

ZAŁĄCZNIK 2

Dr inż. Sylwia Mildner-Szkodlarz
Zakład Technologii Zbóż
Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

AUTOREFERAT

dotyczący działalności naukowo-badawczej

Poznań 2015



1. Imię i nazwisko Sylwia Mildner-Szkudlarz

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- magister inżynier technologii żywności, specjalizacja Fermentacja i Koncentraty Spożywcze, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Technologii Żywności, 2000 r.
 - tytuł pracy magisterskiej: „Związki lotne charakterystyczne dla szczepów *Aspergillus* i *Penicillium* tworzących ochratoksynę A.”
 - promotor: prof. dr hab. Henryk Jeleń
- doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, specjalność koncentraty spożywcze, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, 26.09.2005 r.
 - tytuł rozprawy doktorskiej: „Wykorzystanie analizy związków lotnych i metod chemometrycznych do oceny stopnia utlenienia i wykrywania zafałszowań olejów roślinnych.”
 - promotor: prof. dr hab. Henryk Jeleń

3. Przebieg pracy zawodowej

- 1.10.2005 – 30.09.2006
 - asystent w Zakładzie Technologii Zbóż, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu.
- 1.10.2006 – do chwili obecnej
 - adiunkt w Zakładzie Technologii Zbóż, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (do 2007 roku Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu).

4. Działalność naukowo-badawcza

4.1. Wskazanie osiągnięcia, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.)

Jako osiągnięcie, będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, jest cykl pięciu monotematycznych prac ujętych pod wspólnym tytułem:

„Wytłoki gronowe – funkcjonalny dodatek podwyższający aktywność biologiczną produktów zbożowych”

- i. Mildner-Szkodlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Gośliński M. (2010). Phenolic compounds from winemaking waste and its antioxidant activity towards oxidation of rapeseed oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (11): 2272-2280 (*if₂₀₁₀=1,223; 25 pkt. MNiSW; liczba cytowań: 10*).
 - ii. Mildner-Szkodlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Szwengiel A., Pacyński M. (2011). Use of grape by-product as a source of dietary fibre and phenolic compounds in sourdough mixed rye bread. *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (7): 1485-1493 (*if₂₀₁₁=1,259; 25 pkt. MNiSW; liczba cytowań: 14*).
 - iii. Mildner-Szkodlarz S., Bajerska J., Zawirska-Wojtasiak R., Górecka D. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (2): 389-395 (*if₂₀₁₃=1,879; 35 pkt. MNiSW; liczba cytowań: 8*).
 - iv. Mildner-Szkodlarz S., Siger A., Szwengiel A., Bajerska J. (2015). Natural compounds from grape by-products enhance nutritive value and reduce formation of CML in model muffins. *Food Chemistry*, 172: 78-85 (*if_{5-letni}=3,867; 40 pkt. MNiSW; liczba cytowań: 0*).
 - v. Mildner-Szkodlarz S., Bajerska J. (2013). Protective effect of grape by-product-fortified breads against cholesterol/cholic acid diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (13): 3271-3278 (*if₂₀₁₃=1,879; 35 pkt. MNiSW; liczba cytowań: 3*).
- Sumaryczny IF – 10,107
 - Punkty MNiSW – 160
 - Suma cytowań – 35

Punkty za publikacje naliczono zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31.12.2014 w sprawie wykazu czasopism naukowych, z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach.

Wkład wnioskodawcy w w/w publikacje obejmuje: autorstwo hipotez i koncepcji badań, udział w wykonaniu doświadczeń oraz większości oznaczeń, analizę i opracowanie wyników, wyciągnięcie wniosków, napisanie i redakcję manuskryptów (załączono oświadczenia współautorów).

4.2. Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia

4.2.1. Wprowadzenie

W skutek stałego rozwoju cywilizacyjnego oraz postępującego uprzemysłowienia i urbanizacji gwałtownie wzrasta liczba czynników powodujących bezpośrednie zagrożenie zdrowia ludzkiego. Największą grupę zagrożeń stanowi cały szereg chorób określanych mianem „cywilizacyjnych”, które pogarszają jakość życia i stanowią poważne obciążenie dla systemu ochrony zdrowia. Jednym z kluczowych czynników ryzyka tzw. chorób cywilizacyjnych jest stres oksydacyjny, wynikający z nadmiernej produkcji reaktywnych form tlenu nie usuniętych przez naturalne mechanizmy naprawcze. Tymczasem liczne prace naukowe wskazują, że mechanizmy te mogą być wspomagane poprzez dostarczanie do organizmu substancji o aktywności przeciwutleniającej. Szczególnie bogatym źródłem tych substancji są surowce pochodzenia roślinnego.

Dodatkowo badania ostatnich lat wykazały, że w reakcji Maillarda powstaje grupa związków uznana za kancerogenną lub mutagenną dla organizmów żywych. Zdaniem wielu ekspertów, niektóre związki powstałe w reakcji glikacji są jednym z czynników mogących brać udział w patogenezie zaburzeń gospodarki węglowodanowej, włączając neuropatię, nefropatię, retinopatię, zaćmę a nawet sprzyjać chorobie Alzheimera, arteriosklerozie, starzeniu i nowotworom (Munch i wsp. 1997; Ahmed 2005). Wiele uwagi poświęca się N^{ϵ} -karboksymetylolizynie (CML), której przypisuje się wyżej wymienione właściwości. W ostatnich latach prowadzonych jest wiele badań nad syntetycznymi i naturalnymi inhibitorami końcowych produktów zaawansowanej glikacji. Wiele syntetycznych związków przeciwdziałających powstawaniu tychże produktów, czy ograniczającymi ich skutki, opiera swoje działanie na zmniejszaniu ich absorpcji, ograniczaniu powstawania lub zapobieganiu przemianom produktów przegrupowania Amadori (PPA), zmniejszaniu stresu oksydacyjnego oraz hamowaniu aktywacji błonowego receptora RAGE w wyniku bezpośredniego zablokowania domeny wiążącej ligandy, czy wychwyty jego ligandów przez rozpuszczalny receptor sRAGE (Reddy i Beyaz 2006). Pomimo, że związki syntetyczne wykazują wysokie właściwości inhibujące mogą jednak wywoływać skutki uboczne. Dla przykładu w badaniach klinicznych wykazano, że aminoguanidyna, która reaguje z grupami karbonyłowymi glukozy, PPA i związków α -dikarbonylowych, w wyniku czego powstają związki niezdolne do dalszego sieciowania i wiązania białek, może przyczynić się do utraty witaminy B₆, a będąc inhibitorem aktywności syntazy tlenu azotu pośredniczy w ponownym wzroście ciśnienia tętniczego krwi (Thornalley 2003). Biorąc pod uwagę fakt, iż polifenole charakteryzują się wysokimi zdolnościami do zmiatania wolnych rodników, suplementacja żywności antyoksydantami jako inhibitorami modyfikacji strukturalnej części białkowej wydaje się być obiecującą strategią terapeutyczną zapobiegającą tworzeniu produktów reakcji Maillarda. Z punktu widzenia toksykologicznego i żywieniowego, naturalne ekstrakty roślinne zawierające biologicznie czynne substancje o charakterze przeciwutleniaczy, wydają się być bezpieczniejszą alternatywą dla syntetycznych przeciwutleniaczy. Dlatego też w ostatnich latach podejmowane są liczne badania nad naturalnymi ekstraktami roślinnymi, jako potencjalnymi inhibitorami reakcji glikacji (Lee i wsp. 2006; Peng i wsp. 2008; Zieliński i wsp. 2010; Srey i wsp. 2010; Fujiwara i wsp. 2011). Zaobserwowano, że ekstrakty roślinne blokują oksydacyjną degradację PPA, a tym samym zapobiegają powstawaniu produktów reakcji Maillarda. Właściwości te przypisuje się obecności związków fenolowych i ich zdolnościom do zmiatania wolnych rodników.

Winogrona już od starożytnych czasów, uważane były za najbardziej wartościowe owoce, zawierające dużo cennych składników odżywczo-leczniczych. Dlatego też, produkowane z nich wino określano mianem „boskiego napoju”.

Cechą szczególną winogron jest znacząca zawartość komponentów wykazujących specyficzne właściwości o biologicznej aktywności. Są to między innymi flawanole (katechina, epikatechina, epigalokatechina, galusan epikatechiny, proantocyjanidyny B1, B2, B3 i B4), flawonole (kwercetyna, kempferol, myricetyna w formie aglikonów i glikozydów), kwasy fenolowe (galusowy, kawowy, *p*-kumarowy, protokatechowy, syringowy, waniliowy, elagowy), antocyjany (malwidyna, delfinidyna, petunidyna, peonidyna, cyjanidyna w formie glikozydów) oraz stilbeny (rezweratrol), zgromadzone głównie w nasionach i skórce.

Związki aktywne zawarte w winogronach wykazują działanie przeciwzkrzepowe i przeciwmiażdżycowe, zapobiegają zawałom serca i udarom mózgu nie tylko przez hamowanie utleniania frakcji LDL, ale także przez zwiększanie poziomu korzystnego cholesterolu (HDL) przez

regulację rytmu serca oraz przez zmniejszenie różnych etapów aktywacji płytek krwi (Rein i in. 2000; Wang i in. 2002). Ponadto mają właściwości moczopędne, odtruwające i oczyszczające wątrobę. Katechiny zawarte w winogronach można nazwać związkami wielofunkcyjnymi o aktywności przeciwnowotworowej, przeciwmutagennej, przeciwpatogenicznej i antyoksydacyjnej (Sang i wsp. 2003). Epikatechyna obecna w dużych ilościach w nasionach winogron jest skutecznym przeciwutleniaczem ograniczającym oksydacyjne uszkodzenia wywołane m.in. przez nadtlenoazotyn (ONOO-), który może zaburzać działanie układu homeostazy (Nielsen i wsp. 2004). Inne badania dowiodły, że epikatechyna chroni śródbłonek ściany naczyń poprzez zmiatanie wolnych rodników i utrzymywanie aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (Steffen i wsp. 2005). Z kolei korzystne działanie proantocyjanidyn polega na ograniczaniu skutków niedokrwienia serca, w tym zmniejszaniu rozmiaru martwicy mięśnia sercowego, oraz obniżaniu ryzyka migotania komór i tachykardii poprzez bezpośrednią inaktywację reaktywnych form tlenu (Bagchi i wsp. 2003). Co więcej, wykazano, że proantocyjanidyny z nasion winogron stymulują lipolizę w komórkach 3T3-L1 poprzez wzrost poziomu cAMP i PKA i obniżają aktywność dehydrogenazy glicerolo-3-fosforanowej (GPDH) markera procesu różnicowania (Pinent i wsp. 2005). Kwercetyna ze względu na silne działanie antyoksydacyjne wydaje się obiecującym związkiem zapobiegającym karcynogenezie (Wattenburg 1990). Antocyjany obecne w skórcie winogron mają bardzo szeroki zakres aktywności biologicznej, w tym wykazują właściwości antyoksydacyjne, regulują apoptozę, uczestniczą w aktywacji enzymów, w oddziaływaniach komórkowych, w indukcji sygnału i aktywacji receptorów (Katsube i wsp. 2003; Kay i wsp. 2006). Niektórym kwasom fenolowym winogron (*p*-kumarowy, kawowy i ferulowy) przypisuje się właściwości przeciwwzapalne oraz cytostatyczne w stosunku do komórek nowotworowych (García i wsp. 1998).

