Anna Onopiuk
Katedra Techniki i Projektowania Żywności
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Załącznik 3

Autoreferat

Warszawa, 2022

Spis treści

1. Dane osobowe ... 4
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej. ... 4
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych. ... 4
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). ... 5
4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego ... 5
4.2 Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego ... 5
4.3 Omówienie celu naukowego publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego postępowania habilitacyjnego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania. ... 7
4.3.1 Wstęp 7
4.3.2 Cel badań ... 10
4.3.3 Omówienie wyników ... 12
4.3.4 Podsumowanie ... 26
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej. ... 32
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę. ... 37
6.1 Osiągnięcia dydaktyczne ... 37
6.2 Osiągnięcia organizacyjne ... 38
6.3 Osiągnięcia popularyzujące naukę ... 39
7. Pozostałe informacje dotyczące kariery zawodowej. ... 39
7.1 Pozostały dorobek publikacyjny ... 39
7.1.1 Ozonowanie jako skuteczna metoda przedłużania trwałości przechowalniczej żywności. ... 40
7.1.2 Analiza profilu kwasów tłuszczowych i składu podstawowego na jakość ogólną, teksturę, profil związków lotnych i ocenę sensoryczną w wybranych produktach spożywczych. ... 46
7.1.3 Chemiczne i fizyczne metody oceny jakości mięsa wołowego, ze szczególnym uwzględnieniem jego kruchości w trakcie dojrzewania ... 54
7.1.4 Analogi mięsa w perspektywie najnowszych badań naukowych. ... 67
7.1.5 Wpływ substancji bioaktywnych na właściwosci antyoksydacyjne i antyzapalne żywności. ... 71
7.1.6 Zastosowanie innowacyjnych metod pakowania produktów żywnościowych. ... 77
7.1.7 Badanie aktywności białek z grupy cystatyn jako potencjalnych markerów schorzeń nerek i układu moczowego. ... 85
7.2 Podsumowanie dorobku naukowego ... 88
7.3 Nagrody i wyróżnienia ... 91

1. **Dane osobowe**

Imię i nazwisko: Anna Onopiuk

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

• **Doktor** nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Stopień nadany uchwałą Rady Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie dnia 25 września 2019 r. Praca doktorska na wniosek recenzentów została wyróżniona przez Radę Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji:
- tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ czynników poubojowych na proces degradacji białek w mięsie wołowym",
- promotor: dr hab. Andrzej Półtorak, Prof. SGGW,
- recenzenci: Prof. dr hab. inż. Władysław Migdał, Uniwersystet im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Dr hab. inż. Magdalena Montowska, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

• **Magister** chemii ogólnej, Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, kierunek- Chemia- stacjonarne 2-letnie studia II stopnia, obrona pracy magisterskiej dnia 25 czerwca 2014,
- tytuł pracy magisterskiej: „Wykorzystanie Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów do oznaczeń Cystatyny C jako markera schorzeń nerek i układu moczowego",
- promotor: dr hab. Ewa Gorodkiewicz, prof. UwB.

• **Inne** posiadane dyplomy:
Świadectwo ukończenia CEN-stacjonarej 2-letniej specjalizacji nauczycielska-chemia, Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Pedagogiki i Psychologii, 2014.

3. **Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.**

Od 01.03.2020- Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie – adiunkt (pracownik badawczo – dydaktyczny) w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności.
Od 01.10.2019 - Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie – asystent naukowy w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności.
Od 2014 do 30.09.2019 – Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie – asystent naukowy w Samodzielnym Zakładzie Techniki w Żywieniu.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cykl pięciu publikacji naukowych powiązanych tematycznie pt. **„Analiza mechanizmu powstawania i metod ograniczania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w produktach poddanych obróbce termicznej oraz określenie wpływu procesów technologicznych na wybrane cechy jakościowe mięsa”.**

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

I.2.1 **Onopiuk, A**., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal processing. *Trends in Food Science & Technology, 115,* 366–379. **IF 16.002, 200 pkt,** https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.043

$MEiN_{2021}$ = 200	IF_{2022} = 16.002	$IF_{5\text{-letni}}$ = 14.466

Mój wkład: Opracowanie koncepcji publikacji, przegląd opracowań naukowych i rozwiązań technologicznych w zakresie tematu WWA, współudział w sformułowaniu wniosków, przygotowanie manuskryptu artykułu, przygotowanie odpowiedzi na recenzje artykułu. Procentowy udział w opracowaniu publikacji: **70%.**

I.2.2 **Onopiuk, A**., Kołodziejczak, K., Marcinkowska-Lesiak, M., & Półtorak, A. (2022). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using different extraction methods and HPLC-FLD detection in smoked and grilled meat products. *Food Chemistry, 373,* 1–7. **IF 9.231**, **200 pkt,** https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131506

$MEiN_{2021}$ = 200	IF_{2022} = 9.231	$IF_{5\text{-letni}}$ = 7.516

Mój wkład: Opracowanie koncepcji badań oraz ich metodyki, nadzór nad wykonywanymi analizami, wykonanie części doświadczeń technologicznych oraz analitycznych, analiza i interpretacja wyników, współudział w sformułowaniu wniosków, przygotowanie manuskryptu artykułu jako **autor korespondencyjny**, przygotowanie odpowiedzi na recenzje artykułu. Procentowy udział w opracowaniu publikacji: **80%.**

I.2.3 **Onopiuk, A**., Kołodziejczak, K., Marcinkowska-Lesiak, M., Wojtasik-Kalinowska, I., Szpicer, A., Stelmasiak, A., & Półtorak, A. (2022). Influence of plant extract addition to

marinades on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in grilled pork meat. *Molecules*, *27*(1). **IF 4.927**, **140 pkt,** https://doi.org/10.3390/molecules27010175

$MEiN_{2021}$ = 140	IF_{2022} = 4.927	$IF_{5\text{-letni}}$ = 4.588

Mój wkład: Opracowanie koncepcji badań oraz ich metodyki, nadzór nad wykonywanymi analizami, wykonanie części doświadczeń technologicznych oraz prac analitycznych, analiza i interpretacja wyników, współudział w sformułowaniu wniosków, przygotowanie manuskryptu artykułu jako **autor korespondencyjny**, przygotowanie odpowiedzi na recenzje artykułu. Procentowy udział w opracowaniu publikacji: **70%.**

I.2.4 **Onopiuk*, A.**, Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Monika Marcinkowska-Lesiak, Wojtasik-Kalinowska, I., Stelmasiak, A., & Półtorak, A. The effect of partial substitution of beef tallow on selected physicochemical properties, fatty acid profile and PAH content of grilled beef burgers. (2022). *Foods*, **IF 5.561, 100 pkt** 202211(13):1986. doi: 10.3390/foods11131986

$MEiN_{2021}$ = 100	IF_{2022} = 5.561	$IF_{5\text{-letni}}$ =4.957

Mój wkład: Opracowanie koncepcji badań oraz ich metodyki, nadzór nad wykonywanymi analizami, wykonanie części doświadczeń technologicznych oraz prac analitycznych, analiza i interpretacja wyników, współudział w sformułowaniu wniosków, przygotowanie manuskryptu artykułu jako **autor korespondencyjny**, przygotowanie odpowiedzi na recenzje artykułu. Procentowy udział w opracowaniu publikacji: **70%.**

I.2.5 **Onopiuk, A***., Szpicer A., Pogorzelski, G., Wierzbicka, A., Poltorak, A. (2022). Analysis of the impact of exogenous preparations of cysteine proteases on tenderness of beef muscles *Semimembranosus* and *Longissimus thoracis et lumborum*. Livestock Science., **IF 1.929**, **140 pkt**, 10.1016/j.livsci.2022.104866

$MEiN_{2021}$ = 140	IF_{2022} = 1.929	$IF_{5\text{-letni}}$ =2.252

Mój wkład: Opracowanie koncepcji badań oraz ich metodyki, nadzór nad wykonywanymi analizami, wykonanie części doświadczeń technologicznych oraz prac analitycznych, analiza i interpretacja wyników, współudział w sformułowaniu wniosków, przygotowanie manuskryptu artykułu jako **autor korespondencyjny**, przygotowanie odpowiedzi na recenzje artykułu. Procentowy udział w opracowaniu publikacji: **70%.**

Podsumowanie

Sumaryczna liczba IF oraz punktów MEiN dla prac stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust. 1. pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce:

Suma MEiN $_{2021}$ = 780	IF = 37.650	$IF_{5\text{-letni}}$ =33,779

Łączny Impact Factor (IF) dla 5 publikacji wynosi **IF 37.650.** Suma punktów według MEiN **780 pkt**. Oświadczenia współautorów prac wchodzących w cykl będący osiągnięciem naukowym, potwierdzające mój udział w ich powstaniu stanowi załącznik 6. Liczby porządkowe przyporządkowane poszczególnym publikacjom będą stanowiły odnośniki w dalszej części pracy.

4.3 Omówienie celu naukowego publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego postępowania habilitacyjnego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Analiza mechanizmu powstawania i metod ograniczania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w produktach poddanych obróbce termicznej oraz określenie wpływu procesów technologicznych na wybrane cechy jakościowe mięsa”.

4.3.1 Wstęp

Kluczowymi zagadnieniami w produkcji żywności jest jej jakość i bezpieczeństwo. Dotyczy to wszystkich rodzajów żywności, w tym również mięsa i jego przetworów. Mięso poddawane jest procesom przetwórczym w celu uzyskania odpowiednich cech użytkowych. Obróbka termiczna nadaje produktom mięsnym pożądane cechy sensoryczne (barwa, smak, aromat) oraz wydłuża ich trwałość przechowalniczą (Mejborn i wsp., 2019). Poddawanie mięsa obróbce termicznej w przypadku nieprawidłowo realizowanego procesu tj. zbyt wysokiej dawki ciepła lub zbyt długiego okresu trwania obróbki sprzyja powstawaniu produktów ubocznych - wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), które coraz częściej stanowią obiekt dociekań naukowych. Jest to spowodowane udowodnioną w badaniach szkodliwością tych związków dla organizmu człowieka.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne należą do organicznych zanieczyszczeń środowiska i żywności. Stanowią produkt niepełnego spalania materii organicznej. Związki te są zróżnicowane pod względem budowy cząsteczek. Ich cechą wspólną są co najmniej dwa sprzężone ze sobą pierścienie aromatyczne zbudowane z 5 lub 6 atomów węgla oraz atomów wodoru. To wielkość i kształt cząsteczki WWA determinuje jej właściwości fizyczne i chemiczne, a co najważniejsze jej aktywność biologiczną. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne dzieli się na dwie podstawowe grupy w zależności od ilości pierścieni aromatycznych budujących cząsteczkę. Wyróżniamy lekkie WWA (2-4 pierścieni), które

charakteryzują się niską toksycznością oraz wysoką lotnością. Ciężkie WWA natomiast są bardziej stabilne oraz wykazują wyższą toksyczność (Błaszczyk i Mielżyńska-Švach, 2017). Przykłady związków z grupy lekkich WWA obejmują fluoren (F), antracen (ANT), fluoranten (FL), benz(a)antracen (BaA), chryzen (CHR). Grupa ciężkich WWA obejmuje m.in. benzo(a)piren (BaP), benzo(b)fluoranten (BbFL), benzo(g,h,i)perylen (BghiP), benzo(k)fluoranten (BkF), dibenz(a,h)antracen (DBahA) i indeno(1,2,3-cd)piren (IP).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne pochodzić mogą ze źródeł naturalnych np.: wulkanów, paliw kopalnych, pożarów lasów, jednak mogą mieć także pochodzenie antropogeniczne (przemysł energetyczny, transport drogowy oraz procesy technologiczne) (Yebra-Pimentel i wsp., 2015). Przez swoje właściwości litofilne cząsteczki WWA łatwo rozprzestrzeniają się w środowisku wraz z powietrzem np.: na powierzchni pyłów. W konsekwencji powszechnego występowania WWA w powietrzu, glebie i wodzie, zanieczyszczeniu ulega nieprzetworzona żywość pochodzenia roślinnego oraz pośrednio, zwierzęcego. WWA do organizmu człowieka dostają się wskutek wchłaniania poprzez drogi oddechowe, skórę i przewód pokarmowy. Największe narażenie człowieka na kontakt z tymi związkami wynika ze spożycia zanieczyszczonej żywności, która została wytworzona w sposób nieprawidłowy – albo poprzez zastosowanie niewłaściwego procesu obróbki termicznej lub zbyt długiego czasu i zbyt wysokiej temperatury. WWA obecne w produktach spożywczych pochodzą ze środowiska lub powstają w nich wskutek procesów przetwórczych. Do operacji technologicznych powodujących zanieczyszczenie żywności WWA należą przede wszystkim wędzenie i grillowanie, ponieważ istnieje ryzyko kontaktu obrabianej termicznie żywności z produktami niepełnego spalania materii organicznej. W literaturze naukowej mowa jest o trzech prawdopodobnych mechanizmach prowadzących do powstawania WWA. Pierwszy stanowi piroliza materii organicznej,w szczególności białka i tłuszczu, drugi związany jest z wyciekiem soku komórkowego na źródło ciepła i jego rozkład termiczny, a trzeci związany jest z niecałkowitym spalaniem materii organicznej w postaci paliwa (węgiel, drewno) (Molognoni i wsp., 2019). Dokładny mechanizm powstawania WWA nie został dotychczas w pełni poznany, jednak prawdopodobne reakcje tworzenia WWA obejmują: mechanizm reakcji wodoru i addycji acetylenu (HACA), połączenie kondensacji WWA z mechanizmem HACA, tworzenie WWA z rodników, mechanizm Dielsa-Aldera i addycję fenylu- mechanizm cyklizacji (PAC) lub mechanizm PAC wzmocniony przez HACA (Han i wsp., 2020; Reizer i wsp., 2019). Reakcje te zachodzą w zakresie temperatur 350–900°C, i tak przykładowo benzo(a)piren tworzy się w temperaturze około 500°C.

Powstające WWA transportowane z dymem osadzają się na powierzchni ogrzewanego produktu, a następnie migrują do jego wnętrza. Spożyte wraz z produktem WWA wchłaniane są w organizmie człowieka. Przemiany metaboliczne tych związków mają na celu zwiększenie polarności cząsteczek i tym samym łatwiejsze usunięcie ich z organizmu. Pierwsza faza przemian metabolicznych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych polega na aktywacji metabolicznej ksenobiotyku poprzez wprowadzenie do cząsteczki WWA grupy polarnej. Powstała w ten sposób cząsteczka stanowi substrat dla enzymów drugiej fazy przemian, które poprzez przyłączanie endogennych podstawników (siarczanów) zwiększają jej rozpuszczalność w wodzie. Przemiany te prowadzić mają do detoksykacji WWA, jednak w wielu przypadkach przekształcona cząsteczka jest bardziej reaktywna i znacznie bardziej toksyczna niż pierwotna.

Liczne badania wykazały, że WWA wykazują toksyczne, genotoksyczne, mutagenne i rakotwórcze działanie na organizmy żywe, w tym na organizm człowieka (Wang i wsp., 2018). Reaktywne metabolity pośrednie WWA promują liczne reakcje toksyczne i biochemiczne w organizmie, w szczególności poprzez łączenie się z makrocząsteczkami niszcząc je i tworząc np.: addukty DNA-WWA. Addukty te prowadzą do błędów w procesie replikacji, a w konsekwencji do mutacji, której skutkiem może być inicjacja i progresja procesu kancerogenezy. Z tego powodu konieczne jest monitorowanie poziomu WWA w żywości. International Agency for Research on Cancer (IARC) dokonała podziału WWA ze względu na stopień toksyczności, natomiast The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) oraz Environmental Protection Agency (US EPA) sporządziły listy WWA, które powinny zostać objęte monitoringiem (IARC 2012; US EPA 1984; WHO 2005). Unia Europejska również sporządziła wykaz, który obejmuje 8 WWA z listy EPA oraz 8 związków spoza niej. Wydano Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r., w którym benzo(a)piren został określony jako marker występowania oraz działania kancerogennego WWA. Ustalono także jego najwyższy, dopuszczalny poziom w żywności, wynoszący 2 µg/kg. Na podstawie raportu European Food Safety Authority (EFSA) zdecydowano jednak, że odpowiednim wskaźnikiem zawartości WWA w żywności będzie suma zawartości 4 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA4): benzo(a)pirenu (BaP), chryzenu (Chry), benzo(a)antracenu (BaA) oraz benzo(b)fluorantenu (BbF). Określony został najwyższy, dopuszczalny poziom dla WWA4 w produktach mięsnych, który wynosi 12 µg/kg (Rozporządzenie 1881/2006). Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 836/2011 metoda analityczna stosowana do oceny zawartości WWA w żywności powinna spełniać określone kryteria w zakresie swoistości, powtarzalności, odtwarzalności, odzysku (w zakresie 50-120%), granicy wykrywalności (LOD ≤ 0,30 µg/kg) oraz oznaczalności (LOQ ≤ 0,90 µg/kg).

Analiza WWA w produktach spożywczych wiąże się z licznymi trudnościami, ponieważ związki te obecne są w żywności w ilościach śladowych. Ponadto matryca żywnościowa jest lipofilna, przez co często dochodzi do współekstrakcji innych związków organicznych. Dobór metody analitycznej utrudniony jest również przez występowanie wielu izomerów WWA. Warunkiem koniecznym jest wysoka selektywność stosowanych metod. Wieloetapowe i złożone procedury analityczne zwiększają ryzyko błędów. Z tego powodu konieczne jest opracowywanie odpowiednich metod oznaczania WWA oraz weryfikacja ich skuteczności, zwłaszcza, że przepisy prawne nie wskazują odpowiedniej metody analitycznej. W dostępnej literaturze naukowej niewiele jest badań porównujących różne metody ekstrakcji WWA z produktów spożywczych.

Analiza WWA w żywności zwykle obejmuje trzy główne etapy: ekstrakcję WWA z matrycy spożywczej, oczyszczenie ekstraktu ze związków interferujących oraz określenie ilości i/lub profilu badanych związków. Stosowane są obecnie różnorodne metody ekstrakcji, a ich wybór zależy od możliwości laboratorium oraz analizowanej matrycy. Do najpopularniejszych z nich należą: ekstrakcja Soxhleta, mieszanie/sonikacja ultradźwiękowa i mieszanie mechaniczne, ekstrakcja rozpuszczalnikiem (ASE), ekstrakcja płynem pod ciśnieniem (PFE), ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE) oraz ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (SFE). Spośród metod analizy ilościowej i jakościowej WWA najczęściej stosowana jest wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją fluorescencyjną (HPLC-

FLD) i chromatografia gazowa ze spektrometrią masową (GC-MS). Metody te są stosunkowo drogie, czasochłonne i wymagają wykwalifikowanego personelu, jednak wykazują bardzo wysoką selektywność i czułość. Największe wyzwania w analizie WWA wiążą się z następującymi zagadnieniami: niestabilnością produktów, doborem odczynników, powstawaniem produktów ubocznych oraz skutkami ubocznymi spowodowanymi nadmiarem odczynnika obniżającego czułość kolumny (Jinadasa i wsp., 2020). Stosowane metody ekstrakcji obejmują zarówno znane i cenione od lat, jak i nowoczesne rozwiązania. W analizie WWA zastosowanie znalazły m.in.: ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE), ekstrakcja do fazy stałej (SPE), ekstrakcja płynem nadkrytycznym (SFE) oraz metoda QuEChERS (Q – szybka, E – łatwa, C – tania, E – efektywna, R – wytrzymała, S – bezpieczna). Ekstrakt następnie jest oczyszczany ze związków, które mogłyby zakłócić kolejne etapy analizy. Do oczyszczania stosuje się np.: odpowiednio upakowaną kolumnę chromatograficzną, chromatografię żelowo-permeacyjną (GPC) lub ekstrakcję do fazy stałej. Współcześnie analizę ilościową i jakościową WWA przeprowadza się najczęściej z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną (HPLC-FLD) lub z wykorzystaniem detektora z matrycą fotodiodową (HPLC-DAD) (Chatterjee i wsp., 2016; Ledesma i wsp., 2016; Jinadasa i wsp., 2020). Ilość i profil powstających WWA zależy od wielu czynników, do najważniejszych z nich zaliczyć można: rodzaj surowca, zawartość tłuszczu w produkcie, stosowane dodatki do żywności, rodzaj użytego paliwa, wybraną metodę obróbki cieplnej, czas i temperaturę prowadzenia procesu, ułożenie produktu względem źródła ciepła, stan i konstrukcję sprzętu (Kim i wsp., 2021; Ledesma i wsp., 2016; Ledesma i wsp., 2015; Singh i wsp., 2018; Wang i wsp., 2019).

Jednym z kluczowych determinantów zanieczyszczenia produktów grillowanych WWA jest zawartość tłuszczu (Kim i wsp., 2021). Tłuszcz zwierzęcy stosowany w przemyśle spożywczym pełni istotną rolę w tworzeniu atrakcyjnych cech sensorycznych (stanowi nośnik smaku). Jednocześnie tłuszcze zwierzęce uznane są za szkodliwe dla człowieka ze względu na wysoką zawartość cholesterolu i nasyconych kwasów tłuszczowych. Wykazano korelację między wysokim spożyciem tłuszczów zwierzęcych, a otyłością, niektórymi rodzajami nowotworów oraz chorobami układu krążenia (Belichovska i wsp., 2017). Z tego względu modyfikacja składu produktów mięsnych mająca na celu obniżenie zawartości tłuszczu lub częściowe jego zastąpienie wydaje się odpowiednią strategią obniżania ryzyka powstawania WWA oraz poprawy wartości odżywczej produktów pochodzenia zwierzęcego.

Znajomość czynników wpływających na stopień zanieczyszczenia żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi jest niezwykle istotna w perspektywie optymalizowania procesów przetwórczych oraz ograniczenia tworzenia się tych związków w produktach mięsnych.

4.3.2 Cel badań

Celem badań realizowanych w ramach osiągnięcia naukowego była analiza ilościowa wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności, metod ograniczania ich powstawania w trakcie obróbki termicznej, jak również analiza wpływu zastosowania odpowiednich procesów technologicznych umożliwiających redukcję poziomów obecności WWA oraz maksymalizacja jakości i bezpieczeństwa produktów mięsnych.

W związku z powyższym sformułowano następujące hipotezy badawcze, które poddano weryfikacji:

H1. Szczegółowo opracowana metoda HPLC/FLD/DAD oraz zastosowanie techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE) umożliwiają skuteczne oczyszczenie matrycy żywnościowej ze związków interferujących oraz analizę ilościową profilu WWA w produktach pochodzenia zwierzęcego, charakteryzującą się określonym w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 836/2011 limitem detekcji, odzyskiem i liniowością.

H2. Wykorzystanie wysokiej jakości wyselekcjonowanych mieszanek ekstraktów z ziół i przypraw bogatych w związki o charakterze antyoksydacyjnym (związków fenolowych) przyczynia się do hamowania powstawania prekursorów WWA w procesie obróbki termicznej oraz korzystnie wpływa na profil związków lotnych, barwę i twardość mięsa.

H3. Profil kwasów tłuszczowych (tj. zawartość krótko- i długołańcuchowych, nasyconych, jednonienasyconych, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, izomeria konformacyjna *cis, trans*) w produktach mięsnych poddawanych obróbce termicznej determinuje powstawanie WWA zarówno o niskiej, jak i wysokiej masie cząsteczkowej. Odpowiedni dobór tłuszczów, charakteryzujący się założonym profilem kwasów tłuszczowych może przyczynić się do podwyższenia wartości odżywczej i jednocześnie ograniczyć zachodzące w matrycy reakcje cyklizacji związków organicznych powodujących tworzenie toksycznych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.

H4. Zastosowanie naturalnych enzymów proteolitycznych pozyskiwanych ze specjalnie dobranych roślin takich jak malonowiec właściwy (*Ananas comosus*), łodyga ananasa (*Ananas comosus*) i lateks drzewa figowego wpływa na przyspieszenie wewnątrzkomórkowych procesów biologicznych *post mortem*, co w konsekwencji powoduje podwyższenie jakości mięsa, zwłaszcza poprawia jego kruchość i obniża maksymalną siły cięcia).

Weryfikację powyższych hipotez przeprowadzono z wykorzystaniem metod badawczych i analitycznych umożliwiających m.in.: ekstrakcję WWA z matrycy żywnościowej, oczyszczanie i oznaczanie 12 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (fluoren, antracen, fluoranten, benzo(b)fluoren, benzo(a)antracen, chryzen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benza(a)piren, diben(a,h)antracen, benzo(g,h,i)perylen i indeno(1,2,3-cd)piren) w produktach pochodzenia zwierzęcego. Ponadto dokonano pomiarów tj. analiza tekstury (TPA), całkowita zdolność antyoksydacyjna (%DPPH), całkowita zawartość polifenoli, profil związków lotnych, stopień oksydacji lipidów (TBARS) oraz profil kwasów tłuszczowych produktów mięsnych. Wykonano również pomiar wartości pH_{24} mięsa *post mortem*, długości sarkomerów, składu podstawowego mięsa (zawartości wody, tłuszczu, białka, popiołu), zawartości kolagenu ogólnego i nierozpuszczalnego w wodzie, barwy w systemie L*a*b*, siły cięcia (*Warner – Bratzler shear force,* WBSF), indeksu fragmentacji miofibryli (MFI), zdolności utrzymania wody własnej (WHC), analizę białek z wykorzystaniem elektroforezy SDS-PAGE połączonej z enzymatyczną metodą Western Blotting.

Cele szczegółowe:

- opracowanie metody oznaczania profilu WWA w wędzonych i grillowanych produktach mięsnych, identyfikacja prekursorów tworzenia się związków cyklicznych oraz weryfikacja skuteczności wybranych metod ograniczania powstawania WWA o niskiej i wysokiej masie cząsteczkowej (poprzez zastosowanie wysokiej jakości wyselekcjonowanych mieszanek ekstraktów z ziół i przypraw bogatych w związki o charakterze antyoksydacyjnym oraz odpowiednio dobrany profil kwasów tłuszczowych produktów mięsnych) (artykuły: I.2.1., I.2.2, I.2.3, I.2.4) – Numeracja zgodna z Załącznikiem 4;

- określenie wpływu cysteinowych enzymów proteolitycznych tj. papainy, bromelainy i ficyny na kruchość mięśni wołowych zróżnicowanych pod względem zawartości tkanki łącznej mięsnych mieszańców rasy Holstein-Fresian x Limousine (artykuł: I.2.5) – Numeracja zgodna z Załącznikiem 4.

4.3.3 Omówienie wyników

W ramach osiągnięcia naukowego dokonałam analizy zalet i ograniczeń stosowanych metodyk analitycznych, co pozwoliło na wyselekcjonowanie pięciu spośród opisywanych w literaturze metod ekstrakcji WWA z matrycy żywnościowej. W wyniku badań wstępnych poddano weryfikacji laboratoryjnej trzy metody, które zostały porównane między sobą m.in.: pod względem selektywności i precyzji, granicy oznaczalności (*limit of quantification* LOQ), limitu detekcji (*limit of detection* LOD) oraz odzysku. Badania prowadzone były z wykorzystaniem zróżnicowanych próbek (tradycyjnie wędzone ryby: łosoś, sielawa i okoń atlantycki; wędzone i grillowane mięso wieprzowe i wołowe (*Semimembranosus*)), a także nowoczesnych technik analitycznych tj.: wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym oraz detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Zgromadzone dane zostały poddane szczegółowej analizie z wykorzystaniem odpowiednio dobranych metod statystycznych.

W ramach mojego osiągnięcia naukowego dokonałam także analizy porównawczej opracowań naukowych i rozwiązań technologicznych oraz zidentyfikowałam ważące czynniki wpływające na profil i zawartość WWA w produktach spożywczych. Zweryfikowałam również wpływ marynat (zawierających związki polifenolowe i wykazujących wysoką zdolność antyoksydacyjną) na profil i zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w grillowanej wieprzowinie ze zróżnicowaną zawartością tłuszczu śródmięśniowego. Ostatnim etapem badawczym w moim osiągnięciu naukowym była analiza wpływu zawartości natywnego i dodanego tłuszczu oraz profilu kwasów tłuszczowych na powstawanie WWA w trakcie grillowania burgerów wołowych.

Badania w ramach osiągnięcia naukowego podzielono na 3 Etapy:

Etap 1: Przegląd literatury z zakresu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności oraz opracowanie metody oznaczania profilu WWA w wędzonym/grillowanym mięsie wieprzowym i wołowym oraz rybach.

Etap 2: Zastosowanie wysokiej jakości wyselekcjonowanych mieszanek ekstraktów z ziół i przypraw bogatych w związki o charakterze antyoksydacyjnym oraz odpowiednio dobrany profil kwasów tłuszczowych produktów mięsnych w celu ograniczenia powstawania WWA w trakcie grillowania.

Etap 3: Określenie wpływu cysteinowych enzymów proteolitycznych (papainy, bromelainy i ficyny) na jakość mięsa wołowego w trakcie dojrzewania.

Omówienie Etapów 1-3:

Etap 1: Przegląd literatury z zakresu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności oraz opracowanie metody oznaczania profilu WWA w wędzonym/grillowanym mięsie wieprzowym i wołowym oraz rybach.

Mięso i produkty mięsne wymagają odpowiedniej obróbki termicznej celem zapewnienia jakości, w tym pożądanych właściwości sensorycznych, poprawy biodostępności składników odżywczych oraz wydłużenia przydatności do spożycia. W ramach Etapu 1 dokonano analizy opracowań naukowych i rozwiązań technologicznych oraz zidentyfikowano czynniki wpływające za profil i zawartość WWA w produktach spożywczych (artykuł: I.2.1). Treść publikacji została podzielona na pięć głównych sekcji obejmujących:

I. Charakterystykę wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych;
II. Zanieczyszczenie żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi;
III. Wpływ WWA na organizm człowieka;
IV. Metody analityczne oznaczania WWA w żywności oraz wymagania prawne;
V. Czynniki wpływające na zawartość WWA w żywności, możliwości obniżania poziomu WWA w produktach mięsnych poddanych obróbce termicznej.

Publikacja ta pozwoliła na zgromadzenie i usystematyzowanie wiedzy w zakresie najnowszych doniesień naukowych dotyczących wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, stanowiąc metaanalizę problemu badawczego. Znajomość czynników wpływających na stopień zanieczyszczenia żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi jest niezwykle istotna w perspektywie optymalizowania procesów przetwórczych oraz ograniczania tworzenia się tych związków w produktach mięsnych i rybach. Oznaczanie WWA w żywności zwykle obejmuje trzy główne etapy: ekstrakcję WWA z matrycy spożywczej, oczyszczenie ekstraktu ze związków interferujących oraz określenie ilości i/lub profilu badanych związków. Analiza WWA w produktach spożywczych wiąże się z licznymi trudnościami, ponieważ związki te obecne są w żywności w ilościach śladowych. Ponadto matryca żywnościowa jest lipofilna, przez co często dochodzi do współekstrakcji innych związków organicznych. Dobór metody analitycznej utrudniony jest również przez występowanie wielu izomerów WWA. Warunkiem koniecznym jest wysoka selektywność stosowanych metod. Wieloetapowe i złożone procedury analityczne zwiększają ryzyko błędów i zwiększają niepewność wyników. Z tego powodu konieczne było opracowanie odpowiednich metod oznaczania WWA oraz weryfikacja ich skuteczności i pewności pomiarów oraz uzyskanych wyników, zwłaszcza, że przepisy prawne nie wskazują odpowiedniej metody

analitycznej. W dostępnej literaturze naukowej niewiele jest wyników badań porównujących różne metody ekstrakcji WWA z produktów spożywczych. Celem badań zrealizowanych i umieszczonych w publikacji 2 (artykuł I.2.2) było porównanie trzech metod ekstrakcji wybranych sześciu WWA (fluoranten, benzo(b)fluoranten, benzo(a)antracen, chryzen, benza(a)piren, diben(a,h)antracen) z listy związków priorytetowych wg US-EPA oraz UE.

Materiał badawczy stanowiły produkty wędzone [(łosoś, sielawa i okoń, mięso wieprzowe (*carnes porcinas*) i wołowina (*longissimus dorsi*)] oraz grillowane [(mięso wieprzowe (*carnes porcinas*) i wołowina (*longissimus dorsi*)]. Wędzenie przeprowadzono z wykorzystaniem sezonowanego i okorowanego drewna olchowego. Produkty umieszczono w równej odległości od źródła ciepła. Proces trwał 8 godzin, a temperatura w komorze wędzarniczej wynosiła 50°C. Grillowaniu poddano mięso pokrojone na steki o grubości 1,5 cm i masie ok. 150 g. Próbki grillowano 9 min. Temperatura żaru pochodząca z węgla drzewnego wynosiła 300–350°C. Do analiz stosowano odczynniki o odpowiedniej czystości analitycznej, dostosowane do analizy z wykorzystaniem HPLC.

Pierwszą metodą ekstrakcji była technika QuECHERS, która wymagała optymalizacji ze względu na złożoną matrycę mięsną. Procedura obejmowała homogenizację 10 g próbki z wodą destylowaną (10 ml) i acetonitrylem (10 ml). Następnie, do próbki dodany został siarczan magnezu ($MgSO_4$, 4 g), chlorek sodu (NaCl, 1 g), dwuwodny cytrynian sodu (1 g) i wodorocytrynian sodu (0,5 g). Mieszaninę wytrząsano (vortex MS 3 digital, IKA) oraz odwirowano 10 min, 4000 rpm (MPW-251, MPW Med. Instruments). Ciecz znad osadu została następnie przeniesiona do probówki z sorbentem (NaCl i $MgSO_4$). Po ponownym odwirowaniu supernatant przeniesiono do szklanej probówki i odparowano prawie do sucha w strumieniu azotu (Nitrogen 5.0 purity 99.999% ALPHAGAZ, Air Liquide B50/200 bar/9.6 m^3). Pozostałość rozpuszczono w 1,2 ml acetonitrylu i przeniesiono do fiolki autosamplerowej.

W ramach optymalizacji metody opisanej szczegółowo przez Bogdanović i wsp. (2019), w pierwszej kolejności dokonano zmydlania tłuszczu w próbkach mięsa, a następnie oczyszczono próbki metodą SPE (ekstrakcja do fazy stałej). Próbki przygotowano do ekstrakcji poprzez inkubację 10 g mięsa i ryb z 25 ml 1 M etanolowego roztworu wodorotlenku potasu w łaźni wodnej (80°C, WNB 7 Memmert, Niemcy) przez 2 godziny. Próbkę, w której dokonano zmydlenia tłuszczu przeniesiono do szklanego rozdzielacza, w którym trzykrotnie ekstrahowano WWA 15 ml cykloheksanu, który następnie odparowano. Ekstrakt przemyto trzykrotnie mieszaniną acetonu i acetonitrylu (40:60). Zawartość kolby odwirowano, a ciecz znad osadu poddano oczyszczaniu SPE zgodnie z metodyką opisaną przez Kafouris i wsp. (2020). Jako pierwszą zastosowano kolumnę C18, którą aktywowano metanolem i acetonitrylem. Drugi etap oczyszczania ekstraktu stanowiło przepuszczenie próbki przez aktywowaną dichlorometanem i n-heksanem kolumnę Florisil SPE. Oczyszczony ekstrakt odparowano na wyparce obrotowej. Pozostałość rozpuszczono w 1,2 ml acetonitrylu i roztwór przesączono stosując 0,45 µm membranowy filtr strzykawkowy.

