrakty z tymianku w ilości 0,01%, najlepiej chroniły te oleje przed utlenianiem.

Podsumowując, stwierdzono skuteczność użytych ekstraktów roślinnych w podnoszeniu stabilności badanych olejów. Zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ zależała nie tylko od rodzaju oleju i dodanego do niego ekstraktu roślinnego, ale także od ilości, w której ten ekstrakt został użyty. Dużą rolę mógł odegrać również sposób jego dodania do olejów. Rozpuszczone w polarnym rozpuszczalniku ekstrakty po wprowadzeniu do hydrofobowego środowiska, jakim był olej, a następnie odparowaniu tego rozpuszczalnika utworzyły niewidoczny film na jego powierzchni. Prawdopodobnie, film ten utrudnił dostęp tlenu do wnętrza próbek oleju, a tym samym opóźnił proces jego autooksydacji. Stosowanie w olejach przeciwutleniaczy w postaci ekstraktów roślinnych zamiast świeżych ziół czy przypraw może zwiększyć ich stabilność przeciwutleniającą. Świeże zioła zawierają w swoim składzie wodę, która indukuje hydrolizę triacylogliceroli, a w konsekwencji prowadzi do powstawania podatnych na utlenianie wolnych kwasów tłuszczowych. Poza tym, świeży surowiec może być bogaty w jony metali, takie jak Fe^{3+}, Cu^{2+}, które z powodzeniem mogą katalizować przebieg niepożądanych reakcji chemicznych w olejach roślinnych.

W publikacji **H8** zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ metodą EPR przez oleje RSO i SFO z dodatkiem BHA i tych samych, co w publikacji **H7** ekstraktów roślinnych zbadano po 10 i 60 minutach od zapoczątkowania reakcji z $DPPH^{\cdot}$. Stwierdzono, że zarówno po 10, jak i 60 minutach reakcji najbardziej skuteczny w zmiataniu rodników $DPPH^{\cdot}$ był RSO wzbogacony w ekstrakt z cząbru (0,04%), bazylii (0,01%) i majeranku (0,04%). W porównaniu z próbką niezawierającą przeciwutleniaczy oraz próbką z BHA, najmniejszą aktywność przeciwutleniającą wykazał RSO z dodatkiem ekstraktu z cząbru, szałwii i mięty pieprzowej w stężeniu 0,01%. W odniesieniu do SFO skuteczne było użycie ekstraktu z bazylii (0,04%), mięty pieprzowej (0,01%) i szałwii (0,01 i 0,04%) po 10 minutach reakcji z $DPPH^{\cdot}$, a po 60 minutach były to ekstrakty z bazylii (0,04%) i szałwii (0,01% i 0,04%). W przypadku obu olejów stwierdzono, że zdolność wyłapywania rodników $DPPH^{\cdot}$ wzrosła wraz ze zwiększeniem ilości dodawanych ekstraktów, z wyjątkiem ekstraktu z bazylii (RSO) oraz mięty pieprzowej (SFO), przy czym wpływ stężenia ekstraktów dodanych do olejów był mniejszy po 60 minutach reakcji z rodnikami $DPPH^{\cdot}$ niż po 10 minutach reakcji. Najprawdopodobniej, w pierwszej kolejności w reakcjach z rodnikami $DPPH^{\cdot}$ uczestniczyły przeciwutleniacze zawarte w ekstraktach, a później reagowały z nimi wiązania podwójne nienasyconych kwasów tłuszczowych

obecnych w składzie badanych olejów. Oleje roślinne mogą być także źródłem naturalnych przeciwutleniaczy należących do grupy tokoferoli. SFO zawiera znaczną ilość α-tokoferoli i niewielkie ilości γ i δ-tokoferolu. Z kolei RSO jest bogatszy w γ-tokoferol, a zawiera mniej *α* i *β*-tokoferolu. Obecność w olejach γ i δ-tokoferolu sprzyja ich ochronie przed utlenianiem oraz może przeciwdziałać prooksydatywnemu działaniu α-tokoferolu [Gliszczyńska-Świgło i wsp., 2007]. Może to stanowić przesłankę do stwierdzenia wyższej aktywności przeciwutleniającej RSO niż SFO. Poza tym RSO zawiera w swoim składzie chemicznym mniejszą ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych niż SFO.

Do szybkiego zbadania stabilności przeciwutleniającej w RSO i SFO zawierających ekstrakty roślinne, zastosowano także technikę EPR metodą pułapkowania spinowego. Użyto popularną pułapkę spinową PBN, czyli nitronu *N*-*tert*-butylo-*α*-fenylowego, który w reakcji z rodnikami lipidowymi tworzył addukty o charakterystycznym dla danego rodnika widmie. Następnie, wyznaczono czasy indukcji związane z zapoczątkowaniem procesu utleniania w badanych próbkach. Niemal w każdym przypadku były one dłuższe w przypadku olejów wzbogaconych w ekstrakty niż ich odpowiedników bez dodatków lub zawierających BHA. Wyjątkiem był SFO wzbogacony w ekstrakt z mięty pieprzowej (0,04%). Wśród ekstraktów najefektywniej wpływających na poprawę stabilności przeciwutleniającej RSO poprzez wydłużenie czasu indukcji znalazły się ekstrakty z bazylii (0,01%), cząbru (0,04%), szałwii i mięty pieprzowej (0,04%). Pierwsze dwa z tych ekstraktów były również skuteczne w zmiataniu rodników $DPPH^{\cdot}$. Z kolei obecność ekstraktów z bazylii, tymianku i mięty pieprzowej w SFO w stężeniu 0,01% wpłynęła na poprawę jego stabilności przeciwutleniającej. Natomiast tylko w przypadku RSO wzbogaconego w ekstrakty z cząbru, majeranku, mięty pieprzowej, oregano i szałwii obserwowano wydłużenie czasu indukcji wraz ze zwiększeniem ilości dodanego ekstraktu. SFO zawiera większą ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych niż RSO, dlatego jest bardziej podatny na autooksydację, ale także utlenianie przez rodniki utworzone z fenolowych przeciwutleniaczy. Poza tym, przeciwutleniacze mogą prowadzić do zablokowania procesu rodnikowego poprzez interakcję z rodnikami nadtlenkowymi lub uczestniczyć w reakcjach ubocznych procesu oksydacji [Yanishlieva i wsp., 1999]. Nie zaobserwowano znaczącej korelacji pomiędzy zdolnością wyłapywania rodników $DPPH^{\cdot}$ przez badane oleje a wyliczonym czasem indukcji. Może to mieć częściowo związek z warunkami, w jakich przeprowadzono te dwa pomiary, różniące się temperaturą i czasem eksperymentu. Związki o właściwościach przeciwutleniających mogą działać w inny sposób w temperaturze pokojowej i w temperaturze wyższej niż temperatura pokojowa. Wykazano,

że dodane do olejów ekstrakty poprawiają zdolność wyłapywania rodników $DPPH^{\cdot}$, ale ich wpływ na szybkość utleniania, mierzona metodą pułapkowania spinowego EPR, nie jest jednoznaczny w związku z trudnością interpretacji uzyskanych wyników.

4.3.6. Podsumowanie

Przedstawiony powyżej cykl 8 publikacji dotyczy zagadnień związanych z zastosowaniem surowca roślinnego jako źródła naturalnych przeciwutleniaczy, przede wszystkim do poprawy stabilności przeciwutleniającej tłuszczów. Wydaje się to szczególnie istotne w obecnych czasach, kiedy konsumenci preferujący zdrowy styl życia, wybierają produkty spożywcze zawierające w swoim składzie naturalne składniki. Uzyskane wyniki mają zarówno charakter poznawczy, jak i aplikacyjny. Do najważniejszych osiągnięć przedstawionych w cyklu badań należy:

- Wykazanie wpływu sposobu ekstrakcji tłuszczu z wybranych surowców roślinnych na wydajność tego procesu, zawartość polifenoli ogółem, aktywność przeciwutleniającą oraz aktywność lipolityczną drożdży *Y. lipolytica*. O ile użycie mieszaniny rozpuszczalników (chloroform:metanol) wpłynęło na zwiększenie zawartości polifenoli ogółem w tych tłuszczach oraz ich zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ w porównaniu z ich odpowiednikami ekstrahowanymi *n*-heksanem, to nie wpłynęło na poprawę zdolności lipolitycznych drożdży *Y. lipolytica*.
- Wykazanie braku wpływu sposobu ekstrakcji tłuszczu z wybranych surowców roślinnych na skład kwasów tłuszczowych i zawartych w nich steroli.
- Stwierdzenie, że zastosowanie w wyrobach ciastkarskich etanolowo-wodnych ekstraktów, szczególnie z tymianku i rozmarynu w stężeniu 0,02% jako źródła naturalnych przeciwutleniaczy, zwiększyło stabilność przeciwutleniającą stosowanych do ich wypieku tłuszczów oraz nie zmieniło ogólnej akceptowalności sensorycznej tych wyrobów. Mogą one zatem być rozważane jako potencjalne zamienniki syntetycznych przeciwutleniaczy.
- Wykazanie skuteczności użytych ekstraktów roślinnych w podnoszeniu stabilności przeciwutleniającej badanych olejów. Zdolność do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ oraz wydłużenie ekstrapolowanego początku utleniania tłuszczów zależała nie tylko od rodzaju użytego oleju i ekstraktu roślinnego, ale także od ilości użytego ekstraktu i sposobu jego wprowadzenia do oleju.

- Potwierdzenie możliwości użycia różnicowej kolorymetrii skaningowej (DSC), z zastosowaniem metody dynamicznej, oraz spektrometrii elektronowego rezonansu magnetycznego (EPR) z użyciem rodników $DPPH^{\cdot}$ do oceny stabilności przeciwutleniającej badanych olejów wzbogaconych w etanolowo-wodne ekstrakty roślinne. Natomiast zastosowanie metody pułapkowania spinowego EPR wymaga dalszych badań.

Spis literatury

Ahene R.E., Odamtten G.T., Owusu E., 2011. Fungal and bacterial contaminants of six spices and spice products in Ghana. African Journal of Environmental Science and Technology, 5(9), 633-640.

Capecka E., Mareczek A., Leja M., 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. Food Chemistry, 93, 223-226.

Choe E., Min D.B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5(4), 169-186.

Drozdowski B., 1994. Lipidy (red. Z. Sikorski). Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 167–233.

Drozdowski D., 2007. Chemia żywności. Tom 2: Sacharydy, lipidy, białka (red. Z. Sikorski), Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 112-151.

Folch J., Lees M., Stanley G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226, 497-509.

Gawlik-Dziki U., 2004. Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(41), S29-40.

Gliszczyńska-Świgło A., Sikorska E., Khmelinskii I., Sikorski M., 2007. Tocopherol content in edible plant oils. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 57, 157-161.