Należy nadmienić, że winogrona stanowią również dobre źródło błonnika pokarmowego, pełniącego różnorodne funkcje w organizmie człowieka. Frakcje błonnika pokarmowego wiążą wodę i kwasy żółciowe, absorbują metale, wpływają również na szybkość pasażu treści pokarmowej przez jelita, obniżają poziom glukozy i cholesterolu we krwi oraz zwiększają masę kału (Davidson i Mc Donald 1998). Na uwagę zasługuje wysoka zawartość w winogronach frakcji ligninowej, której obecność wpływa na właściwą gospodarkę lipidową w organizmie oraz celulozowej, wpływającej na objętość i masę kału.

Uprawa winorośli na świecie sięga powyżej 67 milionów ton rocznie (Fontana i wsp. 2013). Ponad 80% zbiorów winogron wykorzystywanych jest do produkcji wina, a powstające w procesie technologicznym wyłoki stanowią około 20%. Tak więc rocznie na całym świecie produkcja wina przyczynia się do wygenerowania około 10 milionów ton tychże produktów odpadowych. Wyłoki stanowiące produkt odpadowy zazwyczaj poddawane są procesowi utylizacji, rzadziej wykorzystywane do skarmiania zwierząt. Duży ładunek substancji organicznych ogranicza możliwość stosowania ich jako nawozów, ponieważ w znacznym stopniu przyczyniają się do wzrostu chemicznego i biochemicznego zapotrzebowania na tlen (Lafka i wsp. 2007). Z publikowanych danych wynika, że w Polsce około 12% wyłoków owocowych, pochodzących z produkcji win, soków czy napojów, kieruje się na wysypiska stałych odpadów komunalnych. Odpady te nie są bezużyteczne i wywożenie ich na wysypiska jest niepowetowaną stratą. Liczne badania potwierdzają, że wyłoki gronowe nawet po procesie maceracji, nadal wykazują znaczące właściwości przeciwutleniające (Lafka i wsp. 2007; Lee i wsp. 2009; Deng i wsp. 2011). Dlatego też należałoby szukać innych możliwości ich zagospodarowania, które przyniosłyby korzyści nie tylko

gospodarce, ale podniosło też zdrowotność i zwiększyło asortyment wytwarzanych produktów. Ponadto zagospodarowanie odpadów dostarczyłoby wiele innych korzyści, między innymi zmniejszyłoby koszty ich wywozu i utylizacji, czy też podniosłoby ogólny poziom higieny środowiska naturalnego.

4.2.2. Cel badań i hipoteza badawcza

Pomimo, że wytloki gronowe powstałe w trakcie produkcji wina są cennym źródłem związków fenolowych, o udokumentowanej aktywności przeciwutleniającej, brak w źródłach literaturowych opracowań na temat wykorzystania ich do wzbogacania produktów zbożowych. Ponadto w dostępnej literaturze brakuje danych na temat zastosowania wytlóków jako inhibitorów reakcji glikacji.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty głównym celem badań była ocena możliwości konstruowania produktów zbożowych wzbogaconych w wytloki gronowe jako potencjalne źródło komponentów o charakterze prozdrowotnym. W związku z powyższym, postawiono następujące **hipotezy badawcze:**

- wytloki gronowe są źródłem związków fenolowych o wielokierunkowej aktywności przeciwutleniającej,
- wytloki gronowe zawierające komponenty wykazujące specyficzne właściwości bioaktywne mogą być wykorzystane do wzbogacania produktów zbożowych,
- dodatek pieczywa wzbogaconego w wytloki gronowe do diety wysokotłuszczowej korzystnie moduluje gospodarkę węglowodanowo-lipidową.

Szczegółowe cele pracy to:

1. Charakterystyka profili fenolowych ekstraktów pozyskiwanych z wytlóków gronowych oraz określenie ich wielokierunkowej aktywności biologicznej (aktywność przeciwrodnikowa, siła redukująca, aktywność antyoksydacyjna w układzie tłuszczu bezwodnego).
2. Wykazanie, iż wzbogacanie produktów zbożowych w wytloki może prowadzić do polepszenia aktywności biologicznej konstruowanych produktów.
3. Wykazanie, iż dodatek wytlóków gronowych do modelowego pieczywa cukierniczego typu muffiny istotnie inhibuje tworzenie N^{ϵ} -karboksymetylolizyny.
4. Wykazanie, iż pieczywo żytnio-pszenne na zakwasie, wzbogacone w wytloki gronowe istotnie wpływa na gospodarkę węglowodanowo-lipidową zwierząt doświadczalnych.

Ad. 1. Charakterystyka profili polifenolowych ekstraktów pozyskiwanych z wyłoków gronowych oraz określenie ich wielokierunkowej aktywności biologicznej

Pomimo rosnącego zainteresowania produktami odpadowymi w dostępnej literaturze brakowało danych na temat wpływu procesu ekstrakcji wyłoków gronowych na profil fenolowy otrzymanych preparatów, jak również zastosowania właśnie ekstraktów z wyłoków gronowych do przeciwdziałania oksydacji lipidów. W dostępnej literaturze charakterystyka pozyskiwanych ekstraktów sprowadzała się głównie do spektrofotometrycznej oceny zawartości związków fenolowych i ich aktywności antyoksydacyjnej (Yilmaz i Toledo 2006). Dlatego też rozpoczęto badania mające na celu opracowanie metody ekstrakcji związków fenolowych z wyłoków gronowych, pozwalające otrzymać preparaty zawierające wysokie stężenie antyoksydantów uwzględniając szczegółową charakterystykę profili fenolowych. Analizowano wpływ stężenia etanolu (70 i 90%), czasu (4 i 5 h) i temperatury (40 i 50 °C) ekstrakcji, na skład preparatów i ich aktywność antyoksydacyjną. Zaobserwowano, że najwyższą zawartością związków fenolowych i antocyjanów ogółem, zdolnością do neutralizowania wolnych rodników jak i siłą redukującą charakteryzowały się preparaty ekstrahowane 70% etanolem w temperaturze 60 °C przez 5h, natomiast najniższą te ekstrahowane 90% etanolem w 40 °C przez 4h. Zastosowana w pracy technika HPLC pozwoliła na wyodrębnienie i identyfikację czternastu związków fenolowych z grupy flawanoli, flawonoli i kwasów fenolowych. Profil fenolowy uzyskanych ekstraktów zdominowany był przez proantocyjanidynę B2 i katechinę. Związki te stanowiły około 76% ogólnej ilości polifenoli. Wśród związków rejestrowanych przy 360 nm dominowały 3-beta-D-glikozyd kwercetyny, kwas kawowy i kwercetyna, które stanowiły 4,76% ogólnej ilości polifenoli. Dowiedziono, iż stosując różne parametry procesu ekstrakcji uzyskuje się podobny profil związków fenolowych, jednakże różniący się koncentracją. Dla obu mieszanin etanolu z wodą stężenia poszczególnych związków fenolowych wzrastały wraz ze wzrostem temperatury i czasu ekstrakcji. Jednakże zaobserwowano, że niektóre związki jak kwas γ -rezorcynowy i 3-beta-D-glikozyd kwercetyny charakteryzowały się wyższym stężeniem w preparatach ekstrahowanych w niższych temperaturach z uwagi na ich termiczny rozkład lub polimeryzację. Tę samą obserwację zanotowano dla kwasu *p*-kumarowego, *trans*-ferulowego i sinapowego, ale tylko dla prób ekstrahowanych 90% etanolem. Uzyskano dodatnią korelację rzędu 0,89 i 0,92 pomiędzy zdolnością do neutralizowania wolnych rodników i zdolnością do redukcji a zawartością związków fenolowych oznaczoną metodą HPLC.

Z uwagi na zainteresowania badawcze tematyką autooksydacji podjęto próbę oceny wpływu ekstraktu z wyłoków gronowych na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego. Wykorzystując, obok tradycyjnych chemicznych oznaczeń, analizę lotnych markerów procesu autooksydacji, nadano badaniom oryginalny i nowatorski charakter. Przeprowadzono analizę stabilności oleju rzepakowego z dodatkiem ekstraktu inkubowanego w warunkach testu Schaala, w temperaturze 60 °C przez 14 dni. Ekstrakt (WWE- winemaking waste extract) o najwyższej koncentracji związków fenolowych (ekstrakcja 5h w 60 °C) dodano w stężeniach 200 (WWE-200), 2000 (WWE-2000) i 4000 ppm (WWE-4000) w stosunku do substratu tłuszczowego i porównano z syntetycznym przeciwutleniaczem butylohydroksytoluenem – BHT (200 ppm) oraz α -tokoferolem (200 ppm). Na podstawie obliczonego współczynnika ochronnego (PF), który jest miarą stabilności lipidów i określa zdolność antyoksydantów do opóźniania oksydacji, przeciwutleniacze uszeregowano w następującej kolejności: WWE-4000 (PF = 5,1) > WWE-2000 (PF = 4,8) > BHT (PF = 4,0) > WWE-200 (PF = 3,4) > α -tokoferol (PF = 2,6). Biorąc pod uwagę fakt, iż antyoksydanty wykazują zróżnicowaną

efektywność w stosunku do formowania pierwotnych i wtórnych produktów oksydacji, bardzo ważne jest analizowanie nie tylko niestabilnych – pierwotnych, ale również wtórnych produktów degradacji lipidów. Dlatego też zastosowano technikę mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) połączoną z chromatografią gazową i spektrometrią mas (GC/MS) do izolacji i identyfikacji związków lotnych. Analizując związki lotne, będące markerami procesu utleniania, antyoksydanty uszeregowano następująco: WWE-2000 > WWE-200 > BHT > WWE-4000 > α -tokoferol. Na podstawie przeprowadzonych badań dowiedziono, że najwyższy dodatek ekstraktu z wyłoków gronowych (4000 ppm) do oleju rzepakowego skutecznie ogranicza powstawanie nadtlenków, ale nie hamuje ich rozpadu. Najlepsze właściwości stabilizujące oleju rzepakowego stwierdzono dla ekstraktu z wyłoków gronowych na poziomie 2000 ppm.

Powyższy nowatorski kierunek badawczy zaowocował osiągnięciem poznawczym, którym było określenie profilu związków fenolowych w wyłokach gronowych oraz wskazanie ich wysokiej aktywności przeciwutleniającej, w tym ich istotnego znaczenia w ograniczaniu utleniania lipidów.

Publikacja:

Mildner-Szkudlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Gośliński M. (2010). Phenolic compounds from winemaking waste and its antioxidant activity towards oxidation of rapeseed oil. International Journal of Food Science and Technology, 45 (11): 2272–2280.