Trzecią porównywaną metodą była ekstrakcja z liofilizatów. Próbki poddano 4 etapowej liofilizacji. Proces liofilizacji przebiegł zgodnie z procedurą: zamrażanie surowca, suszenie wstępne, suszenie główne i suszenie końcowe (Christ Alpha 2–4 LSC plus, Szwajcaria). Odwodnione próbki zmielono na proszek i ekstrahowano zgodnie z metodyką opisaną przez

Viegas i wsp. (2012). Do 2 g liofilizatu dodano 20 ml n-heksanu, a następnie mieszaninę poddano działaniu ultradźwięków (Elma sonic S60, Polska) przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Próbkę przepuszczono przez filtr i odparowano prawie do sucha na wyparce obrotowej (ROTAVAPOR R-100 Büchi DONSERV, Polska). Ekstrakt przepuszczono przez aktywowany dichlotometanem i n-heksanem kartridż krzemionkowy (Mega BE-Si, 5 g, 20 mL, Agilent Technologies, USA). Elucję przeprowadzono za pomocą 17 ml mieszaniny n-heksan/dichlorometan (70:30) (v/v). Spuszczono pierwsze 8 ml eluatu, a następnie frakcję zawierającą WWA zebrano do fiolki. Szybkość przepływu była regulowana i wynosiła około 1 kroplę na sekundę. Zebraną frakcję odparowano do sucha pod strumieniem azotu w temperaturze pokojowej, pozostałość rozpuszczono w 1,2 ml acetonitrylu i umieszczono w probówkach autosamplerowych.

Do analizy ilościowej i jakościowej wyekstrahowanych WWA wykorzystano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Analytical HPLC, 1260 Infinity II LC System, Agilent). Metodę tę uprzednio poddano walidacji pod kątem parametrów obejmujących liniowość, granicę oznaczalności (LOQ), granicę wykrywalności (LOD) i odzysk. Oznaczenie 6 WWA (fluoranten, benzo(b)fluoranten, benzo(a)antracen, chryzen, benzo(a)piren i dibenzo(a,h)antracen) w uzyskanych ekstraktach przeprowadzono na kolumnie Agilent ZORBAX Eclipse PAH (4,6 x 150 mm, 3,5 µm), przy szybkości przepływu 1,3 ml/min. Faza ruchoma składała się z wody i acetonitrylu, temperatura kolumny wynosiła 25°C, a objętość nastrzyku 5 µl.

Dla każdej z krzywych kalibracyjnych WWA obliczono współczynniki zmienności dla granic stężeń, a następnie obliczono współczynnik korelacji (r). Granica wykrywalności (LOD) i granica oznaczalności (LOQ) zostały obliczone według następujących wzorów odpowiednio: C_m+3SD i C_m+6SD, gdzie C_m było średnią wartością stężenia WWA w próbie ślepej i SD to odchylenie standardowe. Czułość metody mierzono jako nachylenie krzywej kalibracyjnej. Wartości odzysku określono przeprowadzając całą procedurę analityczną oznaczania WWA w wędzonych i grillowanych próbkach mięsa wzbogaconych mieszaniną wzorców (FL, BbF, BaA, CHR, BaP, DBahA) w stężeniach 2,00 µg/kg i 20,00 µg/kg w trzech powtórzeniach. Ponadto w celu oznaczenia zawartości WWA w matrycy próbki wykonano procedurę oznaczania WWA w próbkach niewzbogaconych i tzw. ”ślepych”. Z uzyskanych wyników obliczono wartości odzysku.

Badania odzysku wykazały, że LOD poszczególnych analitów mieściła się w zakresie 0,05–0,10 µg/kg. Test liniowości wykazał, że dla każdego testowanego związku wartość r była wyższa lub równa wartości krytycznej 0,9995. Wartość względnego odchylenia standardowego (RSD %) dla wszystkich analitów wynosiła ≤ 0,9%, a LOQ 0,25 µg/kg. Odzysk wyniósł średnio 87,66% (poziom 2,0 µg/kg) i 88,04% (poziom 20,0 µg/kg). Przeprowadzona analiza WWA, wykazała znaczące różnice pomiędzy badanymi próbkami. Najczęściej występującym w próbkach związkiem był benzo(a)antracen, a najrzadziej dibenzo(a,h)antracen. Próbka wędzonego łososia analizowana metodą z wykorzystaniem zmydlania i SPE jako jedyna zawierała wszystkie 6 analizowanych WWA. Suma wszystkich badanych WWA w wędzonym łososiu mieściła się w zakresie od 5,38 do 9,24 µg/kg. Benzo(b)fluoranten, benzo(a)piren i dibenzo(a,h)antracen nie zostały wykryte w próbkach wędzonego łososia ekstrahowanych

metodą QuEChERS (metoda 1). Benzo(b)fluoranten nie został również wykryty w próbkach badanych metodą liofilizacji (metoda 3). Wszystkie próbki sielawy wędzonej zawierały benzo(b)fluoranten, benzo(a)antracen i chryzen. WWA takie jak fluoranten i dibenzo(a,h)antracen nie zostały wykryte, podobnie jak w próbkach wędzonego okonia. W badanych próbkach wieprzowiny i wołowiny nie został wykryty dibenzo(a,h)antracen, niezależnie od stosowanej metody obróbki termicznej oraz metody ekstrakcji. Nie stwierdzono również obecności benzo(a)pirenu w grillowanej, ani w wędzonej wołowinie. Porównując obie metody obróbki termicznej, stwierdzono, że grillowanie doprowadziło do istotnie niższego poziomu WWA niż wędzenie np.: chryzen w wołowinie (grillowana: 0,45-0,91 µg/kg, wędzona: 0,71-1,17 µg/kg). Analizując różnice w zawartości WWA w różnych gatunkach mięsa poddanych tej samej obróbce termicznej zaobserwowano, że wyższy poziom zanieczyszczenia występował w wieprzowinie. Zawartość benzo(b)fluorantenu w wędzonej wieprzowinie to 2,13-6,32 µg/kg, natomiast w wołowinie 0,63-1,79 µg/kg.

Limit detekcji dla poszczególnych analitów kształtował się na poziomie 0,05-0,10 µg/kg. Najniższą granicą wykrywalności charakteryzował się fluoranten (0,05 µg/kg). Pozostałe związki: benzo(b)fluoranten, benz(a)antracen, chryzen, benza(a)piren, diben(a,h)antracen, benz(a)antracen, benzo(a)piren i benzo(b)fluoranten miały wyższy LOD na poziomie 0,10 µg/kg. Badanie liniowości wykazało, że dla każdego z badanych związków wartość r^2 przekroczyła lub była równa wartości krytycznej 0,9995. Względne odchylenie standardowe (RSD%) dla wszystkich analitów wynosiło nie więcej niż 0,9%. Najwyższe względne odchylenie standardowe zaobserwowano dla dibenz(a,h)antracenu (0,9%), pozostałe mieściły się w zakresie 0,6-0,7%. LOQ był na poziomie 0,25 µg/kg.

Wykazano, że ekstrakcja z wykorzystaniem procesu zmydlania i SPE dała najwyższe wyniki zawartości WWA i najwyższe odzyski w zdecydowanej większości analizowanych próbek. Średni odzysk w tej metodzie wyniósł 86,84 ± 2,08% (poziom 2,0 µg/kg) i 89,15 ± 1,97% (poziom 20,0 µg/kg). Najniższe zawartości WWA zaobserwowano dla próbek badanych metodą QuEChERS. W metodzie tej średni odzysk wzorców wewnętrznych był na niskim poziomie 70,66 ± 1,78% (poziom 2,0 µg/kg) oraz 72,83 ± 2,13% (20,0 µg/kg). Biorąc pod uwagę analizę jakościową badanych próbek, zaobserwowano, że zmodyfikowana metoda ekstrakcji ze zmydlaniem tłuszczów i oczyszczeniem SPE pozwalała na wykrywanie WWA w próbkach, w których metoda QuEChERS nie dawała możliwości wykrycia niektórych związków. Ekstrakcja z liofilizatów charakteryzowała się wyższą skutecznością niż metoda QuEChERS, ale niższą niż metoda ze zmydlaniem i ekstrakcją do fazy stałej SPE. Przykładami wyższej skuteczności metody zmydlania i oczyszczania w porównaniu z innymi są: benzo(b)fluoranten w wędzonym łososiu, benzo(a)piren w wędzonej sielawie i fluoranten w grillowanej wołowinie. **Przeprowadzone badania wykazały, że odpowiedni dobór metody ekstrakcji oraz jej optymalizacji ma istotny wpływ na uzyskiwane wyniki zawartości WWA w produktach mięsnych i ich poziom pewności oraz eliminacji względnego i bezwzględnego błędu metody, a tym samym może stanowić kluczowy aspekt zapewniania bezpieczeństwa żywności. Moim osiągnięciem naukowym było opracowanie metody analitycznej do oznaczania WWA, charakteryzującej się określonym w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 836/2011 limitem detekcji i wysokim odzyskiem. Odpowiedni dobór kolumny Agilent ZORBAX Eclipse PAH 4,6 x 150 mm, 3,5 µm, dobór solwentów**

gradientowych (woda, acetonitryl), przepływ na poziomie 1,3 ml/min, praca detektora DAD przy 230 nm, 10 Hz i detektora FLD λ_{ex}= 260 nm and λ_{em} = 350 nm (FLD A), 330 nm (FLD B), 440 nm (FLD C), 500 nm (FLD D), 18.51 Hz, umożliwiły osiągnięcie granicy wykrywalności (LOD) w zakresie 0,05-0,10 µg/kg, odzysk na poziomie 84,29-95,25% oraz liniowość r^2 0,9995.

Etap 2: Zastosowanie wysokiej jakości wyselekcjonowanych mieszanek ekstraktów z ziół i przypraw bogatych w związki o charakterze antyoksydacyjnym oraz odpowiednio dobrany profil kwasów tłuszczowych produktów mięsnych w celu ograniczenia powstawania WWA w trakcie grillowania.

Grillowanie jest cenioną metodą obróbki termicznej ze względu na możliwość nadania żywności unikalnych cech sensorycznych. Metoda ta wiąże się również z ryzykiem powstawania szkodliwych substancji, w szczególności wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) (Park i wsp., 2017). Wskutek bezpośredniego kontaktu dymu z mięsem litofilne WWA osadzają się na powierzchni produktu, a następnie wnikają do jego wnętrza. Uważa się, że WWA powstają w wyniku trzech mechanizmów: pirolizy materii organicznej (białka, tłuszczu), wycieku soku komórkowego do źródła ciepła oraz niepełnego spalania paliwa. W trakcie tych przemian atomy węgla i wodoru łączą się pojedynczymi lub podwójnymi wiązaniami w łańcuchy, które następnie ulegają reakcjom cyklizacji (Han i wsp., 2020). Liczne badania naukowe udowodniły, że WWA mają działanie toksyczne, genotoksyczne, mutagenne i rakotwórcze dla organizmu człowieka. Z tego powodu konieczne jest prowadzenie kontroli ich zawartości w żywności oraz opracowanie metod prowadzących do hamowania powstawania tych związków w produktach spożywczych poddanych obróbce termicznej.

Ograniczenie zanieczyszczenia WWA grillowanych produktów możliwe jest poprzez zastosowanie techniki marynowania z wykorzystaniem odpowiednio dobranych składników marynaty. W ramach badań (artykuł: I.2.3) zastosowano 4 rodzaje naturalnych ekstraktów roślinnych z firmy Result (Polska): ekstrakt liścia laurowego, czarnego pieprzu, kurkumy, papryki jalapeno oraz pastę z tamaryndowca (Surre, Tajlandia). W celu porównania wpływu wybranych marynat wykorzystano komercyjną marynatę do wieprzowiny firmy Knorr (Polska) oraz mieszaninę wszystkich ekstraktów (efekt synergii). Do każdej z marynat dodana została sól na poziomie 5% w stosunku do marynaty. Karkówkę pokrojono na steki o grubości 2,0 cm i masie około 150 g, a następnie marynowano przez 24 godziny w temperaturze 4°C, gdzie stosunek mięsa do marynaty wyniósł 1:1. Utworzono 8 grup badawczych: kontrolna (CON - marynowana w solance), marynowane z ekstraktem liścia laurowego (BL), czarnego pieprzu (BP), kurkumy (TU), papryczki jalapeno (JP), pasty z tamaryndowca (TA) oraz marynacie składającej się z mieszaniny wszystkich ekstraktów (MX), a także w marynacie rynkowej (C). Karkówka została poddana grillowaniu z wykorzystaniem węgla drzewnego. Proces obróbki termicznej prowadzony był do momentu osiągnięcia w środku geometrycznym mięsa 75°C.

W badaniach oznaczono zdolność antyoksydacyjną marynowanego mięsa poprzez zastosowanie syntetycznego rodnika DPPH (rodnik 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylowy) oraz oznaczono całkowitą zawartość polifenoli metodą Folina-Ciocalteu opisaną przez Singletona i

Rossiego (1965). Ekstrakcję WWA przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Bogdanović i wsp. (2019). Polegała ona na zmydleniu lipidów obecnych w mięsie poprzez inkubację próbki z 1 M etanolowym roztworem wodorotlenku potasu w łaźni wodnej. WWA ekstrahowano cykloheksanem, a uzyskany w ten sposób ekstrakt oczyszczono na kolumnach C-18 oraz Florisil SPE. Analizy jakościowej i ilościowej wyekstrahowanych WWA dokonano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym i fotodiodowym. Zbadano również profil związków lotnych za pomocą elektronicznego nosa Herakles-II (Alpha M.O.S., Toulouse, Francja).

Na podstawie badań wykazano, że udział ekstraktów roślinnych spowodował istotny wzrost zawartości fenoli we wszystkich grupach badanych. Najwyższą wartość odnotowano dla próbek w mieszaninie ekstraktów (381,56 ± 4,08 mg GAE/kg). Najniższą TPC charakteryzowały się próbki w grupie kontrolnej (1,38 ± 0,47 mg GAE/kg), a spośród badanych marynat grupa TA (76,76 ± 0,98 mg GAE/kg). Stosunkowo wysoką zawartość fenoli zaobserwowano w próbkach w marynacie rynkowej (166,93 ± 3,62 mg GAE/kg), wartość ta była porównywalna do grupy TU. Analizując indywidualny wpływ dodatku ekstraktów, największą wartość TPC odnotowano w próbkach z grupy JP (241,35 ± 2,34 mg GAE/kg). Najniższą zdolność antyoksydacyjną odnotowano dla próbek z grupy C (11 ± 1,46%). Próbki z grup BP i TA miały podobną zdolność antyoksydacyjną (BP 73,25 ± 0,81%, TA 74,16 ± 0,69%), natomiast największą całkowitą zdolność antyoksydacyjną wykazano dla próbek marynowanych w marynacie z liściem laurowym (82,06 ± 0,90%) i mieszaninie ekstraktów (81,23 ± 0,94%).

Zbadano profil oraz zawartość WWA w próbkach grillowanej wieprzowiny. Analiza wykazała, że najwyższa zawartość sumy 12 analizowanych WWA obecna była w próbkach należących do grupy kontrolnej (98,48 ± 0,81 µg/kg). Zastosowanie komercyjnej marynaty pozwoliło na zmniejszenie zanieczyszczenia tymi związkami o około 37%. Spośród badanych marynat najmniejszą skutecznością w hamowaniu powstawania WWA charakteryzowały się próbki marynowane z udziałem czarnego pieprzu (Σ12WWA = 45,95 ± 1,02 µg/kg). Najmniejsze zanieczyszczenie WWA stwierdzono w próbkach w marynacie JP, gdzie sumaryczna zawartość wszystkich badanych związków wyniosła 4,76 ± 0,08 µg/kg, co stanowiło wartość o 95% niższą niż w marynacie kontrolnej.

Analiza profilu WWA w próbkach wykazała, że największe zanieczyszczenie związkami należącymi do grupy lekkich WWA uzyskano w próbkach w marynacie kontrolnej (54,58 ± 1,11 µg/kg), a nieznacznie niższe w próbkach w marynacie komercyjnej (50,98 ± 0,66 µg/kg). Największą zawartością ciężkich WWA charakteryzowała się również grupa kontrolna CON (43,90 ± 0,95 µg/kg). Zarówno w przypadku lekkich (3,92 ± 0. 11 µg/kg), jak i ciężkich (0,84 ± 0,06 µg/kg) WWA najmniejsze wartości odnotowano w próbkach z grupy JP. Zastosowanie marynat wpłynęło również na profil WWA, a każda z marynat w różnym stopniu hamowała powstawanie poszczególnych związków. Zaobserwowano między innymi, że benzo(a)piren, podobnie jak chryzen, obecny był we wszystkich próbkach z wyjątkiem grupy JP. Wykazano, że próbki należące do 3 grup: CON, BP, C przekroczyły limit zawartości sumy 4 WWA (BaP, CHR, BaA, BbF) określony w przepisach, natomiast żadna nie zawierała więcej, niż dozwolone 2µg/kg benzo(a) pirenu. Analiza współczynników korelacji wykazała istotną ujemną korelację między całkowitą zdolnością antyoksydacyjną a zawartością 12 WWA

w grillowanym mięsie (−0,779), zawartością DBahA (-0,879), BaA (-0,660), BbFL (-0,620), BbF (-0,503) i CHR (-0,643).

Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników można stwierdzić, iż odpowiednio skomponowana marynata może stanowić skuteczny sposób redukcji poziomu WWA w grillowanych produktach mięsnych i wpływać na poziom bezpieczeństwa produktów. Wyniki wykazały, że wszystkie badane ekstrakty roślinne skutecznie hamowały powstawanie WWA. Przypuszcza się, że związki fenolowe o działaniu przeciwutleniającym działają jako inhibitory tworzenia WWA poprzez wygaszanie lub wymiatanie wolnych rodników. Wykazano korelację pomiędzy całkowitą zdolnością antyoksydacyjną, a poziomem 12 WWA w mięsie grillowanym. Zastosowanie marynat doprowadziło do poprawy jakości mięsa poprzez zmianę pH, właściwości tekstury, barwy oraz profilu związków lotnych grillowanej karkówki. Zawarte w ekstraktach naturalne przeciwutleniacze mogą przyczynić się do zahamowania reakcji cyklizacji i utleniania, zwiększając w ten sposób bezpieczeństwo i trwałość grillowanych produktów mięsnych.

Ważnym aspektem mojego osiągnięcia naukowego była również analiza wpływu częściowego zastąpienia łoju wołowego olejem słonecznikowym, rzepakowym, lnianym, oliwą z oliwek i tłuszczem mlecznym na właściwości fizyczne, stabilność oksydacyjną, profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość WWA w burgerach wołowych (artykuł I.2.4). Burgery przygotowano do siedmiu różnych zabiegów (określonych podczas eksperymentów pilotażowych): grupa kontrolna (CON), burgerów o obniżonej o 9,3% zawartości tłuszczu (CON_LOW FAT), burgerów z olejem słonecznikowym (SO), rzepakowym (CO), lnianym (LO), oliwą z oliwek (OO) oraz tłuszczem mlecznym (MF).

Przygotowane zgodnie z podanym w publikacji (artykuł I.2.4) składem recepturowym burgery poddano procesowi grillowania przy użyciu grilla Weber Master-Touch Premium GBS E-577. W trakcie obróbki termicznej prowadzono kontrolę temperatury miernikiem cyfrowym (Testo 926, Lenzkirch, Niemcy). Temperatura żaru węgla drzewnego była na poziomie 280–300°C. W trakcie grillowania wszystkie próbki były obracane raz na 3 min. Między grillowaniem poszczególnych próbek mięsa wymieniano węgiel drzewny na nowy, co było istotne ze względu na profil WWA (Wongmaneepratip i Vangnai 2017). Po osiągnięciu w centrum geometrycznym temperatury 75°C próbki zdjęto z grilla, schłodzono do temperatury 4°C, a następnie zapakowano próżniowo w worki polietylenowe (Cryovac® VS26, Sealed Air Corporation, New Jersey, USA) i przechowywano w temperaturze 4°C. Tak zabezpieczone próbki stanowiły materiał badawczy do pomiaru składu podstawowego, barwy w systemie L*a*b*, właściwości teksturalnych, stabilności oksydacyjnej TBARS, profilu kwasów tłuszczowych i 12 WWA. Zabezpieczono również materiał badawczy w postaci surowych burgerów, które zapakowano próżniowo i przechowywano 6 dni w temp. 4°C. Po 6 dniach burgery rozpakowano i podano obróbce termicznej (grillowanie), a następnie przeprowadzono pomiar barwy w systemie L*a*b*, właściwości teksturalnych, TBARS, profilu kwasów tłuszczowych i 12 WWA. Profil kwasów tłuszczowych surowych burgerów wołowych z dnia 1 i 6 został oznaczony metodą chromatografii gazowej. Tłuszcz z badanych próbek został wyekstrahowany mieszaniną chloroform-metanol zgodnie z procedurą Folch i wsp. (1956). Powstałe estry metylowe kwasów tłuszczowych (FAME) zostały poddane analizie z wykorzystaniem chromatografu gazowego Shimadzu GC-2010 z detektorem płomieniowo-

jonizacyjnym (FID), wyposażony w kolumnę krzemionką RT® 2560 (100 m × 0.25 mm ID and 0.2 µm grubość folii) (RESTEK, USA). Próbki o objętości 1 ml analizowane były w trzech powtórzeniach. Związki zostały zidentyfikowane poprzez porównanie otrzymanych czasów retencji z czasami retencji standardów kwasów tłuszczowych (Supelco™ 37 Component FAME mix, Sigma, St. Louis, MO, USA). Wyniki uśredniono i wyrażono w gramach na 100 g tłuszczu.

Skład podstawowy stanowi bardzo istotny parametr, ponieważ może mieć bezpośredni wpływ na właściwości fizyczne burgerów (sprężystość, żujność, twardość), profil kwasów tłuszczowych i powstawanie WWA w trakcie grillowania (Bahmanyar i wsp., 2021). Zgodnie z badaniami prowadzonymi przez Trujillo-Mayol i wsp. (2021) skład burgerów determinuje również ilość powstających heterocyklicznych amin aromatycznych i akrylamidu w trakcie ich smażenia. Kluczowym parametrem wpływającym na ilość i profil WWA jest zawartość tłuszczu ogółem, co potwierdzili w swoich badaniach Wongmaneepratip i Vangnai (2017). Zgodnie z Farhadian i wsp. (2012) tłuszcz jest głównym prekursorem powstawania WWA w żywności.

W przygotowanych surowych burgerach został zbadany stopień oksydacji lipidów z wykorzystaniem kwasu tiobarbiturowego i dialdehydu malonowego. W pierwszym dniu badawczym próbki z wszystkich grup wykazywały zbliżony poziom oksydacji lipidów, mieszczący się w zakresie 0,12-0,17 mg MDA/kg próbki. W 6 dniu przechowywania, w każdej z analizowanych grup nastąpił istotny statystycznie ($p \leq 0.05$) wzrost stopnia utlenienia lipidów. Najwyższym stopniem utlenienia lipidów charakteryzowały się burgery z olejem rzepakowym (0,99±0,06 mg MDA/kg), grupa SO (0,91±0,03 mg MDA/kg) i LO (0,95±0,03 mg MDA/kg), natomiast najwyższą stabilnością na utlenianie burgery o obniżonej zawartości tłuszczu (0,43±0,02 mg MDA/kg), w których oksydacja była o około 32,8% wolniejsza w stosunku do grupy kontrolnej. Modyfikacja w zakresie stosowanego tłuszczu w znacznym stopniu wpłynęła na poziom oksydacji tłuszczu po 6 dniach przechowywania. Zastosowanie olejów roślinnych (SO, CO, LO, OO) wpływało na zwiększenie stopnia utlenienia lipidów w porównaniu do prób zawierających tłuszcze zwierzęce (CON, CON_LOW FAT, MF).

Ograniczenie stopnia utlenienia lipidów wskutek zmniejszenia zawartości tłuszczu w burgerach znajduje potwierdzenie w badaniach Patinho i wsp. (2021). Autorzy zbadali możliwość zastąpienia części tłuszczu wieprzowego w burgerach wołowych pieczarkami *Agaricus bisporus* (AB) (5%, 10%, 15% AB i odpowiednio 15%, 10% i 5% tłuszczu wieprzowego). W badaniu tym wartości TBARS wzrosły w czasie przechowywania, jednak w przypadku burgerów o zredukowanej (poprzez zastąpienie pieczarkami) zawartości tłuszczu wartości te były istotnie niższe niż w próbkach kontrolnych. Wartości TBARS w grupie, w której połowę tłuszczu zastąpiono pieczarkami były zbliżone do uzyskanych w grupie CON_LOW FAT w niniejszym badaniu i wynosiły około 0,4 mg MDA/kg. Eksperyment wykazał, że udział pieczarek zapewnił wyższą stabilność oksydacyjną i utrzymanie wody własnej, niższą zawartość tłuszczów oraz ograniczył straty w czasie gotowania. Uzyskany produkt charakteryzował się dobrą przydatnością technologiczną, a także pożądanymi cechami sensorycznymi.

Badania prowadzone przez Szpicer i wsp. (2018), podczas których poddano analizie wpływ zastąpienia 40% łoju wołowego olejem rzepakowym na wartość TBARS burgerów wołowych, wykazały, podobnie jak w niniejszym badaniu, iż zastąpienie tłuszczu zwierzęcego

olejem roślinnym może powodować wzrost zachodzenia procesów oksydacyjnych zarówno w pierwszym dniu badania jak i w czasie przechowywania. Zwiększenie wartości TBARS wskutek zastąpienia tłuszczu zwierzęcego tłuszczem roślinnym potwierdzili również w swoich badaniach Heck i wsp. (2019). Burgery wołowe z 40% zastąpieniem tłuszczu wieprzowego hydrożelową emulsją oleju chia i oleju lnianego charakteryzowały się wyższym stopniem utlenienia lipidów z 0,27 do 0,53 mg MDA/kg. Badania prowadzone przez Trujillo-Mayol i wsp. (2021) wykazały, że skuteczną metodą ograniczenia stopnia oksydacji lipidów w burgerach wołowych przechowywanych przez 10 dni może być dodatek do ich receptury ekstraktu ze skórki awokado. Ekstrakty roślinne bogate w związki fenolowe, mają bowiem zdolność do ograniczania zachodzenia reakcji oksydacyjnych w produktach mięsnych. Zgodnie z Lu i wsp. (2017) podatność kwasów na utlenianie rośnie proporcjonalnie do liczby wiązań nienasyconych w poszczególnych łańcuchach tłuszczowych. Oleje o dużej zawartości kwasu linolenowego i linolowego - lniany i słonecznikowy - odznaczają się największą podatnością na utlenianie. Stabilność oksydacyjna oliwy z oliwek podobnie jak oleju rzepakowego jest znacznie wyższa ze względu na wysoką zawartość kwasu oleinowego.

W ramach badań stanowiących osiągnięcie naukowe wyznaczono profil kwasów tłuszczowych próbek grillowanych w 1 i 6 dniu przechowywania. Zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych była zarówno w dniu 1 jak i 6 najwyższa w grupie, w której łój wołowy został zastąpiony tłuszczem mlecznym (D1 48,76%; D6 49,77%). Najniższa wartość SFA w dniu 1 obserwowana była w próbkach z olejem rzepakowym (26,53%), podobnie jak w dniu 6 (27,48%). Zbliżone wartości SFA uzyskano również dla grup z olejem słonecznikowym, lnianym i oliwą z oliwek. Analizując poszczególne nasycone kwasy tłuszczowe statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) najwyższą zawartość kwasów tłuszczowych C12:0, C14:0, C15:0 i C:16:0 odnotowano w grupie z tłuszczem mlecznym (MF w D1 i D6). Najwyższą zawartość kwasu eikozanowego C20:0 zaobserwowano w grupie MF (D1 = D6 = 0,67), a najniższą w grupie LO (D1 = 0,32; D6 = 0,34). W większości przypadków nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy dniem 1 i 6 z wyjątkiem kwasu tłuszczowego C14:0 w grupach CON, CON_LOW FAT, SO i OO oraz kwasu tłuszczowego C16:0 w grupie OO, gdzie wartości w dniu 1 były istotnie ($p \leq 0,05$) wyższe niż w dniu 6.

Najniższa istotna statystycznie ($p \leq 0,05$) zawartość sumy jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w dniu 1 i dniu 6 obserwowana była w grupie burgerów z olejem lnianym (D1 33,66%; D6 34,02%). Burgery te charakteryzowały się najniższą zawartością wszystkich jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (MUFA) w D1 i D6. Wyjątek stanowił tu jedynie kwas C18:1 *trans*, którego zawartość w burgerach z grupy LO była na najniższym poziomie 0,02%. Jednonienasyconym kwasem tłuszczowym występującym w największej ilości w burgerach był kwas C18:1 *cis*, a jego najwyższą wartość uzyskano w burgerach z oliwą z oliwek (58,83%). W żadnej badanej grupie, z wyjątkiem grupy CO (D1 = D6 = 0,04%), nie wykryto kwasu tłuszczowego C24:1.

Najwyższą, istotną statystycznie ($p \leq 0.5$), zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) charakteryzowała się grupa z udziałem oleju lnianego (D1 38,52%, D6 37,09%). Najniższe zawartości PUFA w dniu 1 odnotowano w grupach CON_LOW FAT oraz MF. Spośród wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w największej ilości występował kwas linolowy (C18:2 9,12 *cis*), którego najwyższą zawartość w dniu 1 i 6 odnotowano w

grupie z olejem lnianym (D1 34,37%, D6 33,22%). Analizując stosunek PUFA do SFA zaobserwowano, że przewaga PUFA obecna była w próbach LO (1,37) w dniu 1 oraz SO (0,03) i LO (1,28) w dniu 6. Istotnie statystycznie najwyższy stosunek kwasów tłuszczowych n6 do n3 odnotowano w grupie z olejem słonecznikowym (D1 57,8 i D6 92,76). Pozostałe badane grupy charakteryzowały się zbliżonymi wartościami stosunku n6/n3, mieścił się on w zakresie 3,79-10,75 w dniu 1 oraz 3,92-10,99 w dniu 6. Analizując różnice pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych w D1 i D6 zaobserwowano, że największą stabilnością w trakcie przechowywania charakteryzują się SFA, natomiast najniższą (najszybciej ulegające oksydacji) PUFA.

Częściowa zamiana tłuszczu wołowego w burgerach przyczyniła się do obniżenia zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych i wzrostu MUFA i PUFA. W badaniach wykazano, że zastąpienie tłuszczu wołowego olejem rzepakowym oraz koncentratem beta-glukanu owsianego wpływa na poprawę profilu kwasów tłuszczowych. Zastosowana modyfikacja lipidowa przyczyniła się do poprawy profilu kwasów tłuszczowych poprzez zmniejszenie procentowej zawartości SFA oraz obniżenie stosunku kwasów n6/n3 w grupach CON_LOW FAT, CO i MF.

Próbki grillowanych burgerów z dnia 1 i 6 zostały poddane analizie profilu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Wyniki zawartości indywidualnych WWA, sumy 12 WWA oraz sumy lekkich oraz ciężkich związków przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej w mg/kg próbki. Zgodnie z przewidywaniami, statystycznie istotnie ($p \leq 0.05$) najniższym poziomem Σ12 WWA charakteryzowały się próbki o obniżonej zawartości tłuszczu (CON_LOW FAT), gdzie w D1 suma 12 WWA była na poziomie 48,46 mg/kg, a w D6 47,68 mg/kg. Najwyższy, istotny statystycznie ($p \leq 0.05$) poziom WWA zaobserwowano w próbkach z olejem rzepakowym (D1 105,5 mg/kg; D6 102,69 mg/kg). Analiza zawartości pojedynczych WWA z grupy lekkich wykazała, że grupa z olejem rzepakowym charakteryzowała się najwyższą zawartością fluorenu (D1 0.94±0.12 mg/kg), antracenu (D1 1,49±0,25 mg/kg), chryzenu (D1 22,11±0,56 mg/kg) oraz bezno(b)fluorenu (18,86±0,43 mg/kg) w dniu pierwszym.

Najwyższa zawartość WWA z grupy ciężkich została odnotowana w próbkach z olejem rzepakowym (D1 60,75 mg/kg, D6 59,56 mg/kg). Grupa ta wykazywała statystycznie istotne ($p \leq 0.05$) najwyższe zawartości 4 ciężkich WWA (BbFL 2,47±0,23 mg/kg, BkF 4,86±0,31 mg/kg, DBahA 4,97±1,06 mg/kg, BghiP 3,15±0,30 mg/kg) w obu dniach badawczych. Najniższą w sposób istotny statystycznie ($p \leq 0.05$) zawartością beno(a)pirenu charakteryzowały się burgery z grupy o obniżonej zawartości tłuszczu (1,23±0,21 mg/kg). Indeno(1,2,3-cd)piren nie został wykryty w żadnej z badanych grup. Analiza zmian zawartości WWA pomiędzy D1, a D6 wykazała, że zmiany istotne statystycznie ($p \leq 0.05$) najrzadziej występowały w grupie o obniżonej zawartości tłuszczu, najczęściej natomiast w grupie z oliwą z oliwek oraz olejem rzepakowym. **Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoką korelację pomiędzy zawartością fluorenu, benz(a)antracenu, benoz(b)fluorantenu i benzo(k)fluorantenu, a kwasami tłuszczowymi takimi jak: kwas γ-linolenowy GLA (C18:3 6,9,12), kwas eikozenowy (C20:1), kwas erukowy (C22:1) i kwas nerwonowy (C24:1). Beno(a)piren wykazywał dodatnią korelację z ∑PUFA (r=0,758) oraz wartością PUFA/SFA (r= 0,779). Największą zależność z kwasami tłuszczowymi wykazał związek cykliczny tj. benzo(g,h,i)perylen (BghiP).**

Etap 3: Określenie wpływu cysteinowych enzymów proteolitycznych (papainy, bromelainy i ficyny) na jakość mięsa wołowego w trakcie dojrzewania.

Oczekiwania konsumentów w stosunku do mięsa rosną, wymagana jest wysoka i powtarzalna jakość. Jest to główne wyzwanie dla współczesnego przemysłu mięsnego. Do najważniejszych dla konsumenta cech mięsa należą: wartość odżywcza, barwa, marmurkowatość, smak i aromat oraz kruchość. Konkurencyjna jakość wołowiny w stosunku do innych gatunków mięsa w dużej mierze zależy od możliwości zapewnienia powtarzalnej i akceptowalnej kruchości. Zadowolenie konsumenta oraz opłacalność ekonomiczna stanowią główne przesłanki do opracowania metod zapewnienia mięsa o pożądanej kruchości. Skuteczność i mechanizm działania stosowanych w tym celu enzymów zależna jest jednak od wielu czynników. W związku z tym celem mojej pracy była analiza wpływu egzogennych preparatów proteaz cysteinowych (papainy, bromelainy i ficyny) na kruchość mięśni wołowych o różnej zawartości tkanki łącznej w mięsie mieszańców holsztyńsko-fryzyjskich i limousin (artykuł: I.2.5).