Groenewald M., Boekhout T., Neuvéglise C., Gaillardin C., Piet W. M. van Dijck P.W.M., Wyss M., 2014. *Yarrowia lipolytica*: Safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential, Critical Reviews in Microbiology, 40(3), 187-206.

Gumul D., Korus J., Achremowicz B., 2005. Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(45), S41-48.

Houde A., Kademi A., Leblanc D., 2004. Lipases and their industrial applications. Applied Biochemistry and Biotechnology, 118(1–3), 155–170.

Huyut Z., Beydemir S., 2 and İlhami Gülçin I., 2017. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. Biochemistry Research International, Volume 2017, Article ID 7616791, 10 page.

Kopeć A., Nowacka E., Piątkowska E., Leszczyńska T., 2011. Charakterystyka i prozdrowotne właściwości steroli roślinnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3(76), 5-14.

Kruszewski B., Fąfara P., Ratusz K., Obiedziński M., 2013. Ocena pojemności przeciwutleniającej i stabilności oksydatywnej wybranych olejów roślinnych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 572, 43-52.

Nogala-Kałucka M., Szulczewska A., Kupczyk B., 2003. Zmiany zawartości tokotrienoli i tokoferoli w czerwonym oleju palmowym i tłuszczach roślinnych produkowanych z jego udziałem. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 36, 375-380.

Onacik-Gür S., Żbikowska A., Marciniak-Łukasiak K., 2014. Pochodzenie, metody otrzymywania i trwałość oksydacyjna tłuszczów wysokooleinowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 6(97), 18-28.

Ostrowska-Ligęza E., Wirkowska M., Kowalski B., 2009. Termokinetyczna analiza tłuszczu z kukurydzy z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1(62), 128-139.

Ozawa T., 1970. Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. Journal of Thermal Analysis, 2(3), 301-324.

Papadimitriou V., Sotiroudis T.G., Xenakis A., Sofikiti N., Stavyiannoudaki V., Chaniotakis N.A., 2006. Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. Analytica Chimica Acta, 573-574, 453-458.

Penumetcha M., Khan N., Parthasarathy S., 2000. Dietary oxidised fatty acids: an atherogenic risk? Journal of Lipids Research, 41, 1473-1480.

Reddy V., Urooj A., Kumar A., 2005. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. Food Chemistry, 90(1), 317-321.

Szajdek A., Borowska J., 2004. Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(41), S5-28.

Trojáková L., Réblová Z., Pokorný J., 2000. Determination of oxidative stability in mixtures of edible Oil with nonlipidic substances. Czech Journal of Food Sciences, 199(1), 19–23.

Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H., Raneva V.G., 1999. Antioxidant activity and mechanisms of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64, 59-66.

Żbikowska A., Rutkowska J., 2008. Skład kwasów tłuszczowych a jakość i przydatność technologiczna tłuszczów do pieczenia. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(59), 90-95.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Pracą naukową zajmuję się od października 2000 roku, od kiedy rozpoczęłam studia doktoranckie w Katedrze Chemii Wydziału Technologii Żywności (obecnie Wydziału Nauk o Żywności) SGGW w Warszawie, pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Zygmunta Kazimierczuka. Pracę doktorską pt. „Synteza i badanie właściwości biologicznych i fizykochemicznych wybranych fluorowcopochodnych benzimidazolu i puryny" obroniłam 24.11.2004 roku, uzyskując stopień doktora nauk farmaceutycznych. Po uzyskaniu stopnia doktora w obszarze moich zainteresowań była tematyka związana z badaniem aktywności biologicznej związków otrzymanych w drodze syntezy organicznej oraz z surowców pochodzenia roślinnego, które mogłyby znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym. Mój dotychczasowy dorobek naukowy dotyczył następujących bloków tematycznych:

- synteza i badanie właściwości biologicznych wybranych fluorowcopochodnych benzimidazolu i puryny **(publikacje A1-A13, A15** i **D1** w **Zał. 4, poz. II)**,
- surowce zielarskie jako źródło związków biologicznie aktywnych **(publikacje A14, A17, A19, A20, D5, D9, D10, D11, D17, D20** i **D24** w **Zał. 4, poz. II)**,
- stabilność oksydacyjna tłuszczów naturalnych i po modyfikacji enzymatycznej **(publikacje A16, A18, A21, A22, D12, D15, D16** i **D21** w **Zał. 4, poz. II oraz publikacja I12a** w **Zał. 4, poz. III)**,
- związki niepożądane w żywności **(publikacje D7, D8, D14, D18, D19, D22** i **D23** w **Zał. 4, poz. II)**.

5.1. Synteza i badanie właściwości biologicznych wybranych fluorowcopochodnych benzimidazolu i puryny

Wiele związków, zawierających w swojej strukturze układ benzimidazolu lub puryny, zajmuje ważną pozycję w grupie chemicznych środków leczniczych. Wśród nich na szczególną uwagę zasługuje kladrybina, będąca skutecznym lekiem w leczeniu białaczek i chłoniaków, czy Ribomustin zaliczany do pierwszych, zawierających w swojej strukturze układ benzimidazolu leków przeciwnowotworowych [Belani i Saven, 2006]. Istnieją także biologicznie aktywne pochodne benzimidazolu, które nie zostały wprowadzone do lecznictwa, ale są często wykorzystywane w badaniach naukowych. Pojawiająca się oporność na wiele dotychczas stosowanych leków oraz interesujące doniesienia, dotyczące aktywności fluorowcopochodnych benzimidazolu, stały się dla mnie inspiracją do otrzymania serii nowych pochodnych benzimidazolu i puryny. Po potwierdzeniu ich struktury metodami fizykochemicznymi zostały one zbadane pod kątem ich aktywności biologicznej.

Pierwszą grupę związków stanowiły zsyntetyzowane przeze mnie fluorowcopochodne benzimidazolu, zawierające grupę polifluoroalkilową oraz podstawioną grupę merkaptanową w pozycji 2 pierścienia imidazolowego. We współpracy z ośrodkami naukowymi w Meksyku, Finlandii, Czechach oraz w Polsce zostały przeprowadzone badania ich aktywności biologicznej. Wyniki tych badań zostały zamieszczone w **publikacjach A1**, **A6**, **A10**, **A13** i **A15 (Zał. 4, poz. II).** Wśród 15 pochodnych 2-trifluoro- i 2 pentafluoroetylobenzimidazolu, poddanych testom *in vitro* na komórkowych liniach raka piersi i prostaty oraz trzech liniach białaczkowych, najbardziej aktywnym związkiem, hamującym wszystkie badane linie komórkowe, okazał się 5,6-dichloro-2-

pentafluoroetylobenzimodazol (**publikacja A1** w **Zał. 4, poz. II**). Natomiast cztery inne pochodne benzimidazolu wykazały istotną cytotoksyczność w stosunku do linii komórkowych raka piersi i prostaty. Wszystkie pochodne z tej serii charakteryzowała również znaczna aktywność względem dwóch pierwotniaków pasożytniczych, wywołujących choroby przewodu pokarmowego u ludzi (*Giardia intestinalis* i *Entamoeba histolytica*) oraz jednego będącego przyczyną chorób narządów płciowych (*Trichomonas vaginalis*). Najsilniejsze działanie względem *G. intestinalis*, porównywalne z aktywnością albendazolu i około 20 razy silniejsze niż metronidazolu, dwóch znanych i stosowanych leków pasożytniczych, wykazały dwie pochodne benzimidazolu. Z kolei stężenie związku 4,6-dibromo-2-trifluorometylobenzimidazolu, w obecności którego dochodziło do zahamowania wzrostu *E. histolytica* o 50%, było siedmiokrotnie niższe niż metronidazolu, a 4,5,6,7-tertabromo-2-trifluorometylobenzimidazolu względem *T. vaginalis* 110 razy mniejsze w odniesieniu do tej samej substancji referencyjnej. Zaobserwowałam, że zwiększenie liczby atomów bromu w pierścieniu benzenu spowodowało wzrost aktywności badanych pochodnych względem *G. intestinalis* i *T. vaginalis*, ale nie w odniesieniu do pełzaka czerwonki, który nie zawiera tubuliny w błonach plazmatycznych. Zastąpienie podstawnika 2-trifluorometylowego 2-pentafluoroetylowym także w niewielkim stopniu zmieniło aktywność względem *E. histolytica*, ale znacznie zmniejszyło aktywność względem *T. vaginalis.* Z kolei, pochodne benzimidazolu, zawierające w pozycji 2 pierścienia imidazolowego podstawnik alkiloaminotiolowy, a w pozycjach 4 i 6 pierścienia benzenu atomy chloru, hamowały wzrost *G. intestinalis* silniej niż ich odpowiedniki z bromem (**publikacja A6** w **Zał. 4, poz. II**). Natomiast bromopochodne w porównaniu z chloropochodnymi były aktywniejsze wobec *T. vaginalis*. Pochodne te poddałam także testom przeciwbakteryjnym w Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej WUM. Wykazałam, że wystąpieniu takiej aktywności sprzyja obecność zarówno fluorowca, jak i podstawnika alkiloaminotiolowego w pozycji 2 pierścienia imidazolowego. Nie było natomiast istotnych różnic w działaniu między 4,6-dichloro- a 4,6-dibromopochodnymi. Związkami o najsilniejszym działaniu przeciwbakteryjnym, zdecydowanie większym od użytej substancji referencyjnej – nitrofurantoiny, okazały się pochodne zawierające w pozycji 2 pierścienia imidazolowego grupę 4-nitrobenzylotiolową. Związki te były silnie bakteriobójcze wobec badanych bakterii Gram-dodatnich. Fluorowcowane pochodne benzimidazolu, zawierające podstawnik polifluoroalkilowy lub grupy nitrobenzylotiolowe w pozycji 2 pierścienia imidazolowego, poddano także testom na hodowlach *Mycobacterium tuberculosis* (prątka gruźlicy odpowiedzialnego za klasyczną postać

gruźlicy płucnej) oraz *M. kansasii* i *M. avium* (prątków nietypowych, które mogą być przyczyną zakażeń z różną lokalizacją) (**publikacja A10** w **Zał. 4, poz. II**). Najbardziej aktywne okazały się pochodne benzimidazolu, zawierające podstawnik 3,5-dinitrobenzylowy w pozycji 2 układu heterocyklicznego oraz jeden lub dwa atomy fluorowca w pierścieniu benzenowym. Związki te były 8 razy aktywniejsze od swych strukturalnych analogów, posiadających podstawnik 2,4-dinitrobenzylowy. Różnica aktywności tych związków może wynikać z faktu, że grupy nitrowe w pozycjach 3 i 5 podstawnika benzylowego wykazują mniejszą tendencję do tworzenia wiązania wodorowego z atomem azotu N(1) układu benzimidazolu, a tym samym nie dochodzi do usztywnienia cząsteczki. Pochodne te były także aktywniejsze od tych zawierających w pozycji 2 pierścienia imidazolowego grupę polifluoroalkilową. Z kolei pochodne benzimidazolu, posiadające grupę polifluoroalkilową, były aktywne względem prątka gruźlicy. Silniejsze hamowanie wzrostu tej bakterii wykazywały związki benzimidazolu, zawierające grupę heptafluoropropylową lub nonafluorobutanową oraz dwa atomy chloru zamiast bromu.