Ad. 2. Właściwości produktów zbożowych wzbogaconych w wyłoki gronowe

Wiedza na temat negatywnego wpływu stresu oksydacyjnego na organizm człowieka uzasadnia wzbogacanie żywności surowcami zawierającymi związki o udokumentowanej aktywności przeciwutleniającej. Pierwszy etap pracy badawczej upoważnił autorkę do podjęcia kolejnego kierunku, mającego na celu zastosowanie wyłoków gronowych do żywności. Bardzo ważnym czynnikiem jest wybór odpowiedniej „matrycy” substancji aktywnych – powinien to być produkt powszechnie spożywany, względnie tani, przetwarzany przemysłowo, o stabilnym spożyciu. Wszystkie te kryteria spełniają produkty zbożowe. Równie ważną rolę odgrywa postać i dawka substancji wzbogacającej, niezmienną cech sensorycznych, zapewniającą wysoką stabilność. W oparciu o te kryteria zaproponowano wzbogacanie pieczywa żytnio-pszennego na zakwasie oraz ciastek kruchych sproszkowanymi skórkami z wyłoków gronowych. Wybór skórek z wyłoków jako surowca do wzbogacania produktów zbożowych podyktowany był faktem, iż materiał ten jest bogatym źródłem nie tylko związków fenolowych ale również błonnika pokarmowego. W przypadku pieczywa dodatkowe wprowadzenie fermentacji z zastosowaniem bakterii kwasu mlekowego, pozwoliło uzyskać pieczywo o podwyższonej wartości odżywczej oraz gwarantowanej jakości. Wybór tego rodzaju pieczywa, nie stosowany do tej pory w literaturze światowej był celowy, bowiem kompozycja smakowo-zapachowa stanowiła element maskujący specyficzne cechy sensoryczne wyłoków. Określono profil fenolowy, potencjał przeciwutleniający oraz skład frakcyjny błonnika pokarmowego fortyfikowanych produktów zbożowych. Pieczywo mieszane na zakwasie wzbogacono skórkami z wyłoków gronowych w udziale 4, 6, 8 i 10%. Zastosowana w pracy metoda HPLC pozwoliła na wyodrębnienie i identyfikację trzynastu związków fenolowych z grupy flawanoli, flawonoli i kwasów fenolowych. Pieczywo kontrolne, bez dodatku wyłoków, charakteryzowało się małą zawartością związków fenolowych, z kwasem galusowym jako dominującym. W wzbogaconym pieczywie profil fenolowy zdominowany był przez

proantocyjanidyny B1 i B2, katechinę i epikatechinę, kwas kawowy i myricetynę. Ponadto zidentyfikowano znaczące ilości kwercetyny i 3-beta-D-glikozydu kwercetyny. Dowiedziono zatem dużej stabilności związków fenolowych w procesie wypieku pieczywa. Zdolność do neutralizowania wolnych rodników pieczywa wzbogaconego była ponad dwukrotnie wyższa niż chleba kontrolnego. Na uwagę zasługuje ponad 10-krotny wzrost siły redukującej pieczywa z dodatkiem wyłoków w porównaniu z kontrolnym. Potwierdzono tym samym hipotezę, iż to właśnie związki fenolowe w głównej mierze odpowiedzialne są za potencjał antyoksydacyjny i tym samym prozdrowotne działanie żywności pochodzenia roślinnego. Ponadto dowiedziono, że dodatek wyłoków przyczynia się do prawie 40% wzrostu zawartości rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego. Należy jednak podkreślić, iż dodatek biokomponentów do żywności wpływa na zmianę ich jakości sensorycznej. Jako wieloparametrowa cecha, tekstura jest bardzo ważnym wyróżnikiem, często używanym jako wskaźnik jakości pieczywa (Wang i wsp. 2007). Odnotowano, iż 10% dodatek wyłoków powodował prawie dwukrotny wzrost twardości miększu pieczywa określonej z zastosowaniem instrumentalnej profilowej analizy tekstury. Ponieważ matryca pieczywa jest bardzo złożonym kompleksem, mechanizm odpowiedzialny za wzrost twardości pod wpływem dodatków bogatych w związki fenolowe i błonnik pokarmowy do tej pory nie został wyjaśniony. Przypuszczalnie, wysoka zawartość związków fenolowych wpłynęła na obniżenie aktywności enzymów amylolytycznych, ograniczając tym samym ilość maltozy potrzebnej do fermentacyjnej aktywności drożdży (Zhang i Kashket 1998). Jednakże zaobserwowano, iż spoistość i elastyczność miększu pieczywa nie ulegała zmianie aż do 6% dodatku wyłoków, a sprężystość do 8%. Równie nowatorskim kierunkiem badawczym była analiza związków lotnych wzbogaconego pieczywa. Zastosowanie metody SPME-GC/MS pozwoliło na zidentyfikowanie komponentów reprezentujących grupę charakterystycznych lotnych produktów powstających na drodze enzymatycznej i termicznej reakcji w procesach fermentacji zakwasu i wypieku. Dowiedziono, że wzbogacanie pieczywa w wyłoki gronowe nie zmieniało profilu związków lotnych a jedynie stężenia w jakich one występują. Największe różnice odnotowano dla estrów takich jak oktanolan etylu, octan 3-metylobutyli oraz octan etylu. Wymienione związki, obecne w próbie kontrolnej, znacząco wzrastały w próbie z 10% dodatkiem wyłoków. Octan etylu oraz oktanolan etylu obecne w zakwasach żytnich fermentowanych z udziałem heterofermentatywnych bakterii mlekowych i drożdży, były także dominującymi estrami w winie odpowiedzialnymi za ich profil zapachowy, stąd też ich duże stężenie w wyłokach i wzbogaconych w nie chlebach (Swiegers i wsp. 2005). Ocena sensoryczna wykazała, że 6% udział skórek z wyłoków można z powodzeniem stosować uzyskując akceptację panelu sensorycznego.

W kolejnym etapie badań skórki z wyłoków gronowych dodawano do ciastek kruchych w ilości 10, 20 i 30%. Nawet najniższy dodatek wyłoków przyczynił się do około 88% wzrostu ogólnej zawartości błonnika pokarmowego w porównaniu z próbą kontrolną. Dowiedziono, iż 30% dodatek wyłoków powodował prawie 10-krotny wzrost zawartości związków fenolowych i prawie 6-krotny wzrost zdolności do zmiatania wolnych rodników. Analizując termostabilność związków fenolowych w trakcie wypieku ciastek kruchych uszeregowano je w kolejności γ –kwas rezorcynowy < kwas galusowy < tyrozol < katechina < kwas izowaniliowy. Proantocyjanidyny obecne w skórkach z wyłoków, nie zidentyfikowano w ciastkach, nawet przy najwyższym 30% udziale. Dowiedziono zdecydowanie niższej stabilności związków w trakcie wypieku ciastek w porównaniu z pieczywem, potwierdzając wówczas badania Sharma i Zhou (2011) przeprowadzane na ekstrakcie z herbaty.

Przyjęto, iż niższa stabilność związków fenolowych w ciastkach w porównaniu z pieczywem wynikała z obecności w cieście substancji alkalizujących środowisko (proszek do pieczenia, wodorotlenek sodu i amonu), interakcji fenoli ze składnikami ciastek oraz braku drożdży, które asymilują tlen w trakcie miesienia. Zaobserwowano, iż dodatek do mąki pszennej wyłoków, charakteryzujących się wysokim udziałem hydrofobowej frakcji ligninowej (46% ogólnej zawartości błonnika), przyczyniał się do spadku wodochłonności. Spadek wodochłonności z kolei skutkował mniejszą kruchością ciastek, oznaczoną za pomocą instrumentalnego trójpunktowego testu łamania. Według Baltsavias i wsp. (1999) kluczową rolę w tworzeniu tekstury ciastek odgrywa skrobia i jej niecałkowite kleikowanie, wynikające z ograniczonej ilości wody dodawanej do ciasta w czasie miesienia. Założono, iż obniżenie wodochłonności ciasta doprowadziło do powstania dużej ilości wody niezwiązanej, co skutkowało całkowitym kleikowaniem skrobi i tym samym obniżeniem kruchości ciastek. Analiza PCA oparta na sensorycznej ocenie profilowej wykazała, iż 10% dodatek skórek z wyłoków gronowych może być stosowany do wzbogacania ciastek kruchych gwarantując wysoką jakość sensoryczną, porównywalną z próbą kontrolną.

Powyższy kierunek badawczy przyczynił się do osiągnięcia poznawczego w postaci określenia trwałości związków fenolowych w czasie wypieku. Osiągnięciem aplikacyjnym tego kierunku badawczego było wykazanie wysokiej stabilności związków fenolowych wprowadzanych wraz ze skórkami z wyłoków gronowych do pieczywa mieszanego na zakwasie.

Publikacje:

Mildner-Szkudlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Szwengiel A., Pacyński M. (2011). Use of grape by-product as a source of dietary fibre and phenolic compounds in sourdough mixed rye bread. *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (7): 1485–1493.

Mildner-Szkudlarz S., Bajerska J., Zawirska-Wojtasiak R., Górecka D. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (2): 389-395.

Ad. 3. Zdolność do redukcji N^e –karboksymetylolizyny (CML) przez wyłoki gronowe

Obróbka termiczna żywności jest kluczowym zabiegiem technologicznym stwarzającym warunki do powstania szerokiej gamy nowych związków chemicznych wpływających na cechy sensoryczne żywności. Badania ostatnich lat wykazały, że w reakcji Maillarda powstaje również grupa związków uznana za kancerogenną lub mutageną dla organizmów żywych. Codzienna dieta jest głównym źródłem produktów reakcji Maillarda, które powstają w żywności zarówno pod wpływem oddziaływania podwyższonej temperatury jak i długotrwałego okresu przechowywania. Tempo zachodzących zmian, a co za tym idzie stężenie niekorzystnych produktów reakcji Maillarda w żywności, uzależnione jest od czynników zarówno surowcowych jak i technologicznych. Spośród czynników technologicznych wpływ odgrywa zarówno temperatura jak i czas obróbki. Równie istotną rolę odgrywają parametry surowcowe, a przede wszystkim wilgotność surowca, stężenie reagentów oraz obecność antyoksydantów jako potencjalnych inhibitorów reakcji. Zaobserwowano, że w zapobieganiu powstawania niekorzystnych produktów reakcji Maillarda pomocne są związki fenolowe o silnych zdolnościach do zmiatania wolnych rodników. Jednak do tej pory wyłoki owocowe nie były badane pod tym kątem. Określenie wpływu wyłoków gronowych na inhibicję CML w produktach zbożowych było zatem nową obserwacją.

Podjęto próbę zbadania wpływu poszczególnych składników ciasta oraz dodatku wyłoków na stężenie CML w modelowym pieczywie cukiernicznym typu muffiny. Dowiedziono, iż poszczególne składniki ciasta jak sól, proszek do pieczenia, białko i mleko w proszku redukowały stężenie CML od 50 do 86%. Dodatek wszystkich składników jednocześnie do ciasta powoduje największą redukcję CML (97%), wykazując synergistyczny efekt. Analizując wpływ dodatku cukru na tworzenie CML zaobserwowano, iż nierafinowany cukier trzcinowy produkuje ponad 11-krotnie więcej CML niż rafinowany cukier buraczany. Postulowano, iż wyższe stężenie CML w próbach pieczonych z dodatkiem cukru nierafinowanego wynika z ponad 20-krotnie wyższej zawartości w nim jonów metali, które są katalizatorami reakcji Maillarda. Udowodniono wpływ stopnia nienasycenia tłuszczu użytego do wypieku na koncentrację CML, uzyskując korelację pomiędzy zawartością kwasu oleinowego ($r = -0,829$) i kwasu linolowego ($r = 0,913$) w olejach a zawartością CML. Jednocześnie nie uzyskano korelacji pomiędzy zawartością w olejach α -, β -, γ - i δ - tokoferoli proponując, iż inne lipofilne i amfifilowe niskocząsteczkowe związki zawarte w olejach jak polifenole, chlorofil, karotenoidy, menadion, oryzanol i plastochromanol-8 podwyższając stabilność oksydacyjną olejów również zapobiegają reakcji glikacji. Skórki z wyłoków gronowych dodane do pieczywa cukiernicznego typu muffiny w ilości 20% wykazywały znakomitą zdolność do inhibicji CML nie zmieniając profilu sensorycznego prób. W pieczywie cukiernicznym, w których bez dodatku wyłoków zawartość CML wahała się od 0,79 do 25,33 mg CML/kg ciastek, zawartość tego związku w próbach wzbogaconych w wyłoki spadała poniżej limitu detekcji (LOD = 0,42 ng). Najniższą zdolność do redukcji CML wyłoki wykazywały w modelowych próbach z dodatkiem białka i mleka w proszku, najprawdopodobniej z uwagi na wysokie powinowactwo związków fenolowych do różnych struktur białkowych. Uzyskano ujemne korelacje pomiędzy zawartością katechiny ($r = -0,893$), epikatechiny ($r = -0,811$) i kwasu galusowego ($r = -0,800$) a stężeniem CML, udowadniając tym samym, że to właśnie związki fenolowe wyłoków gronowych uczestniczyły w blokowaniu oksydacyjnej degradacji produktów przegrupowania Amadori.