Materiał badawczy stanowiły dwa mięśnie *Semimembranosus* (SM) i *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL), pobrane z tusz buhajów (n = 18) mięsnych rasy holsztyńsko-fryzyjskiej × limousin o masie przedubojowej 523 ± 28 kg i w wieku 18 ± 2 miesiące. Materiał badawczy został dostarczony do laboratorium w ciągu 24 godzin *post mortem* i poddany działaniu enzymatycznemu. W eksperymencie zastosowano naturalne enzymy proteolityczne, w dawkach: papaina - 9,0 ppm/kg, bromelaina 14,5 ppm/kg oraz ficyna - 9,0 ppm/kg. Enzymy zostały wprowadzone do mięsa w postaci roztworów za pomocą pięcioigłowej pompy iniekcyjnej. Mięśnie z enzymami podzielono następnie na steki o grubości 2,5 cm i zapakowano w polietylenowe worki próżniowe. Proces dojrzewania prowadzono metodą „na mokro" w temperaturze 2 ± 1°C. Badania wykonano w 1, 5, 10 i 15 dniu dojrzewania.

Dokonano pomiaru pH mięsa, długości sarkomerów metodą dyfrakcji laserowej i składu podstawowego metodą bliskiej podczerwieni (w zakresie widmowym 12500-4000 cm^{-1}). Próbki zostały również poddane analizie zawartości kolagenu poprzez pomiar spektrofotometryczny barwy kompleksu, powstałego w wyniku reakcji hydroksyproliny z aldehydem p-dimetylobenzoesowym (pomiar spektrofotometryczny przy długości fali 560 nm). Zawartość kolagenu obliczono na podstawie zawartości hydroksyproliny przy użyciu współczynnika 7,52 (frakcja rozpuszczalna) i 7,25 (frakcja nierozpuszczalna). Całkowitą zawartość kolagenu otrzymano z sumy frakcji rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych. Barwę surowego mięsa mierzono za pomocą kolorymetru CR-400 (Konica Minolta) i kalibrowano przy użyciu białej płytki (L* = 98,45, a* = - 0,10, b* = -0,13) w 2 dniu *post mortem*. Próbki mięsa zbadano również pod kątem maksymalnej siły cięcia (WBSF, *Warner-Bratzler shear force*), zdolności utrzymania wody własnej (WHC, *water-holding capacity*) oraz indeksu fragmentacji miofibryli (MFI, *myofibril fragmentation index*). Przeprowadzono także rozdział elektroforetyczny białek mięśniowych z wykorzystaniem metody SDS-PAGE i techniki enzymatycznej Western-Blotting. Rozdział elektroforetyczny białek w mięsie wykonano na gradientowym żelu poliakrylamidowym any-kD (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) w obecności sodowego siarczanu dodecylu (SDS-PAGE) i 8 M mocznika. 10 µg próbki

zawierającej równoważne ilości białka (2,5 mg/ml) nałożono na żele poliakrylamidowe i poddawano rozdziałowi elektroforetycznemu przy napięciu 90V w czasie 15 min oraz napięciu 150V w czasie 60 min (bufor: 25 Mm Tris, 192 Mm glicyna, 0,5% SDS). Próbki przepłukano następnie w wodzie dejonizowanej oraz barwiono przez 1 godzinę w roztworze Coomassie Brilliant Blue G250. Immunobloting opierał się na transferze białek z żelu poliakrylamidowego na membranę PVDF za pomocą techniki Western- Blotting (napięcie 150V, 90 minut). Membranę inkubowano 4 h w 4°C z I- rzędowymi przeciwciałami, skierowanymi przeciw badanym białkom odpowiednio: monoklonalne przeciwciało anty-troponina T, (rozcieńczenie 1:200, Sigma Aldrich, Cat no. T6277), i anty- desmina pochodzące od myszy (rozcieńczenie 1:200, Sigma Aldrich, Cat no. D1033). Po opłukaniu przeciwciał, które nie zostały związane, membranę inkubowano z przeciwciałem II-rzędowym, znakowanym fosfatazą alkaliczną, (Anti-Mouse IgG fosfataza alkaliczna, rozcieńczenie 1:30000, Sigma Aldrich, Cat no. A3562). Białka były wykrywane poprzez wywołanie reakcji barwnej z NBT/BCIP (nitrobłękit tetrazolium/5-bromo-4-chloro-3-indolilofosforan).

Przerwanie przyżyciowej przemiany materii w wyniku uboju zwierzęcia prowadzi do procesu rozpadu większości substancji organicznych. Następuje zahamowanie przemian energetycznych i rozpoczyna się proces rozpadu glikogenu zawartego w mięśniach do kwasu mlekowego, co obniża wewnątrzkomórkowe pH mięśnia od pH 7,0, do około 5,4- 5,7 w ciągu pierwszych 48 h *post mortem*. Wartości pH_{24} i pH_{48} stanowią podstawowe wskaźniki prawidłowości przebiegu przemian poubojowych w mięśniach bydła. Wartość pH_{24} dla mięśnia *Semimembranosus* powinna mieścić się w przedziale 5,4-5,8. W przeciwnym wypadku mięso będzie wykazywało objawy charakterystyczne dla mięsa wodnistego (PSE-*pale, soft, exudative*) lub ciemnego (DFD- *dry, film, dark*). W praktyce wartość pH mięsa decyduje o jego wodochłonności, zdolności wchłaniania soli i środków peklujących, o trwałości przechowalniczej i jakości sensorycznej, tj. jego barwy, smakowitości i kruchości. Poddając badaniom mięśnie SM i LTL wyznaczono podstawowe parametry stanowiące charakterystykę mięsa poddanego dojrzewaniu.

Wartość pH_{24h} wskazuje na prawidłowy przebieg przemian poubojowych w ocenianych mięśniach bydła i wyniosła około 5,5, co świadczy o właściwych warunkach przechowywania chłodniczego tusz oraz prawidłowym przebiegu beztlenowej glikolizy. Mięśnie nie wykazywały objawów mięsa wodnistego (PSE-*pale, soft, exudative*) ani ciemnego (DFD- *dry, film, dark*). Obniżenie wartości pH *post mortem* jest procesem naturalnym i działa hamująco na rozwój mikroflory proteolitycznej, przez co zwiększa trwałość mięsa.

Długości sarkomerów poddane analizie w przypadku mięśnia SM wynosiły średnio 1,76±0,09 nm, natomiast mięsień LTL posiadał istotnie statystycznie dłuższe sarkomery 1,98±0,07 nm. Przyjmuje się, że sarkomery o długości poniżej 2 µm przyczyniają się do większej twardości mięsa, podczas gdy te powyżej 2 µm – do mniejszej. Z badań nad mięsem wołowym wynika również, że długość sarkomerów wyjaśnia jedynie 16% zmienności kruchości w przypadku mięśnia półścięgnistego i 46% w przypadku mięśnia najdłuższego grzbietu (Wheeler i wsp., 2000).

O wartości odżywczej wołowiny decyduje zawartość białka i tłuszczu. Zawartość białka w wołowinie kształtuje się średnio na poziomie 18 - 23%, a tłuszczu śródmięśniowego poniżej 5%. Zawartość tłuszczu w tkance mięśniowej ma istotne i korzystne znaczenie w kontekście smakowitości i tekstury mięsa. Analizując skład podstawowy uzyskany za pomocą techniki

spektrometrii w bliskiej podczerwieni stwierdzono, iż badane mięśnie różniły się między sobą istotnie statystycznie ($P \leq 0.05$) zawartością tłuszczu. Wyższą zawartością tłuszczu charakteryzował się mięsień LTL 3,24±0,57%.

Ważnym składnikiem strukturalnym mięśni współdecydującym o ich kruchości jest tkanka łączna. Zawartość mięśniowej tkanki łącznej określa się na podstawie zawartości kolagenu, który stanowi ponad 95% wszystkich białek łącznotkankowych w mięśniach szkieletowych. Duża zawartość tego niepełnowartościowego białka w tkance łącznej mięśni ma znaczący wpływ na kruchość mięsa, obniżając jego jakość. Mięsień *semimembranosus* zawierał istotnie statystycznie więcej kolagenu ogólnego (4,08±0,24 mg/g) i nierozpuszczalnego (2,28±0,11) w stosunku do mięśnia LTL. Ilość kolagenu w mięśniach zależy od gatunku, rasy, wieku, płci, sposobu odżywiania i warunków utrzymania zwierząt. Badania prowadzone przez Zarasvand i wsp. (2012) nad mięśniem *longissimus dorsi* pochodzącym od 1,5- rocznego bydła rasy Swiss brown wykazały jego zawartość na poziomie 1,23±0,11 g/100 g mięsa. Gajaweera i wsp. (2020) uzyskali wartości kolagenu na poziomie 2,04% dla mięśnia *longissimus thoracis* i 1,98% dla mięśnia *semimembranosus*. Badania prowadzone przez Chriki i wsp. (2013) potwierdziły, iż mięsień *longissimus thoracis* zawiera istotnie statystycznie ($p<0.05$) mniej kolagenu ogółem i nierozpuszczalnego w stosunku do mięśnia *semitendinosus*. Mięśnie o dłuższych sarkomerach wykazują mniejszą zawartość kolagenu ogólnego i nierozpuszczalnego. Mięśnie takie jak *semitendinosus* i *semimemranosus*, charakteryzujące się dużą aktywnością w warunkach przyżyciowych zwierzęcia, mają znacznie krótsze sarkomery i wyższy poziom kolagenu w stosunku do mięśni *longissimus thoracis*.

Wśród cech jakościowych mięsa barwa jest tym atrybutem, który w najwyższym stopniu wpływa na decyzje konsumentów w trakcie dokonywania zakupu (Guzek i wsp. 2013). Analizując barwę mięśnia LTL i SM wartości składowej L* mieściły się w przedziale około 36-38 i 36-40. Podobne wartości parametrów barwy L*, a* i b* uzyskali w swoich badaniach Gajaweera i wsp. (2020). Poddali oni analizie mięśnie *longissimus thoracis* i *semimembranosus* pochodzące z bydła rasy Hanwoo o średnim wieku 30,2 ± 1,4 miesiąca. Wraz z czasem dojrzewania wartości parametrów barwy L*, a* i b* wzrastały w większości z badanych grup, niezależnie od obecności i rodzaju enzymu. Podwyższone wartości składowych barwy w trakcie dojrzewania wołowiny związane są z procesem degradacji białek prowadzącym do osłabienia ich struktur komórkowych, co skutkuje większą dyspersją światła. Obserwowany wzrost składowej barwy L* w trakcie dojrzewania związany jest ze zmniejszeniem aktywności mitochondriów, które zapewniają większe natlenienie cząsteczek mioglobiny, co skutkuje intensywniejszym tworzeniem cząsteczek oksymioglobiny.

W 1 dniu *post mortem* analizowane mięśnie charakteryzowały się wysoką wartością siły cięcia, która wynosiła średnio 70 N (SM) i 80 N (LTL). Dojrzewanie w temperaturze chłodniczej (2±1 ^{o}C) przyczyniło się do istotnego statystycznie obniżenia wartości siły cięcia mięsa w trakcie przechowywania. Poddając analizie mięsień SM w żadnej z grup nie zaobserwowano istotnej statystycznie zmiany w twardości mięsa w 5 dniu *post mortem*. Istotne obniżenie siły cięcia zaobserwowano w D10 i D15, szczególnie duże zmiany zaobserwowano w grupie PAP i FIC. W wyniku 15-dniowego dojrzewania twardość uległa obniżeniu o 34,34% (grupa PAP) i 34,93% (grupa FIC) w stosunku do D1. W przypadku mięśnia LTL papaina i bromelaina przyczyniły się do istotnego statystycznie obniżenia WBSF już w 5 dniu dojrzewania. Poddając analizie skuteczność enzymów w mięsniu LTL, najwyższe różnice

WBSF między D1 a D15 zaobserwowano w grupie BRO (39,85%) i PAP (38,16%). W przypadku grupy kontrolnej różnica ta była na poziomie 32,90%.

Analiza zdolności utrzymania wody nie wykazała istotnego wpływu czasu przechowywania oraz zastosowania enzymów na WHC badanych mięśni. Wartość WHC mieściły się w zakresie 21,73-33,05% w przypadku mięśnia LTL oraz 20,72 – 25,91% dla mięśnia SM. Przeanalizowano również wartość wskaźnika fragmentacji miofibryli (MFI). Uzyskane wyniki wykazały wzrost wartości MFI w trakcie przechowywania w obydwu mięśniach w każdej z badanych grup. W przypadku mięśnia SM średnia wartość MFI w dniu 1 wynosiła ok. 60, natomiast dla LTL była to wartość ok. 50. W obu mięśniach zastosowanie papainy przyczyniło się w 10 i 15 dniu przechowywania do uzyskania najwyższej wartość MFI w porównaniu do pozostałych grup badawczych. Zastosowanie obróbki enzymatycznej spowodowało statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost wartości wskaźnika fragmentacji miofibryli niezależnie od rodzaju mięśnia i enzymu. **Na podtawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż zastosowanie naturalnych enzymów proteolitycznych pozyskanych ze specjalnie dobranych roślin takich jak malonowiec właściwy (*Ananas comosus*), łodyga ananasa (*Ananas comosus*) i lateks drzewa figowego, zwiększają dynamikę wewnątrzkomórkowych procesów biologicznych *post mortem*, co przyczynia się do poprawy kruchości (obniżenia maksymalnej siły cięcia) oraz podwyższenia jakości mięsa wołowego. Hipoteza badawcza H4 została pozytywnie zweryfikowana.**

4.3.4 Podsumowanie

Osiągnięcie naukowe **„Analiza mechanizmu powstawania i metod ograniczania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w produktach poddanych obróbce termicznej oraz określenie wpływu procesów technologicznych na wybrane cechy jakościowe mięsa”** zawiera nowe elementy poznawcze nie tylko w zakresie opracowania skutecznych metod ekstrakcji i ilościowego oznaczania profilu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności, ale również poprawy jakości produktów mięsnych z wykorzystaniem innowacyjnych metod enzymatycznych. Obszar zrealizowanych badań wpisuje się w aktualne trendy zwiększania świadomości konsumentów w zakresie bezpieczeństwa żywności oraz ograniczania podaży antyodżywczych składników żywności. Przeprowadzone badania wnoszą duży wkład w dziedzinę nauk rolniczych, dyscypliny technologii żywności i żywienia, przyczyniając się do redukcji WWA w grillowanych i wędzonych produktach mięsnych.

W związku z tym, iż organiczne związki cykliczne mogą stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi, konieczny jest stały nadzór poziomu WWA w poddanych obróbce cieplnej produktach spożywczych. Przeprowadzone badania opisywane w osiągnięciu mają szczególnie istotne znaczenie, ponieważ brakuje obecnie metod ekstakcji rekomendowanych do tak złożonej matrycy jaką są produkty mięsne. Metoda ekstrakcji stanowi bardzo ważny element umożliwiający w dalszej kolejności analizę ilościową WWA, która jest bardzo ważna w aspekcie zdrowia i życia ludzi.

Odpowiedni dobór składników marynaty może wpływać na właściwości fizykochemiczne mięsa i obniżenie poziomu powstających w produkcie wielopierścieniowych

węglowodorów aromatycznych (WWA). Przeprowadzone badania potwierdzają, iż zastosowanie naturalnych ekstraktów z ziół i przypraw do produktów mięsnych poddanych procesowi grillowania może stanowić skuteczny sposób na zmianę profilu i obniżenie poziomu WWA. Przeprowadzona analiza współczynników korelacji wykazała, że istnieje zależność między całkowitą zdolnością antyoksydacyjną i zawartością fenoli w marynatach, a zawartością WWA w grillowanym mięsie wieprzowym.

Częściowe zastąpienie łoju zwierzęcego olejem słonecznikowym, rzepakowym, lnianym, oliwą z oliwek i tłuszczem mlecznym wpływa na właściwości fizyczne, stabilność oksydacyjną, profil kwasów tłuszczowych oraz poziom WWA burgerów wołowych. Częściowe zastąpienie łoju wołowego olejami roślinnymi i tłuszczem mlecznym przyczyniło się do zmiany składowych barwy L* i a* na powierzchni burgerów oraz zmniejszenia ich twardości i żujności. Wrażliwość kwasów na utlenianie wzrastała proporcjonalnie do liczby wiązań nienasyconych w poszczególnych łańcuchach tłuszczowych. Najbardziej podatne na utlenianie były burgery z olejem rzepakowym (CO) i lnianym (LO), natomiast najstabilniejsze pod względem oksydacji były burgery o obniżonej zawartości tłuszczu (CON_LOW FAT).

Najwyższą zawartość sumy ∑12WWA stwierdzono w próbkach z olejem rzepakowym (105,5 mg/kg), gdzie występowało jednocześnie najwięcej jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) oraz w grupie kontrolnej bez substytucji, gdzie stwierdzono wysoki poziom tłuszczów nasyconych (40,34%) i konformacji tłuszczów *trans*. Badania potwierdzają, że częściowe zastąpienie łoju wołowego olejami, tłuszczem mlecznym oraz zmniejszenie zawartości tłuszczu w burgerach poddawanych procesowi grillowania może być skutecznym sposobem zmiany profilu kwasów tłuszczowych i ograniczenia reakcji cyklizacji związków organicznych powodujących powstawanie WWA. Analiza współczynników korelacji wykazała, że istnieje związek między profilem kwasów tłuszczowych a obecnością wybranych WWA, zwłaszcza między zawartością fluorenu, benz(a)antracenu, benoz(b)fluorantenu i benzo(k)fluorantenu a kwasami tłuszczowymi takimi jak: kwas γ-linolenowy GLA (C18:3 6,9,12), kwas eikozenowy (C20:1), kwas erukowy (C22:1) i kwas nerwonowy (C24:1). Wyniki tego badania wskazują, że substytucja łoju wołowego wybranymi olejami roślinnymi i tłuszczem mlecznym może stanowić obiecujące podejście w projektowaniu burgerów mięsnych charakteryzujących się korzystniejszym profilem kwasów tłuszczowych i niższym poziomem WWA w stosunku do produktów konwencjonalnych.

Zastosowanie obróbki enzymatycznej z wykorzystaniem roślinnych proteaz cysteinowych – papainy, bromelainy i ficyny, przyspieszyło proteolizę białek miofibrylarnych i kolagenowych zawartych w surowym mięsie wołowym i pozytywnie wpłynęło na przyspieszenie procesu jego tenderyzacji, o czym świadczy większa w stosunku do grupy kontrolnej ilość białek niskocząsteczkowych 27-32 kDa (pochodzących z procesu degradacji troponiny T), niższa WBSF oraz wyższy MFI.

Wykorzystane w badaniach poziomy koncentracji i aktywności enzymów umożliwiły zapewnienie optymalnych warunków enzymatycznej hydrolizy kolagenu i struktur białkowych świeżego mięsa bez negatywnego wpływu na jego inne cechy jakościowe. Na podstawie przeprowadzonych badań nie zaobserwowano negatywnego wpływu związków enzymatycznych na barwę i WHC mięsa w trakcie dojrzewania. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż możliwa jest poprawa kruchości mięsa wołowego poprzez

przyspieszenie proteolizy białek, co z kolei pozytywnie wpływa na jakość surowca i obniża koszty związane z utrzymaniem chłodniczej temperatury podczas dojrzewania wołowiny.

Przedstawione w publikacjach wyniki badań, stanowiące moje osięgnięcie naukowe, potwierdzają założenia hipotez badawczych, tj. szczegółowo opracowana metoda HPLC/FLD/DAD oraz zastosowanie techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE) umożliwiają skuteczne oczyszczenie matrycy żywnościowej ze związków interferujących oraz analizę ilościową profilu WWA w produktach pochodzenia zwierzęcego, charakteryzującą się określonym w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 836/2011 limitem detekcji (LOD w zakresie 0,05-0,10 µg/kg), odzyskiem nie niższym niż 84,29% i liniowością r^2 0,9995 (H1 została pozytywnie zweryfikowana). Udział wysokiej jakości wyselekcjonowanych mieszanek ekstraktów liścia laurowego, czarnego pieprzu, kurkumy, papryki jalapeno i pasty z tamaryndowca bogatych w związki o charakterze antyoksydacyjnym przyczynia się do hamowania powstawania prekursorów WWA w trakcie obróbki termicznej oraz korzystnie wpływa na profil związków lotnych, barwę i twardość mięsa (H2 została pozytywnie zweryfikowana). Profil kwasów tłuszczowych (tj. zawartość krótko- i długołańcuchowych, nasyconych, jedno- i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, izomeria konformacyjna *cis, trans*) w produktach mięsnych poddawanych obróbce termicznej determinuje powstawanie WWA zarówno o niskiej jak i wysokiej masie cząsteczkowej. Odpowiedni dobór tłuszczów, charakteryzujący się założonym profilem kwasów tłuszczowych może przyczynić się do podwyższenia wartości odżywczej i jednocześnie ograniczyć zachodzące w matrycy reakcje cyklizacji związków organicznych powodujących tworzenie toksycznych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (H3 została pozytywnie zweryfikowana). Zastosowanie naturalnych enzymów proteolitycznych pozyskiwanych ze specjalnie dobranych roślin takich jak malonowiec właściwy (*Ananas comosus*), łodyga ananasa (*Ananas comosus*) i lateks drzewa figowego, mają wpływ na przyspieszenie wewnątrzkomórkowych procesów biologicznych *post mortem*, co w konsekwencji powoduje podwyższenie jakości mięsa (głównie poprzez poprawę jego kruchości i obniżenie maksymalnej siły cięcia) (H4 została pozytywnie zweryfikowana).

Literatura:

1. Bahmanyar, F., Hosseini, S. M., Mirmoghtadaie, L., & Shojaee-Aliabadi, S. (2021). Effects of replacing soy protein and bread crumb with quinoa and buckwheat flour in functional beef burger formulation. *Meat science*, *172*, 108305.
2. Belichovska, D., Pejkovski, Z., Belichovska, K., Uzunoska, Z., & Silovska-Nikolova, A. (2017, September). Effect of vegetable oils on fatty acid composition and cholesterol content of chicken frankfurters. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 85, No. 1, p. 012059). IOP Publishing.
3. Błaszczyk, E., Mielżyńska-Švach, D. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. Journal of applied genetics, 58(3), 321-330.
4. Bogdanović, T., Pleadin, J., Petričević, S., Listeš, E., Sokolić, D., Marković, K., ... & Šimat, V. (2019). The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. *Journal of Food Composition and Analysis*, *75*, 49-60.
5. Chatterjee, N. S., Utture, S., Banerjee, K., Shabeer, T. A., Kamble, N., Mathew, S., & Kumar, K. A. (2016). Multiresidue analysis of multiclass pesticides and polyaromatic

hydrocarbons in fatty fish by gas chromatography tandem mass spectrometry and evaluation of matrix effect. *Food chemistry*, *196*, 1-8.

6. Chriki, S., Renand, G., Picard, B., Micol, D., Journaux, L., & Hocquette, J. F. (2013). Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. *Livestock Science*, *155*(2-3), 424-434.
7. EPA Method 610. (1984). Polynuclear aromatic hydrocarbons. *Fed Regist*, *49*, 112-120.
8. Farhadian, A., Jinap, S., Faridah, A., & Zaidul, I. S. M. (2012). Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo [a] pyrene, benzo [b] fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat. *Food Control*, *28*(2), 420-425.
9. Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J biol Chem*, *226*(1), 497-509.
10. Gajaweera, C., Chung, K. Y., Lee, S. H., Wijayananda, H. I., Kwon, E. G., Kim, H. J., ... & Lee, S. H. (2020). Assessment of carcass and meat quality of longissimus thoracis and semimembranosus muscles of Hanwoo with Korean beef grading standards. *Meat science*, *160*, 107944.
11. Guzek, D., Głąbska, D., Pogorzelski, G., Kozań, K., Sakowska, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A. (2013). Comparative analysis of colour components of beef striploin depending on various methods of thermal treatment. *Agricultural Engineering*, 141,75-82.
12. Han, Y., Chen, Y., Feng, Y., Song, W., Cao, F., Zhang, Y., ... & Chen, J. (2020). Different formation mechanisms of PAH during wood and coal combustion under different temperatures. *Atmospheric Environment*, *222*, 117084.
13. Heck, R. T., Saldaña, E., Lorenzo, J. M., Correa, L. P., Fagundes, M. B., Cichoski, A. J., ... & Campagnol, P. C. B. (2019). Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to I. Yebra-Pimentel, R. Fernández-González, E. Martínez-Carballo, J. Simal-Gándara. A critical review about the health risk assessment of PAHs and their metabolites in foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55 (10) (2015), pp. 1383-1405
14. International Agency for Research on Cancer. (2012). A Review of Human Carcinogens. F. Chemical Agents and Related Occupations: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.
15. Jinadasa, B. K. K. K., Monteau, F., & Fowler, S. W. (2020). Review of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fish and fisheries products; a Sri Lankan perspective. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(17), 20663-20674.
16. Joint, F. A. O., & WHO Expert Committee on Food Additives. (2005). Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting. *Food Contaminants, Rome, 8-17 February 2005*.
17. Kafouris, D., Koukkidou, A., Christou, E., Hadjigeorgiou, M., & Yiannopoulos, S. (2020). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products and charcoal grilled meat in Cyprus. *Meat Science*, *164*, 108088.
18. Kim, H. J., Cho, J., & Jang, A. (2021). Effect of charcoal type on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. *Food Chemistry*, *343*, 128453.
19. Ledesma, E., Rendueles, M., & Díaz, M. (2015). Spanish smoked meat products: Benzo (a) pyrene (BaP) contamination and moisture. *Journal of Food Composition and Analysis*, *37*, 87-94.
20. Ledesma, E., Rendueles, M., & Díaz, M. J. F. C. (2016). Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. Food Control, 60, 6

21. Lu, F., Kuhnle, G. K., & Cheng, Q. (2017). Vegetable oil as fat replacer inhibits formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in reduced fat pork patties. Food Control, 81, 113-125.
22. Mejborn, H., Hansen, M., Biltoft-Jensen, A., Christensen, T., Ygil, K. H., & Olesen, P. T. (2019). Suggestion for a subdivision of processed meat products on the Danish market based on their content of carcinogenic compounds. *Meat science*, *147*, 91-99.
23. Molognoni, L., Daguer, H., Motta, G. E., Merlo, T. C., & Lindner, J. D. D. (2019). Interactions of preservatives in meat processing: Formation of carcinogenic compounds, analytical methods, and inhibitory agents. *Food Research International*, *125*, 108608.
24. Park, K. C., Pyo, H., Kim, W., & Yoon, K. S. (2017). Effects of cooking methods and tea marinades on the formation of benzo [a] pyrene in grilled pork belly (Samgyeopsal). *Meat Science*, *129*, 1-8.
25. Patinho, I., Selani, M. M., Saldaña, E., Bortoluzzi, A. C. T., Rios-Mera, J. D., da Silva, C. M., ... & Contreras-Castillo, C. J. (2021). Agaricus bisporus mushroom as partial fat replacer improves the sensory quality maintaining the instrumental characteristics of beef burger. *Meat science*, *172*, 108307.
26. Reizer, E., Csizmadia, I. G., Palotás, Á. B., Viskolcz, B., & Fiser, B. (2019). Formation mechanism of benzo (a) pyrene: one of the most carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Molecules*, *24*(6), 1040.
27. ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 836/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (WE) nr 333/2007 ustanawiające metody pobierania próbek i metody analiz do celów urzędowej kontroli poziomów ołowiu, kadmu, rtęci, cyny nieorganicznej,3-MCPD i benzo[a]pirenu w środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG)
28. ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG)
29. Singh, L., Varshney, J. G., & Agarwal, T. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry*, *199*, 768-781.
30. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
31. Szpicer, A., Onopiuk, A., Półtorak, A., & Wierzbicka, A. (2018). Influence of oat β-glucan and canola oil addition on the physico-chemical properties of low-fat beef burgers. *Journal of Food Processing and Preservation*, *42*(11), e13785.
32. Trujillo-Mayol, I., Sobral, M. M. C., Viegas, O., Cunha, S. C., Alarcón-Enos, J., Pinho, O., & Ferreira, I. M. (2021). Incorporation of avocado peel extract to reduce cooking-induced hazards in beef and soy burgers: A clean label ingredient. *Food Research International*, *147*, 110434.
33. Viegas, O., Novo, P., Pinto, E., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2012). Effect of charcoal types and grilling conditions on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled muscle foods. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(6), 2128-2134.
34. Wang, C., Xie, Y., Wang, H., Bai, Y., Dai, C., Li, C., ... & Zhou, G. (2019). The influence of natural antioxidants on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in charcoal-grilled chicken wings. *Food Control*, *98*, 34-41.
35. Wang, F., Zhang, H., Geng, N., Ren, X., Zhang, B., Gong, Y., & Chen, J. (2018). A metabolomics strategy to assess the combined toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and short-chain chlorinated paraffins (SCCPs). *Environmental pollution*, *234*, 572-580.

36. Wongmaneepratip, W., & Vangnai, K. (2017). Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. *Food Control*, *79*, 119-125.
37. Zarasvand, S. A., Kadivar, M., Aminlari, M., & Shekarforoush, S. S. (2012). A comparative study of physico-chemical and functional properties, and ultrastructure of ostrich meat and beef during aging. *CyTA-Journal of Food*, *10*(3), 201-209.

5. **Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej**

W trakcie mojej współpracy naukowej z dr hab. Ewą Gorodkiewicz, prof. UwB w latach 2009-2014 w Uniwersytecie w Białymstoku prowadzone były badania pt.: „Wykorzystanie Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów do oznaczeń Cystatyny C jako markera schorzeń nerek i układu moczowego". Celem badań była analiza aktywności białek z grupy cystatyn jako potencjalnych markerów schorzeń nerek i układu moczowego. Cystatyna C jest uznawana za biomarker uszkodzenia nerek, mogący znaleźć zastosowanie w diagnostyce ostrej i przewlekłej niewydolności tych organów. Jej oznaczanie w surowicy i moczu, które są materiałem biologicznym stosowanym rutynowo w diagnostyce laboratoryjnej, jest pomocne w codziennej praktyce klinicznej. Cystatyna C uczestniczy w patomechanizmie choroby nowotworowej i procesów zapalnych. W takich patologicznych stanach obserwuje się znaczące zmiany ilościowe, jakościowe i lokalizacyjne katepsyn, a także ich inhibitorów. Proteazy cysteinowe zaangażowane są w procesy kancerogenezy na wielu poziomach- uczestniczą w transformacji nowotworowej, inwazji oraz powstawaniu przerzutów. Dzięki tym badaniom zdobyłam duże doświadczenie analityczne i zakwalifikowałam się na staż naukowy w Zakładzie Elektrochemii Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku (08-09.2014). **Efekty mojej wpółpracy zostały przedstawione w postaci wysoko punktowanych publikacji naukowych (Zał.4: II.4.1, II.4.7) oraz zaowocowały udziałem w międzynarodowej konferencji II.7.13 (The European Conference on Analytical Chemistry Euroanalysis, France).**

W trakcie trwania studiów w 2011 roku odbyłam staż naukowy w laboratorium firmy "Bielmlek- spółdzielnia mleczarska" w Bielsku Podlaskim. We wrześniu i październiku 2013 zrealizowałam praktyki nauczycielskskie w III Liceum Ogólnokształcącym im. Krzysztofa Kamila Baczyńskiego w Białymstoku.

Pracę zawodową rozpoczęłam od października 2014 roku na stanowisku asystenta naukowego w Samodzielnym Zakładzie Techniki w Żywieniu, Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. W roku 2019 uzyskałam stopień Doktora Nauk Rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Praca doktorska pt. „Wpływ czynników poubojowych na proces degradacji białek w mięsie wołowym", której promotorem był dr hab. Andrzej Półtorak, Prof. SGGW, została wyróżniona przez Radę Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji (praca wyróżniona za wysoką wartość naukową).

Od 01.10.2019 roku objęłam stanowisko asystenta naukowego w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, a od 01.03.2020 roku zostałam adiunktem badawczo-dydaktycznym Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka. Zdobyte przeze mnie doświadczenie i wkład pracy zaowocowały udziałem w 7 projektach prowadzonych we współpracy m.in. z Instytutem Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim, Polskim Zrzeszeniem Producentów Bydła Mięsnego oraz licznymi partnerami naukowymi i przemysłowymi (ZM Wierzejki, ZM Olewnik Bis Sp. z o.o., Zakłady Mięsne Zakrzewscy,

Eco-Beef Sp. z o.o., Zakłady Mięsne JÓZAN w Rzeniszowie, Zakład Przemysłu Mięsnego Biernacki Sp. z o.o.).

W okresie od 07.10.2014 do 30.06.2015 roku byłam członkiem zespołu badawczego w Projekcie pt. **Optymalizacja produkcji wołowiny w Polsce, zgodnie ze strategią „od widelca do zagrody" współfinansowanym przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka. Projekt realizowany był w ramach Priorytetu I – badania i rozwój nowoczesnych technologii, w działaniu 1.3 – wsparcie projektów B+R na rzecz przedsiębiorców realizowanych przez jednostki naukowe w poddziałaniu 1.3.1 – projekty rozwojowe, przez Konsorcjum Naukowo-Przemysłowe, w skład którego wchodziła Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie oraz Polskie Zrzeszenie Producentów Bydła Mięsnego**. Celem głównym tego projektu było zwiększenie poziomu innowacyjności polskiego sektora wołowiny poprzez kompleksowe badania i stworzenie nowej wiedzy opracowanej w ujęciu holistycznym w obszarze nauk związanych z jakością mięsa wołowego, co w konsekwencji przyczyniło się do stworzenia nowoczesnych rozwiązań w zakresie optymalizacji procesu produkcyjnego i dystrybucji oraz wzrostu popytu na mięso wołowe. Był to projekt rozwojowy o charakterze aplikacyjnym, ukierunkowany na bezpośrednie zastosowanie uzyskanych wyników w praktyce w sektorze wołowiny. Wdrożone wyniki badań miały szczególne znaczenie społeczne poprzez wpływ rezultatów projektu na poprawę efektywności i dochodowości sektora wołowiny wysokiej jakości oraz zmianę zwyczajów żywieniowych w aspekcie zdrowia społeczeństwa. Moja praca w projekcie miała na celu opracowanie metodyki oceny stopnia degradacji białek mięsa wołowego z wykorzystaniem elektroforezy SDS-PAGE oraz aktywności systemu kalpainowego z wykorzystaniem metody enzymatycznej Western Blotting. Wyniki badań uzyskane w ramach tego projektu przyczyniły się do poprawy akceptowalności konsumenckiej wołowiny i wpłynęły na wzrost innowacyjności sektora wołowiny poprzez wdrożenie nowych efektywnych technologii produkcji i sprzedaży wołowiny. **Efektem mojej pracy w ramach Projektu było nawiązanie kontaktów z branżą mięsną i naukowcami z takich krajów, jak: Francja, Wielka Brytania, Irlandia, Stany Zjednoczone, Japonia i Australia, co zaowocowało napisaniem publikacji II.4.11, w której badania prowadzone były we współpracy z zespołem Prof. Da-Wen Suna, pracującym w National University of Ireland (Agricultural and Food Science Centre, Belfield, Dublin, Irlandia).** Przeprowadzone we współpracy badania są szczególnie ważne społecznie w sferze produkcji wołowiny, efektywności i dochodowości sektora wołowiny oraz zwiększenia spożycia kulinarnej wołowiny, co wpływa na redukcję kaloryczności posiłków oraz na zdrowie społeczeństwa. W wyniku uzyskanych rezultatów branża mięsa wołowego otrzymała nowoczesne rozwiązania dotyczące optymalizacji produkcji i dystrybucji, zaś konsument w konsekwencji otrzymał produkt najwyższej jakości, zgodny z jego oczekiwaniami.