Trzy pochodne tetrabrombenzimidazolu, zawierające w pozycji 2 pierścienia imidazolowego podstawnik trifluorometylowy, nonafluorobutylowy i nonadekafluorononylowy, przetestowano także pod względem ich aktywności wobec pasożytniczego pierwotniaka *Pentatrichomonas hominis* (rzęsistek jelitowy) (**publikacja A13** w **Zał. 4, poz. II**). Wiciowiec ten jest odporny na wiele środków dezynfekcyjnych i preparatów przeciwpierwotniakowych. Inwazje tego wiciowca są szczególnie niebezpieczne dla noworodków i dzieci poniżej 5 roku życia. Stwierdzono, że 4,5,6,7-tetrabromo-2-nonafluorobutylo-1*H*-benzimidazol był najskuteczniejszą testowaną pochodną benzimidazolu. Użyty w najwyższym stężeniu (24,2 μg/ml) po upływie 72 h inkubacji spowodował obniżenie liczebności rzęsistka do 44,3% w stosunku do kontroli przyjętej za 100%. Z kolei 5-karboksy-2-(4-nitrobenzylotio)-1*H*-benzimidazol, 5,6-dichloro- oraz 4,6-dichloro-2-(4-nitrobenzylotio)-1*H*-benzimidazol hamowały wzrost innego chorobotwórczego pierwotniaka, powodującego choroby układu pokarmowego człowieka i zwierząt – *Cryptosporidium parvum* (**publikacja A15** w **Zał. 4, poz. II**).

Drugą grupę związków zsyntetyzowanych przez mnie stanowiły pochodne benzimidazolu, zawierające atomy bromu w pierścieniu benzenowym, grupę metylową przy atomie azotu N(1) i różne podstawniki w pozycji 2 pierścienia imidazolowego oraz pochodne zawierające atomy bromu przy każdym atomie węgla tego układu heterocyklicznego i różne podstawniki przy atomie azotu N(1). We współpracy z Katedrą

Chemii Biologicznej Uniwersytetu w Padwie oznaczono ich właściwości inhibitorowe w odniesieniu do kinazy kazeinowej 1 (CK-1) oraz kinazy kazeinowej 2 (CK-2). Zaburzenie aktywności tych kinaz prowadzi m.in. do powstawania nowotworów. Zrozumienie mechanizmu katalitycznego ich działania, a także sposobu ich regulacji wymaga stosowania swoistych inhibitorów, którymi w większości przypadków są właśnie pochodne benzimidazolu i benzotriazolu. Najbardziej aktywne względem kinazy CK-2 okazały się pochodne bromowane w części benzenowej (**publikacja A6** w **Zał. 4, poz. II**). Ich zdolność hamowania tego enzymu rosła wraz ze wzrostem liczby atomów bromu w pierścieniu benzenu. Atom bromu był bardziej preferowanym fluorowcem niż atom chloru, szczególnie, gdy w strukturze związku zamiast czterech atomów bromu występowały dwa atomy chloru. Zastąpienie atomu wodoru w pozycji N(1) grupą alkilową pierścienia imidazolowego nie poprawiło inhibitorowej aktywności nowo otrzymanych pochodnych. Nie zauważono również wyraźnych różnic w hamowaniu aktywności kinazy CK-2 przez związki zawierające przy węglu C(2) atom fluorowca, siarki, bądź grupę polifluoroalkilową. Związki te natomiast były aktywne w odniesieniu do kinazy CK-1. Wśród zsyntetyzowanych przez mnie tetrabromobenzimidazoli, w których atom węgla C(2) pierścienia imidazolowego był połączony z podstawionym atomem tlenu, siarki i azotu oraz ich pochodnych, posiadających dodatkowo podstawnik przy atomie azotu N(1), najbardziej skutecznym inhibitorem kinazy CK-2 okazał się 2-dimetyloamino-4,5,6,7-tetrabromo-1*H*-benzimidazol (**publikacje A8** i **A7** w **Zał. 4, poz. II**).

Trzecią grupę otrzymanych przeze mnie związków stanowiły nukleozydy, w których rolę zasady heterocyklicznej pełniły puryny lub pochodne benzimidazolu, zsyntetyzowane w pierwszych etapach moich badań. Część z tych związków otrzymałam podczas 3-miesięcznego pobytu w Laboratorium Chemii Bioorganicznej i Organicznej Uniwersytetu w Osnabrück (**publikacje A9** i **A12** w **Zał. 4, poz. II**). Na drodze stereospecyficznej glikozylacji modyfikowanych pochodnych benzimidazolu i puryny z pentafuranozą, powstały izolowane metodą chromatografii kolumnowej, produkty szeregu *D* i *L*. Pochodna zawierająca podstawnik 2,4-dinitrobenzylowy okazała się aktywna względem *G. intestinalis*. Jednak, nie zaobserwowano selektywnej aktywności przeciw badanym wirusom RNA w przypadku większość zsyntetyzowanych pochodnych, ale były one cytotoksyczne wobec testowanych linii komórkowych. Mogą one być prekursorami w poszukiwaniu efektywniejszych środków przeciwwirusowych wśród pochodnych o zbliżonej budowie.

Podjęłam także próbę syntezy rybonukleozydów, wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym (**publikacje A4** i **A1** w **Zał. 4, poz. II**). Technikę tę często stosuje się w preparatywnej chemii organicznej, lecz nie w chemii pochodnych kwasów nukleinowych [Bogdał, 1999; Loupy, 1998]. Produkty otrzymane z zastosowaniem mikrofal, w układach bezrozpuszczalnikowych, są często identyczne z uzyskanymi przy użyciu ogrzewania konwencjonalnego i mogą stanowić „zieloną" alternatywę dla procesów klasycznych. Do przetestowania tej techniki wybrałam standardową metodę, używaną do syntezy nukleozydów, polegającą na stapianiu zasady heterocyklicznej z blokowaną pochodną rybozy w odpowiednio dobranej temperaturze i pod zmniejszonym ciśnieniem (reakcja tzw. fuzji). Analiza HPLC wykazała, że obraz chromatograficzny reakcji prowadzonych z użyciem promieniowania mikrofalowego nie różnił się istotnie od obrazu reakcji prowadzonych przy użyciu konwencjonalnego ogrzewania, a wydajności otrzymanych produktów były porównywalne (**publikacja A1** w **Zał. 4, poz. II**).

Opracowałam także, w oparciu o reakcję Mitsunobu, nowy sposób syntezy kladrybiny oraz 5'-*O*-estrów 2'-deoksyadenozyny i kladrybiny z chlorambucylem (lekiem przeciwbiałaczkowym) i kwasem liponowym (naturalnym, endogennym przeciwutleniaczem i induktorem apoptozy w komórkach nowotworowych) jako potencjalnych „proleków" (**publikacje D1** i **A11** w **Zał. 4, poz. II**). Związki takie są niezwykle użyteczne w sytuacji, gdy właściwy lek jest wrażliwy na kwaśne środowisko żołądka, słabo przenika przez błony komórkowe czy charakteryzuje się krótkim okresem biologicznego półtrwania. We współpracy z Instytutem Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie została zbadana podatność otrzymanych estrów na hydrolizę enzymatyczną. Wykazano, że estry te były stabilne w roztworach wodnych przy pH 7,4 i temperaturze 37°C, ale ulegały spontanicznej hydrolizie w obecności esterazy z wątroby wieprzowej oraz osocza krwi zdrowego dawcy. Zawartość niezwiązanego nukleozydu dla estru kladrybina-kwas liponowy, po jednogodzinnej inkubacji z esterazą wieprzową, wynosiła 84,4%, a w przypadku estru z chlorambucylem 87,6%, ale po czterogodzinnej inkubacji, w odniesieniu do całkowitej wyjściowej zawartości nukleozydu w estrze. Natomiast nie ester kladrybiny z chlorambucylem, a jego wyjściowy analog okazał się w badaniach *in vitro* być bardziej przydatny jako „prolek".

Kladrybina jest lekiem z wyboru u chorych na białaczkę włochatokomórkową oraz jest stosowana w leczeniu przewlekłej białaczki limfatycznej. Doustne jej podawanie zostało poprzedzone badaniami trwałości w środowisku kwaśnym [Tarasiuk i wsp., 1994]. Przy pH=1 rozpada się do 2-chloroadeniny i 2-deoksyrybozy. W środowisku obojętnym jest

całkowicie stabilna. Natomiast moje badania dotyczyły jej zachowania w środowisku alkalicznym (pH=12-14, temperatura 37-80°C). Badania te przeprowadziłam w Katedrze Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego AM w Warszawie z wykorzystaniem HPLC (**publikacja A3** w **Zał. 4, poz. II**). Stwierdziłam, że kladrybina ulega rozpadowi w pH=12 dopiero w 80°C i po 6 h ogrzewania. W tych samych warunkach, ale w pH=13, następował już 40% jej rozpad. Całkowitej hydrolizie kladrybina uległa w pH=14 i 80°C. Po wyizolowaniu z mieszaniny reakcyjnej produktów jej rozpadu i zidentyfikowaniu ich metodami spektroskopowymi okazało się, że są to dwa siostrzane nukleozydy (2'-deoksyizoguanozyna i 2'-deoksyguanozyna). Pierwszy z nich powstaje w wyniku ataku anionu hydroksylowego na cząsteczkę kladrybiny, a drugi jest wynikiem interesującego, ale nieczęstego w chemii puryn przegrupowania.

Spis literatury

Belani R., Saven A., 2006. Cladribine in hairy cell leukemia. Hematology Oncology Clinics of North America, 20(5), 1109-23.

Bogdał W., 1999. Promieniowanie mikrofalowe: zastosowanie w syntezie organicznej. Wiadomości chemiczne, 53(1-2), 65-93.

Loupy A., Petit A., Hamelin J., Texier-Boullet F., Jacquault P., Mathe D., 1998. New solvent-free organic synthesis using focused microwaves. Synthesis, 1213-1234.

Tarasiuk A., Skierski J., Kazimierczuk Z.,1994. Stability of 2-chloro-2-deoxyadenoisne at various pH and temperature. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 42(1),13-5.