Publikacja:

Mildner-Szkudlarz S., Siger A., Szewiel A., Bajerska J. (2015). Natural compounds from grape by-products enhance nutritive value and reduce formation of CML in model muffins. Food Chemistry, 172: 78-85.

Ad. 4. Pieczywo żytnio-pszenne na zakwasie wzbogacone w wyłoki gronowe istotnie wpływa na gospodarkę węglowodanowo-lipidową zwierząt doświadczalnych

W 2000 roku pojawiły się w literaturze światowej badania, w których to sproszkowane wyłoki gronowe podawano szczurom w ilości 100 g/kg diety (Martín-Carrón i wsp. 2000). Z kolei 2009 roku Lee i wsp. dodawali do wysokotłuszczowej diety szczurów 50 g/kg diety skórek z wyłoków gronowych. W badaniach tych autorzy opisywali prozdrowotne właściwości wyłoków, polegające na regulacji profilu lipidowego czy też podwyższeniu statusu antyoksydacyjnego. Autorzy tychże prac pominęli kwestie termostabilności i bioprzyswajalności związków fenolowych aplikowanych do żywności oraz wpływu dodatku związków fenolowych z wyłoków gronowych na przyswajalność składników żywności. Rozwijając swój kierunek badawczy dotyczący możliwości aplikacji wyłoków w produkcji żywności, uznałam za nieodzowne badania dotyczące wpływu diety wzbogaconej w pieczywo z dodatkiem wyłoków gronowych na parametry biochemiczne krwi i metabolizm zwierząt laboratoryjnych, czym wówczas nikt się nie zajmował.

Przeprowadzono doświadczenie na szczurach laboratoryjnych rasy białej Wistar. W doświadczeniu tym samce zostały losowo przydzielone do jednej z czterech grup i karmione przez 6 tygodni dietami wysokotłuszczowymi (7% smalcu, 1% cholesterolu, 0,25% kwasu cholowego) przygotowanymi na bazie standardowej paszy AIN-93G: dietą wysokotłuszczową kontrolną (grupa HFD), dietą wysokotłuszczową z dodatkiem pieczywa kontrolnego (bez dodatku wytlóków) żytnio-pszennego na zakwasie (grupa HFD+CB), dietą wysokotłuszczową z dodatkiem pieczywa żytnio-pszennego na zakwasie wzbogaconego skórkami z wytlóków gronowych na poziomie 6% (grupa HFD+PGP) oraz dietą wysokotłuszczową z dodatkiem pieczywa żytnio-pszennego na zakwasie wzbogaconego w ekstrakt z wytlóków gronowych na poziomie 1,4% (grupa HFD+EGP). Ilość zastosowanego dodatku wzbogacającego pieczywo w postaci sproszkowanych skórek czy też ekstraktu poparty był wynikami analiz zawartości związków fenolowych oraz akceptacji panelu sensorycznego (publikacja ii, v). Ekstrakt z wytlóków otrzymano w oparciu o efekty badań zawarte w publikacji (i) stanowiącej wskazane osiągnięcie.

Wykazano, iż pieczywo mieszane na zakwasie wzbogacone w skórki (HFD+PGP) lub ekstrakt (HFD+EGP) z wytlóków gronowych dodane do diety wysokotłuszczowej, istotnie ograniczało jej niekorzystny wpływ, obniżając poziom cholesterolu całkowitego (19 – 38%) i frakcji LDL-cholesterolu (27 – 50%) oraz podwyższając poziom frakcji HDL-cholesterolu (19 – 38%) w surowicy krwi zwierząt doświadczalnych w porównaniu z dietą kontrolną (HFD) i dietą z dodatkiem pieczywa kontrolnego (HFD+CB). Brak statystycznych różnic w profilu lipidowym surowicy krwi szczurów z grupy HFD+PGP i HFD+EGP dowiodło, iż to właśnie związki fenolowe a nie błonnik pokarmowy wytlóków odgrywały kluczową rolę w regulacji metabolizmu lipidowego. Z drugiej strony zaobserwowano, iż szczury karmione dietą z dodatkiem pieczywa kontrolnego (HFD+CB) charakteryzowały się statystycznie niższą zawartością cholesterolu całkowitego i frakcji LDL-cholesterolu w porównaniu z tymi z grupy HFD. Zaproponowano, iż oprócz związków fenolowych również inne związki obecne w mące żytniej i pszennej jak gluten pszenny, błonnik pokarmowy i donory grupy metylowej (metionina, betaina, cholina), obniżają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Potwierdzono tym samym hipotezę Nakamura i wsp. (2009), którzy karmiąc szczury dietą z dodatkiem pieczywa pszennego i pieczywa z dodatkiem preparatów błonnikowych pozyskiwanych z buraków cukrowych, uzyskali podobne rezultaty badań. Wykazano, iż dieta HFD+PGP i HFD+EGP miała wpływ na regulację homeostazy glukozowej, statystycznie istotnie obniżając stężenie glukozy w surowicy krwi. Odnotowano również znaczną redukcję poziomu leptyny, hormonu wydzielanego głównie przez tkankę tłuszczową wywołującego zmiany metabolizmu lipidów i węglowodanów. Jednocześnie spadek zawartości leptyny, która to uczestniczy w regulacji wrażliwości tkanek na insulinę, zahamowując glukogenezę wątrobową, był dodatnio skorelowany ze spadkiem zawartości wisceralnej tkanki tłuszczowej w grupach HFD+PGP i HFD+EGP. Jednakże, nie odnotowano statystycznie istotnego spadku poziomu insuliny (~ 12%). Status antyoksydacyjny krwi szczurów mierzony za pomocą oznaczenia siły redukującej (FRAP) i zawartości wskaźnika peroksydacji lipidów (TBARS) uległ znacznej poprawie w grupach karmionych dietami z dodatkiem wytlóków zarówno w postaci skórek jak i ekstraktu. Dowiedziono tym samym, iż spożywanie pieczywa wzbogaconego w wytloki gronowe może zmniejszać ryzyko uszkodzeń struktur komórkowych wywołanych stresem oksydacyjnym.

Jednak wartym podkreślenia jest fakt, iż spożywanie pieczywa wzbogaconego w wytloki, szczególnie w formie ekstraktu, przyczyniło się do obniżenia strawności białka, nie wpływając na

ogólne wskaźniki wzrostowe zwierząt. Polifenole, w tym głównie katechiny charakteryzują się wysokim powinowactwem do białek. W połączeniu z białkami wiązaniami wodorowymi i hydrofobowymi doprowadzają do powstania kompleksów polifenol - białko, przez co enzymy proteolityczne (głównie pepsyna i trypsina) mają utrudniony dostęp do substratu. Statystycznie niższa strawność białka w przypadku szczurów karmionych dietami z dodatkiem pieczywa wzbogaconego w ekstrakt w porównaniu z tymi, które karmiono pieczywem z dodatkiem skórek, może wynikać z formy w jakiej owe dodatki funkcjonalne występują.

Uzyskane wyniki mają przede wszystkim znaczenie poznawcze, jednakże mogą w przyszłości przyczynić się do modyfikacji zaleceń żywieniowych ludzi obciążonych chorobami sercowo-naczyniowymi, po ich potwierdzeniu w interwencyjnych badaniach klinicznych.

Publikacja:

Mildner-Szkudlarz S., Bajerska J. (2013). Protective effect of grape by-product-fortified breads against cholesterol/cholic acid diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (13): 3271-3278.

Wykaz cytowanej literatury

Ahmed N. (2005). Advanced glycation endproducts role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 67: 3-21.

Bagchi D., Sen C. K., Ray S. D., Das D. K., Bagchi M., Preuss H. G., Yinson J. A. (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res.* 523-524: 87-97.

Baltsavias A., Jurgens A., van Vliet T. (1999). Fracture properties of shortdough biscuits: effect of composition. *J Cereal Sci.* 29: 235-244.

Davidson M. H., McDDonald A. (1998). Fibre: Forms and Functions. *Nutr Res.* 18: 617-624.

Deng Q., Penner M. H., Zhao Y. (2011) Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Res Int.* 44:2712-2720.

Fontana A. R., Antonioli A., Bottini R. J. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Agric Food Chem.* 61: 8987-9003.

Fujiwara Y., Kiyota N., Tsurushima K., Yoshitomi M., Mera K., Sakashita N., Takeya M., Ikeda T., Araki T., Nohara T., Nagai R. (2011). Natural compounds containing a catechol group enhance the formation of N^ε-(carboxymethyl)lysine of the Maillard reaction. *Free Rad Biol Med.* 50: 883-891.

García M. D., Ahumada M. C., Saenz M.T. (1998). Cytostatic activity of some phenolic acids of *Scrophularia frutescens* L. var. *frutescens*. *BioScience.* 53: 1093-1095.

Katsube N., Iwashita K., Tsushida T., Yamaki K., Kobori M. (2003). Induction of apoptosis in cancer cells by Bilberry (*Yaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 51: 68-75.

Kay C. D., Kris-Etherton P., West S. G. (2006). Effects of antioxidant-rich foods on vascular reactivity: review of the clinical evidence. *Curr Atheroscler Rep.* 8: 510-522.

Lafka T. I., Sinanoglou V., Lazos E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery waste. *Food Chem.* 104: 1206-1214.

Lee G. Y., Jang D. S., Lee Y. M., Kim J. M., Kim J. S. (2006). Naphthopyrone glucosides from the seeds of *Cassia tora* with inhibitory activity on advanced glycation end products (AGEs) formation. *Arch Pharmacol Res.* 29: 587-590.

Lee S. J., Choi S. K., Seo J.S. (2009). Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract.* 3:279-285.