W roku 2015 byłam członkiem zespołu badawczego **Projektu pt. „BIOŻYWNOŚĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego" realizowanym przez Konsorcjum Naukowo-Przemysłowe utworzone przez Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN oraz partnerów naukowych i przemysłowych w latach 2009 – 2015.** Projekt był współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

w Działaniu 1.1 „Wsparcie badań naukowych dla budowy gospodarki opartej na wiedzy", Poddziałaniu 1.1.2 „Strategiczne programy badań naukowych i prac rozwojowych". Celem projektu było opracowanie technologii produkcji mięsa wieprzowego o wysokiej wartości odżywczej i działaniu prozdrowotnym na organizmy konsumentów przy uwzględnieniu kolejnych etapów jego pozyskiwania: rasy (genotypu) zwierząt, systemu żywienia zwierząt i utrzymania, dodatków paszowych (wpływających na zwiększenie koncentracji składników bioaktywnych), warunków transportu zwierząt, uboju i przechowywania mięsa, oceny jakości tusz i mięsa oraz oceny sensorycznej mięsa i jego wartości odżywczej jako mięsa kulinarnego i przeznaczonego do przerobu. Poszczególne cele badawcze w projekcie zostały podzielone między różne ośrodki naukowe (w tym Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie), w których ułożono harmonogramy oraz chronologię badań tak, aby wykorzystując ich wyniki na poszczególnych etapach, uzyskać efekt końcowy możliwy do wdrożenia przez partnerów konsorcjum, jakim byli m.in. Polski Związek Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS"i Zakłady Mięsne Olewnik Bis Sp. z o.o. Współpraca z Instytutem Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN przyczyniła się do poszerzenia moich zainteresowań naukowych. **Doświadczenia prowadzone były we współpracy z Panią mgr Aleksandrą Ciepłoch z Zakładu Doskonalenia Zwierząt, Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN oraz z Panią Larą Barotti z Wydziału Biomedycyny Porównawczej i Nauk o Żywności, Universitetu Padewskiego we Włoszech. Efekt naszej wspólnej pracy stanowi publikacja II.4.12.**

W roku 2015 **rozpoczęłam współpracę z Uniwersytetem Rolniczym w Krakowie. Efektem mojej współpracy była publikacja II.4.4. Badania prowadzone były wspólnie z Prof. dr hab. inż. Maciejem Kuboniem z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie**. **Współpraca nad ekserymentem zaowocowała dalszą wspólną działalnością naukową i udziałem w konferencjach organizowanych przez Polskie Towarzystwo Inżynierii Rolniczej.**

W okresie od 18.05.2016 do 30.06.2017 roku byłam kierownikiem zadania badawczego finansowanego z dotacji służącej rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich pt. „Analiza wpływu zmian tryptofanu i troponiny T na kruchość mięsa wołowego", 505-10-102800-N00335-99. Badania zrealizowałam w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa. Efektem moich prac w tym zadaniu badawczym było opublikowanie artykułu pt. "Changes in chemical composition and tenderness of selected beef muscles during aging analysed with SDS-PAGE and fluorescence spectroscopy" w czasopiśmie z listy JCR Animal Science Papers and Reports.

W okresie od kwietnia 2018 do lutego 2020 roku pełniłam funkcję kierownika zadania badawczego pt. **„Badania wpływu zmian sposobów procesu żywienia drobiu, na jakość surowca drobiowego-badania, jakości prozdrowotnej oraz występowania białek alergennych dostarczonego surowca drobiowego". Projekt powadzony był we współpracy z zakładem mięsnym „Wierzejki", a efektem pracy było m.in. wystąpienie na konferencji II.7.27.** Zadanie badawcze realizowane było w ramach Projektu badawczo-rozwojowego POIR.01.01.01-00-0130/18 „Opracowanie i wdrożenie technologii wytwarzania wygodnych wyrobów drobiowych w warstwie chrupkiej otoczki o kontrolowanej alergenności", Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 działanie 1.1 i opierało się na współpracy z Zakładem Mięsnym „Wierzejki" J.M. Zdanowscy Spółka Jawna. Efektem współpracy był

udział w konferencjach (II.7.26 i II.7.27). W roku 2019 byłam również członkiem zespołu projektowego przygotowującego założenia naukowe i aplikacyjne dla utrzymania specjalnego urządzenia badawczego na rok 2019 pt. "System identyfikacji i oznaczeń markerów świeżości i jakości prozdrowotnej produktów żywnościowych". Składowymi systemu były: elektroniczny nos, chromatograf gazowy, chromatograf cieczowy, aparat Mini-PROTEAN Tetra Cell. Na stanowisku do identyfikacji i oznaczeń markerów świeżości i jakości prozdrowotnej produktów żywnościowych prowadzone są badania m.in.: zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wybranych produktach spożywczych, oznaczenia profilu związków o charakterze antyoksydacyjnym, stabilność oksydacyjna żywności pochodzenia zwierzęcego, elektroforetyczny pomiar degradacji białek miofibrylarnych oraz analiza profilu związków lotnych i kwasów tłuszczowych w żywności. Nadrzędnym rezultatem prowadzonych badań jest poprawa sposobu żywienia i stanu odżywienia, a w konsekwencji stanu zdrowia i jakości życia na poziomie indywidualnym, grup populacyjnych i całego społeczeństwa. W wyniku prac prowadzonych na stanowisku badawczym opracowywane są markery stopnia zawansowania procesów biochemicznych warunkujących świeżość i dojrzałość przetwórczą produktów mięsnych oraz oznaczanie poziomu występowania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności. Dzięki funkcjonowaniu stanowiska do identyfikacji i oznaczeń markerów świeżości i jakości prozdrowotnej produktów żywnościowych uzyskane wyniki badań są upowszechniane w postaci artykułów naukowych publikowanych w renomowanych czasopismach posiadających współczynnik wpływu Impact Factor (IF), znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

Od 1 czerwca 2020 roku **jestem kierownikiem B+R projektu badawczo-rozwojowego POIR.01.01.01-00-1066/19 pt. „Innowacyjne funkcjonalne tłuszcze spożywcze o podwyższonej wartości odżywczej, prozdrowotnej i technologicznej w systemie "spray-off" oraz "friendly use" w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020, prowadzonym we współpracy z zakładem mięsnym „Wierzejki".** Celem projektu jest opracowanie nowoczesnej technologii produkcji tłuszczu zwierzęcego smażalniczego i smakowego o podwyższonych cechach prozdrowotnych, sensorycznych, z redukcją nasyconych kwasów tłuszczowych, znaczącym ograniczeniem kwasów tłuszczowych *trans* oraz o podwyższonej temperaturze hydrolizy termicznej i o wydłużonym terminie przydatności do spożycia bez zmian oksydacyjnych i jakościowych przy zastosowaniu nowatorskiego pakowania w warunkach modyfikowanej atmosfery, w tym bez udziału tlenu. Odbiorcami docelowymi produktów będą: dynamicznie rozwijający się Sektor HoReCa (hotelarski i gastronomiczny) – 70% wolumenu produkcji tłuszczu smażalniczego oraz konsumenci indywidualni, którzy dokonują zakupu żywności w sposób świadomy, zwracając uwagę nie tylko na jej cenę, ale na jakość, skład i termin przydatności produktu – 30% wolumenu tłuszczu smażalniczego i wolumen produkcji tłuszczów smakowych. W projekcie opracowywana jest obecnie technologia produkcji innowacyjnych produktów pod względem wartości odżywczej oraz biodostępności składników (prozdrowotne produkty zwierzęce zwierające kwasy tłuszczowe pojedynczo i podwójnie nienasycone oraz wielonasycone z udziałem CLA oraz z ekstraktami ziół i przypraw), reformulację istniejących produktów ukierunkowaną na poprawę ich jakości, poprzez zredukowanie ilości izomerów *trans* poniżej 2%, a następnie wyeliminowanie procesu autooksydacji tłuszczu i powstawania wolnych

rodników skutkujących niekorzystnymi właściwościami rakotwórczymi i mutagennymi. Zadaniem projektu jest również doskonalenie istniejących technologii produkcji i przetwórstwa żywności, poprzez odpowiednie pakowanie produktów, wydłużające okres niezmiennej jakości i wartości odżywczej w czasie, obniżenie poziomu temperatury i skrócenie czasu obróbki termicznej (dzięki związkom enzymatycznym) hydrolizującego struktury białkowe okalające komórki tłuszczowe i działania zmierzające do maksymalizacji udziału naturalnych surowców oraz ograniczenie stosowania dodatków do żywności (wolny od substancji dodatkowych skład surowcowy).

W okresie od września 2021 do końca lutego 2022 byłam **członkiem zespołu Projektu pt. "SAUSANTOX Wegańskie parówki o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym" w ramach Inkubatora Innowacyjności 4.0.** Wyzwaniem technologicznym w projekcie było opracowanie receptury, technologii produkcji oraz uzyskanie prozdrowotnych analogów produktów mięsnych, na bazie składników pochodzenia roślinnego, o podwyższonej wartości biologicznej i odżywczej. Problem badawczy stanowiła optymalizacja doboru składników w celu uzyskania wysokobiałkowego wyrobu, wzbogaconego w błonnik i mikrokapułkowane antocyjany, które podwyższą zdolność antyoksydacyjną gotowego wyrobu. Wyzwanie badawcze stanowiło modelowanie wartości pH, udziału wody i parametrów technologicznych procesu produkcyjnego w celu uzyskania produktu o cechach fizykochemicznych zbliżonych do produktów konwencjonalnych, o jak najwyższej akceptowalności wśród konsumentów. Antocyjany wpłynęły również istotnie na spowolnienie oksydacji kwasów tłuszczowych i białek. Uzyskany innowacyjny, funkcjonalny produkt żywnościowy będzie stanowił alternatywę dla konsumentów konwencjonalnych produktów mięsnych, a zawarty w nim błonnik pokarmowy będzie pomagał w zapobieganiu otyłości, przeciwdziałał chorobom sercowo-naczyniowym i cukrzycy bez zmiany nawyków żywieniowych konsumentów. Wyniki badań będą użytecznym rozwiązaniem technologicznym dla zakładów przemysłu spożywczego. **Rezultaty projektu zostały nagrodzone na Międzynarodowej Wystawie Wynalazków w Genewie w 2022 roku. Wspólnie z zespołem badawczym złożyliśmy dnia 2022-04-21 wniosek o udzielenie patentu na wynalazek pt. Produkt roślinny typu parówki o zwiększonym potencjale antyoksydacyjnym i sposób wytwarzania produktu roślinnego o nr P.440988. Rezultatem wspólnych badań było również wydanie publikacji II.4.35 (IF 4,006, MEiN 100 pkt).**

Od grudnia 2021 roku jestem kierownikiem projektu Miniatura 5 pt. "Analiza wpływu wybranych związków fenolowych na kształtowanie profilu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności" przyznanym przez Narodowe Centrum Nauki. Podjęte przeze mnie innowacyjne działanie naukowe ma charakter doświadczalny, a uzyskane wyniki posłużą do opracowania bazy wiedzy przedstawiającej zależność między gatunkami mięsa, obecnością naturalnych ekstraktów z ziół i przypraw, a powstawaniem policyklicznych pochodnych benzenu w trakcie obróbki termicznej.

Od 3 października 2022 jestem wykonawcą Projektu 2021/43/D/NZ9/01572 pt. „Koacerwacja emulsji podwójnych z antocyjanami przy użyciu białek pochodzenia roślinnego" finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki. Projekt ma na celu zdobycie nowej wiedzy z obszaru możliwości wykorzystania grupy białek, które są produktami ubocznymi i do tej pory nie były szeroko stosowane w konsumpcji przez ludzi. W ramach projektu wykonujemy koacerwaty, w których materiałem polisacharydowym jest guma arabska

(najczęstsze źródło pochodzenia roślinnego), chitozan (źródło pochodzenia zwierzęcego) oraz guma ksantanowa (źródło pochodzenia mikrobiologicznego). Dzięki badaniom nad białkami traktowanymi dotychczas w literaturze marginalnie, możliwe będzie zgromadzenie nowej wiedzy w celu ukierunkowania badań nad poprawą funkcjonalności białek w zakresie rozpuszczalności, właściwości emulgujących oraz struktury molekularnej.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1 Osiągnięcia dydaktyczne

Działalność dydaktyczną prowadzę na Wydziale Żywienia Człowieka Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie dla studentów kierunków: Żywienie Człowieka i Ocena Żywności, Dietetyka, Gastronomia i Hotelarstwo. Pracę dydaktyczną rozpoczęłam w trakcie studiów doktoranckich. W roku 2020 awansowałam ze stanowiska asystenta naukowego na stanowisko adiunkta (pracownika badawczo-dydaktycznego) w Instytucie Nauk o Żywieniu Człowieka SGGW. Zajęcia, które prowadzę lub prowadziłam realizowane są w ramach przedmiotów obowiązkowych i fakultatywnych na pierwszym i drugim stopniu studiów.

Do realizowanych przeze mnie przedmiotów należą: Inżynieria Żywności, Systemy technologiczne w produkcji potraw, Ogólna technologia żywności, Wyposażenia zakładów żywienia zbiorowego, Nowoczesne metody pakowania żywności oraz Enzymy w projektowaniu i produkcji żywności. Przedmiot Alergeny pokarmowe jest przedmiotem fakultatywnym, którego sylabus został opracowany przeze mnie na potrzeby programu studiów/studiów podyplomowych oraz innych form kształcenia w 2021 r.

Brałam czynny udział w opracowywaniu metodyki pt. “Analiza zmian barwy surowców, półproduktów i produktów spożywczych” w ramach prowadzenia zajęć z przedmiotu Inżynieria Żywności oraz w modyfikacji metodyki pt. “Niskotemperaturowe zagęszczanie wybranych produktów spożywczych- wymiana masy” w roku akademickim 2015/2016. Byłam również liderem w opracowaniu części teoretycznej i doświadczalnej zajęć z zakresu suszenia sublimacyjnego w ramach ćwiczeń z Inżynierii Żywności w 2017 roku. Dwukrotnie została przeprowadzona hospitacja zajęć, które prowadziłam. Zarówno w roku 2015 jak i 2019 Komisja Hospitacyjna jednomyślnie wystawiła ocenę bardzo dobrą.

W okresie 01.09.2018 do 30.09.2020 brałam udział w projekcie dydaktycznym Projektowanie żywności – „studia dualne II stopnia” w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 współfinansowanym ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach osi priorytetowej III. Szkolnictwo Wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie nr 3.1 Kompetencje w szkolnictwie wyższym, Nr projektu: POWR.03.01.00-00-DU61/18. Brałam udział w przygotowaniu wniosku, a w trakcie realizacji pełniłam rolę wykonawcy odpowiadającego za koordynację zajęć z praktykami. Na studiach dualnych realizowanych w ramach projektu prowadziłam zajęcia z przedmiotów Nowoczesne metody analizy żywności oraz Praktyczne aspekty analizy żywności.

W czasie dotychczasowej działalności dydaktycznej byłam promotorką 5 prac magisterskich i 3 inżynierskich, w trakcie studiów doktoranckich pomagałam przy realizacji 2 prac magisterskich i 2 inżynierskich. Jestem również promotorką 4 prac będących w trakcie realizacji (3 prace inżynierskie i 1 praca magisterska). Pełnię funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim mgr inż. Klaudii Kołodziejczak, która rozpoczęła naukę w Szkole Doktorskiej SGGW w roku akademickim 2021/2022. W okresie 01.10.2021-28.02.2022 r. pełniłam rolę opiekuna stażysty w projekcie Sausantox – Wegańskie parówki o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym" realizowanego w ramach projektu Inkubator Innowacyjności 4.0 w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności.
Jestem osobą odpowiedzialną za przedmioty takie jak:
- Sysytemy technologiczne w produkcji potraw – ćwiczenia prowadzone na kierunku *Gastronomia i Hotelastwo,* zarówno studia stacjonalne i niestacjonarne
- Alergeny pokarmowe – ćwiczenia i wykłady prowadzone na kierunkach *Żywienie Człowieka i Ocena Żywności* (zarówno studia stacjonalne i niestacjonarne) oraz *Dietetyka* (studia stacjonalne i niestacjonarne).

6.2 Osiągnięcia organizacyjne

Działalność organizacyjna stanowi istotny punkt mojej aktywności zawodowej. Już w czasie studiów doktoranckich wykazywałam duże zaangażowanie między innymi poprzez uczestnictwo w przygotowaniach do wielu wydarzeń np.: Jubileuszu 20-lecia Wszechnicy Żywieniowej w 2014 roku. W 2015 roku brałam udział w trzech wydarzeniach związanych z promocją wyników Projektu ProOptiBeef. Pierwszym z nich był Piknik Poznaj Dobrą Żywność organizowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, podczas którego współorganizowałam stoisko promocyjne. Współorganizowałam promocję Projektu ProOptiBeef podczas Dni Otwartych Funduszy Europejskich oraz byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego „Międzynarodowej Konferencji Podsumowującej Realizację Projektu ProOptiBeef". W tym samym roku brałam również udział w organizacji takich wydarzeń jak: III Zjazd Absolwentów Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW, piknik rodzinny dla społeczności Warszawy „Uczta dla 5000" oraz konferencja „Nasza oferta – Twoja decyzja" na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Od 15.10.2015 roku byłam również członkiem Rady Doktorantów.

W 2016 roku kontynuowałam zaangażowanie w działalność organizacyjną poprzez udział w przygotowaniach do Dni SGGW oraz Spotkania Absolwentów i Pracowników Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Jako członek Rady Doktorantów uczestniczyłam również w organizacji Dnia Doktoranta, 10-lecia Rady Doktorantów i V Warszawskiego Balu Doktorantów. We wrześniu 2016 roku zostałam powołana na kadencję 2016-2020 w skład Uczelnianej Komisji Dyscyplinarnej ds. Doktorantów SGGW oraz Rektorskiej Komisji Mieszkaniowej SGGW w Warszawie. Od 2016 roku byłam także członkiem Senatu SGGW w kadencji 2016-2020. W dniu 7.03.2016 r. zostałam przyjęta w poczet Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

Brałam udział w promocji Rady Doktorantów i Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji poprzez przygotowanie i wspieranie pracy stoisk w czasie Dni SGGW, które odbyły się w dniach 19-20.05.2017 r. W tym samym roku byłam członkiem Komitetu

Organizacyjnego VI Warszawskiego Balu Doktoranta oraz pełniłam funkcję Skarbnika Rady Doktorantów. Współorganizowałam również Dni SGGW w kolejnym, 2018 roku. Od dnia 4.06.2018 r. pełniłam rolę przedstawiciela Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW oraz byłam członkiem Zarządu Rady Doktorantów SGGW w kadencji 2016-2018. W dniu 26.02.2018 r zostałam powołana w skład Senackiej Komisji do Spraw Finansowych SGGW w kadencji 2018-2020. Za jedno z najważniejszych osiągnięć organizacyjnych w mojej dotychczasowej karierze uważam udział w pracach związanych z opracowaniem wytycznych oraz weryfikacją układu funkcjonalnego Innowacyjnego Centrum Nauk Żywieniowych w okresie 11.2018 r. – 03.2020 r. W roku 2019 byłam członkiem Rady Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. W latach 2020-2021 do mojej działalności organizacyjnej należało członkostwo w powołanych przez Dziekanów komisjach Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka: Komisji ds. Promocji oraz Komisji ds. Jakości Kształcenia.

6.3 Osiągnięcia popularyzujące naukę

W dniach 6-8 października 2021 roku brałam udział w Europejskim Forum Przyszłości na Stadionie Śląskim w Chorzowie, jako prelegent zaproszony do omówienia raportu pt. „Wieprzowina. Nowa Perspektywa", opisującego przyszłość branży mięsnej w Polsce i na świecie. Raport został przygotowany przez Związek Polskie Mięso we współpracy z polskimi naukowcami, w tym ze mną. Dokument składał się z siedmiu analiz naukowych z czterech obszarów tematycznych (zdrowie, ekonomia, środowisko, społeczeństwo) i przedstawił nowe argumenty, które pokazały znaczenie sektora wieprzowego i sposoby mierzenia się wyzwaniami, które przed nim stoją. Kontynuując analizę właściwości i wartości odżywczej i prozdrowotnej mięsa wzięłam udział w przygotowaniu artykułów popularnonaukowych takich jak m.in. "Zła wiadomość dla wegan. Polska wieprzowina znacznie zdrowsza!" (w.Gospodarce.pl), "Mięso czerwone, a rak. Jakie są fakty?" (Agro Profil), "Raport: Nie ma dowodów na to, że czerwone mięso powoduje raka" (Farmer.pl), "Wieprzowina to dobry wybór. Wyniki raportu nie pozostawiają złudzeń" (Świat rolnika.info).

W dniach 21-22 stycznia 2022 brałam czynny udział w Dniach Otwartych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, podczas których kandydaci na studia mieli możliwość zapoznać się z ofertą 39 kierunków studiów realizowanych na czternastu wydziałach Uczelni.

Dnia 26.02.2015 r brałam czynny udział w organizacji Konferencji „Nasza oferta – Twoja decyzja" na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Dnia 16.05.2015 r brałam czynny udział w Pikniku "Poznaj Dobrą Żywność" organizowanym przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w SGGW, podczas którego prezentowane były wyniki Projektu ProOptiBeef. Dnia 17.10.2015 r. zaangażowana byłam w organizację pikniku rodzinnego dla społeczności Warszawy „Uczta dla 5000".

7. Pozostałe informacje dotyczące kariery zawodowej

7.1 Pozostały dorobek publikacyjny

Główna tematyka prowadzonych przeze mnie badań naukowych obejmuje następujące zagadnienia:

Grupa tematyczna 1. Ozonowanie jako skuteczna metoda przedłużania trwałości przechowalniczej żywności.

Grupa tematyczna 2. Analiza wpływu profilu kwasów tłuszczowych i składu podstawowego na jakość ogólną, teksturę, profil związków lotnych i ocenę sensoryczną w wybranych produktach spożywczych.

Grupa tematyczna 3. Chemiczne i fizyczne metody oceny jakości mięsa wołowego, ze szczególnym uwzględnieniem jego kruchości w trakcie dojrzewania.

Grupa tematyczna 4. Analogi mięsa w perspektywie najnowszych badań naukowych.

Grupa tematyczna 5. Wpływ substancji bioaktywnych na właściwości antyoksydacyjne i antyzapalne żywności.

Grupa tematyczna 6. Zastosowanie innowacyjnych metod pakowania produktów żywnościowych.

Grupa tematyczna 7. Badanie aktywności białek z grupy cystatyn jako potencjalnych markerów schorzeń nerek i układu moczowego.

7.1.1 Ozonowanie jako skuteczna metoda przedłużania trwałości przechowalniczej żywności

Publikacje: II.4.16, II.4.23, II.4.3, II.4.4 – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

Biorąc pod uwagę sezonowość owoców i warzyw, a także krótki termin przydatności do spożycia spowodowany dużą zawartością wody w tkankach, istnieje konieczność poszukiwania nowych metod przedłużania trwałości przechowalniczej. Innowacyjną techniką przechowalnictwa żywności, w tym głównie warzyw i owoców jagodowych jest ozonowanie, co zostało szczegółowo opisane w moich publikacjach II.4.16, II.4.23, II.4.3, II.4.4. W ramach tej grupy tematycznej opracowane zostały 4 artykuły dotyczące metod przedłużania trwałości przechowalniczej za pomocą gazowego ozonu. Działaniu gazowego ozonu poddane takie warzywa i owoce jak: pomidory (3 odmiany: *Reconquista, Rapanui i Sacher*), truskawki (*Honeoye*) oraz maliny (*Polka*).

Pomidory stanowią niezwykle cenny element codziennej diety człowieka. Ze względu na pożądane właściwości sensoryczne są często wybierane przez konsumentów. Warzywa te spożywane w formie surowej i przetworzonej, stanowią wzbogacenie lub podstawę dań. Pełnią one również istotną rolę dietetyczną. Charakteryzują się niską wartością kaloryczną przy jednocześnie wysokiej zawartości składników bioaktywnych. Obecne w pomidorach witaminy i składniki mineralne są szczególnie cenione przez konsumentów. W 100 g świeżych pomidorów znajduje się nawet 15,0-25,0 mg witaminy C (Georgé i wsp., 2011). Na szczególną uwagę zasługują składniki o charakterze antyoksydacyjnym. Związki przeciwutleniające chronią organizm człowieka przed działaniem wolnych rodników, które poprzez uszkodzenie wielu struktur tj.: lipidy, białka, błony komórkowe, enzymy i kwasy nukleinowe, prowadzić mogą do rozwoju miażdżycy, cukrzycy, chorób układu krążenia, nowotworów i wielu innych (Sharoni i wsp., 2016). Do najważniejszych składników obecnych w pomidorach, wykazujących działanie antyoksydacyjne należą: polifenole (w tym: antocyjany, kwasy fenolowe, flawonoidy), witaminy, tokoferole, karotenoidy oraz kwasy organiczne (Meléndez-

Martínez i wsp., 2018; Nabnean i wsp., 2017). Najbardziej charakterystycznym związkiem antyoksydacyjnym występującym w pomidorach jest likopen. Należy on do karotenoidów, a jego zawartość w 100 g pomidorów wynosi 1,82-11,19 mg (Markovic i wsp., 2006). Badania naukowe prowadzone przez Giovannucci (1999) i Giovannucci i wsp., (2002) udowodniły, iż polifenole roślinne i likopen zawarte w pomidorach zapobiegają wielu chorobom cywilizacyjnym, dzięki swoim właściwościom przeciwzapalnym, przeciwwirusowym i przeciwbakteryjnym. Przeciwdziałają również reakcjom alergennym, zakrzepom, miażdżycy naczyń krwionośnych oraz obniżają poziom cholesterolu (Alvi i wsp., 2015). Likopen ma działanie opóźniające starzenie oraz wspomaga pracę serca i wątroby (Navarro-González i wsp., 2018). Hamuje też proces zwyrodnienia plamki żółtej oraz przeciwdziała nowotworowi prostaty (Paur i wsp., 2017). Substancje zawarte w owocach pomidora oraz ich przetworach mogą pomagać w leczeniu wielu schorzeń i chorób dotykających współczesne społeczeństwo. Mimo iż właściwości smakowe i odżywcze pomidorów należących do rodzaju Lycopersicon esculentum są dobrze poznane i doceniane od wielu lat, to nadal prowadzone są badania mające na celu szczegółowe poznanie składu chemicznego poszczególnych odmian tych owoców, a zwłaszcza zawartości związków wykazujących właściwości antyoksydacyjne i antyzapalne (Gouranton i wsp., 2011).

Niepodważalnie pozytywne oddziaływanie pomidorów na organizm człowieka powoduje ich dużą popularność wśród konsumentów. Jednocześnie konsumenci mają wysokie wymagania w stosunku do jakości, przydatności do spożycia i trwałości warzyw i owoców. Trwałość owoców i warzyw jest kluczowym problemem zarówno dla producentów jak i konsumentów żywności. Cecha ta determinowana jest przez czynniki klimatyczne, agrotechniczne (sposób uprawy, nawożenie, środki ochrony roślin, termin zbiorów) oraz technologiczne. Na trwałość owoców i warzyw wpływają również w dużej mierze czynniki genetyczne takie jak gatunek oraz odmiana (Bertin i wsp., 2018). Spośród warzyw, pomidory stanowią jeden z najmniej trwałych surowców. Charakteryzują się krótkim okresem zachowania trwałości. W temperaturze pokojowej szybko ulegają dojrzewaniu. Procesy, które zachodzą wiążą się ze zmianą barwy, smaku, utratą wody oraz rozkładem związków bioaktywnych. Obecność delikatnej skórki, duża zawartość wody oraz niewłaściwe warunki przechowywania prowadzić mogą do wystąpienia chorób grzybowych oraz zepsucia surowca. W praktyce przemysłowej pomidory przechowywane są w temperaturze chłodniczej. Wiąże się to między innymi z wysokim zużyciem energii, co pośrednio wpływa na cenę produktu. Poszukuje się zatem innowacyjnych rozwiązań, które pozwolą na wydłużenie trwałości pomidorów przy jednoczesnym zachowaniu ich jakości oraz cennych substancji bioaktywnych.

Wydłużanie świeżości owoców i warzyw jest jednym z dominujących trendów na rynku żywości. Oczekiwanie przez konsumentów naturalności produktów spożywczych, skutkuje dążeniem do jak najdłuższego zachowania naturalnego stanu oferowanych produktów. Z tego powodu opracowywane są techniki wydłużania trwałości warzyw, które w jak najmniejszym stopniu wpływać będą na ich formę. Do takich technik zaliczane są: stosowanie jadalnych powłok, pakowanie w modyfikowanej i kontrolowanej atmosferze (MAP i CA), promieniowanie UV-C, światło pulsacyjne PL (Zalewska i wsp., 2018). Spośród tych innowacyjnych rozwiązań moją uwagę zwróciła możliwość stosowania gazowego ozonu w celu przedłużania trwałości pomidorów. Ozon to trójatomowy alotrop tlenu. Cechą charakterystyczną ozonu jest jego wysoki potencjał utleniania, który wynosi 2,07 V, dla

porównania wartość ta dla chloru wynosi 1,36 V a dla tlenu 1,23 V. Dzięki swoim właściwościom ozon wykazuje właściwości bakteriobójcze oraz wirusobójcze. Dotychczas przeprowadzone badania wskazywały na możliwość zastosowania ozonu do wydłużenia trwałości przechowalniczej m.in.: marchwi, malin oraz jabłek. Co więcej, zastosowanie ozonu umożliwia nie tylko wydłużenie świeżości, ale pozwala także na ograniczenie akumulacji substancji lotnych wpływających na przedwczesne dojrzewanie owoców i warzyw.

Celem przeprowadzonych przeze mnie badań, których wyniki zostały opublikowane w publikacjach II.4.16 i II.4.23 było opracowanie innowacyjnej metody przedłużania trwałości przechowalniczej pomidorów z wykorzystaniem gazowego ozonu. Badania pozwoliły na określenie optymalnych wartości krytycznych parametrów: stężenia ozonu gazowego w atmosferze chłodniczej oraz czasu ekspozycji pomidorów na ozon. Zbadany został także wpływ działania gazowego ozonu na jakość oraz kluczowe właściwości prozdrowotne pomidorów.

W zakres publikacji II.4.16 wchodziła analiza całkowitej zdolności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) oraz analiza barwy, utraty masy oraz jędrności trzech odmian pomidorów (*Reconquista, Rapanui i Sacher*) pozyskanych w centralnej Polsce. Warzywa nie posiadały śladów uszkodzeń oraz zostały poddane selekcji pod kątem wielkości, kształtu, barwy oraz stopnia dojrzałości. Pomidory bezpośrednio po przetransportowaniu w izotermicznych warunkach zostały podzielone na 5 grup badawczych o łącznej masie 10 kg każda. Pierwsza z grup stanowiła grupę kontrolną, pozostałe 4 zostały poddane ekspozycji na gazowy ozon. Zastosowano stężenia ozonu 0,9 (c_1) i 2,5 (c_2) mg/L w czasie 30 i 120 minut. Analizy zostały wykonane w 0, 5, 10 i 15 dniu przechowywania.

Całkowita aktywność przeciwutleniająca (TAA) badanych pomidorów wynosiła odpowiednio 26,92 ± 1,09, 31,56 ± 1,27 i 49,80 ± 1,25% (D0). Zmiany, które pojawiły się w ciągu 5 pierwszych dni przechowywania były niewielkie i wynikały z utraty wody z warzyw. Najwyższą zdolnością antyoksydacyjną charakteryzowały się pomidory odmiany *Sacher* w każdym badanym dniu przechowywania. W kolejnych (10 i 15) dniach przechowywania grupa kontrolna w obrębie każdej odmiany wykazywała niższą zdolność antyoksydacyjną niż grupy ozonowane. Zastosowanie stężenia ozonu na poziomie 0,9 mg/L wpłynęło na poziom TAA w sposób nieistotny statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej. Najwyższą TAA charakteryzowały się pomidory należące do odmiany *Sacher* ozonowane dawką 2,5 mg/L w czasie 120 min (65,67 ± 0,33% w dniu 10 i 71,24 ± 1,68% w dniu 15).

Analiza składowych barwy wykazała, że zastosowanie ozonu nie wpłynęło istotnie na zmianę barwy pomidorów. W czasie przechowywania zaobserwowano spadek wartości parametru L*, co jest zjawiskiem naturalnie występującym w pomidorach. Zmiany badanych parametrów podczas przechowywania były niewielkie, co świadczy o wysokiej jakości owoców. Uzyskane wyniki wskazują, że stosowanie ozonu do wydłużenia trwałości przechowalniczej pomidorów nie wpływa negatywnie na barwę produktu. Statystycznie istotne różnice składowych barwy stwierdzono pomiędzy odmianami pomidorów (odmiana pomidora jest kluczowym determinantem barwy jego skórki). Najjaśniejszą barwą skórki charakteryzowały się pomidory odmiany *Rapanui* (44,40 ± 1,06 w D0). Najwyższe wartości parametrów a* i b* w D0 odnotowano w przypadku pomidora odmiany *Reconquista*.

Niezwykle istotne wyniki badań uzyskano w przypadku analizy utraty masy pomidorów w trakcie przechowywania. Bilans masy w dniach 5, 10 i 15 wykazał, że ozonowanie istotnie zmniejszyło utratę masy pomidorów w porównaniu do grupy kontrolnej. Najwyższym ubytkiem masy charakteryzowały się pomidory odmiany *Reconquist*a, gdzie grupa kontrolna utraciła 6,23% masy w dniu 15, podczas gdy pomidory tej samej odmiany, poddane ozonowaniu, utraciły średnio 5,58% masy. Wyniki badań wskazują, że najskuteczniejsze ograniczenie strat masy osiągnięto poprzez zastosowanie 2,5 mg/L ozonu w czasie 120 min. Przeanalizowano również jędrność, która stanowi kluczową cechę decydującą o chęci zakupu pomidorów przez konsumentów. W czasie przechowywania pomidory każdej z odmian poddane ozonowaniu wykazywały wyższą jędrność niż pomidory z grupy kontrolnej. Najwyższą jędrnością spośród badanych odmian charakteryzowały się pomidory odmiany *Sacher*.