5.2. Surowce zielarskie jako źródło związków biologicznie aktywnych

Po uzyskaniu stopnia doktora w obszarze moich zainteresowań znalazła się także żywność pochodzenia roślinnego, szczególnie rośliny przyprawowe. Odgrywają one istotną rolę w żywieniu człowieka, ponieważ stanowią źródło metabolitów wtórnych o specyficznym oddziaływaniu na procesy fizjologiczne [Złotek i Gawlik-Dziki, 2007]. Są dodawane do żywności w stanie świeżym lub po wysuszeniu, w celu nadania jej określonych właściwości smakowo-zapachowych, zmodyfikowania lub uzupełnienia istniejącej już smakowitości czy też odtworzenia smakowitości utraconej podczas procesu przetwórczego [Makała, 2010]. Świeże surowce przyprawowe są jednak nietrwałe ze względu na wysoką zawartość wody i destrukcyjne działanie wielu obecnych w nich enzymów [Śledź i Witrowa-Rajchert, 2012]. Natomiast rośliny przyprawowe wysuszone są często źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych, w tym bakterii przetrwalnikujących z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium* (**publikacja D5** w **Zał. 4, poz. II**). Poważnym problemem

są także mykotoksyny, zaliczane do grupy potencjalnych mutagenów i kancerogenów. Najwyższe ich stężenie jest obserwowane po zbiorze surowców roślinnych oraz podczas przechowywania w warunkach wysokiej wilgotności i temperatury. Dlatego ogranicza się ich stosowanie w formie pierwotnej, a coraz częściej są używane jako olejki eteryczne lub ekstrakty. Olejki eteryczne są wieloskładnikowymi mieszaninami związków chemicznych, należących głównie do mono- i seskwiterpenowych węglowodorów oraz ich tlenowych pochodnych (**publikacja D24** w **Zał. 4, poz. II**). Wykazując szerokie spektrum właściwości biologicznych, m.in. przeciwbakteryjnych, są stosowane w medycynie niekonwencjonalnej oraz do konserwowania i polepszania walorów zapachowych żywności. Dużym zainteresowaniem cieszą się także badania nad „aktywnymi opakowaniami", zawierającymi olejki eteryczne.

Zawartość poszczególnych związków chemicznych w olejkach jest zmienna i zależy od gatunku, odmiany i części rośliny, z której został on pozyskany, a także od warunków środowiskowych jej wzrostu i metody izolacji (**publikacje D24** i **D20** w **Zał. 4, poz. II**). W kręgu moich zainteresowań badawczych znalazło się kilka roślin przyprawowych, ale szczególną uwagę poświęciłam owocom kolendry. Są one bogate w olejek eteryczny, flawonoidy, fitosterole i kwasy tłuszczowe, w tym kwas petroselinowy, który ma wiele przemysłowych zastosowań (**publikacja D10** w **Zał. 4, poz. II**). Olejek eteryczny z kolendry jest znany ze swoich właściwości przeciwbakteryjnych wobec wybranych drobnoustrojów patogennych i saprofitycznych. Natomiast ja przeprowadziłam badania, mające na celu określenie jego wpływu na wzrost wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego, w celu oceny jego przydatności jako dodatku do przetworów mlecznych oraz produktów mięsnych poddanych fermentacji z udziałem bakterii kwasu mlekowego (**publikacje D24** i **D17** w **Zał. 4, poz. II**). Oznaczono aktywność handlowego olejku eterycznego z kolendry oraz olejku wyizolowanego z nasion kolendry metodą destylacji z parą wodną, z zastosowaniem zestawu do destylacji prostej oraz aparatu Derynga, wobec wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus*. Po przeanalizowaniu wartości średnich stref zahamowania wzrostu badanych szczepów stwierdzono, że zmieniały się one w zależności od rodzaju i stężenia zastosowanego olejku oraz od rodzaju użytego szczepu bakteryjnego. Im wyższe stężenie olejku z kolendry zastosowano, tym obserwowano większą strefę zahamowania wzrostu testowanych bakterii kwasu mlekowego. Wielkość tych stref nie była jednak duża i w przypadku handlowego olejku mieściła się w przedziale 0,1-6,3 mm, a w przypadku olejków otrzymanych na drodze destylacji z parą wodną nie przekroczyła 5,8 mm. Wszystkie badane szczepy bakterii kwasu

mlekowego były wrażliwe na działanie olejków eterycznych z kolendry, dodanych do podłoża, w formie roztworów, w zakresie stężeń 50-100%. Natomiast olejki te użyte w stężeniu poniżej 50% działały tylko na wybrane szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. Zaobserwowano także, że testowane szczepy wykazywały wyższą wrażliwość wobec olejku eterycznego uzyskanego z użyciem aparatu Derynga. Może to wynikać z różnic w składzie chemicznym otrzymanych olejków, określonym metodą GC/MS. Olejek eteryczny z kolendry otrzymany z użyciem aparatu Derynga charakteryzował się wyższą zawartością linalolu, octanu geranylu i *p*-cymenu. Związków wykazujących działanie przeciwbakteryjne (**publikacja D24** w **Zał. 4, poz. II**). Przy założeniu, że strefy zahamowania wzrostu szczepów bakteryjnych poniżej 6 mm wskazują na brak ich wrażliwości [Elgayyar i wsp., 2001], stwierdzono, że badane olejki z kolendry nadają się do zastosowania w produkcji wyrobów z udziałem pałeczek bakterii mlekowych. Umożliwi to poszerzenie asortymentu produktów mleczarskich o dodatkowe smaki lub może wpłynąć na zwiększenie wartości odżywczej produktów.

Określono także aktywność eterycznego olejku i ekstraktów z majeranku w odniesieniu do wybranych szczepów bakterii, drożdży oraz pierwotniaka *Trichomonas hominis*, występującego powszechnie w przewodzie pokarmowym człowieka (**publikacja A14** w **Zał. 4, poz. II**). Olejek eteryczny otrzymałam ze świeżego ziela majeranku uprawianego w Polsce, a ekstrakty z użyciem *n*-heksanu w aparacie Soxhleta oraz 70% roztworu etanolu. Ekstrakt z majeranku otrzymany w aparacie Soxhleta wykazał najsilniejsze właściwości przeciwbakteryjne. Zahamował on wzrost 8 z 9 badanych gronkowców, gdyż w jego składzie chemicznym był obecny karwakrol – substancja o udokumentowanym działaniu bakteriostatycznym. Z kolei etanolowe ekstrakty bogate w terpinen-4-ol hamowały wzrost testowanych drożdży. Natomiast działanie bójcze względem pierwotniaka wykazał ekstrakt etanolowy zawierający amoniak. Zredukował on jego liczebność o 50%, przy stężeniu 0,017%.

W kolejnych publikacjach porównałam zawartość polifenoli ogółem i aktywność przeciwutleniającą otrzymanych przeze mnie etanolowo-wodnych ekstraktów z roślin przyprawowych należących do rodziny *Lamiaceae, Apiaceae, Urticaceae*. Wśród ekstraktów z rodziny jasnotowatych największą zawartością polifenoli ogółem charakteryzowały się etanolowo-wodne ekstrakty z oregano i tymianku (**publikacja D9** w **Zał. 4, poz. II**). Wyższa zawartość polifenoli ogółem przełożyła się także na wyższą aktywność przeciwutleniającą tych ekstraktów, wyrażoną zdolnością do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ i kationorodników $ABTS^{\cdot+}$. Metoda hierarchicznej analizy skupień,

przedstawiona w postaci dendrogramu, uwidoczniła także przynależność badanych ekstraktów do dwóch grup, charakteryzujących się zbliżonymi właściwościami przeciwutleniającymi. Pierwszą z nich stanowiły ekstrakty z szałwii, bazylii i mięty, odznaczające się niską zawartością polifenoli ogółem i aktywnością przeciwutleniającą. Do drugiej grupy należały ekstrakty z majeranku, tymianku, oregano i cząbru o wyższej zdolności do dezaktywacji wolnych rodników. Określiłam również zawartość polifenoli ogółem i aktywność przeciwutleniającą etanolowo-wodnych ekstraktów z tymianku, oregano, szałwii i mięty po 2 i 6 latach ich przechowywania w temperaturze -18°C (**publikacja D11** w **Zał. 4, poz. II**). Stwierdziłam, że po 2 latach przechowywania badanych ekstraktów najmniejsze zmiany zawartości związków fenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej wykazały ekstrakty z szałwii i mięty. Po 6 latach przechowywania w ekstraktach z tymianku i mięty zawartość polifenoli była niższa o 17% w porównaniu z próbkami wyjściowymi, a w przypadku ekstraktów z oregano i szałwii o 10%. Aktywność przeciwutleniająca tych ekstraktów w dalszym ciągu pozostała na wysokim poziomie. Z kolei, wśród ekstraktów otrzymanych z rozmarynu, melisy lekarskiej, hyzopu, pokrzywy, kminu rzymskiego najwyższą zawartością polifenoli ogółem oraz aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się ekstrakty z melisy, hyzopu i rozmarynu. Odnotowałam dobrą korelację pomiędzy zawartością polifenoli ogółem w tych ekstraktach a zdolnością do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$, kationorodników $ABTS^{\cdot+}$ oraz zdolnością do redukowania jonów żelaza. Właściwość tę wykorzystuje się w przemyśle spożywczym, aby ograniczać psucie żywności oraz wpływać na nią stabilizująco. Na podstawie badań przeprowadzonych z użyciem 17 wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*, dziewięć było wrażliwych na działanie w/w ekstraktów (**publikacja A19** w **Zał. 4, poz. II**). Ekstrakty z pokrzywy i kminu rzymskiego były aktywne wobec dwóch szczepów bakterii kwasu mlekowego, ekstrakty z hyzopu względem trzech szczepów, a ekstrakty z melisy wobec czterech szczepów bakterii mlekowych. Najbardziej aktywny wobec testowanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej był ekstrakt z rozmarynu, ale wielkość stref zahamowania wzrostu tych szczepów nie przekroczyła 2 mm i była mniejsza od tych uzyskanych w przypadku olejku z kolendry. Stosując te ekstrakty w produktach mlecznych, można spodziewać się ich synergistycznego działania z bakteriami fermentacji mlekowej wobec mikroflory zanieczyszczającej lub patogennej. W połączeniu z aktywnością przeciwutleniającą tych ekstraktów może to stanowić podstawę do ich wykorzystania w celu przedłużenia trwałości produktów mlecznych, a nawet zwiększenia ich korzystnego oddziaływania na organizm człowieka.