- Martín-Carrón N., Saura-Calixto F., Gonñi I. (2000). Effects of dietary fibre and polyphenol-rich grape products on lipidaemia and nutritional parameters in rats. *J Sci Food Agric.* 80:1183-1188.
- Munch G., Thome J., Foley P., Schinzel R., Riederer P. (1997). Advanced glycation endproducts in ageing and Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res. Rev.* 23: 134-143.
- Nakamura Y., Kanazawa M., Liyanage R., Iijima S., Han K. H., Shimada K., Sekikawa M., Yamauchi A., Hashimoto N., Ohba K., Fukushima M. (2009). Effect of white wheat bread containing sugar beet fiber on serum lipids and hepatic mRNA in rats fed on a cholesterol-free diet. *Biosci Biotechnol Biochem.* 73:1280-1285.
- Nielsen V. G., Crow J. P., Mogal A., Zhou F., Parks D. A. (2004). Peroxynitrite decreases hemostasis in human plasma *in vitro*. *Anesth Analg.* 99: 21-26.
- Peng X., Cheng K. W., Ma J., Chen B., Ho C. T., Lo C., Chen F., Wang M. (2008). Cinnamon bark proanthocyanidins as reactive carbonyl scavengers to prevent the formation of advanced glycation end products. *J Agric Food Chem.* 56: 1907-1911.
- Pinent M., Blade M. C., Salvado M. J., Arola L., Hackl H., Quackenbush J., Trajanoski Z., Ardevol A. (2005). Grape-seed derived procyanidins interfere with adipogenesis of 3T3-L1 cells at the onset of differentiation. *Int J Obes.* 29: 934-941.
- Reddy V. P., Beyaz A. (2006). Inhibitors of the Maillard reaction and AGE breakers as therapeutics for multiple diseases. *Drug Disco V. Today.* 11:646-654.
- Rein D., Paglieroni T. G., Pearson D. A., Wun T., Schmitz H. H., Gosselin R., Keen C. L. (2000). Cacao and wine polyphenols modulate platelet activation and function. *J Nutr.* 130: 2120-2126.
- Sang S., Tian S., Wang H., Stark R. E., Rosen R. T., Yang C. S., Ho C. T. (2003). Chemical studies of the antioxidant mechanism of tea catechins: radical reaction products of epicatechin with peroxy radicals. *Bioorg Med Chem.* 11: 3371-3378.
- Sharma A., Zhou W. (2011). A stability study of green tea catechins during the biscuit making process. *Food Chem.* 126: 568-573.
- Srey C., Hull G. L. J., Connolly L., Elliott C. Y., del Castillo M. D., Ames J. M. (2010). Effect of inhibitor compounds on N^ε-(carboxymethyl)lysine (CML) and N^ε-(carboxyethyl)lysine (CEL) formation in model foods. *J Agric Food Chem.* 58: 12036-12041.
- Steffen Y., Schewe T., Sies H. (2005). Epicatechin protects endothelial cells against oxidized LDL and maintains NO synthase. *Biochem Biophys Res Commun.* 331: 1277-1283.
- Swiegers J. H., Bartowsky E. J., Henschke P. A., Pretorius I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor. *Aust J Grape Wine Res.* 11: 139-173.
- Thornalley P. J. (2003). Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Bioph.* 419: 31-40.
- Wang R., Zhou W., Isabelle M. (2007). Comparison study of the effect of green tea extract (GTE) on the quality of bread by instrumental analysis and sensory evaluation. *Food Res Int.* 40: 470-479.
- Wang Z., Huang Y., Zou J., Cao K., Xu Y., Wu J. M. (2002). Effect of red wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation *in vivo* and *in vitro*. *Inter J Mol Med.* 9: 77-79.
- Wattenburg L.W. (1990). Inhibition of carcinogenesis by minor nutrient constituents of the diet. *Proc Nutr Soc.* 49: 173-180.
- Yilmaz Y., Toledo R. T. (2006). Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *J Food Comp Anal.* 19: 41-48.
- Zhang J., Kashket S. (1998). Inhibition of salivary amylase by black and green teas and their effects on the intraoral hydrolysis of starch. *Caries Res.* 32: 233-238.
- Zieliński H., Amigo-Benavent M., Del Castillo M. D., Horszwald A., Zielińska D. (2010). Formulation and baking process affect Maillard reaction development and antioxidant capacity of ginger cakes. *J Food Nutr Res.* 49: 140-148.

4.3. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Działalność naukową rozpoczęłam już w okresie studiów zajmując się w czasie realizacji pracy magisterskiej problematyką lotnych metabolitów tworzonych przez pleśnie *Aspergillus* i *Penicillium* pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Henryka Jelenia. Próby badania zależności pomiędzy wybranymi związkami lotnymi pleśni a takimi wyróżnikami aktywności mikroorganizmów jak biosynteza toksyn czy tworzenie ergosterolu, zaowocowały publikacją w *Letters in Applied Microbiology* (A.1.1.) oraz trzema doniesieniami na konferencjach naukowych (A.4.1., A.4.2., A.4.5.), w tym jednej o zasięgu międzynarodowym. Pracę doktorską pt. „Wykorzystanie analizy związków lotnych i metod chemometrycznych do oceny stopnia utlenienia i wykrywania zafałszowań olejów roślinnych” realizowałam od 2000 r. również pod kierownictwem Pana prof. dr hab. Henryka Jelenia. Badania prowadziłam w ramach projektu badawczego promotorskiego pod tym samym tytułem (A.6.2.), realizowanego w latach 2004-2005, którego byłam głównym wykonawcą. Nadrzędnym celem badań było zweryfikowanie przydatności metod chemometrycznych, opartych na analizie związków lotnych, do oceny stopnia utlenienia i wykrywania zafałszowań olejów roślinnych. Wyniki analiz odniosłam do stosowanych dotychczas metod klasycznych, takich jak liczba nadtlenna, liczba anizydynowa, całkowity stopień oksydacji totox oraz porównałam z wynikami analiz sensorycznej. Wyniki uzyskane metodami chemometrycznymi porównywałam również z wynikami analizy związków lotnych oznaczonymi metodą chromatograficzną (SPME-GC/MS). Metody chemometryczne obejmowały wykorzystanie elektronicznego nosa opartego na technologii MOS, zmodyfikowanego spektrometru masowego pracującego jako elektroniczny nos oraz obróbki chemometrycznej profili związków lotnych uzyskiwanych w szybkiej chromatografii gazowej. Ponieważ jako jedyny w Polsce Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego był w posiadaniu elektronicznego nosa, aby poszerzyć swój warsztat analityczny odbyłam tygodniowe szkolenie we Francji z zakresu jego obsługi i możliwości wykorzystania do kompleksowej analizy żywności. Bazując na opracowanych metodach chemometrycznych dowiodłam, iż różne rodzaje olejów można wyraźnie zróżnicować na podstawie profili tworzonych związków lotnych. Zaobserwowałam możliwość wyraźnego odróżnienia prób posiadających obcy, oksydacyjny zapach od prób kontrolnych nie poddanych testom przyspieszonego starzenia. Próba korelacji metod chemometrycznych z dotychczas stosowanymi metodami dostarczyła zadawalających wyników. W pracy udowodniłam również możliwość zastosowania metod chemometrycznych do rozpoznawania klas jakości oliwy oraz wykrywania jej zafałszowań. Przedstawione w pracy badania, jako pierwsze w kraju, wykazały przydatność metod chemometrycznych jako szybkich, wygodnych i wiarygodnych narzędzi do oceny stopnia utlenienia i wykrywania zafałszowań olejów roślinnych. Metody te, bazujące na ocenie profilu związków lotnych, są obiecującym narzędziem do rutynowej kontroli jakości olejów roślinnych w przemyśle spożywczym. Realizacja pracy doktorskiej zaowocowała ukazaniem się, jeszcze przed uzyskaniem tytułu doktora, jednej publikacji naukowej w *Food Chemistry* (A.1.2.), przeglądowej publikacji o zasięgu krajowym (A.2.1.), jednej pracy konferencyjnej (A.3.2.), pięciu doniesień na konferencjach naukowych (A.4.3., A.4.4., A.4.6., A.4.7., A.4.9.), w tym trzech międzynarodowych i jednego referatu wygłoszonego na konferencji międzynarodowej (A.5.2), a po uzyskaniu stopnia doktora: czterech publikacji znajdujących się w bazie JCR (B.1.1., B.1.2., B.1.3., B.1.6.), oraz czterech doniesień na konferencjach naukowych (B.5.1., B.5.2., B.5.7., B.5.9.), w tym dwóch międzynarodowych.

Praca w zespole Pana Prof. dr hab. Henryka Jelenia pozwoliła mi na wypracowanie własnego warsztatu badawczego oraz ukształtowanie oryginalnych zainteresowań badawczych, które następnie zaowocowały podjęciem przeze mnie kilku kierunków badawczych:

- (1) wykorzystanie metod chemometrycznych i analizy związków lotnych do oceny jakości żywności,
- (2) związki biologicznie aktywne surowców roślinnych, w tym produktów odpadowych przemysłu spożywczego i ich wykorzystanie do wzbogacania żywności,
- (3) badanie kinetyki tworzenia produktów reakcji Maillarda w produktach zbożowych.

Ad. (1).

W czasie realizacji pracy doktorskiej miałam możliwość uczestniczenia w projekcie badawczym zamawianym PBZ/KBN/020/P06/1999 pt. "Wykorzystanie metod chemometrycznych do kompleksowej oceny jakości żywności wzbogacanej w przeciwutleniacze naturalne", w ramach projektu "Podstawy metodyczne kompleksowego wartościowania jakości i bezpieczeństwa żywności nowej generacji", którego kierownikiem był Pan prof. dr hab. Erwin Wąsowicz (A.6.1.). Projekt ten był realizowany we współpracy z Katedrą Technologii Żywnienia Człowieka, pod kierownictwem Pana prof. dr hab. Józefa Korczaka oraz Katedrą Towaroznawstwa Artykułów Spożywczych Akademii Ekonomicznej w Poznaniu, pod kierownictwem Pani prof. dr hab. Marii Małeckiej. Celem badań było ustalenie wpływu naturalnych przeciwutleniaczy na stabilność oksydacyjną substratów tłuszczowych występujących w układzie homogenicznym (olej w masie) oraz heterogenicznym (emulsje typu olej w wodzie). Aktywność przeciwutleniaczy określano w układach modelowych, zawierających lipidy o zróżnicowanym stopniu nienasycenia kwasów tłuszczowych, a także w żywności. Opracowany warsztat badawczy wykorzystałam do śledzenia zmian oksydacyjnych żywności, wzbogaconej w naturalne przeciwutleniacze, jako alternatywne narzędzie do tradycyjnych metod chemicznych. Praca w ramach tego projektu badawczego zaowocowała dwoma publikacjami (A.2.2., B.2.1.), w tym jednej po uzyskaniu stopnia doktora, i dwoma doniesieniami na konferencjach międzynarodowych (A.4.8., B.5.10.).

W tym czasie nawiązałam też ścisłą współpracę z Panią prof. dr hab. Renatą Zawirską-Wojtasiak z Zakładu Koncentratów Spożywczych co znajduje swoje odzwierciedlenie obecnie w liczbie wspólnie realizowanych projektów badawczych.

W ramach współpracy z Panią prof. dr hab. Renatą Zawirską-Wojtasiak, podjęłam się wykorzystania metod chemometrycznych, w tym elektronicznego nosa, do różnicowania aromatu różnych odmian rozmarynu (A.3.1., A.5.1.). Do oznaczeń zespół wykorzystał chiralną chromatografię gazową, olfaktometrię, elektroniczny nos oraz analizę sensoryczną. W badaniach wyznaczono cztery kluczowe związki aromatu rozmarynu oraz wykazano istotne różnice w stosunku ilościowym jedenastu par enancjomerów. Wykorzystana profilowa analiza sensoryczna wyraźnie zróżnicowała próby na podstawie aromatu. Dominującymi wyróżnikami, wpływającymi na różnicowanie prób, okazał się zapach eukaliptusowy, kamforowy, zielony i ziemisty. Wykorzystana w badaniach analiza PCA pozwoliła na podobne zróżnicowanie prób analizowanych za pomocą elektronicznego nosa, chromatografii gazowej i analizy sensorycznej, wskazując na możliwość zastosowania ich do rutynowej kontroli jakości. Wykazano ponadto dodatnią korelację pomiędzy

odpowiedzią sensorów elektronicznego nosa a natężeniem wyróżników charakterystycznych dla aromatu rozmarynu.