Do badań opisanych w publikacji II.4.23 wybrano pomidory odmiany *Rapanui* pozyskane w centralnej Polsce w fazie pełnej dojrzałości. Podobnie jak w przypadku publikacji II.4.16 pomidory zostały poddane selekcji oraz podzielone na 5 grup po 5 kg każda: grupa kontrolna, grupa ozonowana w czasie 30 min stężeniem 0,9 mg/L, grupa ozonowana w czasie 30 min stężeniem 2,5 mg/L, grupa ozonowana w czasie 120 min stężeniem 0,9 mg/L, grupa ozonowana w czasie 120 min stężeniem 2,5 mg/L. Przeprowadzone analizy obejmowały m.in: oznaczenie zawartości całkowitej rozpuszczalnej substancji stałej, kwasowości ogólnej, całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów, likopenu, karotenoidów ogółem oraz witaminy C w dniu 0, 5, 10 i 15 przechowywania.

Analiza kwasowości ogólnej miała na celu określenie stopnia dojrzałości oraz ewentualnych przemian cukrów pod wpływem drobnoustrojów. Wyjściowa kwasowość ogólna we wszystkich grupach badawczych nie różniła się istotnie statystycznie. W trakcie przechowywania parametr ten ulegał częściowej redukcji na skutek zwiększenia dojrzałości pomidorów. Najwyższą redukcję (około 60%) zaobserwowano w grupie pomidorów ozonowanych stężeniem 2,5 mg/L przez 120 min. Całkowita zawartość substancji rozpuszczalnych (TSS) to wskaźnik refraktometryczny wskazujący proporcję rozpuszczonych ciał stałych w roztworze i odzwierciedlający m.in.: sumę cukrów oraz kwasów. Podczas 15-dniowego okresu przechowywania stwierdzono wzrost zawartości TSS zarówno w kontrolnej, jak i w każdej z ozonowanych grup pomidorów, co wynika z procesów biologicznych zachodzących w owocach i warzywach. Ozonowanie doprowadziło do istotnie statystycznie wyższej zawartości TSS w porównaniu do grupy kontrolnej. Wyższa zawartość cukrów wpływa na poprawę walorów smakowych pomidorów.

W ramach badań dokonano w pomidorach analizy zawartości związków o charakterze przeciwutleniającym. Całkowita zawartość fenoli w dniu 0 była zbliżona we wszystkich grupach badawczych (276,9–296,9 mg kg^{-1} GAE). Pomidory ozonowane wykazywały wyższe niż nieozonowane zawartości fenoli w czasie przechowywania, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Zawartość flawonoidów (TFC) w pomidorach *Rapanui* analizowanych na początku doświadczenia (D0) mieściła się w zakresie 167,6–179,5 mg kg^{-1} RE i uległa obniżeniu podczas przechowywania. Najwyższy spadek TFC (40,6%) w ciągu 15 dni przechowywania zaobserwowano w grupie kontrolnej. Ozonowanie przyczyniło się do zwiększenia stabilności poziomu TFC w pomidorach. Największą skuteczność w hamowaniu degradacji flawonoidów wykazano dla grupy ozonowanej przez 120 min dawką 0,9 mg/L.

Zawartości likopenu i karotenoidów ogółem w D0 były zbliżone we wszystkich grupach badawczych i wynosiły odpowiednio 143,7–157,8 mg kg^{-1} likopenu i 228,7–243,3 mg kg^{-1} β-CaE karotenoidów. W trakcie przechowywania nastąpił początkowy wzrost, a następnie spadek zawartości karotenoidów i likopenu w większości grup badawczych. Wyjątek stanowiły pomidory ozonowane dawką 0,9 mg/L w czasie 120 min, w których zawartość likopenu nie zmieniła się istotnie. Duża redukcja zawartości likopenu w grupach ozonowanych dawką 2,5 mg/L wskazuje na kluczowe znaczenie odpowiedniego doboru stosowanej dawki i czasu ozonowania do rodzaju surowca. Ozonowanie nie wpłynęło w sposób istotny statystycznie na poziom witaminy C w pomidorach. W D0 jej zawartość mieściła się w zakresie 176,0-242,0 mg kg^{-1} i uległa nieznacznej redukcji w D10 i D15 we wszystkich grupach badawczych. Nie wykazano korelacji pomiędzy czasem ozonowania i stężeniem ozonu, a stabilnością witaminy C. Ozonowanie spowodowało istotne zmniejszenie zawartości pleśni i drożdży w trakcie całego okresu przechowywania.

Wyniki przeprowadzonych badań opublikowane w artykułach II.4.16 i II.4.23 wykazały skuteczność stosowania ozonu gazowego w przedłużaniu trwałości pomidorów. Zastosowanie ozonu zahamowało rozwój drożdży i pleśni na powierzchni pomidorów oraz doprowadziło do ograniczenia utraty wagi i zachowania wysokiej zdolności antyoksydacyjnej, nie wpływając niekorzystnie na jędrność i barwę pomidorów. Wyniki tych badań wskazują, że ozon może być stosowany jako alternatywna technologia przedłużania trwałości przechowalniczej w przemyśle spożywczym, która nie powoduje pogorszenia jakości odżywczej i właściwości fizycznych pomidorów.

W zakresie moich zainteresowań naukowych znalazły się również owoce jagodowe, takie jak maliny oraz truskawki (publikacje II.4.3 i II.4.4). W czasie przechowywania owoców jagodowych występują straty przechowalnicze związane z procesami dojrzewania, warunkami przechowywania oraz ich psuciem się. Utrata masy truskawek i malin w trakcie przechowywania następuje głównie na skutek utraty wody przez parowanie i utraty rezerw węgla na skutek oddychania. Szybkość z jaką tracona jest woda warunkowana jest głównie gradientem ciśnienia pomiędzy tkankami owocu i otaczającej go atmosfery. Zastosowanie w przemyśle spożywczym gazowego ozonu jako czynnika przedłużającego trwałość a także działającego bakteriobójczo może ograniczyć stosowanie obecnie standardowych, wpływających negatywnie na środowisko naturalne, związków chemicznych oraz wydłużać czas wysokiej akceptowalności konsumenckiej owoców. Gazowy ozon działa powierzchniowo na florę bakteryjną występującą naturalnie na owocach jak również znacząco wpływa na ich skład chemiczny. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na występowanie zależności między stabilnością składników antyoksydacyjnych, a dawką ozonu i czasem ozonowania truskawek i malin. Owoce poddane działaniu gazowego ozonu o stężeniu od 0,3 do 2,5 ppm miały wyższą zawartość rozpuszczalnych substancji stałych, istotnie statystycznie wyższy poziom związków fenolowych oraz wykazywały większą zdolność antyoksydacyjną w porównaniu do owoców nieozonowanych. Zastosowanie ozonu zmniejszyło straty masy truskawek i malin nie wpływając przy tym negatywnie na ich jakość prozdrowotną. Przeprowadzone w skali laboratoryjnej badania pozwoliły na dobór odpowiednich warunków ozonowania w zależności od rodzaju owoców. W przypadku truskawek odmiany '*Honeoye*' najkorzystniejszym zabiegiem było ozonowanie przez 120 min dawką ozonu 0,6 mg/L, natomiast w przypadku malin odmiany *Polka* – czas 60 min i stężenie ozonu 0,9 mg/L. Uzyskane wyniki mogą okazać

się przydatne w optymalizacji systemów dystrybucji owoców jagodowych przeznaczonych do konsumpcji.

Podsumowując ten obszar tematyczny można stwierdzić, iż istnieją skuteczne metody przedłużania trwałości przechowalniczej owoców i warzyw, które w niedestrukcyjny sposób ograniczają ubytki masy warzyw i owoców oraz pozwalają zachować ich wysoką jakość sensoryczną. Opisane przeze mnie kierunki badań, dzięki redukcji niekorzystnych zmian i strat masy, przyczynią się do rozwoju sektora przemysłu owocowo- warzywnego nie tylko w Polsce, ale i na całym świecie.

Badania trwałości przechowalniczej truskawek odmiany '*Honeoye*' z wykorzystaniem gazowego ozonu (publikacja II.4.4) **prowadzone były we współporacy z Prof. dr hab. inż. Maciejem Kuboniem z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie**. Współpraca nad eksperymentem zaowocowała dalszą wspólną działalnością naukową i udziałem w konferencjach organizowanych przez Polskie Towarzystwo Inżynierii Rolniczej.

Literatura:

Alvi, S. S., Ansari, I. A., & Khan, M. S. (2015). Pleiotropic role of lycopene in protecting various risk factors mediated atherosclerosis. Annals of Phytomedicine, 4, 54-60.

Bertin, N., & Génard, M. (2018). Tomato quality as influenced by preharvest factors. Scientia Horticulturae, 233, 264–276.

Georgé, S., Tourniaire, F., Gautier, H., Goupy, P., Rock, E., & Caris-Veyrat, C. (2011). Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. Food Chemistry, 124, 1603–1611.

Giovannucci, E. (1999). Tomato base-products, lycopene and cancer. Review of epidemiologic literature. Journal of the National Cancer Institute, 91, 317-331.

Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (2002). A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. Journal of the National Cancer Institute, 94, 391–398.

Gouranton, E., Thabuis, C., Riollet, C. Malezet-Desmoulins, C., El Yazidi, C., Amiot, M. J, Borel, P., & Landrier, J. F. (2011). Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. Journal of Nutritional Biochemistry, 22, 642–648.

Markovic, K., Hruškar, M., & Vahčić, N. (2006). Lycopene content of tomato products and their contribution to the lycopene intake of Croatians. Nutrition Research, 26, 556–560.

Meléndez-Martínez, A. J., Mapelli-Brahm, P., & Stinco, C. M. (2018). The colourless carotenoids phytoene and phytofluene: From dietary sources to their usefulness for the functional foods and nutricosmetics industries. Journal of Food Composition and Analysis, 67, 91–103.

Nabnean, S., Thepa, S., Janjai, S., & Bala, B. K. (2017). Drying kinetics and diffusivity of osmotically dehydrated cherry tomatoes. Journal of Food Processing and Preservation, 41, 1–11.

Navarro-González, I., García-Alonso, J., & Periago, M. J. (2018). Bioactive compounds of tomato: Cancer chemopreventive effects and influence on the transcriptome in hepatocytes. Journal of Functional Foods, 42, 271–280.

Paur, I., Lilleby, W., Bohn, S.K., Hulander, E. i wsp. (2017). Tomato based randomized controlled trial in prostate cancer patients: Effect on PSA. Clinical Nutrition, 36, 672-679.

Sharoni, Y., Linnewiel-Hermione, K., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., & Levy, J. (2016). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. Molecular Nutrition & Food Research, 56, 259–269.

Zalewska, M., Marcinkowska-Lesiak, M., Onopiuk, A., Stelmasiak, A., Półtorak, A. (2018). Modified atmosphere packaging for extending the shelf life of fresh Agaricus bisporus. Journal of Food Processing and Preservation, 42, 13839.

7.1.2 Analiza wpływu profilu kwasów tłuszczowych i składu podstawowego na jakość ogólną, teksturę, profil związków lotnych i ocenę sensoryczną w wybranych produktach spożywczych

Publikacje: II.4.13, II.4.17, II.4.8, II.4.22, II.4.21, II.4.19 – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

Konsumenci współcześnie wykazują rosnące zainteresowanie spożywaną żywnością, są coraz lepiej wyedukowani w zakresie wartości odżywczej oraz zasad zdrowego odżywiania. Rosną także ich oczekiwania wobec jakości produktów, a więc producenci poszukują nowych rozwiązań tworząc produkty funkcjonalne.

W ostatnich latach szczególną uwagę zwraca się na profil kwasów tłuszczowych mięsa i produktów mięsnych. Część konsumentów unika mięsa o dużej zawartości tłuszczu lub ogranicza jego spożycie ze względu na negatywne oddziaływanie nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA). Istnieją różne metody modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych mięsa i produktów mięsnych. Jedną z nich jest zmiana sposobu żywienia zwierząt lub dobór odpowiedniej rasy zwierząt hodowlanych (Troy i wsp. 2016). Inną strategią modyfikacji zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych jest zastąpienie tłuszczu zwierzęcego olejem roślinnym. Tłuszcze roślinne charakteryzują się wyższą zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). Na szczególną uwagę zasługuje olej rzepakowy, który charakteryzuje się wysokim poziomem PUFA (28,14%) oraz najniższym poziomem SFA (7,37%) (USDA, 2016). Jednak zastąpienie tłuszczu zwierzęcego olejem roślinnym poza niewątpliwymi zaletami, wiąże się także z ryzykiem pogorszenia właściwości sensorycznych oraz technologicznych produktu. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie w recepturze β-glukanu. Jest to polisacharyd zbudowany z cząsteczek β-D-glukozy (Frank i wsp., 2016). Ma on pozytywny wpływ na zdrowie człowieka (m.in.: zmniejsza wzrost glukozy we krwi po posiłku i korzystnie wpływa na poziom cholesterolu we krwi) oraz wykazuje pewne właściwości, które mogą zostać wykorzystane w przetwórstwie mięsa. Dodatek koncentratów β-glukanu owsianego może zwiększyć spoistość, kleistość i twardość produktów spożywczych, a niektóre produkty są bardziej ziarniste. β-glukan owsa ma również wpływ na ocenę intensywności smaku.

Inny kontrowersyjny pod względem żywieniowym produkt stanowią wyroby cukiernicze. Często zawierają one dużo tłuszczu, który pod wpływem intensywnego przetwarzania, w szczególności obróbki w wysokiej temperaturze, ulegać może niekorzystnym

przemianom. Istotne z punktu widzenia pogorszenia jakości produktu jest utlenianie lipidów. Powszechnie stosowane w cukiernictwie syntetyczne przeciwutleniacze takie jak: butylowany hydroksytoluen (BHT) czy butylowany hydroksyanizol (BHA) są negatywnie postrzegane przez konsumentów. Alternatywą dla tych związków mogą być związki o działaniu przeciwutleniającym pochodzące ze źródeł naturalnych tj.: przyprawy, zioła czy owoce. Jednym z przykładów takich owoców są winogrona. Charakteryzują się one wysoką zawartością naturalnych przeciwutleniaczy (m.in.: taniny, antocyjany, flawonoidy, stilbeny (resweratrol) (Amarowicz i wsp. 2019). Konsumenci poza oczekiwaniem tzw. „czystej etykiety" coraz chętniej sięgają po produkty funkcjonalne, zawierające składniki, które przeciwdziałają rozwojowi chorób cywilizacyjnych. Przykładem szczególnie pożądanego składnika jest β-glukan, wobec którego Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) opracował dwa oświadczenia zdrowotne: "spożywanie beta-glukanów owsa lub jęczmienia z posiłkiem pomaga zmniejszyć wzrost stężenia glukozy we krwi po tym posiłku" oraz "beta-glukany pomagają utrzymać prawidłowe stężenie cholesterolu we krwi" (Commision Regulation EU, 2012).

Zbadano możliwość opracowania funkcjonalnych produktów spożywczych na przykładzie burgerów wołowych oraz kruchych ciasteczek. Wyniki badań przedstawiono w publikacjach II.4.13, II.4.17, II.4.8, II.4.22. Celem publikacji II.4.13 było opracowanie receptury akceptowanego przez konsumentów niskotłuszczowego produktu mięsnego, o właściwościach sensorycznych zbliżonych do próby kontrolnej, który zawierałby β-glukan w ilości co najmniej 1%. Do badań przygotowano cztery rodzaje burgerów wołowych: próbę kontrolną, próbę, w której zastąpiono 40% łoju wołowego olejem rzepakowym, próbę z zastąpieniem części łoju wołowego 30% koncentratem β-glukanu oraz próbę, w której część łoju wołowego zastąpiono olejem rzepakowym, a część całkowitej zawartości tłuszczu koncentratem β -glukanu. Przygotowane burgery zostały poddane grillowaniu, a następnie przeprowadzono analizę składu podstawowego, profilu kwasów tłuszczowych, profilu związków lotnych oraz ocenę sensoryczną.

Przeprowadzone badania wykazały wpływ zastosowania β-glukanu na zwiększenie zawartości wody, popiołu oraz białka w badanych próbkach. Zaobserwowano istotny statystycznie spadek zawartości tłuszczu w próbach z β-glukanem. Nie odnotowano jednak wpływu β-glukanu na zawartość tkanki łącznej w burgerach wołowych. Przeanalizowano profil kwasów tłuszczowych łoju wołowego, oleju rzepakowego, burgerów surowych oraz burgerów grillowanych. Zgodnie z oczekiwaniami autorów występującym w największej ilości kwasem tłuszczowym w obu próbkach był C18:1n9c, odpowiednio 33,66 g/100 g - łój wołowy i 65,02 g/100 g - olej rzepakowy. Porównanie profili kwasów tłuszczowych wykazało również, że olej rzepakowy ma ponad 9-krotnie niższą zawartość całkowitych SFA niż łój wołowy. Badanie profilu KT burgerów wykazało, że pod względem ilościowym kwas palmitynowy (C16:0) i stearynowy (C18:0) były głównymi kwasami SFA wykrytymi w burgerach (zarówno przed jak i po obróbce termicznej). Istotne jest, że zastąpienie łoju wołowego β-glukanem (grupa B), olejem rzepakowym (grupa O) lub dwoma tymi składnikami (grupa O + B) istotnie zmniejszyło zawartość SFA i zwiększyło poziom PUFA. Pomimo zmian spowodowanych obróbką termiczną, burgery zawierające olej rzepakowy oraz olej rzepakowy wraz z β-glukanem charakteryzowały się najwyższym stosunkiem PUFA/SFA spośród pozostałych prób. Uzyskana modyfikacja profilu kwasów tłuszczowych spowodowała również zmiany w profilu

związków lotnych a także wpłynęła na akceptację konsumencką burgerów. Ocena sensoryczna wykazała, że najbardziej cenionymi próbkami o zmodyfikowanym składzie były te z udziałem oleju rzepakowego i β-glukanu, w których akceptacja wszystkich parametrów sensorycznych była bardzo zbliżona do akceptacji hamburgerów kontrolnych. Dodatek samego β-glukanu obniżył akceptację większości parametrów sensorycznych, natomiast obniżenie akceptacji soczystości zaobserwowano w próbkach z olejem rzepakowym. Przeprowadzone badania wykazały, że istnieje potencjał w wykorzystaniu oleju rzepakowego i β-glukanu do tworzenia funkcjonalnych niskotłuszczowych produktów wołowych o akceptowalnych związkach lotnych i korzystnych profilach kwasów tłuszczowych.

W publikacji II.4.17 autorzy skupili się na zbadaniu możliwości wykorzystania koncentratów β-glukanu do zastąpienia tłuszczu w produkcie celem opracowania akceptowanego przez konsumentów produktu niskotłuszczowego, o parametrach fizykochemicznych zbliżonych do próby kontrolnej. Podobnie jak w poprzedniej publikacji, do badań wykorzystano burgery wołowe. Do ich przygotowania zastosowano pięć receptur: recepturę kontrolną, receptury z 8% i 12% dodatkiem 15% koncentratu β-glukanu oraz receptury z 4% i 6% dodatkiem 30% koncentratu β-glukanu. Burgery zostały poddane analizie składu podstawowego, zawartości β-glukanu i cholesterolu, pH, WHC, barwy, tekstury, profilu związków lotnych oraz ocenie sensorycznej.

Wyniki przeprowadzonych analiz wykazały, że wszystkie burgery z dodatkiem β -glukanu charakteryzowały się wyższą zawartością wody, spowodowaną prawdopodobnie przez wysoką zdolność wiązania wody przez β -glukan. Zaobserwowano również istotny wzrost zawartości białka oraz popiołu dla obu rodzajów koncentratu. Istotnie zmniejszyła się zawartość tłuszczu w burgerach zawierających β -glukan. Badanie zawartości β glukanu przeprowadzono w 0, 4, 7 i 11 dniu przechowywania. W produkcie końcowym uzyskano docelowy wskaźnik masy β-glukanu na poziomie 1%. Zgodnie z oczekiwaniami próbki kontrolne nie zawierały β-glukanu. Zaobserwowano redukcję zawartości β-glukanu w trakcie przechowywania, czego przyczynę prawdopodobnie stanowiły zachodzące zmiany i degradacja oksydacyjna β-glukanów.

Wartość pH burgerów z β-glukanem uległa znaczącemu podwyższeniu w dniu 0 w porównaniu do grupy kontrolnej. Najwyższe wartości pH w dniu 0 zaobserwowano w grupie z 12% dodatkiem koncentratu 15% (pH 5,88 ± 0,00) oraz z 6% dodatkiem koncentratu 30% (pH 5,87 ± 0,00). W trakcie przechowywania wartość pH obniżyła się istotnie we wszystkich analizowanych grupach. W dniu 0 we wszystkich grupach doświadczalnych z dodatkiem koncentratów zaobserwowano istotny wzrost WHC burgerów. Największą różnicę w wartości WHC odnotowano dla próby z 12% dodatkiem koncentratu 15%. W ciągu przechowywania wartość WHC obniżyła się we wszystkich grupach badawczych. W dniu 0 doświadczenia nie odnotowano wpływu β-glukanu na wartość parametru L* oraz parametru a* barwy surowych burgerów, wyjątek stanowiła grupa z 6% dodatkiem koncentratu 30%, gdzie wartość L* zmniejszyła się, a parametru a* uległa zwiększeniu. Wartość parametrów L* i a* uległa zmniejszeniu we wszystkich grupach w trakcie przechowywania. Co bardzo istotne, we wszystkich badanych grupach uzyskano znaczący wzrost wartości b* spowodowany dodatkiem β-glukanu. Dodatek obu koncentratów β-glukanów wpłynął na wszystkie badane parametry tekstury. Wartości twardości wzrosły istotnie we wszystkich grupach, natomiast sprężystość zwiększyła się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej tylko w próbce z 12% udziałem

koncentratu 15%. Spoistość i gumowatość burgerów wzrosła istotnie po dodaniu obu koncentratów β-glukanu. Analiza zawartości cholesterolu w burgerach wykazała, że zastosowanie β-glukanu pozwoliło na istotną redukcję jego poziomu. Najniższą zawartość cholesterolu uzyskano w próbkach z 12% dodatkiem koncentratu 15% we wszystkich dniach analizy. Nie zaobserwowano natomiast wpływu czasu przechowywania na zawartość cholesterolu. Analiza PCA w odnieseniu do profilu związków lotnych wykazała, że ilość i stężenie (15% i 30%) dodanego β-glukanu miała wpływ na profil związków lotnych surowych burgerów w porównaniu z grupą kontrolną. Obróbka termiczna burgerów zmniejszyła różnice pomiędzy próbkami z udziałem β-glukanem, ale nadal różniły się one od próbek kontrolnych. Miało to odzwierciedlenie w wynikach analizy sensorycznej, która wykazała, że stężenie i ilość β-glukanu mają istotny wpływ na obniżenie akceptacji dla większości cech sensorycznych (wygląd zewnętrzny, soczystość, smak, aromat, tekstura, ogólna akceptacja) z wyjątkiem barwy w 0 dniu przechowywania. Wyniki badań opublikowane w publikacji II.4.17 wykazały, że zastąpienie tłuszczu przez koncentraty β-glukanów owsianych wydaje się być technologicznie możliwe do zastosowania w produkcji niskotłuszczowych wyrobów mięsnych.

Celem publikacji II.4.8 było opracowanie innowacyjnych niskotłuszczowych burgerów wołowych, gdzie łój wołowy został zastąpiony olejem rzepakowym (jako źródło kwasów tłuszczowych omega3) i β-glukanem z owsa. W ramach badań dokonałam oceny wpływu tej szczególnej modyfikacji na parametry fizykochemiczne i akceptację konsumentów burgerów. Wspólnie z zespołem badawczym dokonaliśmy analizy składu podstawowego burgerów metodą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR), pH, barwy w systemie L*a*b*, zdolności utrzymania wody własnej (WHC), analizy tekstury, zawartosci β-glukanu, cholesterolu, profilu związków lotnych i oceny konsumenckiej. Zgodnie z uzyskanymi wynikami, zastąpienie tłuszczu zwierzęcego olejem rzepakowym i udział β-glukanu z owsa na poziomie 1,2% miały pozytywny wpływ na wartość WHC burgerów oraz istotnie obniżyły poziom cholesterolu. Modyfikacja nie wpłynęła natomiast znacząco na teksturę oraz ocenę konsumencką. Zastąpienie łoju olejem rzepakowym i β-glukanem wpłynęło natomiast na zmiany wartości pH i w konsekwencji na zmianę parametrów barwy powierzchni burgerów niskotłuszczowych. Zmienił się różnież profil związków lotnych, gdzie wykazno, iż głównym źródłem związków lotnych identyfikowanych w gotowanym mięsie były lipidy. W związku z tym, zaminniki tłuszczu mogą również wpływać na smak mięsa, zarówno poprzez redukcję pierwotnego substratu aromotwórczego (tłuszczu) oraz poprzez zmianę uwalniania związków aromatycznych. Ponadto lipidy stanowią źródło składników smakowych ponieważ umożliwiają tworzenie się związków, takich jak wolne kwasy tłuszczowe, aldehydy, ketony, węglowodory i alkohol. Niektóre zamienniki tłuszczu, na przykład błonnik owsiany mogą wzmacniać wyczuwanie lotnych związków aromatycznych, a inne, takie jak np. tapioka lub maltodekstryny, mogą opóźniać ich uwalnianie. Podsumowując, zastąpienie łoju olejem rzepakowym i koncentratem β-glukanu ma pozytywny wpływ na prozdrowotne i technologiczne właściwości niskotłuszczowych burgerów wołowych.

Celem publikacji II.4.22 z tej grupy tematycznej było opracowanie receptury i technologii produkcji innowacyjnego wyrobu cukierniczego, spełniającego oczekiwania klientów, dla których priorytetem są zdrowe przekąski. Badano możliwość zastosowania ekstraktu ze skórek czerwonych winogron i koncentratu β-glukanu w produkcji kruchych ciasteczek. W doświadczeniu wykorzystano cztery receptury ciastek: kontrolną, z udziałem

30% koncentratu β-glukanu owsianego, ekstraktu ze skórki czerwonych winogron oraz z udziałem obu składników funkcjonalnych (ekstraktu ze skórki czerwonych winogron oraz β-glukanu owsianego). Wypieczone i schłodzone ciastka zostały zapakowane w modyfikowanej atmosferze. Próbki ciastek analizowano na zawartość β-glukanu, dokonano również pomiaru barwy oraz tekstury, przeprowadzono pomiar temperatury początku reakcji (TON) różnicową kalorymetrią skaningową (DSC), zbadano także całkowitą aktywność przeciwutleniającą (TTA), zawartość związków fenolowych, profil związków lotnych oraz ocenę konsumencką.

Badanie zawartości β-glukanu wykazało niewielką jego ilość w ciastkach z grupy kontrolnej, czego prawdopodobną przyczyną była jego obecność w mące pszennej użytej w recepturze ciastek. Obie grupy próbek wzbogaconych preparatem z ziaren owsa zawierały na początku doświadczenia ponad 1% wagowy β-glukanu. W związku z tym jedno 15 g kruche ciastko zawierało około 0,15 g czystego β-glukanu zbożowego. W grupie z dodatkiem samego β-glukanu zaobserwowano istotny spadek jego zawartości w trakcie przechowywania, co spowodowane mogło być zmianami oksydacyjnymi i enzymatycznymi. Modyfikacje receptury w sposób istotny wpłynęły na parametry barwy, w szczególności w próbach z udziałem ekstraktu ze skórki czerwonych winogron. Wprowadzenie tego ekstraktu, który charakteryzował się niską wartością parametru L*, powodował statystycznie istotny spadek wartości parametru barwy L* we wszystkich punktach czasowych przechowywania w obu grupach ciastek. Przeciwny efekt uzyskano poprzez dodatek samego β-glukanu, a co więcej w próbkach tych jako jedynych parametr L* nie uległ wzrostowi w czasie przechowywania. Parametr a* uległ istotnemu zwiększeniu w próbkach z udziałem ekstraktu ze skórek czerwonych winogron, natomiast wszystkie grupy ze zmodyfikowaną recepturą charakteryzowały się niższą wartością parametru b* w porównaniu do próby kontrolnej. Pomiary tekstury wykazały, że ciasteczka zawierające ekstrakt ze skórek winogron były najtwardsze we wszystkich dniach pomiarowych. Ciastka wyprodukowane z użyciem koncentratu β-glukanu charakteryzowały się natomiast istotnie niższą twardością niż próbki kontrolne oraz próbki z dodatkiem β-glukanu i ekstraktu ze skórek winogron. Analiza DSC, wykazała, że parametr temperatury początku reakcji (TON), który jest zwykle stosowany do opisu podatności olejów i tłuszczów na utlenianie, uległ istotnej poprawie w wyniku wszystkich modyfikacji receptur. Próbka kontrolna, badana bezpośrednio po wypieku miała również stosunkowo wysoką stabilność oksydacyjną. Wyższe wartości TON zaobserwowano dla frakcji lipidowych ekstrahowanych z ciastek z dodatkiem ekstraktu ze skórki winogron, β-glukanu lub obu dodatków. Modyfikacje receptury wpłynęły także w sposób istotny na wzrost całkowitej aktywności przeciwutleniającej (nawet o 74%). Zarówno dodatki do receptury, jak i czas przechowywania miały istotny wpływ na zawartość związków fenolowych w badanych próbkach. Najwyższą uzyskano w próbce z dodatkiem ekstraktu ze skórek winogron oraz β-glukanu w pierwszym dniu doświadczenia. Dane z PCA profilu związków lotnych wskazują na różnice pomiędzy recepturami ciastek kruchych, przed i po obróbce cieplnej. Analiza PCA wykazała, że zmiana receptury związana była ze zmianą profilu związków lotnych wykrytych w ciasteczkach. Dodatkowo, pieczenie zwiększyło różnice w tych profilach pomiędzy próbkami, szczególnie w przypadku próbek z ekstraktem ze skórki winogron. Różnice te zaobserwowali również członkowie zespołu oceniającego. Próbki z obu grup z ekstraktem ze skórek charakteryzowały się podobną akceptacją większości wyróżników sensorycznych w porównaniu z próbkami kontrolnymi, w przeciwieństwie do grupy wzbogaconej o β-glukan,

dla której wykazano istotnie niższą akceptację sensoryczną. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dodatek ekstraktu ze skórek czerwonych winogron oraz β-glukanu owsianego do wypieku ciastek kruchych znacząco poprawia ich właściwości prozdrowotne, technologiczne i przechowalnicze.

W tej grupie tematycznej moich zainteresowań naukowych opisałam badania dotyczące analizy tłuszczu (II.4.21, II.4.19). Tłuszcz to jeden z głównych składników odżywczych obecnych w żywności. Charakteryzuje się wysoką wartością energetyczną oraz pełni wiele istotnych funkcji w organizmie człowieka. Na jakość i wartość odżywczą tłuszczu wpływa, oprócz jego źródła, także wiele innych czynników, spośród których istotne znaczenie mają procesy przetwórcze (Orkusz i Michalczuk, 2020). Konsumenci w ostatnich latach zaczęli zwracać uwagę na profil kwasów tłuszczowych produktów spożywczych, dlatego opracowanie metod przetwórczych mających na celu zapewnienie wysokiej jakości tłuszczu zawartego w produktach stało się jednym z priorytetów branży spożywczej.

Istnieje wiele metod i wskaźników do oceny jakości tłuszczu. Do najważniejszych z nich należą: stosunek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) do nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA), zawartość kwasów tłuszczowych o działaniu hipocholesterolemicznym i hipercholesterolemicznym oraz wskaźniki aterogenności i trombogenności. Wśród grup kwasów tłuszczowych ważną rolę w organizmie człowieka odgrywają wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) z grupy n-3, które odpowiadają za utrzymanie prawidłowego funkcjonowania siatkówki oka oraz układu odpornościowego, a także mają działanie antyrakotwórcze i kardioprotekcyjne (Wołoszyn i wsp., 2020). W trakcie przetwarzania produktów spożywczych dochodzi często do utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, czego skutkiem jest pogorszenie profilu smakowego oraz obniżenie jakości tłuszczu. Wskutek utleniania PUFA dochodzi również do zmniejszenia trwałości tłuszczu, jego smakowitości, funkcjonalności i jakości odżywczej (Orkusz i Michalczuk, 2020).

Poddając analizie produkty pochodzenia zwierzęcego, ze względu na wysoką wartość odżywczą, na szczególną uwagę zasługuje mięso i tłuszcz gęsi. Tłuszcz gęsi charakteryzuje się pożądanym profilem kwasów tłuszczowych, w szczególności zaś wysoką zawartością kwasów tłuszczowych: oleinowego, linolowego i linolenowego (Yu i wsp., 2020). Także mięso gęsi, których Polska jest największym producentem w Europie, wyróżnia się wysoką wartością odżywczą i jest dobrym źródłem białka. Gęsina w porównaniu do mięsa czerwonego ma mniej kalorii oraz charakteryzuje się unikalnym smakiem i aromatem. Wskutek tuczu ptaków ziarnem owsa, mięso gęsi zawiera dużo wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA).

Obiecującą metodą obróbki termicznej mięsa i tłuszczu gęsiego z zachowaniem ich wysokiej jakości jest metoda *sous-vide*. Polega ona na zanurzeniu zapakowanego próżniowo produktu w kąpieli wodnej w kontrolowanych warunkach czasowych i temperaturowych (Ayub i Ahmad, 2019). Do najważniejszych zalet metody *sous-vide* należą: zachowanie substancji lotnych produktu, niskie ryzyko nagromadzenia aromatów ubocznych, zapobieganie utracie termolabilnych składników odżywczych oraz poprawa właściwości sensorycznych (Rinaldi i wsp., 2014).

Celem publikacji II.4.21 była ocena wpływu dwóch systemów wytapiania tłuszczu, *sous-vide* i konwencjonalnego pieczenia w piecu, na profil kwasów tłuszczowych i związków lotnych, barwę oraz stopień oksydacji lipidów w gęsim tłuszczu brzusznym. Materiał do badań został pozyskany z gęsi owsianych pochodzących z zakładu handlowego w Polsce. Tłuszcz

podzielono losowo na siedem grup w zależności od zastosowanej metody wytopu i temperatury: *sous-vide* (sv) w 60°C, 70°C i 90°C lub konwencjonalne pieczenie (ov) w 60°C, 70°C, 90°C i 130°C.

Próbki wytopionego tłuszczu zostały poddane analizie kwasów tłuszczowych. Wykazała ona, że spośród jednonienasyconych kwasów tłuszczowych największą zawartością charakteryzował się kwas oleinowy (C 18:1n-9c). Głównym PUFA występującym w tłuszczu gęsi był kwas linolowy (C 18:2n-6c). Najwyższa statystycznie istotna wartość ∑PUFA występowała w próbkach poddanych obróbce cieplnej w niskiej temperaturze i ograniczonej ilości tlenu (*sous-vide* 60°C i 70°C) ($P < 0,05$). Uzyskane wyniki wykazały, że statystycznie najwyższe wartości ∑SFA wystąpiły przy wysokotemperaturowej obróbce cieplnej prowadzonej w piecu (90°C = 25,66 ± 0,03; 130°C = 25,91 ± 0,06). W trakcie przechowywania nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w zawartości MUFA, natomiast odnotowano spadek zawartości PUFA. Światowa Organizacja Zdrowia (FAO/WHO) zaleca, aby stosunek PUFA:SFA wynosił co najmniej 0,40. W przypadku wszystkich próbek tłuszczu wartości te były wyższe od 0,40, przy czym najwyższe były dla sv 60°C - 0,50, a najniższe dla ov 90°C i ov 130°C - 0,47.