Aktywność przeciwutleniająca otrzymanych z surowców roślinnych ekstraktów jest uwarunkowana ich składem chemicznym. Skład ten zależy od gatunku surowca, odmiany oraz sposobu jego ekstrakcji i użytych rozpuszczalników organicznych (**publikacja A20** w **Zał. 4, poz. II**). Na podstawie przeprowadzonych badań wykazałam, że otrzymane przeze mnie etanolowo-wodne ekstrakty z rozmarynu, oregano, tymianku i mięty pieprzowej charakteryzowały się wyższą zawartością polifenoli niż ich metanolowo-wodne odpowiedniki. We wszystkich badanych metodą HPLC ekstraktach, dominującymi kwasami fenolowymi były kwas rozmarynowy i kwas kawowy. Oprócz kwasów fenolowych były także obecne odpowiednie flawony i flawanony, zarówno w formie wolnej, jak i glikozydów. W wyższym stężeniu występowały one w etanolowo-wodnych ekstraktach z mięty pieprzowej. Z kolei analiza GC/MS wykazała obecność tymolu, karwakrolu, borneolu, *α*-terpineolu i kamfory – związków, będących głównymi składnikami olejków eterycznych wykazujących działanie przeciwbakteryjne. Tylko metanolowo-wodne ekstrakty z tymianku zawierały eugenol, a z szałwii - ledol, wykazujący działanie przeciwutleniające. Tylko w ekstraktach z mięty pieprzowej zidentyfikowano fitol – nienasycony alkohol diterpenowy aktywny względem *Staphylococcus aureus*. Obecność związków fenolowych, takich jak karwakrol i tymol, w składzie chemicznym metanolowo-wodnego ekstraktu z tymianku oraz ich ewentualne synergistyczne oddziaływanie z innymi zidentyfikowanymi substancjami czynnymi, mogły wpłynąć na jego wyraźną aktywność względem badanych szczepów bakteryjnych. Jednak to ekstrakty z rozmarynu cechowały się najszerszym spektrum działania wobec testowanych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Były one także aktywne wobec bakterii zanieczyszczającej żywność - *Listerii monocytogenes*. Przeprowadzone badania wykazały również, że wrażliwość badanych szczepów zależała od rodzaju i stężenia użytego ekstraktu oraz była zróżnicowana w obrębie jednego gatunku. Gram-dodatnie bakterie były bardziej wrażliwe na działanie użytych ekstraktów niż Gram-ujemne z powodu różnicy, wynikającej z budowy ich ściany komórkowej. W przypadku wielu badanych szczepów różnice ich wrażliwości wobec dwóch etanolowo-wodnych i metanolowo-wodnych ekstraktów nie były istotne statystycznie. Może to stanowić przesłankę do stosowania ekstraktów otrzymanych przy użyciu rozpuszczalników bardziej przyjaznych środowisku, jako naturalnych środków przeciwbakteryjnych.

Surowce roślinne mogą również zostać wykorzystane jako biokatalizatory w reakcjach chemicznych, takich jak redukcja związków karbonylowych czy hydroliza estrów. Mogą one stanowić alternatywę dla drożdży piekarskich w asymetrycznej syntezie

chiralnych alkoholi drugorzędowych. Zastosowanie całych komórek roślinnych, np. z korzenia marchwi w redukcji ketonów alifatycznych, alifatyczno-aromatycznych i cyklicznych, stanowi tanią, bardzo skuteczną, przebiegającą z dobrą wydajnością, ale przede wszystkim selektywną metodę otrzymywania produktów o konfiguracji *S* [Kołodziejska i wsp., 2014]. Stosując dojrzały korzeń marchwi, selera i buraka jako źródła enzymów, przeprowadzone zostały w naszym laboratorium reakcje redukcji wybranego ketonu do odpowiedniego allilowego alkoholu (**publikacja A17** w **Zał. 4, poz. II**). Bioredukcja ta prowadziła do otrzymania określonego enancjomeru zgodnie z regułą Preloga. Drugorzędowy alkohol o konfiguracji *S* został otrzymany z wydajnością 96% w obecności całych komórek marchwi, 78% wydajnością wobec komórek selera i 71% wydajnością wobec komórek buraka. Warto podkreślić, że te reakcje przebiegały w izooktanie, gdyż przeprowadzenie ich w środowisku rozpuszczalników polarnych zakończyło się niepowodzeniem. Zachęcające wyniki mogą stwarzać nowe możliwości redukcji *α,β*-nienasyconych związków karbonylowych bez udziału organicznych reduktorów, a tym samym otrzymywania alkoholi jako chiralnych bloków budulcowych wielu związków biologicznie czynnych.

Spis literatury

Elgayyar M., Draughon F.A., Golden D.A., Mount J.R., 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. Journal of Food Protection, 64(7), 1019-1024.

Kołodziejska R., Karczmarska-Wódzka A., Tafelska-Kaczmarek A., Studzińska R., Wróblewski M., Augustyńska B., 2014. Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Dehydrogenazy w reakcji redukcji – część I. Wiadomości Chemiczne, 68, 9-10.

Makała H., 2010. Przyprawy i ich ekstrakty w przetwórstwie mięsa. Przemysł Spożywczy, 64(3), 26-28.

Śledź M., Witrowa-Rajchert D., 2012. Składniki biologicznie czynne w suszonych ziołach – czy ciągle aktywne? Kosmos Problemy Nauk Biologicznych, 61(2), 319-329.

Złotek U., Gawlik-Dziki U., 2007. Wpływ kwaśnej hydrolizy na właściwości przeciwutleniające alkoholowych ekstraktów wybranych przypraw. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 5(54), 329-336.

5.3. Stabilność oksydacyjna tłuszczów naturalnych i po modyfikacji enzymatycznej

Podczas mojego 6-miesięcznego pobytu w Leuven realizowałam projekt badawczy, którego celem było zsyntetyzowanie analogu lipidu II, stanowiącego podstawową jednostkę budulcową peptydoglikanu. Odporność lipidów na utlenianie stała się tematem kolejnych moich badań. W wyniku utleniania tłuszczów, stanowiących składnik wielu produktów

spożywczych, powstają związki odpowiedzialne za ich zjełczały, niepożądany zapach i smak nieakceptowalny przez konsumentów. Jednym ze sposobów ograniczenia procesu utleniania tłuszczów jest stosowanie przeciwutleniaczy. Mechanizm ich działania jest zróżnicowany, ale większość z nich dezaktywuje wolne rodniki w pierwszym etapie zmian oksydacyjnych, zapobiegając lub hamując rozwój dalszych reakcji. Przeciwutleniacze syntetyczne wzbudzają wiele zastrzeżeń zarówno wśród lekarzy i dietetyków, jak i samych konsumentów, którzy preferując zdrowy styl życia, wybierają produkty zawierające w swoim składzie naturalne składniki. Dlatego dużo uwagi poświęca się surowcom pochodzenia roślinnego, które są źródłem związków o działaniu przeciwutleniającym.

W **publikacjach A24** i **D21** (**Zał. 4, poz. II**) oceniono stabilność przeciwutleniającą frakcji lipidowych, wyekstrahowanych z ciastek biszkoptowo-tłuszczowych bezpośrednio po ich wypieku oraz przechowywaniu przez 28 dni. Do ich przygotowania został użyty ekstrakt z zielonej herbaty, a bazę tłuszczową stanowiła margaryna (**publikacja A24** w **Zał. 4, poz. II**) oraz szortening z małą zawartością izomerów *trans* (**publikacja D21** w **Zał. 4, poz. II**). Zastosowane tłuszcze różniły się zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (3 razy mniej w szorteningu), co wpłynęło na ich podatność na utlenianie. W oparciu o test Rancimat stwierdzono, że próbka szorteningu charakteryzowała się dłuższym czasem indukcji, a tym samym wyższą stabilnością oksydacyjną. Zastosowanie syntetycznego przeciwutleniacza (BHA) i ekstraktu z zielonej herbaty w stężeniu 1% spowodowało spowolnienie zmian oksydacyjnych frakcji lipidowych wyekstrahowanych z ciastek, bez względu na rodzaj użytego w nim tłuszczu (**publikacja D21** w **Zał. 4, poz. II**). Niemniej jednak, najmniejszą zawartością pierwotnych i wtórnych produktów utleniania charakteryzowały się frakcje lipidowe wyodrębnione z przechowywanych przez 28 dni ciastek z dodatkiem syntetycznego przeciwutleniacza. Wzrost wartości liczby nadtlenkowej frakcji lipidowych z ciastek przygotowanych na bazie margaryny z użyciem ekstraktów z zielonej herbaty po 28 dniach ich przechowywania w porównaniu z próbkami bez dodatków, mógł być wynikiem prooksydatywnego działania naturalnego przeciwutleniacza. Z kolei niskie wartości liczby nadtlenkowej frakcji lipidowych z ciastek bez przeciwutleniacza wskazywały na szybkie przekształcenie pierwotnych produktów utleniania we wtórne produkty autooksydacji tłuszczu. Wartości liczb nadtlenkowych korelowały z tymi uzyskanymi w teście DSC.

W **publikacji A22** (**Zał. 4, poz. II**) określono także stabilność oksydacyjną tłuszczu wyekstrahowanego z ciastek zawierających dodatek płatków owsianych oraz wzbogaconych w ekstrakty z zielonej herbaty, nasiona czarnej porzeczki oraz ekstrakty z pokrzywy.

Ekstrakt z zielonej herbaty charakteryzował się najwyższą zawartością polifenoli ogółem i zdolnością do dezaktywacji rodników $DPPH^{\cdot}$ i kationorodników $ABTS^{\cdot+}$. Wykazano, że zawartość pierwotnych i wtórnych produktów utleniania w tłuszczu otrzymanym z ciastek zarówno po wypieku, jak i po ich 3 miesięcznym przechowywaniu była najniższa wówczas, gdy zawierały one dodatek zielonej herbaty w stężeniu 1%. Natomiast najmniej efektywny okazał się ekstrakt z pokrzywy. Użyte ekstrakty nie wykazały prooksydatywnego działania, natomiast charakteryzowały się większą odpornością na utlenianie badanego tłuszczu, poprzez wydłużenie czasu, w którym została zapoczątkowana reakcja rozkładu termoutleniającego (metoda DSC). Najwyższe wartości t_{on} i τ uzyskano w przypadku próbek wzbogaconych w 1% ekstrakt z zielonej herbaty oraz nasiona czarnej porzeczki użyte w stężeniu 1,5%, zarówno po wypieku ciastek, jak i ich przechowywaniu. Ciastka zawierające ekstrakty pochodzenia roślinnego charakteryzowały się także ciemniejszą barwą w porównaniu z odpowiednikami bez dodatków. Niższe wartości parametru L* uzyskano dla ciastek, do których dodano ekstrakty w najwyższym stężeniu (1,5%). Stwierdzono także, że ciastka zawierające 1% dodatek ekstraktu z zielonej herbaty były najbardziej akceptowane przez konsumentów ze względu na barwę, zapach i jakość ogólną. Najniższe oceny przypisano ciastkom wzbogaconym w ekstrakty z pokrzywy. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość użycia ekstraktu z zielonej herbaty, jako cennego składnika chroniącego tłuszcz przed utlenianiem i wpływającego korzystnie na jakość produktu finalnego.