Bezpośrednio po obronie doktoratu (2005 r.) podjęłam pracę w Instytucie Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego w Zakładzie Technologii Zbóż na stanowisku asystenta, a od 2006 r. na stanowisku adiunkta, gdzie kontynuowałam rozpoczęte w pracy doktorskiej zainteresowania badawcze. Uczestniczyłam w badaniach mających na celu różnicowanie aromatu kilku odmian *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus citrinopileatus* i *Pleurotus djamor* z zastosowaniem GC/MS, elektronicznego nosa i profilowej analizy sensorycznej (B.2.2.). W oznaczeniach ilościowych brano pod uwagę trzy główne związki zapachowe grzybów: 3-oktanon, 3-oktanol i 1-okten-3-ol. Wykazano, że najwyższą zawartością 1-okten-3-olu charakteryzuje się *P. ostreatus*, a znacząco mniejszą *P. citrinopileatus*. Chiralna chromatografia gazowa wykazała wysoką czystość optyczną R-(-)-1-okten-3-olu w *P. ostreatus* i *P. djamor* (najwyższa) w przeciwieństwie do *P. citrinopileatus*. Używając analizy składowych głównych (PCA) i analizy funkcji dyskryminacyjnych (DFA), w oparciu o wyniki uzyskane z elektronicznego nosa, można było wyraźnie zróżnicować poszczególne odmiany boczniaków. Na podstawie odległości euklidesowej największe różnice obserwowano pomiędzy *P. ostreatus* i *P. citrinopileatus*. Aromat *P. djamor* różnił się znacząco od pozostałych zarówno w analizie sensorycznej jak i w elektronicznym nosie. Wyniki profilowej analizy sensorycznej i elektronicznego nosa wskazywały na podobny rozkład prób. Co więcej, uzyskano istotną korelację od 0,816 do 0,968 pomiędzy odpowiedzią elektronicznego nosa a poszczególnymi wyróżnikami analizy sensorycznej.

Moje zainteresowanie chemometrią, jako przydatnym narzędziem w analitycznej ocenie jakości żywności, wykorzystywałam uczestnicząc w projekcie finansowanym przez MNiSW pt. „Charakterystyka aromatu owoców wybranych linii transgenicznych ogórka ekspresyjnego genu taumatyny II”, którego kierownikiem była Pani prof. dr hab. Renata Zawirska-Wojtasiak, realizowanym w latach 2007 – 2009 (B.9.2.1.). Przedmiotem zainteresowań zespołu realizującego badania był zapach ogórka modyfikowanego genem taumatyny II. Materiał do badań stanowiły 4 linie ogórków transgenicznych, o zróżnicowanym poziomie ekspresji genu taumatyny II, uprawiane doświadczalnie w warunkach polowych w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Rośliny transgeniczne zostały uzyskane po transformacji wektorowej (LBA4409/pRUR528) mikroskrawków liściowych linii B, która została wyprowadzona ze starej polowej odmiany ogórka (*Cucumis sativus* L.) Borszczagowski. Praca w projekcie zaowocowała jedną publikacją w Journal of Food Science (B.1.4.) i jednym doniesieniem na międzynarodowej konferencji (B.5.8.) z moim udziałem. Do badań zespół wykorzystał chromatografy gazowe GC/MS i GC/MS/TOF, analizę sensoryczną i elektroniczny nos. Zaobserwowano zróżnicowanie zawartości związków lotnych pomiędzy liniami transgenicznymi ogórków a niemodyfikowaną linią kontrolną. Potwierdzono, że we wszystkich próbach w największych ilościach występowały 2,6-nonadienal i 2-nonenal, które są najważniejszymi komponentami zapachowymi ogórka. Analiza sensoryczna wykazała, iż modyfikowane genetycznie ogórki nie tylko charakteryzują się słodszy smakiem ale również wyższą akceptowalnością zapachu. Elektroniczny nos wyraźnie oddzielił próby kontrolne, nie poddane modyfikacji od tych modyfikowanych genetycznie. Zastosowana analiza częściowych najmniejszych kwadratów (PLS) pozwoliła na uzyskanie dodatnich korelacji pomiędzy odpowiedzią sensorów elektronicznego nosa a takimi wyróżnikami w ocenie sensorycznej jak ogólna pożądalność ($r = 0,970$) i typowy aromat ogórka (0,965).

Analiza związków lotnych została wykorzystana również w pracy B.2.3. której nadrzędnym celem była ocena wpływu warunków konszowania na jakość mas czekoladowych. Wśród związków charakterystycznych dla konszowanej masy czekoladowej odnotowano alkohole, estry, aldehydy, furany, tiazole, pirony, pirazyny i pirole. Zaobserwowano, iż temperatura w czasie procesu konszowania nie jest na tyle wysoka, aby powodować wzrost zawartości związków lotnych, przyczynia się raczej do ich spadku. Modyfikacja procesu konszowania, poprzez skrócenie jego czasu, nie wpłynęła istotnie na zmianę profilu związków lotnych, w tym pirazyn. Zmodyfikowanie procesu konszowania umożliwiło zachowanie ważnego związku tłuszczu mlecznego jakim jest diacetyl. Nie odnotowano natomiast wpływu zastosowanej metody na zawartość niepożądanych lotnych kwasów.

W pracy B.2.4. przedmiotem badań był skład związków zapachowych olejku eterycznego z nasion *Nigella sativa* L., stosunki enancjomerów związków chiralnych oraz charakterystyka sensoryczna. Do badań nasion czarnuszki pozyskiwanych na rynku wykorzystano GC/MS, chiralną chromatografię gazową, olfaktometrię, profilową analizę sensoryczną oraz elektroniczny nos. Zidentyfikowano jedenaście składników aromatu. Analiza olfaktometryczna wykazała, iż głównymi odorantami były *p*-cymen, tymochinon i karwakrol. Najwyższą zawartość we wszystkich próbach stwierdzono dla *p*-cymenu. Rozdzielono sześć par enancjomerów. Wszystkie te związki wykazały zróżnicowanie stosunku enancjomerów w poszczególnych próbach, za wyjątkiem karwonu, który występował zawsze w formie lewoskątnej (-)-karwon, o czystości optycznej nie mniejszej niż 85%. Dominującymi atrybutami sensorycznymi były zapachy kartonowy, ziołowy i korzenny. Sensoryczna analiza profilowa i elektroniczny nos, po interpretacji z zastosowaniem analizy PCA, wykazały podobne zróżnicowanie między próbami. Najwyższą korelację pomiędzy odpowiedziami sensorów elektronicznego nosa a poszczególnymi wyróżnikami w analizie sensorycznej uzyskano dla atrybutu miętowego (0,977) i kartonowego (0,962).

W 2010 r. zostałam zaproszona do napisania pracy przeglądowej dotyczącej elektronicznych nosów (B.1.7.). W publikacji poruszono koncepcję sztucznego nosa, obecnie stosowane technologie elektrochemicznych sensorów oraz przykłady ich zastosowań w analizie żywności. W pracy podkreślono bezsprzeczną przewagę elektronicznych nosów nad analizą sensoryczną, wynikającą między innymi ze zdecydowanie krótszego czasu analizy oraz powtarzalności uzyskanych wyników, niezależne od predyspozycji osoby oceniającej. Jednak zaakcentowano, iż tradycyjne metody analityczne jak chromatografia gazowa nadal będą potrzebne do różnicowania ilościowego i jakościowego prób, a technologia elektronicznych nosów w możliwym do przewidzenia czasie selektywności i czułości nosa ludzkiego nie zastąpi.

Wyniki badań aromatu chleba bezglutenowego oraz próby jego poprawy poprzez zastosowanie prekursorów związków lotnych zapachu pieczywa pszenne i pszenno-żytnie zostały opublikowane w *LWT-Food Science and Technology* (B.1.21.) oraz przedstawione na konferencji o zasięgu krajowym (B.5.5.). Prekursory (aminokwas/cukier) stanowiące substraty reakcji Maillarda dodawano do podstawowej receptury chleba bezglutenowego. Do badań wykorzystano chromatografię GC/MS i GCxGC-TOFMS oraz przeprowadzono profilową analizę sensoryczną. Wykazano, iż związkami różniącymi profile chleba bezglutenowego od pszenne czy pszenno-żytnie są pirazyny i 2-acetylo-1-pyrolina. 2-acetylo-1-pyrolina obecna w chlebie pszennym w ilości 8,87 µg/kg, w chlebie bezglutenowym nie zidentyfikowano. Zastosowanie prekursorów związków lotnych przyczyniło się do generacji podczas wypieku pożądanego związku lotnego aromatu

chlebowego. Jedynie zastosowanie pary proлина/глюкоза zaowocowało wygenerowaniem 2-acetylo-1-pyroliny, jednak tylko w śladowych ilościach. Dodatek takich par prekursorów jak proлина/глюкоза, ornityna/fruktoza czy proлина/fruktoza, wzbogaciły zapach pieczywa w acetylopirazynę. Analiza PCA danych chromatograficznych oraz profilowej analizy sensorycznej potwierdziła podobieństwo pod względem profili związków lotnych prób pieczywa pszennego i bezglutenowego wzbogaconego w parę prekursorów proлина/глюкоза. Ponadto przeprowadzona analiza konsumencka wśród osób cierpiących na celiakię potwierdziła atrakcyjność chlebów bezglutenowych o nowym aromacie w porównaniu z kontrolnym.

Ad.(2).

Konsekwencją zainteresowania związkami biologicznie aktywnymi i ich stabilnością termiczną był obrany przeze mnie kierunek badawczy, który stał się zasadniczym przedmiotem moich zainteresowań naukowych i pozwolił mi na uzyskanie szeregu wyników, które zostały przedstawione w niniejszym autoreferacie i czterech z pięciu publikacji stanowiących moje główne osiągnięcie (i, ii, iii, v), ale także prace i doniesienia konferencyjne stanowiące ich rozwinięcie i kontynuację (B.2.5., B.4.1., B.5.3., B.5.11., B.5.12, B.5.15., B.5.21., B.5.23., B.5.25., B.5.27., B.6.2., B.7.1.). Ten kierunek badawczy realizowałam w ramach dwóch projektów finansowanych przez MNiSW, w których pełniłam funkcję kierownika: projektu własnego pt. „Ocena możliwości wykorzystania polifenoli pozyskiwanych z wyłoków winiarskich na właściwości pieczywa i jego znaczenie w profilaktyce chorób cywilizacyjnych” (w latach 2008 – 2011) i projektu w ramach programu „Iuventus Plus” pt. „Ocena możliwości wykorzystania pieczywa żytniego na zakwasie wzbogaconego w ekstrakt z szafranu w profilaktyce cukrzycy (w latach 2010 – 2012) oraz trzech projektów, w których pełniłam funkcję wykonawcy: „Wykorzystanie ekstraktu z zielonej herbaty w produkcji pieczywa żytniego na zakwasie i jego znaczenie w prewencji otyłości oraz zachowaniu prawidłowej masy ciała u ludzi po terapii odchudzającej”(w latach 2008 – 2011, kierownik – dr inż. Joanna Bajerska), „Ocena możliwości wykorzystania żywności na bazie żurawin i ich odpadów poprodukcyjnych w prewencji i wspomaganiu terapii chorób przyzębia” (w latach 2010 – 2014, kierownik – dr hab. Małgorzata Woźniewicz) i projektu realizowanego w ramach funduszy strukturalnych POIG nr: .01.01.02-00-061/09, pt. „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”, (w latach 2010 – 2015, kierownik – prof. dr hab. Józef Korczak) (B.9.1.1., B.9.1.2., B.9.2.2., B.9.2.3., B.9.2.4.).