Ważny wyróżnik jakości tłuszczu, który został poddany analizie, to jego barwa. Jest ona zróżnicowana w zależności od pochodzenia tłuszczu, ale przyjmuje się, że tłuszcz preferowany przez konsumentów ma barwę jasną. Zastosowanie metody *sous-vide* doprowadziło do uzyskania ciemniejszej barwy tłuszczu gęsiego (60°C = 75,14 ± 0,35) niż w obróbce z wykorzystaniem pieca (70°C = 79,13 ± 0,37). W większości badanych grup jasność tłuszczu nie uległa istotnym zmianom w trakcie przechowywania, podobnie jak wartość parametru b*. Zmniejszenie udziału barwy czerwonej podczas przechowywania odnotowano jedynie dla tłuszczu wytapianego w piecu w temperaturze 60°C. Badania wykazały, że metoda wytapiania tłuszczu nie miała istotnego znaczenia w przypadku parametrów L*, a* i b*. Przeprowadzona analiza profilu związków lotnych wykazała, że dominującymi grupami związków były: aldehydy, ketony i tiole. W D1 najniższą względną sumę powierzchni aldehydów zaobserwowano w grupach s-v 60°C i s-v 90°C. Zbyt wysokie stężenie aldehydów, w porównaniu do stężenia niskiego, powiązane jest z wystąpieniem aromatu określanego jako nieprzyjemny. Ketony są ważną grupą lotnych związków w gęsim tłuszczu, odpowiedzialną za aromat pozytywny. W D1 stosunkowo najmniejsze powierzchnie pików ketonów zaobserwowano w grupach sv 90°C i ov 130°C. Analiza głównych składowych w odniesieniu do profilu aromatycznego wykazała, że aromat próbek pochodzących z wytopu metodą *sous-vide* jest stabilny i nie ulega zmianie podczas przechowywania (D2 i D3). Wykazano również, że właściwości aromatyczne próbek wytapianych w piecu w temperaturze 90°C były podobne do właściwości próbek wytapianych metodą sv. Przeprowadzono analizę utleniania lipidów tłuszczu gęsiego. Wykazała ona, że dwie najniższe temperatury wytopu metodą *sous-vide* pozwoliły na uzyskanie najwyższej stabilności oksydacyjnej, czego wskaźnikiem była niska zawartość MDA (0,18-0,19 MDA kg^{-1} tłuszczu). Wyższe temperatury w obu metodach spowodowały natomiast statystycznie istotny ($P \leq 0,05$) wzrost utleniania tłuszczu. Uzyskane w publikacji wyniki wykazały, że niskotemperaturowe metody wytapiania tłuszczu ograniczają powstawanie izomerów *trans* i przyczyniają się do wyższej stabilności oksydacyjnej tłuszczu. Ponadto tłuszcz gęsi wytapiany metodą *sous-vide* tworzy ciało stałe o konsystencji smarownej i atrakcyjnym białym kolorze.

Zastosowanie *sous-vide* jako metody obróbki cieplnej mięsa gęsiego zbadano i przedstawiono w publikacji II.4.19. Jej celem była analiza parametrów fizykochemicznych filetów gęsich poddanych niskotemperaturowej obróbce cieplnej pod kątem profilu związków lotnych w zależności od stopnia denaturacji białka. W sposób losowy zostało utworzonych sześć grup w zależności od temperatury (60, 70 i 80°C) oraz czasu gotowania (6 i 24 h). Analizie poddano wydajność gotowania metodą *sous-vide*. Wyniki wykazały, że wydłużenie czasu gotowania wpływa na obniżenie wydajności procesu z 81,39 do 72,12 w temperaturze 60°C, 63,14 do 58,87 w temperaturze 70°C oraz 57,49 do 54,28 w temperaturze 80°C. Nie zaobserwowano natomiast różnic pomiędzy pH próbek dla różnych kombinacji gotowania. Próbki gotowane w najniższej temperaturze (60°C) charakteryzowały się najwyższą jasnością (L*). Proces gotowania w temperaturze 60°C/24h i 70°C/6h spowodował zmniejszenie barwy czerwonej podczas przechowywania. TBARS w grupach D0 60°C i 70°C w obu temperaturach wykazywały najwyższą stabilność oksydacyjną, o czym świadczy niska zawartość aldehydu dimalonowego MDA (0,15-0,17 MDA/kg mięsa). Zastosowanie wyższej temperatury (80°C) podczas procesu gotowania przyczyniło się do statystycznie istotnego ($p<0,05$) wzrostu stopnia utlenienia tłuszczów w filetach gęsich. Najwyższy poziom utlenienia lipidów stwierdzono w przypadku grup 70°C/24h i 80°/24h w ostatnim dniu przechowywania (0,28 MDA/kg).

Przeprowadzono analizę temperatury denaturacji termicznej białek filetów gęsich metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Odnotowano, że pierwszy pik termiczny występuje w zakresie od 50 do 59°C, drugi od 59 do 72°C, a trzeci od 72 do 83°C. Oznacza to, że 50°C to temperatura początkowa denaturacji miozny, która osiągnęła punkt kulminacyjny w temperaturze 56°C (T_{max}). Drugi pik na wykresie informuje o denaturacji kolagenu i białek sarkoplazmatycznych, która osiągnęła T_{max} w 63°C. Rozpoczęty w 72°C proces termiczny związany był z denaturacją aktyny. Wyniki wykazały, że temperatury denaturacji termicznej aktyny są bardzo zbliżone do innych gatunków, takich jak wołowina i wieprzowina. Inne gatunki drobiu, takie jak indyki i kurczaki, również charakteryzowały się podobną temperaturą denaturacji aktyny. W próbkach 6h/80°C i 24h/80°C aktynę całkowicie zdenaturowano i nie wykryto żadnych pików DSC. Zbadano również profil związków lotnych badanych filetów. Zaobserwowano tworzenie się trzech zbiorów, a analizowane grupy pojawiły się na oddzielnych częściach wykresu punktowego. Istotnie innym profilem związków lotnych charakteryzowały się filety gotowane przez 6h w 60°C. Największe różnice między analizowanymi grupami zaobserwowano w dniu D0 (92,7%). W kolejnych dniach wartość ta zmniejszyła się do 49,5 i 49,7%, odpowiednio w D3 i D9. Według AroCHemBase we wszystkich próbkach wykryto 13 związków lotnych i ich deskryptorów sensorycznych: etanol, propanal, 2-propanol, 2-metylopropanal, butan-2,3-dion, octan izopropylu, 3-pentanon, petanian metylu, metional, 4-hydroksy-5-metyl-3(2H)-furanon, 1-oktanetiol, pentanian pentylu, 2,6-dimetoksyfenol. Wzrost temperatury obróbki cieplnej powodował obecność takich związków jak 2,3-dimetylopirazyna, 2,3-dimetylo-5-metylopirazyna, 2-izobutylo-3-metoksypirazyna, które są produktami reakcji Maillarda. Dimetylopirazyna została wykryta w próbkach gotowanych w 70°C i 80°C, zarówno w czasie 6 jak i 24 godzin. Względne powierzchnie pików 2,3-dimetylopirazyny zwiększały się w sposób statystycznie istotny wraz ze wzrostem czasu i temperatury ($p<0,05$) gotowania w warunkach *sous-vide* we wszystkich dniach przechowywania. Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że wydajność gotowania zależy od parametrów czasu i temperatury. **Zastosowanie niższych temperatur**

prowadzi do większej stabilności oksydacyjnej tłuszczu, a więc gotowanie filetów gęsich metodą *sous-vide* może mieć duży potencjał w zachowaniu ich cennych parametrów jakościowych.

Literatura:

Amarowicz R, Pegg R. B. (2019) Natural antioxidants of plant origin. Advances in food and nutrition research, 1st edn. Elsevier Inc., Cambridge, pp 1–81.

Commission Regulation (EU) (2012) COMMISSION REGULATION (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Official Journal of the European Union L. 136:1–40.

Frank, D. C., Ball, A. J., Hughes, J. M., Stark, J., Watkins, P., & Warner, R. D. (2016). Sensory and flavor chemistry characteristics of Australian beef: Influence of intramuscular fat, feed, and breed. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64(21), 4299–4311. doi:10.1021/acs.jafc.6b00160

Troy, D. J., Tiwari, B. K., & Joo, S. (2016). Health implications of beef intramuscular fat consumption. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 36(5), 577–582.

USDA. (2016). National nutrient database for standard reference release (Vol. 28). BARC-West Beltsville, MD: US Department of Agriculture Agricultural Research Service Beltsville Human Nutrition Research Center Nutrient Data Laboratory.

Orkusz, A., & Michalczuk, M. (2020). Research Note: Effect of packaging atmosphere on the fatty acid profile of intramuscular, subcutaneous fat, and odor of goose meat. Poultry Science, 99(1), 647-652.

Wołoszyn, J., Haraf, G., Okruszek, A., Wereńska, M., Goluch, Z., & Teleszko, M. (2020). Fatty acid profiles and health lipid indices in the breast muscles of local Polish goose varieties. Poultry science, 99(2), 1216-1224.

Yu, J., Yang, H. M., Lai, Y. Y., Wan, X. L., & Wang, Z. Y. (2020). The body fat distribution and fatty acid composition of muscles and adipose tissues in geese. Poultry Science, 99(9), 4634-4641.

Ayub, H., & Ahmad, A. (2019). Physiochemical changes in *sous-vide* and conventionally cooked meat. International journal of gastronomy and food science, 17, 100145.

Rinaldi, M., Dall'Asta, C., Paciulli, M., Cirlini, M., Manzi, C., & Chiavaro, E. (2014). A novel time/temperature approach to sous vide cooking of beef muscle. Food and bioprocess technology, 7(10), 2969-2977.

7.1.3 Chemiczne i fizyczne metody oceny jakości mięsa wołowego, ze szczególnym uwzględnieniem jego kruchości w trakcie dojrzewania

Publikacje: II.4.2, II.4.11, II.4.10, II.4.15. – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

O jakości mięsa wołowego świadczy przede wszystkim wartość odżywcza, walory smakowe oraz nierozerwalnie z nią związana akceptowalność konsumencka. Wołowina jest jednym z najbardziej wartościowych rodzajów mięsa pod względem wartości odżywczych.

Decyduje o tym zarówno wysoka zawartość pełnowartościowego białka, jak również niska wartość energetyczna i niewielka ilość tłuszczu. Wołowina jest cennym źródłem witamin z grupy B, kwasu CLA oraz żelaza hemowego. Na jej jakość może mieć wpływ wiele czynników, do których zalicza się m.in. cechy genetyczne (rasa, płeć), uwarunkowania środowiskowe (system żywienia, wiek, warunki utrzymania) oraz wewnątrzkomórkowe procesy biologiczne zachodzące po uboju zwierzęcia. W trakcie dojrzewania mięsa obejmującego tenderyzację następują pośmiertne modyfikacje strukturalne i biochemiczne. Zjawiska te są niezbędne, aby mięso uzyskało oczekiwane walory smakowe i określone parametry fizykochemiczne. Z uwagi na przydatność technologiczną i kulinarną mięsa, jednym z najistotniejszych parametrów jego jakości jest kruchość, smak i aromat. Do procesów o kluczowym znaczeniu w kształtowaniu cech jakościowych mięsa wołowego zaliczamy proteolizę białek miofibrylarnych oraz hydrolizę włókien kolagenowych, co zostało szczegółowo opisane w moich publikacjach II.4.2, II.4.11, II.4.10, II.4.15.

Wzrastające wymagania w zakresie produktów mięsnych, w tym wołowiny, wymuszają konieczność poszukiwań obiektywnych i szybkich metod poprawy ich kruchości. Wykorzystanie równocześnie enzymatycznych, chemicznych i instrumentalnych technik pomiaru może okazać się skutecznym narzędziem do prognozowania jakości wołowiny, co umożliwi lepsze zrozumienie mechanizmów odpowiedzialnych za kształtowanie jego kruchości, warunkującej odpowiednią przydatność technologiczną oraz wysoką akceptację konsumencką. Główny cel badań z tej grupy tematycznej stanowiła ocena zmian poubojowych zachodzących w mięsie wołowym w czasie wychładzania i dojrzewania oraz analiza wpływu czynników poubojowych na proces degradacji białek w wybranych mięśniach wołowych. Zakres metodyczny pracy obejmował wykonanie badań dotyczących enzymatycznej analizy kinetyki przemian glikolitycznych, elektroforetyczną analizę stopnia degradacji białek, fluorescencyjny pomiar reszt tryptofanu, instrumentalny pomiar siły cięcia metodą Warnera-Bratzlera (WBSF) oraz porównanie enzymatycznych, chemicznych i instrumentalnych metod oceny kruchości mięsa wołowego.

Przerwanie przyżyciowej przemiany materii w wyniku uboju zwierzęcia prowadzi do procesu rozpadu większości substancji organicznych. Następuje przerwanie zaopatrzenia komórek, tkanek i w konsekwencji całych narządów w tlen i inne metabolicznie niezbędne związki chemiczne, a także zahamowanie przemian energetycznych. Zmieniają się kierunki reakcji enzymatycznych z procesów syntezy na procesy rozpadu, których przyczyną są enzymy tkankowe. Rozpoczyna się proces rozpadu zawartego w mięśniach glikogenu do kwasu mlekowego. Od poziomu obecności glikogenu i szybkości jego rozpadu w procesie beztlenowej glikolizy uzależnione są późniejsze przemiany i kształtowanie cech jakości mięsa (Coombes i wsp., 2014). Zawartość glikogenu w znaczący sposób determinuje końcowe pH mięsa (England i wsp., 2015) oraz ma wpływ na wiele jego wyróżników, tj. właściwości hydratacyjne, siłę cięcia, barwę, wyciek przechowalniczy, co przedstawiłam w publikacji II.4.2.

Badania opisane w publikacji II.4.2 tej grupy tematycznej miały na celu ocenę zmian poubojowych zachodzących w mięsie wołowym w czasie wychładzania i dojrzewania oraz analizę ich wpływu na wartość pH i jakość technologiczną wybranych mięśni tusz mieszańców ras Holsztyńsko-Fryzyjskiej x Limousin. Badaniem objęto 3 mięśnie zróżnicowane pod względem przemian metabolicznych i długości sarkomerów: m. *semitendinosus* (ST), m. *longissimus dorsi* (LD) i m. *psoas major* (PM), pochodzące z 9 tusz buhajów w wieku 24±2

miesięcy. W 2 h, 4 h, 6 h, 24 h i 48 h po uboju dokonano pomiarów wartości pH bezpośrednio w tuszy oraz pobrano kawałki mięsa o masie około 20 g. W celu zatrzymania przebiegu zmian *post mortem* próbki zamrożono w ciekłym azocie. W tak zabezpieczonych próbach oznaczono następnie poziom glikogenu oraz kwasu mlekowego.

Na pozostałej części mięśni ST, LD i PM przeprowadzono dojrzewanie metodą mokrą. Próbki podzielono na 4 części, zapakowano próżniowo w worki polietylenowe i przechowywano w temperaturze 4±1°C. W 2 dniu *post mortem* w próbkach zmierzono długości sarkomerów oraz obliczono wartość potencjału glikolitycznego. Pomiaru składowych barwy, maksymalnej siły cięcia oraz wycieku przechowalniczego dokonano dodatkowo w 7, 14 i 21 dniu dojrzewania odpowiednio.

Warości pH mierzone w odstępach czasu między 2, a 48 h *post mortem* mieściły się w przedziale od 6,82 do 5,41 i ulegały sukcesywnemu obniżeniu w trakcie procesu wychładzania tuszy. Najwyższe pH mierzone 2 h po uboju zaobserwowano w mięśniu LD (6,82 ± 0,27), natomiast najniższe w PM (6,20 ± 0,10). Już w 6 h po uboju pH obniżyło się odpowiednio do 5,92 ± 0,14 (ST), 6,45 ± 0,25 (LD) i 5,69 ± 0,02 (PM). Różnice pH między mięśniami były istotne statystycznie ($p \leq 0,05$). Przeprowadzone badania wskazały na różnice w przebiegu przemian poubojowych w poszczególnych mięśniach różniących się długością sarkomerów oraz aktywnością metaboliczną za życia. Mięsień o charakterze oksydacyjnym- PM posiadał istotne statystycznie dłuższe sarkomery (3,43 ± 0,07), wyższe pH_{48} oraz potencjał glikolityczny w stosunku do mięśni szybko kurczliwych SM i LD ($p \leq 0,05$).

Badane mięśnie 2 h *post mortem* zawierały 7,10 – 8,93 mg/g glikogenu–związku dostarczającego energii w przemianach biochemicznych. Chłodnicze przechowywanie przyczyniło się do statystycznie istotnego ($p \leq 0,05$) obniżenia jego zawartości w analizowanych mięśniach do poziomu 4,73 – 6,27 już po 6 godzinach. W 24 h mięsień ST zawierał 3,26 ± 0,29 mg/g (41,11% początkowej ilości), LD 3,33 ± 0,11 (42,75%), PM 4,21 ± 0,15 (59,30%) glikogenu odpowiednio. Dalsza analiza przebiegu zmian zawartości glikogenu w tkance mięśniowej, wykazała, że szybkość jego rozpadu po 24 h *post mortem,* podobnie jak pH, uległa znacznemu obniżeniu. Proces zachodził mniej dynamicznie w stosunku do pierwszych 12 godzin po uboju.

Zawartość kwasu mlekowego- końcowego produktu beztlenowej przemiany glikogenu zmierzonego 2 h *post mortem* mieściła się w zakresie 2,20 – 3,41 mg/g. Po 24 h wychładzania zawartość kwasu mlekowego istotnie wzrosła do poziomu 3,87 – 4,84 mg/g. W kolejnych godzinach chłodniczego przechowywania nie odnotowano istotnego wzrostu ilości kwasu mlekowego. Jego średnia zawartość po 48 h kształtowała się na poziomie 4,66 - 5,09 mg/g mięsa. Największe różnice w zawartości kwasu mlekowego pomiędzy badanymi mięśniami zaobserwowano w 6 h po uboju.

Końcowa wartość pH po 48 h mieściła się w zakresie 5,41 - 5,53, co zgodnie z literaturą świadczy o właściwych warunkach przechowywania chłodniczego tusz oraz prawidłowym przebiegu beztlenowej glikolizy. Poubojowe przemiany glikogenu w warunkach beztlenowych prowadziły do powstawania kwasu mlekowego i w konsekwencji do obniżenia pH mięsa. Uzyskane w ramach przeprowadzonych badań obniżenie zawartości glikogenu w mięśniach *semitendinosus* (ST), *longissimus dorsi* (LD) i *psoas major* (PM) oraz zwiększenie stężenia kwasu mlekowego przyczyniło się do ukształtowania typowej dla mięsa normalnego kwasowości. Przemiany te nie przebiegły jednak z tą samą szybkością w badanych mięśniach,

co potwierdził również w swoich badaniach Hambrecht i wsp., (2005), badając mięśnie longissimus i supraspinatus.

Zasięg glikogenolizy *post mortem* zależy od zapasów glikogenu w momencie uboju. Przyczyną zróżnicowania przemian energetycznych między różnymi mięśniami tej samej tuszy zależny jest od ich aktywności fizycznej za życia i ich przemian metabolicznych. W początkowej fazie po uboju glikogen ulegał szybkiemu rozpadowi, później proces spowalniał, co spowodowane było m.in. zmieniającą się aktywnością enzymów glikogenolitycznych- głównie transferazy α-1,6-glukozydowej, nazywanej enzymem usuwającym rozgałęzienia (ang. *glycogen debranching enzyme*, GDE). Obniżenie aktywności GDE było szybsze w mięśniach czerwonych niż w białych, co stwierdzili również w swoich badaniach Kyla-Puhju i wsp., (2005). Im szybciej GDE traciło swoją aktywność, tym więcej glikogenu resztkowego pozostawało w mięśniach. Stąd też oksydacyjny, wolno kurczliwy psoas major, należący do mięśni czerwonych, posiadał większą ilość glikogenu w 48 h *post mortem*, niż *semitendinosus* i *longissimus dorsi*, charakteryzującym się wyższym końcowym pH_{48h} i wyższą wartością potencjału glikolitycznego. pH tzw. ”mięśni białych” szybciej ulega obniżeniu, ponieważ mięśnie te zawierają więcej glikogenu i więcej enzymów glikolitycznych w stosunku do mięśni czerwonych.

Z uwagi na złożoność dojrzewalniczych przemian zachodzących w tkance mięśniowej po uboju, przeprowadzone badania koncentrowały się na ustaleniu kinetyki przemian glikogenu, gdyż zmiany tego związku energetycznego decydują o szybkości przemian poubojowych i odgrywają rolę w kształtowaniu końcowej jakości mięsa. W warunkach zbyt gwałtownego przebiegu poubojowej glikolizy dochodzi bowiem do denaturacji białek mięśniowych i uszkodzenia błon komórkowych, czego efektem jest zbyt jasna barwa mięsa oraz duży wyciek soku mięśniowego. Zaobserwowano, iż mięso bydła o wyższym poziomie glikogenu mierzonego w 2 h po uboju charakteryzowało się wyższą zawartością kwasu mlekowego, która przełożyła się na wyższy stopień zakwaszenia tkanki mięśniowej. Mięsień ST, w którym glikogen mierzony w 2 h kształtował się na najwyższym poziomie (7,93 ± 0,39 mg/g tkanki mięśniowej), wykazywał największą wartość parametru L*, a zatem największą jasność oraz najwyższy wyciek przechowalniczy w każdym dniu dojrzewania. Potwierdzono, iż obniżona zdolność wiązania wody oraz związane z nią wycieki są tym wyższe, im niższe jest pH mięsa. Mięsień PM posiadał najmniejszą ilość glikogenu w 2 h po uboju, co skutkowało istotnie statystycznie wyższym pH (5,53 ± 0,04), najniższą siłą cięcia (37,96 ± 2,33 N) oraz najniższym wyciekiem naturalnym (1,24 ± 0,11%).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż przemiany glikolityczne zachodzące *post mortem* mają wpływ na cechy fizyczne mięsa wołowego. Kształtują one jakość tego mięsa determinując przebieg kolejnych zmian oraz wpływając na szereg cech jego jakości m.in. barwę, siłę cięcia oraz wyciek naturalny. Wykorzystana w trakcie badań spektrofotometryczna analiza glikogenu i kwasu mlekowego, opierająca się na reakcjach enzymatycznych, umożliwiła uzyskanie szybkich i precyzyjnych wyników oraz znacznie ułatwiła określenie przydatności technologicznej mięsa.

Kontynując badania naukowe z zakresu jakości mięsa wołowego zrealizowałam kolejne trzy doświadczenia, szczegółowo opisane w publikacjach II.4.11, II.4.10, II.4.15. W okresie poubojowego dojrzewania kruchość mięsa wzrasta na skutek endogennej proteolizy białek mięśniowych. Miofibryle ulegają fragmentacji na mniejsze podjednostki strukturalne,

w wyniku czego następuje degradacja białek, katalizowana głównie przez układ kalpainowy. Rozkład troponiny T o masie 37 kDa prowadzi do pojawienia się w ekstraktach tkanki mięśniowej nowych polipeptydów o niższych masach cząsteczkowych, które można z powodzeniem śledzić za pomocą metod elektroforetycznych (SDS-PAGE) połączonych z analizą Western-Blotting, co zostało przedstawione w publikacji II.4.11. **Badania prowadzone były we współpracy z zespołem Prof. Da-Wen Suna, pracującym w National University of Ireland (Agricultural And Food Science Centre, Belfield, Dublin, Irlandia)**.

Liczne, wcześniejsze badania niejednokrotnie podkreślały, iż kalpainowy system proteolityczny odgrywa ważną rolę w procesie tenderyzacji. Niektóre z dowodów to: przyspieszenie proteolizy *post mortem* po inkubacji prób mięsa w roztworze jonów wapnia i zatrzymanie proteolizy po inkubacji z chelatorami jonów wapnia, blokowanie proteolizy i tenderyzacji mięsa po wprowadzeniu w strukturę chlorku cynku, potencjalnego inhibitora kalpain. Ponadto w testach *in vitro* wykazano, że kalpainy oprócz rozkładu troponiny T działają także na desminę i w mniejszym stopniu α-aktyninę i tyminę. Są one zaangażowane w utrzymanie prawidłowej struktury miofibryli i powodują rozkład dysku Z sarkomeru. Optimum aktywności kalpain obserwuje się w pH ok. 7,0 i temperaturze 25°C, natomiast ich aktywność spada przy pH mniejszym niż 6,0. Istniała zatem konieczność prowadzenia dalszych badań skupiających się wokół kalpain i ich wpływu na dynamikę procesu tenderyzacji w trakcie dojrzewania, ponieważ wymusza to potrzebę optymalizacji procesów poubojowych w celu skutecznego prognozowania kruchości wołowiny.

Materiał badawczy tej części badań stanowiły 2 mięśnie: m. *semitendinosus* (ST) i m. *psoas major* (PM), pochodzące z tusz 9 buhajów, mięsnych mieszańców ras Holstein-Friesian x Limousine. Zakres badań opisanych w publikacji II.4.11 tej grupy tematycznej obejmował dwa etapy:

Etap 1. W ramach badania zmian biochemicznych w ustalonych odstępach czasu tj. 2, 4, 6, 24 and 48 h *post mortem* pobrano próbki o masie 20 g i zamrożono je w ciekłym azocie w celu zatrzymania przebiegu zmian pośmiertnych. W próbkach badano pH mięsa oraz oznaczano aktywność układu kalpainowego za pomocą techniki SDS-PAGE, rozdzielone białka poddano analizie Western-Blotting. W 48 h zmierzono długość sarkomerów, barwę oraz skład podstawowy pobranego mięsa.

Etap 2. Zakres badań obejmował elektroforetyczny pomiar troponiny T i głównego produktu jej rozpadu o masie około 30 kDa w trakcie dojrzewania. Badania prowadzono w 2, 7, 14 i 21 dniu przechowywania. Próbki mięsa o masie 150 g pakowano próżniowo w worki polietylenowe i przechowywano w temperaturze 2±1°C. Na poszczególnych etapach dojrzewania mięsa mierzono jego maksymalną siłę cięcia z wykorzystaniem przystawki Warner-Bratzlera (WBSF).

Objęte badaniem mięśnie ST i PM w istotny sposób różniły się charakterem metabolicznym oraz długością sarkomerów mierzoną w 48 h *post mortem*. Mięsień ST posiadał w przeważającej mierze włókna glikolityczne, szybko kurczliwe o średniej długości 2,00 ± 0,26 µm, natomiast mięsień PM włókna wolno kurczliwe, głównie o charakterze oksydacyjnym i długości sarkomerów 3,40 ± 0,22 µm. Wartość pH zmierzona w 2 h *post mortem* była znacznie wyższa w mięśniu ST i wynosiła 6,81 ± 0,43, podczas gdy w mięśniu o charakterze oksydacyjnym 6,03 ± 0,32. Wartość pH 5,6 zmierzona w 48 h wskazywała na prawidłowy przebieg przemian poubojowych w ocenianych mięśniach bydła, co warunkowane było

naturalnym przebiegiem reakcji beztlenowej glikolizy. Podane mięśnie nie wykazywały objawów mięsa wodnistego (PSE-*pale, soft, exudative*) ani ciemnego (DFD- *dry, film, dark*).

Barwa mięsa jest ściśle zależna od stężenia i formy chemicznej podstawowego barwnika hemowego- mioglobiny. Analiza składowych barwy L*a*b* wykazała, że badane mięśnie różniły się jasnością barwy. Znaczące różnice składowej barwy L* pomiędzy poszczególnymi mięśniami w tuszy były związane z ich różną aktywnością ruchową. Zawartość mioglobiny w mięśniach złożonych z przeważającej liczby czerwonych włókien mięśniowych (PM) była wyższa niż w mięśniach zawierających głównie włókna białe (ST). Wyższą wartość parametru L* (większą jasność) wykazywał mięsień ST (43,90 ± 3,17). W przypadku pozostałych parametrów składowych barwy nie wykazano znaczącej różnicy ($p > 0,05$).

Oceniając poziom zawartości głównych białek miofibrylarnych w mięśniach stwierdzono, że największy udział, zarówno w mięśniu ST jak i PM stanowią: miozyna HC i aktyna, w dalszej kolejności α-aktynina i troponina T. Udział białek takich jak kalpaina i kalpastatyna jest w stosunku do nich znacznie mniejszy. Pomimo tego, odgrywają one kluczową rolę w procesie dojrzewania mięsa. Właściwe białka kurczliwe takie jak miozyna i aktyna, prawie nie ulegają rozkładowi w trakcie procesu dojrzewania w temperaturze chłodniczej, co potwierdzili w swoich badaniach również m.in. Huff- Lonergan i wsp. (2010).

Analizując przebieg zmian aktywności systemu kalpainowego stwierdzono, iż aktywność μ- kalpainy uległa gwałtownemu zmniejszeniu w ciągu pierwszych godzin po uboju, a jej poziom w 48 h wynosił 40,74% i 20,95% w stosunku do wartości początkowej w mięśniu ST i PM odpowiednio. Aktywność m-kalpainy pozostawała względnie stała w czasie przechowywania, ponieważ wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia w mięśniach *post mortem* było zbyt niskie, aby wywołać dalszą jej autolizę. Ilość m-kalpainy oznaczanej w 48 h w obu mięśniach była zbliżona i wynosiła 0,75 ± 0,10 w ST oraz 0,82 ± 0,14 w PM. W przypadku inhibitora kalpain- kalastatyny – jej poziom proporcjonalnie spadał na skutek tworzenia się białek o mniejszej masie cząsteczkowej, podobnie jak w badaniach Huang i wsp. (2014), gdzie udowodniono, że powstają wówczas białka o masie 100 i 70 kDa. Analiza Western-Blotting wykazała, że podjednostka 80 kDa μ-kalpainy i m-kalpainy stopniowo przekształca się w polipeptyd o masie 78 kDa, a następnie 76 kDa.

Pojawiające się na żelach elektroforetycznych produkty degradacji troponiny T mogą być traktowane jako wskaźnik postępu procesów proteolitycznych. Podstawowym polipeptydem pojawiającym się w wyniku degradacji jest składnik o masie cząsteczkowej 30 kDa. Podobne zmiany w troponinie T pojawiają się podczas inkubacji miofibryli z μ-kalpainą w temp. $4^{o}C$ przy pH 5,6, co jest dowodem na to, iż to układ kalpainowy ma zdolność hydrolizowania białek degradowanych podczas dojrzewania mięsa *post mortem* – głównie troponiny T.

Analiza przebiegu zmian wartości siły cięcia i wcześniej omówionych reakcji w białkach miofibrylarnych mięśni wołowych wykazała, że istnieje ścisła zależność zwłaszcza między głównym produktem degradacji troponiny T, a siłą cięcia. Stwierdzono, że wartości siły cięcia maleją wraz ze wzrostem ilości składnika o masie cząsteczkowej 30 kDa, co jest związane ze zmniejszaniem się udziału frakcji troponiny T ($p < 0,05$). Współczynniki korelacji między ilością składnika o masie cząsteczkowej 30 kDa i siłą cięcia WBSF wynosiły -0,79 w mięśniu ST i -0,83 w PM odpowiednio.

Na podstawie uzyskanych w trakcie badań wyników można stwierdzić, iż kluczowe w procesie dojrzewania są zmiany w białkach takich jak μ-kalpaina, m- kalpaina, troponina T oraz charakterystyczny produkt jej rozpadu o masie 30 kDa. Pojawiające się na żelach elektroforetycznych produkty degradacji troponiny T mogą być traktowane jako wskaźnik postępu procesów proteolitycznych. W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano wysoką korelację między siłą cięcia a aktywnością troponiny T i białka o masie cząsteczkowej 30 kDa.

Celem badań opisanych w Publikacji II.4.10 należącej do tej grupy tematycznej moich zaintersowań naukowych było określenie wpływu rodzaju mięśnia i czasu dojrzewania (2, 7, 14, 21 dni) na kruchość mięsa i proteolizę białek oraz wskazanie potencjalnych markerów kruchości wołowiny. Stopień postępowania zmian proteolitycznych w mięsie monitorowano za pomocą takich wyróżników jak: indeks fragmentacji miofibryli, siła cięcia WBSF oraz elektroforetyczna analiza zmian ilościowych wybranych białek miofibrylarnych.

O wartości odżywczej wołowiny decydują zawartość i skład białka oraz tłuszczu. Zawartość białka w wołowinie kształtuje się na poziomie 18 - 23%, tłuszczu śródmięśniowego poniżej 5%. Analizując skład podstawowy uzyskany za pomocą techniki spektrometrii w bliskiej podczerwieni stwierdzono, iż badane mięśnie różniły się między sobą istotnie statystycznie ($p \leq 0,05$) zawartością zarówno białka jak i tłuszczu. Najwyższą zawartością białka charakteryzował się mięsień LT (23,67 ± 0,84%), natomiast najniższą mięsień PM (22,09 ± 0,90%). Najmniej tłuszczu zawierał mięsień ST (2,00 ± 0,87%), natomiast najwięcej mięsień PM (5,92 ± 1,39%). Mięśnie nie wykazywały różnic w zawartości popiołu.

Ważnym składnikiem strukturalnym mięśni współdecydującym o ich kruchości jest tkanka łączna, w której ilościowo przeważa kolagen. Jego zawartość w mięśniach wołowych może się wahać od 1 do 15 % suchej masy. Zawartość kolagenu w mięśniach zależy od gatunku, rasy, wieku, płci, sposobu odżywiania i warunków utrzymania zwierząt. Przykładem mogą być badania prowadzone przez Marino i wsp. (2013), gdzie badając mięsień *longissimus dorsi* wśród bydła 3 ras: Podolian, Fresian i Romagnola x Podolian zawartość kolagenu ogólnego wynosiła 2,58, 3,88 i 2,87 mg/g hydroksyproliny odpowiednio.

Analizując wyniki niniejszego badania, najwięcej kolagenu zawierał mięsień ST (3,84 ± 0,54 mg/g). Poziom kolagenu w przeliczeniu na hydroksyprolinę był około 2 razy wyższy niż w mięśniu PM (2,03 ± 0,39 mg/g). Wysoki poziom kolagenu ogólnego w mięśniu ST wynikał z jego funkcji lokomotorycznej pełnionej za życia zwierzęcia. Zaobserwowano, iż podczas wzrostu zwierząt następuje wzrost stabilności usieciowania między cząsteczkami kolagenu, co zapewnia strukturalne wsparcie dla mięśni szkieletowych i w rezultacie prowadzi do uzyskania twardszego mięsa.