Przeprowadziłam także, z zastosowaniem aparatu DSC, ocenę stabilności przeciwutleniającej oleju słonecznikowego tłoczonego na zimno, wzbogaconego w ekstrakty z przypraw (**publikacja D15** w **Zał. 4, poz. II**). Uzyskane przy sześciu szybkościach ogrzewania wartości t_{on} były najwyższe w przypadku oleju, zawierającego ekstrakty z tymianku, mięty oraz szałwii w stężeniu 0,01%. Gdy zastosowano wyższe stężenia ekstraktów z przypraw (0,04%), najwyższą stabilność wykazał olej wzbogacony w ekstrakt z tymianku. Obliczone parametry kinetyczne i wyznaczony czas indukcji pozwoliły na uszeregowanie dodanych do oleju ekstraktów w kolejności ich malejącej skuteczności: tymianek > mięta > szałwia > cząber > bazylia > oregano > BHA > majeranek. Stwierdzono, że odporność badanego oleju na utlenianie była najwyższa przy zastosowaniu ekstraktu z tymianku w obu użytych stężeniach. W **publikacji A21** (**Zał. 4, poz. II**) badanie stabilności oksydacyjnej tłuszczów wyekstrahowanych z kruchych ciastek z dodatkiem BHA oraz ekstraktów z tymianku i rozmarynu przeprowadzono z użyciem EPR. Bezpośrednio po wypieku ciastek, jak i podczas ich przechowywania najwyższą stabilnością

charakteryzował się tłuszcz wyodrębniony z ciastek wzbogaconych w ekstrakt z tymianku. Efektywność tego ekstraktu stanowi przesłankę do jego stosowania jako naturalnego przeciwutleniacza w produkcji wyrobów piekarskich.

Przeciwutleniacze są także dodawane do produktów mięsnych, aby hamować zmiany oksydacyjne w lipidach mięśniowych oraz przeciwdziałać zmianom barwy mięsa zarówno surowego, jak i poddanego obróbce termicznej (**publikacja I12a Zał. 4, poz. III**). W **publikacji D12** (**Zał. 4, poz. II**) oszacowano spektrofotometrycznie lipidową oksydację, będącą wynikiem powstawania aldehydu malonowego (TBA) w modelowym produkcie z mięsa wieprzowego, poddanego obróbce cieplnej i wzbogaconego w ekstrakty z szałwii, cząbru i bazylii. Te same ekstrakty dodano także do surowego farszu wołowego i oceniono zmiany parametrów jego barwy. Stwierdzono, że tylko ekstrakty z szałwii i cząbru obniżyły istotnie wartość wskaźnika TBA badanych produktów, zarówno poddanych obróbce termicznej, jak i przechowywanych przez 24 h w temperaturze chłodniczej. Wszystkie zastosowane ekstrakty działały stabilizująco na barwę przechowywanego w chłodni przez 72 h surowego farszu z mięsa wołowego, ale efekt ten był najsilniejszy w przypadku użycia ekstraktów z szałwii i cząbru.

Stabilność przeciwutleniająca tłuszczów może także ulegać zmianie, gdy zostają one poddane modyfikacjom w celu otrzymania produktów o określonej konsystencji, plastyczności lub formie krystalicznej, czy też o działaniu prozdrowotnym. Do modyfikacji zalicza się uwodornienie, frakcjonowanie lub przeestryfikowanie [Kondratowicz-Pietruszka, 2005]. Przeestryfikowanie oferuje najwięcej możliwości w otrzymywania lipidów o z góry założonym składzie i strukturze triacylogliceroli, bez zmiany naturalnej budowy występujących w nich kwasów tłuszczowych. Poza tym, nie towarzyszy temu procesowi powstawanie izomerów trans kwasów tłuszczowych, natomiast zostają zachowane inne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe. Przeestryfikowanie pozwala uzyskać tłuszcze o pożądanej temperaturze topnienia i zawartości fazy stałej, zachowujących właściwości szorteningów piekarskich, występujących w pożądanej formie polimorficznej. Przeestryfikowanie z udziałem enzymów lipolitycznych umożliwia łatwiejsze sterowanie tym procesem i przerwanie go na wybranym etapie [Balcao i Malcata, 1998; Pacheco i wsp., 2013]. Poza tym, jest to technologia praktycznie bez odpadów, prowadząca do otrzymania produktów o lepszych właściwościach żywieniowych i dietetycznych, do wykorzystania w przemyśle tłuszczowym lub cukierniczym. W badaniach przedstawionych w **publikacjach A18** i **A16** (**Zał. 4, poz. II**) przeestryfikowano enzymatycznie mieszaniny tłuszczu kurzego z SFO oraz smalcu z RSO w temperaturze 60°C w obecności preparatu

Lipozyme RM IM oraz Novozym 435. Surowce, wyjściową mieszaninę oraz tłuszcze, będące produktami reakcji przeestryfikowania, rozdzielono na frakcję triacylogliceroli oraz niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii kolumnowej. Zarówno w mieszaninie fizycznej oraz w produktach jej przeestryfikowania oznaczono liczbę kwasową i liczbę nadtlenkową metodą miareczkową, skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej, zawartość tokoferoli z użyciem HPLC i stabilność przeciwutleniającą metodą PDSC oraz Rancimat. Przeestryfikowanie mieszaniny wybranych tłuszczów spowodowało wzrost zawartości nadtlenków, wolnych kwasów tłuszczowych mono- i diacylogliceroli oraz zmniejszenie zawartości tokoferoli w stosunku do nieprzeestryfikowanych mieszanin o 70%. Potwierdzono także brak wyraźnych zmian w składzie kwasów tłuszczowych w mieszaninach przeestryfikowanych z udziałem Lipozymu RM IM w porównaniu ze składem kwasów tłuszczowych mieszanin wyjściowych oraz bardzo zbliżoną zawartość poszczególnych kwasów w pozycji *sn*-2. Mniejsza zawartość tokoferoli, a zwiększona frakcji nieacyloglicerolowej w uzyskanych po modyfikacjach produktach, mogła wpłynąć na zmniejszenie ich odporności na utlenianie. Tokoferole i tokotrienole są przeciwutleniaczami obecnymi w olejach roślinnych i w trakcie przeestryfikowania zawarte w strukturze chromanolu grupy -OH mogą ulec częściowej lub całkowitej estryfikacji z kwasami tłuszczowymi, tracąc właściwości przeciwutleniające, a tym samym wpływając na obniżenie stabilności oksydacyjnej produktu tłuszczowego, będącego wynikiem procesu przeestryfikowania. Zmienione czasy początku utleniania oraz obliczone parametry kinetyczne wykazały również, że TAG wyodrębnione z przeestryfikowanych mieszanin charakteryzowały się niższą stabilnością niż oznaczone w mieszaninach wyjściowych.

Lipozym RM IM został również użyty do syntezy tłuszczu stanowiącego substytut mleka ludzkiego (HMFS) na drodze acydolizy smalcu mieszaniną kwasów tłuszczowych (**publikacja D16** w **Zał. 4, poz. II**). Wydajność tej syntezy zależała głównie od etapu oczyszczania surowej masy poreakcyjnej. Uzyskiwane partie HMFS charakteryzowały się wyższymi wartościami liczb kwasowych i nadtlenkowych niż stosowane wyjściowe tłuszcze oraz słabszą odpornością na utlenianie. Wskazuje to na konieczność opracowania dokładniejszych metod rafinacji i stabilizacji przeciwutleniającej surowych HMFS.

Spis literatury

Balcao V.M., Malcata F.X., 1998. Lipase catalyzed modification of milkfat. Biotechnology Advances, 16(2), 309-341.

Kondratowicz-Pietruszka E., 2005. Charakterystyka polskiego rynku tłuszczów roślinnych. Zeszyty Naukowe Akademii Ekonomicznej w Krakowie, nr 689, Kraków.

Pacheco C., PallaC., 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. Journal of the American Oil Chemists' Society, 90(3), 391-400.

5.4. Związki niepożądane w żywności

Żywność jest źródłem niezbędnych składników odżywczych, ale też może być źródłem związków chemicznych o potencjalnym działaniu mutagennym i kancerogennym. Część z tych związków dostaje się do żywności ze skażonego środowiska. Inne powstają podczas niewłaściwego przechowywania produktów żywnościowych lub niewłaściwie przeprowadzonego procesu technologicznego, czy też kulinarnej obróbki termicznej (**publikacje D7** i **D8** w **Zał. 4, poz. II**). Od wielu lat furan pozostaje przedmiotem zainteresowania technologów żywności. Szczególnie wysoką jego zawartość obserwowano w kawie, sosach, zupach oraz w gotowych posiłkach dla niemowląt i małych dzieci (**publikacja D22** w **Zał. 4, poz. II**). W sosach sojowych oraz w hydrolizatach białek roślinnych dostępnych na rynku krajowym mogą także występować 3-chloropropan-1,2-diol oraz 2-chloropropan-1,3-diol. Związki te oraz ich estry należą do grupy tzw. zanieczyszczeń procesowych (**publikacja D14** w **Zał. 4, poz. II**). Powstają w procesach produkcyjnych olejów rafinowanych, frytek, chipsów, pieczywa, czyli w tych, w których stosuje się ogrzewanie, smażenie, pieczenie. Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 13 stycznia 2003 roku, maksymalny poziom zanieczyszczenia 3-chloropropano-1,2-diolem w hydrolizowanym białku roślinnym i sosie sojowym może wynosić do 0,02 mg/kg, co odpowiada 0,05 mg/kg produktu o 40-procentowej zawartości suchej masy. W **publikacji D18** (**Zał. 4, poz. II**) oznaczono metodą chromatografii gazowej zawartość tego związku i jego analogu (3-MCPD i 2-MCPD) oraz kwasu lewulinowego w sosach sojowych zakupionych w krajowych sklepach wielkopowierzchniowych oraz hydrolizatach białek roślinnych otrzymanych z hurtowni. Stwierdzono, że tylko 3 z 29 badanych próbek sosu sojowego zawierało 3-MPCD w ilości większej niż dopuszczalny przepisami limit. Natomiast każda próbka hydrolizatu zawierała 3-MPCD w ilościach przekraczających dopuszczalny limit oraz znaczące ilości 2-MCPD i kwasu lewulinowego. Zatem w procesie produkcji powinny one być pod szczególnym analitycznym nadzorem.

Bardzo ważnym aspektem jest także sposób żywienia, m. in. w odniesieniu do dzieci z zdiagnozowanymi zaburzeniami ze spektrum autyzmu (**publikacja D19** w **Zał. 4, poz. II**).