W ramach projektu w programie „Iuventus Plus”, którego byłam kierownikiem, za nadrzędny cel postawiłam próbę zaprojektowania pieczywa żytniego na zakwasie wzbogaconego w ekstrakt z szafranu, jako substancji sprzyjającej terapii cukrzycy i jej powikłań. W celu realizacji projektu, w kolejnych etapach określono poziom dodatku substancji bioaktywnych zawartych w ekstrakcie z szafranu, który nie wpłynął na obniżenie akceptacji konsumenckiej otrzymanego pieczywa, a uzyskany produkt charakteryzował się atrakcyjną nutą smakowo-zapachową oraz korzystnym profilem związków biologicznie aktywnych. Ponadto przeprowadzono doświadczenie na szczurach laboratoryjnych rasy Wistar, określając wpływ diet z ekstraktem z szafranu oraz pieczywa wzbogaconego w ekstrakt z szafranu na wybrane parametry żywieniowe i metaboliczne u szczurów laboratoryjnych. Do współpracy zaprosiłam Panią dr inż. Joannę Bajerską z Katedry Higieny Żywności Człowieka, Panią dr inż. Ewę Pruszyńską-Oszmałek z Katedry Fizjologii i Biochemii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz Pana dr Tomasza Podgórskiego z Zakładu Biochemii

Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusz Piaseckiego w Poznaniu. Zaobserwowano, iż w pieczywie z 0.16 % dodatkiem ekstraktu z szafranu straty związków fenolowych sięgały rzędu 37%, a aktywność antyoksydacyjna zmniejszała się o około 9 %. Dodatek ekstraktu z szafranu nie rzutował znacząco na teksturę miększu pieczywa oznaczaną za pomocą analizatora tekstury TAXT2, jednakże wpływał na obniżenie atrakcyjności sensorycznej, objętości pieczywa oraz zmianę barwy miększu. Na podstawie badań sensorycznych stwierdzono, że 0,12% dodatek ekstraktu z szafranu można stosować z uzyskaniem zadawalających wyników. W doświadczeniu biologicznym przeprowadzonym na szczurach, zwierzęta podzielono na 4 równoliczne grupy tak, aby zapewnić możliwie zbliżone przeciętne masy ciała w grupach i wywołano cukrzycę poprzez podanie streptozotocyny (STZ) w ilości 30 mg/kg masy ciała szczura. Chociaż pieczywo żytnie wzbogacone wyciągiem z szafranu, dodane do diety wysokotłuszczowej sprzyjało regeneracji komórek beta trzustki, wzrostowi sekrecji insuliny, obniżeniu stężenia glukozy i trójglicerydów, efekt ten nie był istotnie wyższy niż ten obserwowany w przypadku wyciągu szafranowego lub kontrolnego pieczywa żytniego dodawanego oddzielnie do diety wysokotłuszczowej. Dowiedzono tym samym, iż spożywanie pieczywa wzbogaconego w ekstrakt z szafranu nie wykazuje dodatkowego pozytywnego wpływu na regulację zaburzeń metabolicznych. Badania w ramach projektu zaowocowały jedną publikacją znajdującą się w bazie JCR (B.1.13.) oraz jednym doniesieniem na konferencji o zasięgu krajowym (B.5.6.).

Do głównych celów badawczych projektu pt.: „Wykorzystanie ekstraktu z zielonej herbaty w produkcji pieczywa żytniego na zakwasie i jego znaczenie w prewencji otyłości oraz zachowaniu prawidłowej masy ciała u ludzi po terapii odchudzającej”, którego byłam wykonawcą, należało zbadać wpływ ekstraktu z zielonej herbaty na jakość pieczywa żytniego. W ramach projektu określono poziom dodatku substancji bioaktywnych zawartych w zielonej herbacie, który nie wpłynie na obniżenie akceptacji konsumenckiej otrzymanego pieczywa, zawartość frakcji katechin w uzyskanym pieczywie oraz ich stabilność w czasie wypieku. Ponadto próbując wyjaśnić mechanizm działania substancji bioaktywnych zawartych w wyciągu herbacianym, badano wpływ diet z ekstraktem z zielonej herbaty oraz pieczywa z dodatkiem tego ekstraktu na wybrane parametry żywieniowe i metaboliczne u szczurów laboratoryjnych oraz efekt żywieniowy pieczywa z dodatkiem wyciągu z zielonej herbaty w aspekcie utrzymania należytnej masy ciała, wśród osób poddanych wcześniejszej kuracji odchudzającej. Pieczywo żytnie wzbogacano ekstraktem z zielonej herbaty na poziomie od 0,5 do 1,1%. W badaniach dowiedzono wysokiej stabilności katechin w czasie wypieku pieczywa. Ze względu na stabilność termiczną najważniejsze dla wyciągów herbacianych katechiny uszeregowano w następującej kolejności: epigalokatechina < galusan epigalokatechiny < galusan epikatechiny. Przeprowadzając analizę sensoryczną wykazano, iż najwyższy dodatek ekstraktu z zielonej herbaty wpływa niekorzystnie na smak pieczywa nadając nieprzyjemną ostrą nutę, dlatego najkorzystniej jest stosować dodatek 0,8%. Przeprowadzono również biologiczne doświadczenie na szczurach rasy Wistar, karmionych dietami wysokoenergetycznymi z dodatkiem pieczywa żytniego wzbogaconego w ekstrakt z zielonej herbaty na poziomie 0,8 i 1,1%. Dowiedzono, iż dieta z dodatkiem pieczywa wzbogaconego w ekstrakt z zielonej herbaty przyczynia się do wzrostu wartości energetycznej wydalanego kału, poziomu insuliny we krwi, jednak nie powoduje znacznego hamowania przyrostu masy ciała, spadku zawartości wisceralnej tkanki tłuszczowej, poziomu leptyny oraz parametrów biochemicznych związanych z metabolizmem lipidowym. W ostatnim etapie badań przeprowadzono

eksperymentalne badania żywieniowe z udziałem ludzi. Zaobserwowano, że spożywanie pieczywa z dodatkiem ekstraktu z zielonej herbaty przyczynia się do znacznie mniejszego przyrostu poziomu leptyny w surowicy krwi i obwodu talii oraz znacznie większego spadku średnich wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi w porównaniu z grupą uczestników spożywających kontrolne pieczywo. Wyniki prac, w których uczestniczyłam przedstawiono w trzech publikacjach znajdujących się w bazie JCR (B.1.9, B.1.14, B.1.19.) oraz w formie doniesień na konferencjach naukowych (B.5.18., B.5.24., B.5.26.).

Kolejny projekt, w którym miałam możliwość uczestniczyć, pt.: „Ocena możliwości wykorzystania żywności na bazie żurawin i ich odpadów poprodukcyjnych w prewencji i wspomaganiu terapii chorób przyzębia”, zasadał się na oryginalnej koncepcji wykorzystania nowoopracowanych i wyprodukowanych na bazie żurawin, produktów żywnościowych sprzyjających terapii i prewencji chorób przyzębia. W celu realizacji projektu opracowano sok żurawinowy z dodatkiem jabłka oraz ekstrudowane wyroby przekąskowe na bazie suszu z wycieków żurawinowych, które posiadały pożądane cechy funkcjonalne takie, jak: wysoki potencjał antyoksydacyjny, właściwości przeciwbakteryjne i akceptację konsumentką. W toku realizacji doświadczenia wykonano oznaczenia zawartości związków fenolowych, błonnika pokarmowego, aktywności antyoksydacyjnej, barwy w skali $L^*a^*b^*$, tekstury, współczynnika ekspansji promieniowej, gęstości właściwej, oraz analizy sensorycznej. Obecnie prowadzone są badania żywieniowe polegające na żywieniu młodzieży cierpiącej na zapalenie przyzębia sokiem żurawinowym z dodatkiem jabłka lub ekstrudowanymi wyrobami przekąskowymi na bazie suszu z wycieków żurawinowych lub obydwoma produktami łącznie. Po trzy miesięcznym doświadczeniu prowadzone są oceny efektu interwencji żywieniowej na stan tkanek przyzębia poprzez ocenę liczebności i kinetyki wzrostu drobnoustrojów patogennych sprzyjających rozwojowi chorób przyzębia, potencjału antyoksydacyjnego ustroju oraz nasilenie procesów zapalnych. O ile badania w ramach tego projektu nadal się toczą, to ich wyniki mogą wskazywać na antibakteryjne działanie związków fenolowych zawartych w wyciekach.

W latach 2010-2015 uczestniczyłam w interdyscyplinarnym konsorcjum naukowym w ramach projektu POIG pt. „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”. Nadrzędnym celem projektu było opracowanie innowacyjnej technologii produkcji nowych linii produktów spożywczych ograniczających zachorowalność na choroby cywilizacyjne, w tym na choroby sercowo-naczyniowe, otyłość, cukrzycę i anemię. Zadaniem zespołu, w którym uczestniczyłam, pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Wiktora Obuchowskiego, było projektowanie i konstruowanie produktów poprzez określenie matrycy produktu, sposobu związania matrycy z bioaktywnymi frakcjami surowców oraz ukształtowanie atrakcyjnego smaku, zapachu, barwy i konsystencji produktów. Zespół opracował technologię produkcji ekstrudowanych wyrobów przekąskowych, chleba chrupkiego, makaronu oraz wafli ryżowych wzbogaconych w bioaktywne składniki w skali laboratoryjnej. Następnie opracowaliśmy koncepcję linii technologicznych do przemysłowej produkcji wybranych produktów. Dzięki realizacji projektu miałam możliwość nawiązania współpracy z Przedsiębiorstwem Wielobranżowym Tovago z Puszczykowa, Wytwórnią makaronów „KAWU” z Lipna oraz z firmą Cukiernictwo-Piekarnictwo Tomasz, Grażyna, Jan Vogt Sp. j. z Pleszewa. Efektem realizacji projektu są dwie publikacje znajdujące się w bazie JCR (B.1.15., B.1.20.), trzy doniesienia na konferencjach międzynarodowych (B.5.14., B.5.19., B.5.20.) oraz jedno zgłoszenie patentowe (B.3.1.).

Wysoka aktywność antyoksydacyjna ekstraktów z zielonej herbaty stała się podstawą do przeprowadzenia przeze mnie eksperymentu, który miał na celu ustalenie wpływu naturalnych przeciwutleniaczy zawartych w ekstrakcie z zielonej herbaty na stabilność oksydacyjną kruchych ciastek, produktu o wysokiej zawartości tłuszczu. Badaniom poddano wyroby inkubowane w warunkach testu Schaala w temperaturze 60 °C przez 20 dni, wzbogacone naturalnym ekstraktem na poziomie od 0,02 do 1%, które porównano z ciastkami kontrolnymi oraz tymi, które wzbogacono syntetycznym przeciwutleniaczem butylohydroksyanizolem-BHA (0,02%). Wykazano, iż najlepsze właściwości ochronne posiada ekstrakt z zielonej herbaty na poziomie 1%, ograniczając tworzenie nadtlenków od 14 – 73%, porównywalnie z syntetycznym BHA (16 – 60%). Dodatek ten podobnie jak BHA hamował również oksydacyjny rozkład nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wykorzystując analizę SPME-GC/MS zaobserwowano już po 16 dniach przechowywania ciastek pojawienie się charakterystycznych lotnych markerów procesu autooksydacji. Jednak dodatek przeciwutleniaczy istotnie hamował rozpad wodoronadtlenków, a tym samym pojawienie się nieprzyjemnego zjełczałego zapachu wyrobów. Wyniki powyższych badań zaowocowały publikacją znajdującą się w bazie JCR (B.1.5.), dwoma doniesieniami na konferencjach międzynarodowych (B.5.22., B.5.28) oraz jednym referatem na konferencji naukowej (B.6.1.).