Do określenia przemian proteolitycznych zachodzących w mięśniach ST, LT i PM posłużył indeks fragmentacji miofibryli (MFI). Badane mięśnie w 2 dniu *post mortem* charakteryzowały się indeksem mieszczącym się w zakresie 24,28 – 33,46. Wraz z czasem przechowywania następował wzrost wartości MFI we wszystkich mięśniach. Istotne zwiększenie fragmentacji miofibryli odnotowano zwłaszcza w 21 dniu dojrzewania. Również różnice MFI między mięśniami były w tym dniu największe. Największą zmianę (o 77,8% w D21 w porównaniu do D2) odnotowano w mięśniu ST, szczególnie między 7, a 14 dniem jego dojrzewania. Duże zmiany w wartości MFI stwierdzone w mięśniach ST i PM świadczą o intensywnym procesie proteolizy białek w trakcie dojrzewania. Zarówno rodzaj mięśnia (p <

0,01) jak i czas dojrzewania ($p < 0,001$) stanowiły czynniki wpływające istotnie statystycznie na wartość MFI.

Analiza pomiarów wartości maksymalnej siły cięcia wykazała zmianę właściwości fizycznych mięsa w czasie dojrzewania. W 2 dniu *post mortem* mięśnie ST i LT charakteryzowały się wysoką wartością siły cięcia, która wynosiła 69,40 ± 1,98 N i 67,02 ± 4,32 N odpowiednio. Dojrzewanie w temperaturze chłodniczej (2±1°C) przyczyniło się do istotnego statystycznie obniżenia tego parametru w każdym z analizowanych dni (D7, D14, D21). Prowadzenie dojrzewania przez 21 dni *post mortem* przyczyniło się do obniżenia wartości siły cięcia o około 48,34% w ST, 39,82% w LT i 26,40% w PM. Otrzymane wyniki WBSF są w odwrotnej relacji z wcześniej omawianym indeksem fragmentacji miofibryli- próbki mięsa o mniejszej wartości siły cięcia charakteryzowały się wyższymi wartościami MFI. Oksydacyjny mięsień PM posiadający najwyższy indeks MFI (184,21 ± 9,10) wykazywał najniższą wartość siły cięcia (28,30 ± 1,09 N). Również Kim i wsp. (2001) odnotowali, że wartości siły cięcia mięśnia longissimus ulegały obniżeniu, a wartości MFI zwiększały się w miarę wydłużania czasu dojrzewania, aż do 14 dnia *post mortem*, jednakże istotne różnice tej wartości zaobserwowano tylko między 7 i 14 dniem. W niniejszej pracy odnotowano wysoce istotną korelację między wartością maksymalnej siły cięcia i wartością MFI ($r = -0,852$).

Oceniając poziom zawartości głównych białek miofibrylarnych w mięśniach stwierdzono, że największy udział, zarówno w mięśniu ST, LT i PM stanowiły: miozyna HC i aktyna, w dalszej kolejności α-aktynina. Udział białek takich jak troponina T i desmina był w stosunku do nich znacznie mniejszy. Mimo niewielkiej zawartości troponiny T i desminy w relacji do białek ogółem, można przyjąć, iż to właśnie one odgrywają jedną z kluczowych funkcji w procesie dojrzewania mięsa. Na postawie rozdziału białek za pomocą elektroforezy jednokierunkowej (SDS- PAGE) oraz identyfikacji techniką Western-Blotting zaobserwowano znaczące różnice w aktywności białek takich jak desmina, troponina T (TnT) oraz nieskocząsteczkowe produkty jej degradacji. Analizując przebieg zmian aktywności białek o masie 55 kDa można stwierdzić, iż ich aktywność zmniejsza się w trakcie procesu dojrzewania. Najwięcej desminy w D2 występowało w mięśniu PM. Poziom desminy w mięśniach ST i LT to 2,03 ± 0,15% i 2,11 ± 0,08% odpowiednio. Dopiero w 14 dniu dojrzewania glikolityczny mięsień ST osiągnął zbliżony do PM poziom tego białka. Spadek aktywności desminy ST wysoce korelował z MFI oraz siłą cięcia.

Opierając się na elektroforetycznym rozdziale białek, a następnie identyfikacji za pomocą monoklonalnych przeciwciał specyficznie rozpoznających TnT zaobserwowano, że podstawowymi białkami pojawiającymi się w wyniku degradacji troponiny T w mięśniu ST, LT i PM są te o masie cząsteczkowej w zakresie 32-27 kDa. Mięsień PM zawierał znacznie więcej białek pochodzących z degradacji troponiny T w stosunku do mięśni ST i LT, w których różnice widoczne były już w 2 dniu *post mortem*. Mięśnie LT i PM wykazywały wszystkie izoformy troponiny T, podczas gdy mięsień ST tylko pasma odpowiadające nienaruszonej postaci. Brak produktów degradacji w ST w 2 dniu *post mortem* wysoce korelował z najwyższą wartością siły cięcia, co wynikało z wolniejszej proteolizy białek tego glikolitycznego mięśnia. W trakcie dojrzewania mięśni następował stopniowy zanik troponiny T na rzecz wzrostu aktywności białek niskocząsteczkowych. Analiza statystyczna wykazała, że stwierdzone różnice są istotne zarówno między mięśniami, jak i w czasie dojrzewania ($p < 0,01$).

Poddając analizie przebieg zmian wartości siły cięcia i wcześniej omówione procesy zachodzące w białkach miofibrylarnych podczas dojrzewania, można stwierdzić, że istnieje silna zależność, zwłaszcza między poziomem desminy oraz białek niskocząsteczkowych 32-27 kDa, a spadkiem siły cięcia. Wartości siły cięcia ulegały obniżeniu wraz ze wzrostem MFI oraz wzrostem poziomu białek o masie cząsteczkowej 32-27 kDa, co było ściśle związane ze zmniejszaniem się udziału frakcji troponiny T ($p < 0,05$). Współczynniki korelacji między ilością składnika o masie cząsteczkowej 32-27 kDa, a siłą cięcia wynosiły -0,70, -0,77 i - 0,80 dla mięśni ST, LT i PM odpowiednio. Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że wraz z kolejnym dniem dojrzewania następuje wyraźny wzrost MFI, któremu towarzyszy spadek wartości siły cięcia oraz następuje proces degradacji desminy i troponiny T.

Uzyskane w trakcie badań wyniki dają wgląd w funkcje biologiczne związane z kruchością mięsa. Markery jakości mięsa, takie jak troponina T, białka niskocząsteczkowe 32-27 kDa oraz desmina, mogą pełnić ważną rolę wskaźników kruchości mięsa. Znajomość skutecznych metod określania stopnia zaawansowania procesu tenderyzacji mięsa, przyczyni się do produkcji wołowiny, spełniającej oczekiwania konsumentów, dla których kruchość wciąż pozostaje podstawowym i najważniejszym atrybutem wysokiej jakości. W produkcji bydła rzeźnego powinno dążyć się do zminimalizowania wahań poziomów i właściwości białek, a także zmian kruchości tego samego anatomicznie mięśnia bydła tej samej rasy i w podobnym wieku. Przedstawione badania potwierdziły konieczność i możliwość monitorowania stopnia postępowania zmian proteolitycznych za pomocą metod chemicznych (indeks fragmentacji miofibryli), instrumentalnych (maksymalna siła cięcia WBSF) oraz elektroforetycznych (SDS-PAGE i analiza Western-Blotting).

Celem prezentowanych w ramach publikacji II.4.15 należącej do tej grupy tematycznej moich zainteresowań naukowych badań było określenie wpływu zmian ilości reszt tryptofanu i produktów degradacji troponiny T na kruchość mięśni *semitendinosus* (ST) i *infraspinatus* (IS) pochodzących z mięsnych mieszańców rasy Limousine x Holstein-Fresian oraz określenie ich zależności z instrumentalnie mierzoną siłą cięcia WBSF. Zakres badań obejmował pomiar pH, długości sarkomerów, składu podstawowego, kolagenu ogólnego, WBSF, wycieku cieplnego i przechowalniczego, elektroforetyczną analizę produktów rozpadu troponiny T oraz fluorescencyjną analizę reszt tryptofanu w 1, 7, 14 i 21 dniu *post mortem* odpowiednio.

Tkanki biologiczne zawierają naturalnie występujące fluorofory, których emisja nazywa się wewnętrzną fluorescencją (tzw. autofluorescencja). Mięso składa się z elementów zawierających względnie silne fluorofory takie jak m.in. tryptofan, witamina A, ryboflawina, NADH, pirydynolina w kolagenie, produkty utleniania lipidów, które można analizować za pomocą techniki spektroskopii fluorescencyjnej.

Przyczynami zróżnicowanej kruchości mięsa są różnice w zawartości tkanki łącznej (gł. kolagenu) oraz intensywności poubojowej proteolizy białek miofibrylarnych. Przebieg poubojowych procesów zaangażowanych w proces kształtowania kruchości uzależniony jest ponadto od tempa spadku dostępnej energii (przemiany metabolizmu tlenowego w beztlenowy), co skutkuje produkcją kwasu mlekowego i w konsekwencji obniżeniem pH mięsa. Stężenie kolagenu w mięśniach zależy od wielu czynników takich jak umiejscowienie mięśnia, wieku zwierzęcia, zakresu aktywności i rasy zwierząt. Mięśnie należące do aktywnych za życia zwierzęcia, takie jak *semitendinosus* i *infraspinatus*, mają wyższe stężenie kolagenu w porównaniu do mięśni mniej aktywnych, takich jak np. *longissimus lumborum* i *psoas major*

(Starkey i wsp., 2016). Kolagen występujący w tkance łącznej jest ważnym składnikiem strukturalnym mięśni współdecydującym o ich kruchości. Wielu autorów, w tym m.in. Jeremiah i wsp. (2003) oraz Chriki i wsp. (2013) wykazali ujemną korelację między zawartością kolagenu a kruchością mięsa. Jednak nie tylko sama zawartość kolagenu, ale także stopień usieciowania między cząsteczkami kolagenu wpływa na kruchość wołowiny. Jak pokazali Jeremiah i wsp. (2003) istnieją znaczące ujemne korelacje między kruchością, a całkowitą i nierozpuszczalną frakcją kolagenu (r= -0,380 i r= -0,510 odpowiednio). Wpływ kolagenu na kruchość zależy od rodzaju mięśnia, jego położenia w tuszy, struktury oraz metody i temperatury obróbki termicznej.

W 1 dniu *post mortem* mięśnie *semitendinosus* (ST) i *infraspinatus* (IS) charakteryzowały się wysoką wartością siły cięcia, która wynosiła 73,45 ± 3,05N i 46,83 ± 3,54N odpowiednio. Dojrzewanie w temp. chłodniczej przyczyniło się do istotnego statystycznie obniżenia wartości siły cięcia w każdym z analizowanych dni dojrzewania (D7, D14, D21). Wartość siły cięcia uległa obniżeniu w czasie 21–dniowego okresu dojrzewania w warunkach chłodniczych o 49,88% w ST i 40,21% w IS. Otrzymane wyniki charakteryzowały się zbliżoną tendencją jak w przypadku badań prowadzonych przez Moczkowska i wsp. (2017), gdzie analizowane były m.in. mięśnie *semitendinosus* i *infraspinatus* bydła rasy Charolaise x Holstein Fresian. Również badania prowadzone przez Zając i wsp. (2016) potwierdziły, iż spadek WBSF jest ściśle zależny od czasu dojrzewania i rodzaju badanego mięśnia. W trakcie 14-dniowego dojrzewania mięśni pochodzących od Irlandzkich jałówek Hereford- Fresian nastąpił spadek siły cięcia mięśni ST i IF o około 24%. Badania prowadzone przez Van Wezemael i wsp. (2014) udowodniły natomiast, że WBSF mięśni *semitendinosus* i *infraspinatus* są ściśle zależne od rasy zwierząt - zwierzęta dwóch ras: Belgian Blue i Norwegian Red.

Przyczyną różnic w wycieku przechowalniczym i termicznym między mięśniami jest głównie zróżnicowana obecność kolagenu. Duża zawartość tego niepełnowartościowego białka występującego w tkance łącznej ma negatywny wpływ na zdolność utrzymania wody własnej mięsa oraz obniża jego jakość poprzez zwiększenie wycieku przechowalniczego. Większe usieciowanie powoduje wzrost temperatury degradacji kolagenu i przechodzenie jego mniejszej ilości w formę rozpuszczalną, co potwierdzają badania wycieku termicznego. Kolagen ulegający termohydrolizie ma zdolność do zatrzymania wody podczas obróbki cieplnej, wynika to m.in. z jego emulgujących i żelujących właściwości. Mięsień IS – bogaty w kolagen- charakteryzował się zatem większym wyciekiem przechowalniczym i mniejszym wyciekiem cieplnym w porównaniu do mięśnia ST. Podczas endogennej proteolizy białek mięśniowych w okresie poubojowego dojrzewania mięsa poprawie ulega jego kruchość. Im metabolizm włókien mięśniowych jest szybszy za życia, tym szybsze zmiany obserwuje się w białkach odpowiedzialnych za kruszenie tkanki mięśniowej po uboju.

Analizując przebieg zmian aktywności troponiny T stwierdzono, iż ta uległa obniżeniu w trakcie dojrzewania. Mięsień ST zawierał istotnie statystycznie ($p < 0,05$) więcej troponiny T w stosunku do mięśnia IS w D1 (3,89 ± 0,24% i 3,05 ± 0,16% odpowiednio). Wraz z czasem dojrzewania troponina T ulegała stopniowej degradacji na rzecz białek o mniejszej masie cząsteczkowej (32-27 kDa). Wzrost aktywności białek niskocząsteczkowych wysoce korelował z instrumentalnie zmierzoną siłą cięcia, zarówno w przypadku mięśnia ST ($r^2 = 0,851$) jak i IS ($r^2 = 0,765$).

W trakcie porównania profilu białek miofibrylarnych z mięśni ST i IS zaoberwowano, że białka pochodzące z degradacji TnT występują w większej ilości w mięśniu IS (już w 1 dniu *post mortem*) niż w ST. Niewielka ilość produktów degradacji TnT w ST w 1 dniu *post mortem* zgadza się z najwyższą wartością siły cięcia, co jest związane z wolniejszą proteolizą białek tego glikolitycznego mięśnia. W trakcie dojrzewania mięśni następował stopniowy zanik białek tworzących miofilamenty oraz strukturę sarkomeru, tj. troponiny T, kosztem wzrostu białek niskocząsteczkowych. Analiza statystyczna uzyskanych w niniejszej pracy wyników wykazała, iż zarówno rodzaj mięśnia jak i czas dojrzewania okazały się być czynnikami wpływającymi w sposób istotny statystycznie ($p < 0,01$) na aktywność białek takich jak TnT i białek o masie 32-27 kDa.

Dynamika wydajności reakcji związanych z proteolizą i kształtujących finalnie wartości pH mięsa podczas dojrzewania może powodować zmianę konformacji białek i cząsteczek tryptofanu, co wpływa na przebieg uzyskanego widma fluorescencyjnego. Fluorescencja tryptofanu dostarcza nam informacji o strukturze białka. Czynnikami zmieniającymi konformację białek są nieustannie zachodzące w trakcie dojrzewania reakcje utleniania, które mogą przyczynić się do zmiany natężenia fluorescencji tryptofanu.

Uzyskane w pracy widma wykazują nieco wyższą fluorescencję w stosunku do widm uzyskanych przez Pouzo i wsp. (2016). Przyczyną różnic mogą być zachodzące procesy oksydacyjne oraz endogenna proteoliza białek mięśniowych. Zmiany proteolizy i nawet niewielkie zmiany pH mogły powodować różne konformacje białek miofibrylarnych i cząsteczek tryptofanu, co w konsekwencji skutkuje zmianami w intensywności fluorescencji. Dodatkowo, bardzo ważną rolę odgrywa rodzaj mięśnia. Badania Sahar i wsp. (2009), potwierdzają, że widma fluorescencji mogą wykazywać nieco inne intensywności w zależności od rodzaju badanego mięśnia. Co ważne, na podstawie intensywności tych widm można przewidywać chemiczne i reologiczne parametry tych mięśni.

Analizując uzyskane wyniki zaobserwowano, iż mięśnie ST i IS różniły się intensywnością fluorescencji. Maksimum fluorescencji dla mięśnia ST zarejestrowano przy intensywności fluorescencji około 530,17 ± 8,86 AU, natomiast dla mięśnia IS około 400,67 ± 11,84 AU. Widma fluorecencji nie uległy istotnym statystycznie zmianom w trakcie 21-dniowego dojrzewania w obrębie jednego mięśnia. Niewielki wzrost intensywności widm fluorescencji w 7, 14 i 21 dniu w stosunku do dnia D1 był spowodowany zmianami w ilości wody w mięsie. Badane próbki mięsa przechowywane próżniowo w workach polietylenowych były zabezpieczone przed bezpośrednim dostępem tlenu, dzięki czemu proces oksydacji nie wpłynął negatywnie na degradację tryptofanu (tryptofan jest aminokwasem wrażliwym na stres oksydacyjny). Uzyskane w ramach badań współczynniki korelacji między siłą cięcia, a intensywnością fluorescencji były na poziomie r^2= 0,682 (ST) i r^2= 0,714 (IS).

Rejestrowane za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej widma emisji w zakresie 305-400 nm i przy wzbudzeniu 290 nm umożliwiły wyznaczenie intensywność fluorescencji reszt tryptofanu. Uzyskane współczynniki korelacji na poziomie r^2= 0,682 i r^2= 0,714 dla mięśni *semitendinosus* i *infraspinatus* wynikały z faktu, iż tryptofan nie ulega większym zmianom w trakcie dojrzewania mięsa. Czynnikami które mogą powodować zmiany w ilości tryptofanu są procesy jego oksydacji oraz zmiany spowodowane zmieniającą się ilością wody w mięsie. Warto prowadzić dalsze badania w zakresie wykorzystania techniki spektroskopii fluorescencyjnej do prognozowania kruchości mięsa wołowego. Metoda spektroskopii

fluorescencyjnej ma wiele zalet- jest czuła, szybka, relatywnie tania i nie wymaga stosowania dużej ilości odczynników chemicznych.

Na podstawie rezultatów przedstawionych w czterech spójnych tematycznie publikacjach naukowych (II.4.2, II.4.11, II.4.10, II.4.15**)** stanowiących niniejszą grupę badawczą moich zainteresowań naukowych stwierdzam, iż przemiany glikolityczne zachodzące *post mortem* mają wpływ na cechy fizyczne mięsa wołowego. Kształtują one jakość mięsa wołowego determinując przebieg kolejnych zmian oraz wpływają na szereg cech jakości mięsa m.in. barwę, siłę cięcia oraz wyciek naturalny. Zawartość glikogenu w znaczący sposób determinuje końcowe pH mięsa, co z kolei oddziałuje na enzymy proteolityczne, będące ważnym czynnikiem stymulującym zarówno działanie kalpain, jak i enzymów wykazujących optimum działania w środowisku kwaśnym. Zjawisko spadku twardości mięsa wołowego, podczas dojrzewania poubojowego, związane jest z zakresem jakościowych i ilościowych zmian w białkach takich jak desmina i troponina T. Rejestrowane za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej widma emisji w zakresie 305-400 nm i przy wzbudzeniu 290 nm umożliwiły wyznaczenie intensywność fluorescencji reszt tryptofanu. Zmiany kruchości mięsa na skutek procesu dojrzewania są silnie skorelowane z poziomem białek niskocząsteczkowych. Wartości siły cięcia WBSF maleją wraz ze wzrostem ilości składnika o masie cząsteczkowej około 30 kDa, co jest spowodowane zmniejszaniem się udziału frakcji troponiny T. Na podstawie badań stwierdziłam, iż w trakcie dojrzewania następuje wyraźny wzrost indeksu fragmentacji miofibryli MFI, któremu towarzyszy spadek wartości siły cięcia WBSF oraz zachodzi proces degradacji desminy i troponiny T, co wskazuje na stopień zaawansowania zmian proteolitycznych warunkujących kruchość mięsa. Rejestrowane za pomocą spektroskopii fluorescencyjnej widma emisji reszt tryptofanu umożliwiają prognozowanie kruchości wołowiny, co jest związane z składem i strukturą śródmięśniowej tkanki łącznej.

Informacje dostępne w publikacjach II.4.2, II.4.11, II.4.10, II.4.15 stanowiących grupę badawczą moich zainteresowań naukowych mogą być bardzo przydatne dla przemysłu mięsnego w celu wczesnego przewidywania jakości wołowiny. Związane jest to z rosnącymi oczekiwaniami konsumentów i przetwórców, którzy poszukują mięsa o bardzo wysokiej jakości, charakteryzującego się odpowiednią przydatnością technologiczną. Wyniki uzyskane w ramach badań stanowią podstawę do wyznaczenia narzędzi prognostycznych umożliwiających zapewnienie wysokiej jakości mięsa, w tym głównie jego kruchości. Wykorzystane w niniejszych publikacjach metody enzymatyczne, chemiczne oraz instrumentalne umożliwiły w sposób efektywny i szybki uzyskać wiarygodne i przede wszystkim wysoce skorelowane z jakością wołowiny wyniki. Istotną wartością użytkową badań instrumentalnych w relacji do metod enzymatycznych i chemicznych był krótszy czas analiz oraz brak kontaktu z odczynnikami chemicznymi. Warta podkreślenia i uznania jest chemiczna metoda rozdziału białek SDS-PAGE, dzięki której możliwy był rozdział białek, na podstawie którego dokonano rzetelnej analizy procesów proteolitycznych zachodzących w mięsie wołowym podczas dojrzewania.

Ważnym aplikacyjnym rezultatem moich badań (z perspektywy ubojni i zakładów mięsnych) poprawiającym ekonomikę produkcji mięsa wołowego, jest fakt, iż uzyskano potwierdzenie efektywnego wpływu procesu dojrzewania metodą ”mokrą” na uzyskanie wysokiej kruchości mięśni wołowych takich jak: *m. semitendinosus, longissimus dorsi, longissimus thoracis, psoas major* i *infraspinatus*. Uzyskane wyniki mogą mieć w szybkim

czasie przełożenie na zwiększenie podaży mięsa wysokiej jakości, co skutecznie podwyższy efektywność produkcji wołowiny w zakładach mięsnych i zwiększy dostępność kruchej wołowiny na rynku krajowym i światowym. **Opisane w tej grupie badawczej publikacje, oparte na pomiarze pH, długości sarkomerów, składu podstawowego mięsa, instrumentalnym pomiarze barwy, instrumentalnym pomiarze maksymalnej siły cięcia, pomiarze wycieku przechowalniczego i cieplnego, zawartości kolagenu ogólnego, oznaczeniu indeksu fragmentacji miofibryli, oznaczeniu zawartości glikogenu, kwasu mlekowego, potencjału glikolitycznego, ocenie stopnia degradacji białek metodą elektroforezy SDS-PAGE i analizy Western-Blotting oraz pomiarze fluorescencji reszt tryptofanu, przyczynią się do zefektywizowania profitów ekonomicznych, gwarantujących uzyskanie wyższej wartości dodanej przez zakłady i producentów rolnych wołowiny. Znaczny popyt na dobrej jakości kulinarne mięso wołowe w krajach UE może być czynnikiem decydującym o zwiększeniu produkcji tego mięsa w Polsce. Warunkiem uzyskania spodziewanych efektów ekonomicznych jest znaczna poprawa kruchości produkowanej w Polsce wołowiny poprzez wykorzystanie zdobytej w trakcie badań wiedzy opartej na odpowiednio dobranych narzędziach prognostycznych i metodologii badań.**

Literatura:

Chriki S., Renand G., Picard B., Micol D., Journaux L., Hocquette J.F., 2013 Metaanalysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. Livestock Science 155, 424-434.

Coombes S.V., Gardner G.E., Pethick D.W., McGilchrist P.: The impact of beef cattle temperament assessed using flight speed on muscle glycogen, muscle lactate and plasma lactate concentrations at slaughter. Meat Sci 2014, 98, 815–821.

England E.M., Matarneh S.K., Oliver E.M., Apaoblaza A., Scheffler T.L., Gerrard D.E.: Excess glycogen does not resolve high ultimate pH of oxidative muscle. Meat Sci 2015, 114, 95–102.

Hambrecht E., Eissen J.J., Newman D.J., Smits C.H.M., Verstegen M.W.A., den Hartog L.A.: Preslaughter handling effects on pork quality and glycolytic potential in two muscles differing in fiber type composition. J Anim Sci 2005, 83, 900–907.

Huang, F., Huang, M., Zhang, H., Guo, B., Zhang, D., & Zhou, G. (2014). Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during postmortem ageing of beef skeletal muscle. Food Chemistry, 148, 1–6.

Huff-Lonergan, E., Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization. Meat Science, 86(1), 184–195.

Jeremiah L.E., Dugan M.E.R., Aalhus J.L., Gibson L.L., 2003 – Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. Meat Science, 65, 1013–1019

Kyla-Puhju M., Ruusunen M., Puolanne E.: Activity of porcine muscle glycogen debranching enzyme in relation to pH and temperature. Meat Sci 2005, 69, 143–149.

Marino, R., Albenzio, M., Della Malva, A., Santillo, A., Loizzo, P., & Sevi, A. (2013). Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging

time. Meat Science, 95(2), 281–287. Kim, B. C., Rhee, M. S., Ryu, Y. C., Imm, J. Y., & Koh, K. C. (2001). Early postmortem processing conditions on meat quality of Hanwoo (Korean Native Cattle) beef during storage. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 14(12), 1763–1768.

Moczkowska M., Półtorak A., Wierzbicka A., 2017 – The effect of ageing on changes in myofibrillar protein in selected muscles in relation to the tenderness of meat obtained from crossbreed heifers. International Journal of Food Science and Technology 52, 1375-1382.

Pouzo L.B., Zaritzky N.E., Pavan E., Rossetti L., Descalzo A.M., 2016 – Utilization of fluorescence spectroscopy as a novel approach to evaluate the oxidative stability in beef retail displayed. Meat Science 119, 7-13.

Sahar A., Boubellouta T., Lepetit J., Dufour É., 2009 – Front-face fluorescence spectroscopy as a tool to classify seven bovine muscles according to their chemical and rheological characteristics. Meat Science 83, 672-677.

Starkey, C. P., Geesink, G. H., Oddy, V. H., & Hopkins, D. L. (2015). Explaining the variation in lamb longissimus shear force across and within ageing periods using protein degradation, sarcomere length and collagen characteristics. Meat Science, 105, 32–37

Sun, X., Chen, K. J., Berg, E. P., Newman, D. J., Schwartz, C. A., Keller, W. L., & Maddock Carlin, K. R. (2014). Prediction of troponin-T degradation using color image texture features in 10 d aged beef longissimus steaks. Meat Science, 96, 837–842.

Zając M., Palka K., Mikołajczyk B., Pospiech E., 2016 – The Effect of Muscle Type and Time of Storage on Myofibrillar Protein Proportion in Beef. Annals of Animal Science 16, 585-600. Van Wezemael L., DE Smet S., Ueland Ø., Verbeke W., 2014 – Relationships between sensory evaluations of beef tenderness, shear force measurements and consumer characteristics. Meat Science 97, 310-315.

7.1.4 Analogi mięsa w perspektywie najnowszych badań naukowych

Publikacje: II.4.30, II.4.31, II.4.35 – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

W publikacji II.4.30 dokonano przeglądu oraz szczegółowo opisano powody, dla których konsumenci decydują się na zmniejszenie spożycia produktów odzwierzęcych. Uwzględniono również najnowsze doniesienia naukowe w tym zakresie. Kluczowy aspekt w dyskusji o konieczności ograniczania produkcji i spożycia mięsa stanowi wzrost ludności. Według szacunków ONZ liczba ludzi na świecie wzrośnie do nawet 8,5 miliarda w ciągu najbliższych 10 lat (UN, 2017). Zarówno wzorce żywieniowe jak i produkcja zwierzęca określane są jako niewystarczająco efektywne, co prowadzić może do niedoboru żywności bogatej w białko, a w konsekwencji do utraty bezpieczeństwa żywnościowego. Wysoce intensywny system produkcji zwierzęcej, poza zbyt małą efektywnością, ma również negatywny wpływ na stan środowiska naturalnego. Znaczna utrata bioróżnorodności, emisja amoniaku, wylesienia, zakłócenie obiegu fosforu, węgla i azotu to tylko niektóre z konsekwencji produkcji zwierzęcej (De Angelis i wsp., 2020; Fresán i wsp., 2019). Dla konsumentów jednym z najważniejszych powodów zmiany diety jest troska o zdrowie. W szczególności udowodniony związek pomiędzy spożyciem przetworzonych produktów

mięsnych, a zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia niektórych schorzeń dietozależnych tj.: otyłość, cukrzyca typu 2, choroby sercowo-naczyniowe, nowotwór jelita grubego czy udary (Fu i wsp., 2021). W szerszym ujęciu, aspekty zdrowotne produkcji mięsa wiążą się także z zagrożeniem chorobami odzwierzęcymi (tj.: ptasia grypa, ludzka CJD związana z bydlęcą BSE, gorączka Q, SARS oraz MERS) (Hadi i Brightwell, 2021). Kolejne zagrożenie stanowi również rosnąca antybiotykoodporność drobnoustrojów chorobotwórczych związana częściowo z masowym stosowaniem antybiotyków w hodowli zwierząt (Bryant i Sanctorum, 2021).

Niezależnie od motywacji jaka kieruje konsumentami, niezwykle ważnym jest, aby wraz z dietą dostarczyć odpowiednią ilość białka. Z tego powodu konsumenci poszukują produktów bogatych w białko inne niż zwierzęce. W szczególności na początkowym etapie zmian diety dużym wsparciem dla konsumenta okazać się mogą produkty będące analogami mięsa. Produkty te mają za zadanie zastąpić mięso i produkty mięsne w ich funkcjonalności będąc jednocześnie zbliżone pod względem właściwości sensorycznych, w szczególności smaku, aromatu i tekstury oraz wartości odżywczej (Collier i wsp., 2021).

Treść publikacji II.4.30 podzielono na 5 rozdziałów tematycznych, których zakres obejmował: skład i technologie wytwarzania analogów mięsa, opis rynku, stosunek konsumentów do analogów mięsa oraz wyzwania i perspektywy związane z tymi produktami. Analogi mięsa mają za zadanie wypełnić lukę w posiłku, która powstaje po wyeliminowaniu z niego mięsa. Z tego powodu kluczowym składnikiem tych produktów jest białko. Asortyment surowców białkowych jest niezwykle szeroki i obejmuje: białka roślinne, białka pochodzące z fermentacji grzybowej (mykoproteiny), owadów, mikroalg, a nawet niepatogennych szczepów bakterii. Najszerzej stosowanymi białkami są jednak białka soi, grochu oraz gluten pszenny.

Wykorzystanie białek roślinnych wiąże się z licznymi wyzwaniami związanymi z wartością odżywczą (konieczność zapewnienia zrównoważonego profilu aminokwasów) oraz właściwościami sensorycznymi. Z tego powodu w skład analogów mięsa wchodzi także szereg innych składników, które mają za zadanie naśladować niektóre cechy mięsa i produktów mięsnych. Do składników tych zaliczamy między innymi tłuszcze roślinne odpowiadające za konsystencję oraz będące nośnikiem smaku i niektórych witamin. Nie mniej ważna jest tekstura produktu, dlatego producenci analogów mięsa wykorzystują zróżnicowane składniki teksturotwórcze np.: polimery węglowodanowe. Decyzje zakupowe konsumentów zależą przede wszystkim od wyglądu produktu, dlatego stosowane są również liczne składniki nadające odpowiednią barwę analogom mięsa (barwniki, ekstrakty z warzyw i owoców, leghemoglobina). Nie mniej ważnym aspektem jest smak produktu, który modyfikowany jest poprzez zastosowanie różnego rodzaju składników, ekstraktów, ziół i przypraw. W składzie analogów mięsa spotykane są także witaminy i składniki mineralne, enzymy, przeciwutleniacze, kwasy organiczne i wiele innych.

Najszerzej stosowaną technologią przetwarzania białek roślinnych, w celu nadania im odpowiedniej struktury przypominającej mięso, jest ekstruzja. W zależności od oczekiwanego efektu stosuje się ekstruzję o niskiej lub wysokiej wilgotności. Metoda ta mimo swojej ogromnej popularności ma pewne ograniczenia oraz wymaga znacznych nakładów energii. Z tego powodu opracowywane są dalsze ulepszenia oraz nowe technologie przetwórcze takie

jak: przędzenie na mokro (wetspinning), elektroprzędzenie (electrospinning), druk 3D oraz techniki wykorzystująca ścinanie materiału roślinnego.

W publikacji II.4.30 dokonano przeglądu najnowszych doniesień naukowych w zakresie rynku analogów mięsa oraz opisano historię tych produktów począwszy do tofu i tempeh, a skończywszy na najnowocześniejszych produktach. Analiza dostępnych informacji wykazała, że w ostatnich latach nastąpił gwałtowny rozwój rynku analogów mięsa. Asortyment produktów oferowanych zarówno w sklepach jak i punktach gastronomicznych jest bardzo szeroki i obejmuje między innymi: produkty analogiczne do całomięśniowego mięsa, mięsa mielonego oraz w kawałkach, analogi burgerów, nuggetsów, wędlin, kiełbasek, pasztetów i owoców morza. Zgodnie z przewidywaniami oczekiwany wzrost rynku analogów mięsa wyniesie 7,9% rocznej stopy wzrostu w latach 2019-2024. Dzięki czemu szacuje się, że jego wartość w 2025 roku wyniesie 21,23 miliarda dolarów (Shahbazi i wsp., 2021). Znane są także liczne przypadki udanej współpracy pomiędzy producentami analogów mięsa, a sieciami fast food (np.: Burger King i Impossible Foods). Obserwowane są także poszerzenia asortymentów sieci handlowych oraz producentów produktów mięsnych o analogi mięsa.

Dotychczasowy wzrost wartości rynku analogów mięsa oraz dostępnego asortymentu wskazuje na znaczne zainteresowanie konsumentów tego typu produktami. Konsumenci analogów mięsa to w dużej mierze osoby na dietach wegetariańskiej, wegańskiej lub flexitariańskiej. Zgodnie z badaniami naukowymi, takie osoby to częściej kobiety, mające bardziej liberalne poglądy polityczne, wykazujące postawę prospołeczną i otwarte na nowe doświadczenia. Duże zróżnicowanie występuje wśród konsumentów w kwestii akceptacji różnych źródeł białka w analogach mięsa. Wykazano, że największą akceptacją cieszą się białka roślinne, podczas gdy białka np.: owadów budzą większe kontrowersje.

Jak wykazano w publikacji II.4.30 producenci analogów mięsa mierzyć się muszą z wieloma trudnościami. Należą do nich przede wszystkim kwestie technologiczne, właściwości sensoryczne, wartość odżywcza oraz bezpieczeństwo produktów. W niektórych krajach kontrowersje budzi także etykietowanie analogów mięsa oraz stosowanie niektórych składników. Analogi mięsa są grupą produktów bardzo intensywnie rozwijającą się. Obserwowane są liczne innowacje w zakresie modyfikacji receptur i technologii oraz całej koncepcji produktu. Produkty te są wciąż udoskonalane i dopracowywane, co stanowi zarówno szansę jak i ogromną odpowiedzialność dla przedsiębiorców oraz środowiska naukowego.