W leczeniu autyzmu wykorzystywana jest terapia behawioralna, kompleksowy program terapii i edukacji oraz leczenie farmakologiczne. Odpowiednie dostosowanie zaleceń dietetycznych do stanu zaawansowania choroby może również przyczynić się do zmniejszenia nasilenia objawów psychicznych i gastroenterologicznych autyzmu. W tym celu oceniono wartość odżywczą racji pokarmowych 50 dzieci z spektrum autyzmu, stosujących lub nie stosujących diety eliminacyjnej (bezglutenowej i bezmlecznej). Stwierdzono, że stosowanie diet eliminacyjnych u takich dzieci może wpływać na występowanie objawów ze strony przewodu pokarmowego (**publikacja D23** w **Zał. 4, poz. III**). Jednak u większości dzieci wzdęcia czy bóle brzucha ustąpiły, gdy wprowadzono dietę eliminującą. Wszelkie modyfikacje dietetyczne powinny być planowane i konsultowane w ramach specjalistycznego poradnictwa dietetycznego.

6. Podsumowanie pracy naukowo-badawczej

Zestawienie liczbowe oryginalnych prac twórczych

Lp.	Nazwa czasopisma	Ilość	IF[1)]	Punkty MNiSW	Nr publikacji w Załączniku 4 i Autoreferacie
Przed uzyskaniem stopnia doktora					
1.	Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (2002)	1	0,781	6* 15**	poz. II A1
2.	European Journal of Medicinal Chemistry (2002)	1	1,705	11* 40**	poz. II A2
3.	Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (2003)	1	0,813	6* 15**	poz. II A4
4	Pharmazie (2003)	1	0,696	6* 15**	poz. II A3
5.	Bioorganic and Medicinal Chemistry (2003)	1	2,185	16* 30**	poz. II A5
6.	European Journal of Pharmaceutical Sciences (2004)	1	1,949	10* 35**	poz. II A6
7.	Biochemical and Biophysical Research Communication (2004)	1	2,904	12* 25**	poz. II A7
SUMA ***przed uzyskaniem stopnia doktora***		**7**	**11,033**	**67* 175****	
8.	Journal of Medicinal Chemistry (2004)	1	5,076	18* 45**	poz. II A8
9.	Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (2005)	1	0,565	10* 15**	poz. II A9
10.	European Journal of Medicinal Chemistry (2005)	1	2,02	20* 40**	poz. II A10
11.	Anti-Cancer Drugs (2007)	1	2,357	20* 25**	poz. II A11

12.	Arkivoc (2009	1	1,090	15* 20**	poz. II A12
13.	Acta Parasitologica (2009)	1	1,070	10* 20**	poz. II A13
14.	Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus (2010)	1	0,547	9* 20**	poz. II A14
15.	Parasitology Research (2011)	1	2,149	25* 30**	poz. II A15
16.	Journal of Food Science (2012)	1	1,775	35* 30**	**H7**; poz. II B
17.	Rivista Italiana delle Sostanze Grasse (2013)	1	0,396	15* 15**	**H5**; poz. II B
18.	Journal of Oleo Science (2013)	2	2x1,201	2x25* 2x25**	poz. II A16 i A18
19.	Tetrahedron Letters (2013)	1	2,391	25* 25**	poz. II A17
20.	Żywność. Nauka. Technologia. Jakość (2013)	1	0,311	15* 15**	**H4**; poz. II B
21.	Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (2014)	1	2,042	25* 25**	**H3**; poz. II B
22.	Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (2018)	1	$2{,}209_{(2017)}$	20* 20**	poz. II A22
23.	Chemical Papers (2015)	1	1,326	20* 20**	**H8**; poz. II B
24.	Chemical Papers (2018)	1	$0{,}963_{(2017)}$	20* 20**	**H6**; poz. II B
25.	CyTA-Journal of Food (2015)	1	0,769	20* 20**	poz. II A19
26.	Acta Poloniae Pharmaceutica (2015)	1	0,87	15* 15**	poz. II A20
27.	Nukleonika (2015)	1	0,546	15* 15**	poz. II A21
28.	Food Chemistry (2016)	1	4,529	40* 40**	**H2**; poz. II B
29.	Journal of the American Oil Chemists' Society (2017)	1	1,601	25* 30**	**H1**; poz. II B
30.	Applied Sciences (2019)	1	$1{,}689_{(2017)}$	25**	poz. II A23
31.	Journal of Food Science and Technology – Mysore (2019)	1	$1{,}797_{(2017)}$	35**	poz. II A24
32.	Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research (2005)	1		6* 15**	poz. II D1
33.	Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego (2006)	1		4* 6**	poz. II D2
34.	Gospodarka Mięsna (2006)	1		0* 7**	poz. III I12a
35.	Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego (2007)	1		4* 6**	poz. II D3
36.	Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego (2008)	1		4* 6**	poz. II D4
37.	Przemysł Spożywczy (2010)	2		2x6* 2x12**	poz. II D5 i D6
38.	Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego (2011)	2		2x5* 2x6**	poz. II D7 i D8

39.	Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych (2011)	1		0* 13**	poz. II D9
40.	Postępy Fitoterapii (2012)	1		4* 7**	poz. II D10
41.	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna (2012)	1		4* 6**	poz. II D11
42.	Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (2013)	1		2* 6**	poz. II D12
43.	Farmacja Polska (2014)	1		3* 8**	poz. II D13
44.	Żywność. Nauka. Technologia. Jakość (2015)	1		13* 15**	poz. II D14
45.	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna (2015)	1		6* 6**	poz. II D15
46.	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna (2016)	4		4x6* 4x6**	poz. II D16, D17, D18, D19
47.	Herba Polonica (2017)	1		14**	poz. II D20
48.	Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria (2017)	1		15**	poz. II D21
49.	Roczniki Państwowego Zakładu Higieny (2018)	1		14**	poz. II D22
50.	Problemy Higieny i Epidemiologii (2018)	1		9**	poz. II D23
51.	Żywność. Nauka. Technologia. Jakość (2018)	1		15**	poz. II D24
SUMA ***po uzyskaniu stopnia doktora***		**50**	**40,499**	**690*** **843****	
SUMA		**57**	**51,532**	**757*** **1018****	

[1)]IF z roku ukazania się publikacji (dla publikacji z 2018 i 2019 roku, dla których IF nie został obliczony, IF został podany za rok poprzedni – 2017)

*Punktacja według wykazu czasopism punktowanych MNiSW z roku ukazania się pracy

**Punktacja według komunikatu MNiSW z dnia 25.01.2017 roku

Sumaryczny dorobek naukowy składa się z **57 publikacji naukowych** (w tym **32 publikacji** w czasopismach znajdujących się **w bazie JCR**) o łącznej sumie **IF = 51,532** (z roku ukazania się pracy) i **wartości punktowej:**

- **757 pkt** (według wykazu czasopism punktowanych MNiSW z roku ukazania się pracy),
- **1018 pkt** (według komunikatu MNiSW z dnia 25.01.2017 roku).

Z **57 publikacji naukowych**, których jestem współautorem:

- **7 publikacji naukowych,** znajdujących się w bazie JCR, ukazało się **przed uzyskaniem stopnia doktora,** o łącznej sumie **IF = 11,033** i **wartości punktowej 67 pkt** według

wykazu czasopism punktowanych MNiSW z roku ukazania się pracy oraz **175 pkt** według komunikatu MNiSW z dnia 25.01.2017 roku,

- **50 publikacji naukowych** (w tym **25 publikacji znajdujących** się **w bazie JCR**) ukazało się **po uzyskaniu stopnia doktora** o łącznej sumie **IF = 40,499** i **wartości punktowej 690 pkt** według wykazu czasopism punktowanych MNiSW z roku ukazania się pracy oraz **843 pkt** według komunikatu MNiSW z dnia 25.01.2017 roku.

Po wyłączeniu 8 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (IF = 12,943, 190 pkt MNiSW z roku ukazania się pracy i 195 pkt z dnia 25.01.2017r), wartość mojego pozostałego dorobku naukowego wynosi IF = 38,589 i 567 pkt z roku ukazania się pracy i 823 pkt z dnia 25.01.2017 r.

Sumaryczna liczba cytowań według Web of Science: **713** (w tym **bez autocytowań 679**)
Indeks Hirscha według Web of Science: **11**

7. Inne osiągnięcia związane z aktywnością naukową, dydaktyczną i organizacyjną

7.1. Działalność naukowa

Wyniki moich badań były także prezentowane na konferencjach międzynarodowych i krajowych w formie wystąpień ustnych oraz posterów (**wykaz** w **Załączniku 4, poz. II K, poz. III B** oraz **III Q1**). Były także prezentowane podczas sesji naukowej ogólnouczelnianej SGGW, seminarium naukowego WNoŻ i seminarium naukowego w Osnabrück (przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora) oraz seminarium naukowego WNoŻ, seminarium naukowego w Leuven oraz seminarium naukowego w Katedrze Chemii WNoŻ SGGW (po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Ukazały się również prace przeglądowe z moim współautorstwem, przybliżające pracownikom zakładów przemysłu spożywczego wiedzę na temat możliwości zastosowania ultradźwięków w przetwórstwie mięsa i cyklodekstryn w przemyśle spożywczym (3 prace w Postępach Techniki Przetwórstwa Spożywczego – **D2-D4, Zał. 4, poz. II**) oraz metod oceny aktywności przeciwutleniającej (praca w Przemyśle Spożywczym – **D6, Zał. 4, poz. II**).