Próba zagospodarowania młóta pomidorowego stała się podstawą do podjęcia kolejnego eksperymentu, doświadczenia biologicznego z udziałem szczurów (B.1.18., B.5.16., B.5.17.). W celu ustalenia optymalnej dawki młóta jako dodatku wzbogacającego pieczywo wykonano oznaczenia zawartości związków fenolowych ogółem, likopenu, błonnika pokarmowego, aktywności antyoksydacyjnej, barwy w skali $L^*a^*b^*$, tekstury oraz analizy sensorycznej. W oparciu o uzyskane wyniki ustalono, że optymalny dodatek młóta do pieczywa żytniego to 5%. Wyższe stężenie (10 i 15%) powodowało obniżenie akceptacji panelu sensorycznego, poprzez zmianę barwy, spadek objętości i ogólnej pożądalności. W przeprowadzonym doświadczeniu biologicznym szczury podzielono na cztery równoliczne grupy i karmiono dietą wysokotłuszczową kontrolną, dietą wysokotłuszczową z dodatkiem młóta pomidorowego, dietą wysokotłuszczową z dodatkiem pieczywa kontrolnego oraz dietą wysokotłuszczową z dodatkiem pieczywa wzbogaconego w młóto na poziomie 5%. Przeprowadzone badania wykazały, iż dieta z dodatkiem młóta, pieczywa żytniego kontrolnego oraz pieczywa wzbogaconego młótem, powoduje wzrost wartości energetycznej wydalanego kału, co związane jest ze zwiększoną ilością wydalanego tłuszczu z kałem, ale nie wpływa na ogóle parametry wzrostowe zwierząt oraz na poziom wisceralnej tkanki tłuszczowej. Zarówno pieczywo kontrolne jak i te wzbogacone w młóto dodane do diety wysokotłuszczowej istotnie ograniczało jej niekorzystny wpływ, obniżając wskaźnik aterogenności osocza (31,6%) i stłuszczenie wątroby (24%), ale nie wpływało na poziom homocysteiny, triacylogliceroli, glukozy i insuliny w surowicy krwi oraz wątrobowej S-adenozylu-homocysteiny i S-adenozylu-metioniny.

Kontynuując tematykę zagospodarowania młóta pomidorowego podjęłam się realizacji trzymiesięcznego stażu w przedsiębiorstwie Międzychód Nowicka Spółka Jawna w ramach przedsięwzięcia „Staże i szkolenia praktyczne dla pracowników/nic naukowych placówek naukowych i pracowników/nic naukowych, naukowo-dydaktycznych i dydaktycznych uczelni w przedsiębiorstwach”, organizowanym przez Urząd Marszałkowski Województwa Wielkopolskiego. W ramach stażu pt.: „Projektowanie i ocena jakości funkcjonalnego przecierowego soku pomidorowego wzbogaconego w młóto pomidorowe wykazującego przydatność w żywieniu osób z zespołem metabolicznym” oceniłam wpływ zastosowanej metody suszenia na stabilność likopenu,

związków fenolowych, aktywność antyoksydacyjną i barwę młóta oraz opracowałam poszczególne etapy technologii produkcji przecierowego soku pomidorowego, wzbogaconego młótem pomidorowym. W ostatnim etapie mojego stażu oceniłam wpływ spożycia wzbogaconego soku na odczucie sytości u osób z rozpoznanym zespołem metabolicznym. Możliwość transferu wiedzy i doświadczenia pozwoliły mi na zweryfikowanie innowacyjnych pomysłów i dostosowanie ich do panujących realiów rynkowych. Dzięki realizacji stażu miałam możliwość uzyskania dodatkowej umiejętności rozwijania własnej i wspierania cudzej przedsiębiorczości. Jednocześnie udział w tym przedsięwzięciu pozwolił mi na prowadzenie badań odpowiadających zapotrzebowaniu firmy, a wyniki naszej współpracy z powodzeniem będą mogły zostać wdrożone w produkcji.

Zainteresowania badawcze dotyczące zagospodarowania produktów odpadowych przemysłu spożywczego zaowocowały nawiązaniem współpracy i odbyciem sześciotygodniowego stażu na Łotwie na zaproszenie Latvia State Institute of Fruit-Growing. W ramach stażu: „Design the functional food enriched with fruit by-products – from concept to marketplace” zajmowałam się próbą wykorzystania wyłoków żurawinowych i malinowych do produkcji pieczywa cukierniczego typu muffiny. W badaniach analizowałam stabilność antocyjanów, flawonoidów i tokoferoli w różnych wariantach czasu i temperatury wypieku oraz ich wpływem na jakość otrzymanych wyrobów. Jednocześnie po odbyciu stażu, próbując wyjaśnić mechanizmy odpowiedzialne za zmiany właściwości teksturalnych otrzymanych wyrobów wzbogacanych wyłokami, nawiązałam współpracę z Panem prof. dr hab. Teofilem Jesionowskim z Zakładu Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz z Panią dr inż. Agnieszką Pilarską z Zakładu Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, z którymi to podjęłam się analizy mikrostruktury ciastek z zastosowaniem skaningowego mikroskopu elektronowego. Współpraca tak interdyscyplinarnego zespołu badawczego zaowocowała przygotowaniem publikacji naukowej, wysłanej do Food Chemistry.

Ad. (3).

W latach 2012-2014 zaangażowana byłam w realizację projektu pt.: „Badanie tradycyjnych i nowych surowców kawy zbożowej pod kątem składników aromatycznych i neuroaktywnych”, w którym pełniłam funkcję wykonawcy (B.9.2.5.). Praca w projekcie zaowocowała publikacją w Food Chemistry z moim udziałem (B.1.17.). W badaniach podjęto się oznaczania związków β -karbolinowych norharmanu (NH) i harmanu (H), które wykazują działanie neuroaktywne w organizmie człowieka. Obecność związków β -karbolinowych stwierdzono w przetworzonej termicznie żywności, w tym w naparach kawowych. Przeprowadzone dotąd badania epidemiologiczne sugerowały, że spożycie kawy może w pewien sposób chronić przed rozwojem chorób neurodegeneracyjnych. Także kawa zbożowa okazała się źródłem związków β -karbolinowych. Zastosowana metoda analityczna SPE-HPLC pozwoliła precyzyjnie oznaczyć zawartość związków β -karbolinowych w badanych tradycyjnych i nowych surowcach do produkcji kawy zbożowej oraz mieszankach kawy zbożowej. Najwyższą zawartością związków β -karbolinowych wśród tradycyjnych surowców odznaczał się prażony burak cukrowy. Prażenie cykorii natomiast spowodowało 25-krotny wzrost zawartości NH w tym surowcu. W nowych surowcach (karczochy, owoce głogu, lubczyk, jagody i aronia) niepoddanych działaniu wysokiej temperatury, nie wykryto β -karbolin. Jednak ich powstanie stwierdzono w procesie prażenia a największą zawartością H i NH odznaczały się karczochy. Wysoką zawartością H stwierdzono także

w prażonej aronii. Dowiedziono, iż tradycyjna kawa zbożowa, może być uznana za egzogenne źródło związków β -karbolinowych a stosowane nowe surowce mogą mieć wpływ na zwiększenie ich zawartości.

Od 2014 roku prowadzone przeze mnie prace badawcze koncentrują się głównie wokół realizowanego projektu NCN pt.: "Badania kinetyki tworzenia produktów reakcji Maillarda w modelowych produktach zbożowych wzbogaconych w wyłoki owocowe", którego jestem kierownikiem (B.9.1.3.). Badania produktów reakcji Maillarda prowadzę we współpracy z Panią prof. dr hab. Renatą Zawirską-Wojtasiak, Panią dr hab. Agnieszką Waśkiewicz z Katedry Chemii oraz Panem dr inż. Aleksandrem Sigerem z Katedry Biochemii i Analizy Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Prace nad tym projektem są obecnie w fazie wstępnej, niemniej zaowocowały już jedną publikacją w Food Chemistry (iv, w głównym osiągnięciu badawczym). Nadrzędnym celem projektu jest badanie wpływu interakcji pomiędzy dodatkiem wyłoków owocowych a składnikami produktów zbożowych, obróbką termiczną i warunkami przechowywania na zawartość produktów reakcji Maillarda w modelowych ciastkach i pieczywie. Analiza sensoryczna i związków lotnych modelowych produktów zbożowych oraz korelacja pomiędzy zawartością polifenoli, aktywnością antyoksydacyjną (AA), barwą oraz stężeniem produktów reakcji Maillarda należy również do głównych celów badawczych projektu. Spośród produktów zbożowych do badań wyselekcjonowałam pieczywo oraz pieczywo cukiernicze, gdyż produkty te są spożywane powszechnie i w dużych ilościach. Wyłoki dodawane są do produktów zbożowych na różnym poziomie, przy czym najwyższy badany poziom nie przekracza maksymalnej akceptowanej przez konsumentów dawki. W modelowych ciastkach i pieczywie analizie poddany zostanie wpływ fenoli wyłoków na zawartość produktów reakcji Maillarda, uwzględniając następujące czynniki: rodzaj cukru, tłuszczu, mąki, udział procentowy tłuszczu do cukru, pH modelowego układu, temperatura i czas wypieku, warunki przechowywania. Realizacja projektu przyniesie ciekawe wyniki, pozwalające poszerzyć dotychczasową wiedzę dotyczącą mechanizmu inhibującego działania substancji bioaktywnych wprowadzonych do produktów zbożowych, kinetyki tworzenia produktów reakcji Maillarda oraz redukcji tych związków poprzez dodatek polifenoli, jak również wpływu różnych czynników na stabilność i mechanizm inhibującego działania polifenoli. Uzyskane rezultaty badań mogą stanowić przydatne narzędzie przy komponowaniu wyrobów piekarskich czy cukierniczych, umożliwiając produkcję żywności o obniżonej zawartości niekorzystnych produktów reakcji Maillarda.

4.4. Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego

Całkowity dorobek naukowy kandydatki wg punktacji MNiSW wynosi 680 punktów (w tym 160 stanowi podstawę wniosku habilitacyjnego). Sumaryczny Impact Factor (IF) dla opublikowanych prac wynosi 41,992. Liczba cytowań wg bazy Web of Science – 248 (z pominięciem autocytowań – 219), Index Hirscha – 9.

Dotychczas opublikowałam 80 prac, z czego 63 po uzyskaniu stopnia doktora. Na dorobek składa się:

- 23 (21 po uzyskaniu stopnia doktora) artykuły w czasopismach uwzględnionych w bazie JCR,
- 4 (3 po uzyskaniu stopnia doktora) artykuły w obcojęzycznych czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu IF, wymienionych w części B wykazu MNiSW,

- 3 (2 po uzyskaniu stopnia doktora) artykuły w czasopismach o zasięgu krajowym, nieposiadających współczynnika wpływu IF, wymienionych w części B wykazu MNiSW,
- 3 prace opublikowane w całości w materiałach konferencyjnych,
- 37 komunikatów konferencyjnych (w tym 27 na konferencjach o zasięgu międzynarodowym),
- 4 referaty wygłoszone na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych,
- 1 artykuł popularno-naukowy,
- 1 zgłoszenie wynalazku,
- 2 ekspertyzy,
- 2 opracowania z realizacji projektów badawczych.