W latach 2011-2015 wykonałam **recenzje 140 grantów** składanych w ramach konkursów ogłoszonych przez Narodowe Centrum Nauki oraz przez Wydział Gospodarki Urzędu Marszałkowskiego Województwa Dolnośląskiego w ramach projektu systemowego „GRANT PLUS" (**Zał. 4, poz. III O**). Z kolei w latach 2014-2019 wykonałam **55 recenzji publikacji naukowych** w następujących czasopismach: Postępy Techniki Przetwórstwa

Spożywczego (2 recenzje), Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych (1 recenzja), Waste and Biomass Valorization (2 recenzje), Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (3 recenzje), Journal of Agricultural Science and Technology (1 recenzja), Food Chemistry (2 recenzje), CyTA – Journal of Food (3 recenzje), Journal of Food Science (2 recenzje), Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research (1 recenzja), Journal of Food Science and Technology (4 recenzje), European Journal of Lipid Science and Technology (4 recenzje), Polish Journal of Food and Nutrition Sciences (1 recenzja), International Journal of Food Science and Technology (1 recenzja), Journal of Food Biochemistry (4 recenzje), Bentham Open (1 recenzja), International Journal of Advance Agricultural Research (1 recenzja), Cosmetics (1 recenzja), Molecules (6 recenzji), The Chemical Society of Ethiopia (1 recenzja), Sustainable Food Production (1 recenzja), Resources (1 recenzja), Food Science and Nutrition (3 recenzje), Journal of Food Process Engineering (1 recenzja), Journal of Oleo Science (1 recenzja), Microbial Drug Resistance (1 recenzja), Journal of Food Composition and Analysis (1 recenzja), Polymers (1 recenzja), Materials (1 recenzja), Grasas y Aceites (1 recenzja) i Journal of the American Oil Chemists' Society (1 recenzja), Foods (1 recenzja) (**Zał. 4, poz. III P**)

Współpracuję lub współpracowałam z takimi ośrodkami naukowymi, jak: Department of Clinical Chemistry, Tampere University Hospital and Tampere University Medical School w Finlandii, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS w Meksyku, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Karola (Charles University) w Czechach, National Reference Laboratory for *Mycobacterium kansasii*, Regional Institute of Hygiene w Czechach, Department of Biological Chemistry, University of Padova we Włoszech, Instytut Chemii Uniwersytetu w Osnabrück (Niemcy), Zakład Farmakologii Doświadczalnej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Zakład Biologii Medycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Chemii Leków Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Chemii Fizycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Chemii Żywności i Analizy Instrumentalnej Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Katedra Techniki i Projektowania Żywności Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW, Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych Wydziału Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu SGGW (**Zał. 4, poz. III Q3**)

Odbyłam **3-miesięczny staż naukowy** w Instytucie Chemii, Laboratorium Chemii Organicznej i Bioorganicznej Uniwersytetu w Osnabrück, w Niemczech; **6-miesięczny staż**

naukowy w Laboratorium Chemii Medycznej Katolickiego Uniwersytetu w Leuven, w Belgii; **3-miesięczny staż naukowy** w Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz **1-miesięczny staż zawodowy** w Fabryce Substancji Zapachowych Pollena – Aroma w Warszawie (**Zał. 4, poz. III L**). Swoją wiedzę poszerzałam także, uczestnicząc w konferencjach krajowych, seminariach oraz szkoleniach, np. „Organizmy genetycznie modyfikowane", „Izomery trans kwasów tłuszczowych – współczesne poglądy", „Mikromacierze DNA w genomice funkcjonalnej", „Food and Nutrition in 21st century" czy „Analiza związków zapachowych w żywności" (**Zał. 4, poz. III Q2**).

Za osiągnięcia naukowe otrzymałam Nagrodę zespołową II stopnia przyznaną przez JM Rektora Akademii Medycznej (2005 rok), Nagrodę indywidualną III stopnia przyznaną przez JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2013 rok), Nagrodę zespołową II stopnia przyznaną przez JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2018 rok), Dyplom uznania przyznany przez Kolegium Dziekańskie WTŻ SGGW za udział w seminarium naukowym i wygłoszeniu wyróżniającego doniesienia naukowego (2003 rok), Dyplom uznania przyznany przez JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie za osiągnięcia naukowe (2013 rok i 2015 rok) oraz Dyplom z wyróżnieniem w sekcji Varia dla Marioli Kozłowskiej z zespołem za pracę „Wpływ olejku eterycznego z kolendry na wzrost bakterii kwasu mlekowego" podczas Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego (2016 rok) (**Zał. 4, poz. II J**).

7.2. Działalność dydaktyczna

W ramach studiów magisterskich na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego uzyskałam uprawnienia pedagogiczne do wykonywania zawodu nauczycielskiego, realizując 270 godzin zajęć, w tym 150 godzin praktyk pedagogicznych odbytych w szkole podstawowej oraz liceum ogólnokształcącym. Pozwoliły one mi zapoznać się z wiedzą natury pedagogicznej, którą wykorzystuję w pracy nauczyciela akademickiego zatrudnionego w SGGW na początku jako asystent, a obecnie adiunkt w Katedrze Chemii Wydziału Nauk o Żywności. Swoje umiejętności doskonaliłam także, uczestnicząc w szkoleniach, np. w dziedzinie bezpieczeństwa i higieny pracy, udzielania pierwszej pomocy przedmedycznej, z zakresu systemu zapewniania i doskonalenia jakości kształcenia, w szkoleniu realizowanym w ramach Programów Europejskich (projektu Program unowocześniania kształcenia w SGGW) – „Pracownicy SGGW wobec studentów

niepełnosprawnych" oraz „Zaawansowana obsługa pakietu oprogramowania komputerowego" (**Zał. 4, poz. III Q2**).

Prowadzę wykłady, ćwiczenia laboratoryjne oraz ćwiczenia audytoryjne z chemii ogólnej i nieorganicznej, chemii organicznej i chemii żywności dla studentów studiów stacjonarnych i niestacjonarnych zarówno WNoŻ, jak i innych wydziałów SGGW, zgodnie z harmonogramem obowiązującym w danym roku akademickim. Każdego roku realizuję około 360 godzin dydaktycznych, a w roku akademickim 2013/14, 2014/15 i 2015/16 było to odpowiednio 410 godzin, 435 godzin i 516 godzin (69 godzin wykładów i 447 godzin ćwiczeń laboratoryjnych). Prowadzę również ćwiczenia z przedmiotu „Współczesne trendy badawcze w chemii żywności'' dla studentów studiów doktoranckich.

Opracowałam program wykładów z chemii dla studentów I roku studiów niestacjonarnych kierunku Technika Rolnicza i Leśna, program wykładów i ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej dla studentów I roku studiów niestacjonarnych WNoŻ, wykład i ćwiczenie z chemii żywności dla studentów II roku studiów wieczorowych i niestacjonarnych WNoŻ, program wykładów i ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej dla studentów I roku studiów stacjonarnych kierunku Inżynieria Ekologiczna, program wykładów i ćwiczeń laboratoryjnych z chemii ogólnej i nieorganicznej dla studentów I roku studiów niestacjonarnych WNoŻ i WNoŻCziK oraz program wykładów, ćwiczeń laboratoryjnych i ćwiczeń audytoryjnych z chemii organicznej dla studentów I roku studiów stacjonarnych WNoŻ. Programy autorskie wykorzystywane do zajęć dydaktycznych są przeze mnie corocznie modyfikowane w oparciu o konsultacje ze studentami i najnowszą literaturę.

Opracowałam także i wygłosiłam 3 wykłady w języku angielskim dla studentów Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Uniwersytetu w Gaziantep, w Turcji oraz Faculty of Food Technology and Nutrition, Department of Food Technology, Alexander Technological Education Institute of Thessaloniki w Grecji. Wykłady te były prezentowane podczas mojego tygodniowego pobytu w tych ośrodkach naukowych, w ramach LLP-Erasmus Programme for teaching staff mobility (**Zał. 4, poz. III I**). .

Brałam również czynny udział w planowaniu, opracowaniu programu ćwiczeń z chemii żywności i ich organizacji, gdy były one wprowadzane do programu studiów WNoŻ w 2003 roku. Jestem też współautorką skryptu „Ćwiczenia laboratoryjne z chemii żywności'' dla studentów II roku WNoŻ. Uczestniczyłam także w opracowaniu programu wykładów w języku angielskim w ramach zajęć fakultatywnych oraz programu wykładów i

ćwiczeń z chemii ogólnej i nieorganicznej w ramach utworzenia na WNoŻ unikatowego kierunku (Bezpieczeństwo Żywności).

Byłam opiekunem 4 prac magisterskich, opiekunem części badawczej związanej z oceną aktywności przeciwutleniającej tłuszczów doktorantki z Uniwersytetu w Gaziantep, promotorem 7 prac magisterskich i 4 inżynierskich oraz 2 prac licencjackich na kierunku Biologia Wydziału Rolnictwa i Biologii (**Zał. 4, poz. III J**).

Za osiągnięcia dydaktyczne otrzymałam Nagrodę zespołową II stopnia przyznaną przez JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2009) oraz Wyróżnienie dla Mistrza Oryginalności w Plebiscycie Mistrzowie Edukacji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2016).

7.3. Działalność organizacyjna

W latach 2011-2015 byłam **Członkiem Zespołu Ekspertów** Narodowego Centrum Nauki, w panelu dziedzinowym NZ9, w grupie Nauk o Życiu do oceny wniosków, złożonych w konkursach na finansowanie badań podstawowych ogłoszonych przez NCN oraz recenzentem wniosków badawczych projektu stypendialnego „Grant Plus", ogłoszonego przez Wydział Gospodarki Urzędu Marszałkowskiego Województwa Dolnośląskiego jako projekt współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. W konkursie Fuga 2, ogłoszonym przez NCN, byłam także przewodniczącą drugiego etapu oceny wniosku o finansowanie krajowych staży po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Z kolei w latach 2013-2015 byłam **Członkiem Zespołu Ekspertów** NCN w dziale Nauk o Życiu do opiniowania i oceny raportów końcowych z realizacji projektów badawczych, przekazywanych do NCN przez MNiSzW oraz projektów badawczych realizowanych w konkursach ogłaszanych przez NCN, a także uczestniczyłam w ocenie raportów z realizacji międzynarodowych projektów niewspółfinansowanych i decyzji o przedłużeniu ich finansowania (**Zał. 4, poz. III N**).

W latach 2005-2008 byłam powołana do prac w Wydziałowej Komisji Wyborczej na Wydziale Nauk o Żywności. Od 2014 roku czynnie uczestniczyłam w pracach Komisji ds. Dydaktyki na WNoŻ, a od 2016 jestem jej oficjalnym członkiem. Od 2016 roku jestem członkiem Rady Wydziału Nauk o Żywności reprezentującym grupę adiunktów. Jestem Elektorem powołanym z grupy adiunktów do wyboru Dziekana. Byłam członkiem Komisji Skrutacyjnej SGGW w wyborach elektorów do Rady Szkolnictwa Wyższego (2009 rok) i często jestem członkiem tej komisji w trakcie Rady Wydziału Nauk o Żywności. Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności – Oddziału Warszawskiego.

Od 2005 roku biorę aktywny udział w organizacji Dni SGGW, obsługując stoisko i promując Wydział Nauk o Żywności. Przygotowuję zabawy i pokazy dla najmłodszych oraz jestem odpowiedzialna za przygotowanie piramidy żywieniowej. Organizuję i prowadzę w Katedrze Chemii warsztaty dla uczniów szkół podstawowych. W latach 2009-2010 pracowałam także w zespole przygotowującym oferty do zakupu sprzętu na WNoŻ oraz poszukiwałam ofert do zakupu aparatu EPR w ramach projektu związanego z utworzeniem Centrum Żywności.

W Katedrze Chemii odpowiadałam za sprawność działania wybranych urządzeń, sporządzałam zamówienia do zakupu odczynników na ćwiczenia z chemii żywności, odpowiadałam za mianowanie roztworów w ramach ćwiczeń z chemii ogólnej i nieorganicznej oraz byłam członkiem Komisji z ramienia Katedry Chemii, związanej z zarządzaniem kryzysowym na WNoŻ. Zajmuję się także aktualizacją kart charakterystyk substancji chemicznych. Od dwóch lat jestem obserwatorem matur.

Mariola Kozłowska