Informacje na temat analogów mięsa przedstawiłam również w publikacji II.4.31, która dotyczyła nowych źródeł białka do zastosowań w produktach alternatywnych dla mięsa. Publikacja została wydana w 2022 roku i opisuje charakterystykę kilku białek, które można spożywać jako alternatywę dla białek pierwszej generacji (soja, gluten) stosowanych w żywności wegańskiej. Publikacja stanowi usystematyzowanie wiedzy w zakresie wykorzystania nowych źródeł białka pochodzące m.in. z roślin, drobnoustrojów, owadów i grzybów. Manuskrypt został napisany i podzielony na rozdziały takie jak mi.in: funkcja białka w produktach alternatywnych dla mięsa, źródła białka i ich rola w produktach alternatywnych dla mięsa, przetwarzanie białek oraz wyzwania związane z zastosowaniami białka w produktach alternatywnych dla mięsa. Analizie poddano białka z roślin strączkowych (gatunki strączkowe obejmują groch, soczewicę, łubin, ciecierzycę, bób i fasolę mung), białka z nasion oleistych (soja, nasiona chia, wiesiołek dwuletni, siemię lniane, nasiona konopi, ostropest plamisty, czarnuszka, pestki dyni, rzepak, sezam, nasiona słonecznika), białka

zbożowe, białka z alg, białka owadów oraz jadalne białka grzybów. Rozwój gamy produktów stanowiących analogi mięsa jest możliwy dzięki zastosowaniu nowych źródeł białka oraz metod jego przetwarzania. Dzięki technologii teksturowania możliwe jest uzyskanie produktu o dostatecznej jakości parametru tekstury. Wzrost zapotrzebowania na białko pochodzenia roślinnego z pewnością będzie widoczny w kolejnych latach, ponieważ aby zaspokoić potrzeby rosnącej populacji, należy poszukiwać nowych źródeł białka.

Kontynując temat analogów mięsa prowadziłam badania szczegółowo opisane w publikacji nr II.4.35. Zapotrzebowanie na innowacyjne analogi mięsa jest istotną kwestią w sektorze spożywczym. To efekt m.in. rosnącej świadomości wpływu produkcji zwierzęcej na środowisko naturalne, a także konsekwencji związanych ze spożywaniem produktów zwierzęcych. W odpowiedzi na rosnące oczekiwania konsumentów, którzy poszukują produktów funkcjonalnych o kontrolowanej alergenności, opracowano recepturę i technologię produkcji bezglutenowych i bezsojowych analogów mięsa na bazie roślin o zwiększonej zdolności antyoksydacyjnej. Stosując metodę powierzchni odpowiedzi (RMS) zoptymalizowano proporcje wody, substancji żelujących i mikrokapsułkowanych antocyjanów, aby uzyskać pożądaną teksturę, kolor, właściwości reologiczne, zdolność antyoksydacyjną, zawartość polifenoli i akceptację sensoryczną. Zoptymalizowana dawka wody została obliczona na 52,19%, mikrokapsułki na 2,74%, a środki żelujące na 1,59%. Wartości przewidywane i eksperymentalne były niemal w każdym przypadku porównywalne, a opracowana receptura może być stosowana jako bezglutenowy i bezsojowy produkt wegański o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym.

Zainteresowanie analogami mięsa zaowocowało moim udziałem w projekcie "SAUSANTOX Wegańskie parówki o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym" w ramach Inkubatora Innowacyjności 4.0. Wyzwaniem technologicznym projektu było opracowanie receptury, technologii produkcji oraz uzyskanie prozdrowotnych analogów produktów mięsnych, na bazie składników pochodzenia roślinnego, o podwyższonej wartości biologicznej i odżywczej. Rezultaty projektu zostały nagrodzone na Międzynarodowej Wystawie Wynalazków w Genewie w 2022 roku. Wspólnie z zespołem badawczym złożyliśmy dnia 2022-04-21 wniosek o udzielenie patentu na wynalazek pt. Produkt roślinny typu parówki o zwiększonym potencjale antyoksydacyjnym i sposób wytwarzania produktu roślinnego o nr P.440988.

Literatura:

UN (2017). World population Prospects: The 2017 revision, key Findings and advance tables. Working paper No. ESA/P/WP/248. New York, USA: United Nations: Department of Economic and Social Affairs, Population Division.

De Angelis, D., Kaleda, A., Pasqualone, A., Vaikma, H., Tamm, M., Tammik, M. L., Summo, C. (2020). Physicochemical and sensorial evaluation of meat analogues produced from dry-fractionated pea and oat proteins. Foods, 9(12), 1754. doi.org/10.3390/foods9121754

Fresán, U., & Sabaté, J. (2019). Vegetarian diets: planetary health and its alignment with human health. Advances in nutrition, 10(Supplement_4), S380-S388. doi.org/10.1093/advances/nmz019

Fu, Y., Chen, T., Chen, S. H. Y., Liu, B., Sun, P., Sun, H., Chen, F. (2021). The potentials and challenges of using microalgae as an ingredient to produce meat analogues. Trends in Food Science & Technology. doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.050

Hadi, J., & Brightwell, G. (2021). Safety of Alternative Proteins: Technological, Environmental and Regulatory Aspects of Cultured Meat, Plant-Based Meat, Insect Protein and Single-Cell Protein. Foods, 10(6), 1226. doi.org/10.3390/foods10061226

Bryant, C., Sanctorum H., (2021). Alternative proteins, evolving attitudes: Comparing consumer attitudes to plant-based and cultured meat in Belgium in two consecutive years. Appetite. doi.org/10.1016/j.appet.2021.105161

Collier, E. S., Oberrauter, L. M., Normann, A., Norman, C., Svensson, M., Niimi, J., Bergman, P. (2021). Identifying barriers to decreasing meat consumption and increasing acceptance of meat substitutes among Swedish consumers. Appetite, 167, 105643. doi.org/10.1016/j.appet.2021.105643

Shahbazi, M., Jäger, H., Chen, J., Ettelaie, R. (2021). Construction of 3D printed reduced-fat meat analogue by emulsion gels. Part II: Printing performance, thermal, tribological, and dynamic sensory characterization of printed objects. Food Hydrocolloids, 121, 107054. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106967

7.1.5 Wpływ substancji bioaktywnych na właściwosci antyoksydacyjne i antyzapalne żywności

Publikacje: II.4.20, II.4.14, II.4.9, II.4.12, II.4.36 - Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

Do moich zainteresowań naukowych należy analiza wpływu substancji bioaktywnych na właściwości antyoksydacyjne i antyzapalne żywności. W tej grupie tematycznej opisałam 4 publikacje naukowe (II.4.20, II.4.14, II.4.9, II.4.12), w których podkreśliłam jak ważne są naturalne ekstrakty z roślin, ponieważ wykazują one wysoką zdolność antyoksydacyjną, czyli niszczą wolne rodniki, będące efektem stresu oksydacyjnego.

Wieprzowina i wołowina dostępne są na rynku zarówno w formie surowej jak i przetworzonej. Dużą popularnością cieszą się dania mięsne gotowe do spożycia. Wymagają one od producentów stosowania innowacyjnych rozwiązań, które pozwolą jak najdłużej zachować świeżość produktów. Przykładem takiego produktu są mięsne klopsiki wyprodukowane z mięsa mielonego (II.4.20). Jednym z wyzwań technologicznych w produkcji wyrobów z mięsa mielonego, jest tendencja do jełczenia i brązowienia mięsa mielonego znacznie szybciej niż ma to miejsce w przypadku kawałków całych mięśni. Aby zapobiec niekorzystnym zmianom w trakcie przechowywania mięsa stosuje się zamrażanie. Jednak nawet w warunkach niskich temperatur zachodzić może proces utleniania lipidów, czego najpopularniejszym wskaźnikiem jest zawartości dialdehydu malonowego (MDA) (Beltrán i Bellès, 2019). Ze względu na szkodliwe działanie syntetycznych przeciwutleniaczy takich jak butylowany hydroksytoluen (BHT), butylowany hydroksyanizol (BHA) i tertbutylowy hydrochinon (TBHQ) poszukiwane są inne źródła antyoksydantów. Naturalne związki o charakterze antyoksydacyjnym, takie jak flawonoidy, mogą stanowić cenną alternatywę dla syntetycznych przeciwutleniaczy. Przykładem mogą być flawonoidy pochodzące z *Camellia*

sinensis L., które działają przeciwutleniająco oraz wykazują aktywność chelatujacą wobec metali (Grzesik i wsp., 2014).

Badania, których wyniki zostały zaprezentowane w publikacji II.4.20, miały na celu określenie skuteczności działania ekstraktu z *Camellia sinensis L.* na stabilność oksydacyjną klopsików gotowanych na parze podczas przechowywania w warunkach mroźniczych. Zarówno ekstrakt z *Camellia sinensis L.* jak i mięso wołowe, wieprzowe i podgardle wieprzowe zakupione zostały od lokalnych producentów. Zmielone mięso i podgardle podzielono w sposób losowy na grupy doświadczalne: kontrolną (C1), pozytywną (C2) z 0,01% udziałem BHT oraz grupę z 1% udziałem ekstraktu (E). Receptura bazowa obejmowała mięso wołowe (44,2%), wieprzowe (27,2%), podgardle wieprzowe (21%), wodę (6%), sól (1,2%), pieprz czarny (0,4%).

Badania właściwości fizykochemicznych surowych klopsików wykazały, że próbki nie różniły się pod względem zawartości tłuszczu i białka oraz parametrów L* i b* barwy, a także wartości pH i WHC. Udział ekstraktu z *Camellia sinensis L.* spowodował istotną statystycznie redukcję parametru a* badanych próbek. Zaobserwowano również istotną różnicę w zawartości wody, której najniższa wartość charakteryzowała próbki z ekstraktem oraz próbki z grupy kontrolnej. Grupa kontrolna cechowała się także najniższą zawartością popiołu, podczas gdy grupa z BHT odznaczała się najwyższą zawartością tkanki łącznej. Analizując barwę gotowanych klopsików nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w D0, D21 pomiędzy grupami C2 i E, natomiast w D90 nie było różnic w parametrach L* pomiędzy wszystkimi analizowanymi grupami. Wynik ten sugeruje, że zastosowanie ekstraktu z *Camellia sinensis L.* nie wpłynęło na parametr L* wewnętrznej powierzchni klopsików.

Najwyższą całkowitą zdolność antyoksydacyjną (%DPPH) zaobserwowano w grupie z dodatkiem ekstraktu z *Camellia sinensis L.* w dniu D0 ($P \leq 0,05$). W dniu D90 wartość DPPH w grupie E była istotnie wyższa $P \leq 0,05$ (21,10 ± 1,65%) w porównaniu z grupą C1 (10,0 ± 1,01%). Uzyskane wyniki wykazały, że ekstrakt z *Camellia sinensis L.* może potencjalnie wydłużyć okres przydatności do spożycia mrożonych klopsików dzięki wysokiej zawartości katechin o działaniu przeciwutleniającym. Analiza całkowitej zawartości fenoli wykazała, że próbki w grupie kontrolnej w D0 zawierały 69,65 ± 1,23 mg GAE/100 g m.m, ale wartość ta uległa znacznej redukcji (61,52%) w trakcie przechowywania. Także zawartość fenoli w grupie z dodatkiem ekstraktu uległa redukcji (57,77%) w trakcie przechowywania, jednak mimo to w ostatnim dniu przechowywania wartość ta była istotnie wyższa (173,28 ± 2,98 mg GAE/100 g) niż próbek C1 i C2. Wartości TBARS ulegały wzrostowi wraz z wydłużeniem czasu przechowywania we wszystkich próbkach, jednak ekstrakt otrzymany z *Camellia sinensis L.* zredukował utlenianie lipidów podczas przechowywania w niskiej temperaturze. Biorąc pod uwagę zawartość dialdehydu malonowego BHT stanowił najskuteczniejszy środek zapobiegający tworzeniu się tego związku. W dniach D28 i D42 nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy BHT a ekstraktem uzyskanym z dodatku *Camellia sinensis L.*

Analiza profilu związków lotnych wykazała, że zastosowanie ekstraktu *Camellia sinensis L.* spowodowało istotne zahamowanie wzrostu mikrobiologicznego, co stwierdzono na podstawie niższej niż w pozostałych próbkach wartości metanolu. Przeciwutleniacz syntetyczny (BHT) spowodował zmniejszenie intensywności specyficznych dla ogrzewanego mięsa związków lotnych, takich jak: butan-2,3-dion, butanal, 1 R(+)-alfa-pinen, 1S-(a)- pinen, pentan. Analiza głównych składowych w odniesieniu do profilu związków lotnych wykazała,

że próbki z grupy kontrolnej po 90 dniach przechowywania w stanie zamrożonym różniły się w sposób istotny pod względem aromatu w porównaniu do D0. Oba przeciwutleniacze (BHT i ekstrakt z *Camellia sinensis L.*) spowodowały, że profil związków lotnych nie uległ istotnym zmianom. Fakt ten został również potwierdzony w panelu konsumenckim. Uzyskane w doświadczeniu wyniki pozwoliły stwierdzić, że ekstrakt z *Camellia sinensis L.* ma działanie konserwujące, hamuje utlenianie lipidów oraz pozytywnie wpływa na akceptację konsumencką klopsików gotowanych na parze.

Ze względu na rosnące oczekiwania konsumentów, coraz popularniejsze stają się wyroby mięsne charakteryzujące się określonymi właściwościami prozdrowotnymi. Za produkt funkcjonalny konsument jest skłonny zapłacić wyższą cenę, ale oczekuje za nią wysokiej i powtarzalnej jakości oraz odpowiednio długiego terminu przydatności do spożycia. Niezwykle istotne są tu oczekiwania związane z właściwościami teksturalnymi i sensorycznymi produktu – jego barwą, smakiem czy aromatem. O ile w literaturze znane są badania wpływu pojedynczych selektywnie działających składników na jakość wyrobów mięsnych (Kim i wsp., 2013; Fan i wsp., 2014), to badanie określające wpływ zestawu składników bioaktywnych, o działaniu wzmacniającym, wspomagającym i ochronnym na organizm człowieka (katuaba, galgant, różeniec górski, maca oraz miód wielokwiatowy) na wyróżniki jakościowe produktów mięsnych (II.4.14) jak również na ich trwałość (II.4.9) stanowi znaczący wkład w obszar nauk o żywności i żywieniu.

Opracowane w badaniach własnych produkty mięsne (średniorozdrobnione wyroby wieprzowo-wołowe) (II.4.14, II.4.9) stanowić miały innowacyjne podejście w eliminowaniu negatywnych objawów chorób zwyrodnieniowych związanych ze starzeniem poprzez zastosowanie w recepturach składników naturalnie występujących w żywności i ziołach o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych i stymulujących. Przyczyny chorób, takich jak rak, choroby sercowo-naczyniowe, miażdżyca i cukrzyca, obejmują uszkodzenia oksydacyjne wywołane cząsteczkami, które zawierają jeden lub więcej niesparowanych elektronów. Wolne rodniki mogą być jednak związane lub neutralizowane przez przeciwutleniacze naturalnie występujące w roślinach leczniczych, owocach czy warzywach (Mouhoubi-Tafinine i wsp., 2016). Zastosowanie może tu znaleźć catuaba, galangal, różeniec górski, korzeń maca, guarana oraz miód. Okazuje się, że produkty te wykazują właściwości przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwdepresyjne, głównie ze względu na duże ilości związków fenolowych, które zostały szeroko opisane w literaturze (Viana i wsp., 2011; Lonni i wsp., 2012; Tang i wsp., 2017).

W pierwszej kolejności (II.4.14) określono wpływ udziału składników bioaktywnych na wartości pH, parametry barwy, teksturę, akceptacje konsumencką oraz wybrane parametry chemiczne (całkowita zawartość fenoli, całkowita zdolność antyoksydacyjna oraz zdolność antyzapalna) farszów mięsnych oraz produktów gotowych. Zaobserwowano, że średniorozdrobnione wyroby wieprzowo-wołowe z grup E1, E2 oraz E3 (grupy różniły się względem siebie proporcjami katuaby, galgantu, różeńca górskiego, korzenia maca, guarany, miodu wielokwiatowego) charakteryzowały się nie tylko porównywalnymi z próbami kontrolnymi wartościami pH oraz właściwościami teksturalnymi, ale również dobrymi właściwościami sensorycznymi oraz wyższymi właściwości przeciwutleniającymi i przeciwzapalnymi (zwiększającymi się wraz z ilością dodanych składników bioaktywnych). Niemniej jednak, dodane składniki wpłynęły statystycznie istotnie ($P<0,05$) na jasność oraz

udział barwy żółtej analizowanych wyrobów mięsnych. Zaobserwowano spadek wartości parametru L* produktów gotowych wraz ze wzrostem dodatku składników bioaktywnych. Wyroby z grup eksperymentalnych (E1, E2, E3) były również bardziej żółte oraz charakteryzowały się większym stopniem nasycenia barwy (C) w odniesieniu do kontroli.

Na podstawie uzyskanych wyników (II.4.14) założono, że ten sam zestaw składników o właściwościach antyoksydacyjnych oraz przeciwbakteryjnych może również poprawić jakość przechowywanych wyrobów mięsnych (II.4.9). W związku z powyższym każdy z wariantów średniorozdrobnionych wyrobów wieprzowo-wołowych (C, E1, E2, E3) został przebadany pod kątem całkowitej zawartość fenoli, całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, zdolności antyzapalnej, stabilności oksydacyjnej, profilu kwasów tłuszczowych oraz ogólnej liczby bakterii mezofilnych tlenowych w dniu zapakowania, 10 oraz 20 dniu przechowywania.

Według Vaquero i wsp. (2010) fenole zawarte w produktach wykazują działanie antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne. W badaniach własnych zaobserwowano, iż zastosowane składniki spowolniły zmiany oksydacyjne oraz ograniczyły rozwój ogólnej liczby drobnoustrojów w porównaniu z grupą kontrolną. Grupy E1, E2 oraz E3 charakteryzowały się również wyższą aktywnością antyzapalną. W celu ograniczania procesu utleniania średniorozdrobnionych kiełbas wieprzowo-wołowych oraz jego negatywnego wpływu na ich wartość odżywczą rekomendowana jest receptura zawierająca 17,3 g/kg kory katuaba, 0,22 g/kg zmielonego korzenia galangantu, 4,58 g/kg zmielonego korzenia różeńca górskiego, 6,14 g/kg ekstraktu z korzenia maca, 6,00 g/kg mielonej guarany i 11,46 g/kg miodu wielokwiatowego.

Celem pracy opisanej w publikacji II.4.12 było określenie wpływu dodatku 0, 1, 3 i 6% sproszkowanej spiruliny (SP) na właściwości fizykochemiczne i akceptację konsumencką ciastek kruchych w trakcie przechowywania. Zakres badań oparty był na pomiarze barwy w systemie L*a*b*, twardości, zawartości wody, aktywności wody, całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, całkowitej zawartość fenoli, określeniu stopnia oksydacji lipidów, profilu kwasów tłuszczowych w 0, 30, 60 i 90 dniu przechowywania. Przeprowadzono również ocenę sensoryczną ciastek oznaczono, gdzie 30 osób w przedziale wiekowym od 23 do 53 lat oceniali takie parametry jak: ogólna akceptowalność (niepożądana-pożądana), kolor i wygląd (niepożądany-pożądany), jędrność (miękki-twardy) i smak (niepożądany-pożądany). **Badania prowadzone były we współpracy z Panią mgr Aleksandrą Ciepłoch z Zakładu Doskonalenia Zwierząt, Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN oraz z Panią Larą Barotti z Wydziału Biomedycyny Porównawczej i Nauk o Żywności, Universitetu Padewskiego we Włoszech.**

Wyniki przeprowadzonych badan wykazały, że ciastka wypiekane z udziałem spiruliny były znacznie twardsze i ciemniejsze w stosunku do grupy kontrolnej przez cały okres przechowywania. Zaobserwowano, że w każdym dniu badawczym ciastka ze spiruliną zawierały wyższy poziom związków fenolowych i wyższą zdolność antyoksydacyjną w stosunku do grupy kontrolnej. Ponadto dodatek SP ograniczył zmiany oksydacyjne kruchych ciastek w trakcie 90- dniowego przechowywania.

Badania opisane w publikacji II.4.12 mogą mieć duże praktyczne zastosowanie, ponieważ silna konkurencja na rynku producentów ciastek wymusza wdrażanie innowacji produktowych w celu przyciągnięcia nowych grup konsumentów. Kruche ciastka ze sproszkowaną spiruliną mogą charakteryzować się nie tylko wysokimi właściwościami

odżywczymi i dobrą akceptowalnością sensoryczną, ale także mogą mieć wydłużony okres trwałości (ze względu na hamowanie oksydacji lipidów).

Pogłębiając moje zainteresowania naukowe z zakresu właściwości antyoksydacyjnych żywności zrealizowałam badania na temat wpływu wybranych metod i rodzajów suszenia na parametry fizykochemiczne pomidorów (malinowej odmiany *Framboo*), co zostało szczegółowo opisane w publikacji II.4.36. Próbki poddano procesowi suszenia konwekcyjnego i próżniowego w temperaturach 60 i 80 °C przez 2 i 4 h, a następnie zmierzono ich właściwości fizyczne (barwa w systemie L*a*b*, ubytek masy, aktywność wody, zawartość suchej masy) oraz właściwości chemiczne (zawartość ekstraktu, kwasowość ogólna, całkowita zdolność antyoksydacyjna, zawartość witaminy C, likopenu, całkowita zawartość fenoli oraz flawonoidów). Grupę kontrolną stanowiły pomidory nie poddane procesowi suszenia. Zarówno metoda suszenia, temperatura jak i czas miały istotny wpływ na barwę pomidorów po suszeniu. Parametr jasności L* pomidorów przy suszeniu konwekcyjnym przez 4 h był znacznie niższy w temperaturze 80°C w porównaniu z temperaturą 60°C (odpowiednio 32,21 i 36,58). Najniższą zawartość witaminy C wykazano w grupie pomidorów suszonych konwekcyjnie przez 4 h w 80°C (5,68 mg). Niższa temperatura suszenia zmniejszyła degradację antyoksydantów, takich jak: polifenole, flawonoidy i likopen. Stwierdzono, iż czas suszenia ma kluczowy wpływ na takie parametry jak barwa i całkowita zdolność antyoksydacyjna. Wykazano, że krótszy czas suszenia zabezpiecza przed niekorzystnym procesem brązowienia warzyw. Pomidory suszone próżniowo straciły mniej antyoksydantów, a także zaobserwowano mniejszy stopień ciemnienia i brązowienie produktu w stosunku do suszenia konwekcyjnego. Aby uniknąć reakcji brązowienia, która wpływa na barwę pomidorów, a także przyczynia się do wysokich strat antyoksydantów zaleca się suszenie pomidorów w próżni, w temperaturze nie wyższej niż 60°C.

Podsumowując tę grupę tematyczną moich zainteresowań naukowych, wyniki przedstawione w publikacjach II.4.20, II.4.14, II.4.9, II.4.12, II.4.36 wskazują na możliwość wykorzystania nowoczesnych rozwiązań w produkcji żywności o wysokiej jakości oraz korzystnych parametrach fizykochemicznych. Analizowane innowacje, takie jak stosowanie naturalnych ekstraktów w charakterze przeciwutleniaczy stanowią obiecujące alternatywy dla dotychczas stosowanych rozwiązań, które często są niekorzystne dla zdrowia człowieka lub istotnie obniżają jakość produktu.

Literatura:

Beltrán, J. A., & Bellès, M. (2019). Effect of freezing on the quality of meat. Encyclopedia of Food Security and Sustainability

Grzesik, M., Naparło, K., Bartosz, G., & Sadowska-Bartosz, I. (2018). Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. Food chemistry, 241, 480-492.

Kim, S.-J., Cho, A. R., & Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. Food Control, 29, 112–120.

Fan, W., Chen, Y., Sun, J., & Zheng, Y. (2014). Effects of tea polyphenol on quality and shelf life of pork sausages. Journal of Food Science and Technology, 51, 191–195.

Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., & Tamendjari, A. (2016). Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. Industrial Crops and Products, 88, 85–90.

Tang, W., Jin, L., Xie, L., Huang, J., Wang, N., Chu, B., i wsp. (2017). Structural characterization and antifatigue effect in vivo of maca (Lepidium meyenii Walp) polysaccharide. Journal of Food Science, 82(3), 757–764.

Viana, A. F., Maciel, I. S., Motta, E. M., Leal, P. C., Pianowski, L., Campos, M. M., i wsp. (2011). Antinociceptive activity of Trichilia catigua hydroalcoholic extract: New evidence on its dopaminergic effects. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine, 2011, 1–8.

Lonni, A. A. S. G., Longhini, R., Lopes, G. C., de Mello, J. C. P., & Scarminio, I. P. (2012). Statistical mixture design selective extraction of compounds with antioxidant activity and total polyphenol content from Trichilia catigua. Analytica Chimica Acta, 719, 57–60

7.1.6 Zastosowanie innowacyjnych metod pakowania produktów żywnościowych

Publikacje: II.4.29, II.4.32, II.4.18, II.4.25, II.4.5, II.4.6, II.4.34 – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

Azotyny są popularnym dodatkiem w produkcji wyrobów mięsnych. Ich dodatek wpływa na spowolnienie procesu oksydacji lipidów i hamuje wzrost szkodliwych mikroorganizmów w czasie przechowywanie produktu. Produkty mięsne z dodatkiem azotynów cechują się ponadto charakterystyczną barwą, smakiem i aromatem (Alahakoon i wsp., 2015; Flores i Toldr´a, 2021; Majou i Christieans, 2018). Negatywnym aspektem stosowania dodatku azotynów w technologii wytwarzania wyrobów mięsnych jest ryzyko powstawania N-nitrozoamin m.in. rakotwórczej N-nitrozodimetyloaminy (NDMA). Ich powstawanie uzależnione jest od dodatku azotynów, parametrów procesu technologicznego oraz obecności amin drugorzędowych. Ze względu na to dodatek azotynu sodu i azotynu potasu do żywności jest ściśle określony przez normy.

Przyjmuje się, że poprzez dobór odpowiednich warunków procesu technologicznego i receptury produktu oraz przechowywanie produktu mięsnego w niskiej temperaturze regulować można ilość powstających N-nitrozoamin (European Parliament and the Council of the European Union, 2008; Herrmann i wsp., 2015). Obecnie coraz częściej dodatki do żywności m.in. azotyny (E 249 i E 250) zastępowane są alternatywnymi źródłami azotynów jakimi są ekstrakty roślinne. W celu zachowania tzw. ”czystej etykiety” produktu należy dobrać takie ekstrakty roślinne, które zawierają wystarczającą ilość azotanu, który jest prekursorem azotynu.

W celu opracowania metody wytwarzania azotynu, w artykule II.4.29 postawiono hipotezę, że ze względu na zdolności buforowe białek, azotyny mogą być generowane w dostępnych na rynku roztworów preparatów białek roślinnych aktywowanych zimną plazmą pod ciśnieniem atmosferycznym (PAS – *plasma activated solution*). Celem przeprowadzonych przez mój zespół badań była ocena potencjału możliwości produkcji wyrobów wieprzowych, zawierających azotyny wytworzone z wybranych roztworów preparatów białek roślinnych aktywowanych zimną plazmą pod ciśnieniem atmosferycznym. W zakres publikacji II.4.29 wchodziła analiza barwy i składu chemicznego przygotowanych kiełbas wieprzowych (wilgotności, zawartości białka, tłuszczu i soli), pomiar pH, oznaczenie poziomu zawartości resztkowej azotynów oraz pomiar stopnia oksydacji przy wykorzystaniu wskaźnika TBARS. Materiał badawczy stanowiły przygotowywane w warunkach laboratoryjnych kiełbasy wieprzowe. Wyodrębniono 5 grup - dwie grupy kontrolne i trzy grupy badawcze. Grupę 1 (kontrolę negatywną - NC) stanowiły wyroby mięsne bez dodatku azotynu sodu, grupę 2 (kontrolę pozytywną - PC) stanowiły wyroby mięsne z dodatkiem azotynu sodu, trzy pozostałe grupy stanowiły grupy badawcze i zawierały kolejno dodatek: roztworu białka sojowego, roztworu białka grochu, roztworu białka soczewicy.

Przeprowadzone w niniejszej pracy (II.4.29) analizy wskazują, że zastosowanie innowacyjnej technologii wykorzystującej roztwory preparatów białek roślinnych (białka grochu, soi i soczewicy) aktywowanych zimną plazmą pod ciśnieniem atmosferycznym jest technologią, która pozwala na uzyskanie kiełbas wieprzowych wysokiej jakości i wydłużonej przydatności do spożycia. Ze względu na obawy konsumentów dotyczące chemicznych

dodatków do żywności oraz aspekt środowiskowy ich zastosowania, można przypuszczać, że kiełbasy wieprzowe z dodatkiem roztworów preparatów z białek soi, grochu i soczewicy mogłyby stanowić alternatywę dla komercyjnych wyrobów mięsnych z dodatkiem azotynów (E249, E250). Należy zauważyć jednak, że pochodzenie białek roślinnych używanych do produkcji wyrobów mięsnych jest niezwykle istotne, ponieważ wpływa na zawartość azotynów resztkowych w produkcie po okresie przechowywania. Zaobserwowano, że zawartość azotynów resztkowych bezpośrednio koreluje z innymi cechami mięsa, jak np.: barwę wyrobu, stopień oksydacji lipidów i jakość mikrobiologiczną. Na podstawie wyników niniejszych badań wnioskować można, że dodatek PAS roślinnych do wyrobów mięsnych może w przyszłości być wykorzystywany w produkcji produktów z „czystą etykietą" (ang. *clean label*). Spośród wybranych do badań białek roślinnych najbardziej pożądane cechy jakościowe zaobserwowano w przypadku kiełbas wieprzowych z udziałem roztworów z białka grochu aktywowanych zimną plazmą pod ciśnieniem atmosferycznym.

Zakres publikacji II.4.32 obejmował analizę wpływu innowacyjnej technologii peklowania wykorzystującej proszek mleczny wytworzony z wykorzystaniem nietermicznej plazmy atmosferycznej (PAMP) na wybrane właściwości fizykochemiczne (pH, skład podstawowy, zawartość azotynów, zawartość barwnika nitrozohemowego, instrumentalny pomiar barwy oraz tekstury, stopień utleniania lipidów), jakość mikrobiologiczną oraz profil aromatyczny drobnorozdrobnionych kiełbas wieprzowych. Uzyskane wyniki badań wskazują, iż w trakcie 8 dni przechowywania w grupach wytworzonych z udziałem 5% PAMP (zawierającym 1.3 g/kg azotynów) znajdowała się taka ilość azotynów resztkowych, która ograniczyła utlenianie lipidów oraz rozwój ogólnej liczby drobnoustrojów w takim samym lub wyższym stopniu jak grupa w której zastosowano 100 ppm $NaNO_2$. Zastosowanie aktywowanego plazmowo mleka w proszku jako alternatywnego źródła azotynów wpłynęło również na zwiększenie wydajności procesowej oraz poprawę parametrów tekstury (m.in. twardości) wytworzonych kiełbas. Co istotne, jednoczesne stosowanie kwasu askorbinowego z aktywowanym plazmowo proszkiem mlecznym wpłynęło na ustabilizowanie ich parametrów. Uzyskane w pracy wyniki dotyczące alternatywnej metody peklowania z wykorzystaniem nietermiczne plazmy atmosferycznej wskazują na potencjał jej stosowania w przemyśle mięsnym. Nie mniej jednak w tym zakresie potrzebne są dalsze badania ze względu na nieznaczne zmiany profilu aromatycznego kiełbas po peklowaniu PAMP w porównaniu z metodą konwencjonalną, co może mieć wpływ na ich akceptację przez konsumentów.

Kontynując temat plazmy wspólnie z zespołem przeprowadziliśmy badania opisane w publikacji II.4.34. Celem doświadczenia była ocena możliwości zastosowania (wytworzonych przy udziale nietermicznej plazmy atmosferycznej) proszków z mleka krowiego oraz sojowego jako substytutów azotynu sodu do peklowania na mokro mięsa wieprzowego (m. *longissimus thoracis et lumborum*). Plastry schabu peklowano przez 4 dni w warunkach chłodniczych w czterech solankach: woda + sól (grupa NC), woda + sól + azotyn sodu (grupa PC), woda + sól + mleko krowie w proszku wytworzone z udziałem nietermicznej plazmy atmosferycznej (grupa B1) oraz woda + sól + mleko sojowe w proszku wytworzone z udziałem nietermicznej plazmy atmosferycznej (grupa B2). Co ważne, solanki z grup PC, B1 i B2 charakteryzowały się tym samym stężeniem jonów NO^{2-} (200 ppm). Wyniki wskazują, że próbki z grup B1 i B2 charakteryzowały się istotnie ($p < 0,05$) wyższym udziałem barwy czerwonej, wyższą zawartością nitrozylomiochromogenu oraz niższymi wartości substancji reagujących z kwasem

tiobarbiturowym (TBARS) w porównaniu z próbkami z grupy NC. Jednocześnie grupy te charakteryzowały się niższą resztkową zawartością azotynów w stosunku do grupy PC. Również profil zapachowy schabów z grup B1 i B2 był zbliżony do profilu zapachowego schabów z grupy PC.

Głównymi mechanizmami wpływającymi na jakość świeżego mięsa w czasie jego przechowywania, są: oksydacja lipidów, wzrost mikroorganizmów oraz autoliza enzymatyczna. Okres przydatności do spożycia mięsa wieprzowego przechowywanego w warunkach chłodniczych zależny jest m.in. od warunków temperaturowych i szacowany jest na 5-7 dni (Sánchez-Ortega i wsp., 2014, Bruckner i wsp., 2012). Zastosowanie powłok i filmów jadalnych na powierzchni produktu mięsnego może korzystnie wpłynąć na jego jakość i trwałość podczas przechowywania, co udowodniono w publikacji II.4.18. Opakowania jadalne definiowane są jako cienkie warstwy materiału stanowiące barierę pomiędzy produktem, a środowiskiem. Filmy i powłoki jadalne cechują się dostępnością, niską ceną i biodegradowalnością, co sprawia, że stają się powszechnie stosowaną formą opakowania żywności. Przykładowymi substancjami bazowymi opakowań jadalnych są: białka, lipidy i polisacharydy (Galus i wsp., 2020). Badania wskazują, że dodatek składników bioaktywnych do substancji bazowych może korzystnie wpływać na właściwości opakowań jadalnych, a tym samym przyczyniać się do wydłużenia trwałości produktów opakowywanych.

Spośród składników bioaktywnych wyróżnić można olejki eteryczne, których udział w powłokach jadanych może wpłynąć na wydłużenie trwałości produktów mięsnych poprzez działanie antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe. Powszechnie stosowanym dodatkiem do mięs, kiełbas i farszu drobiowego jest m.in. szałwia. Dodatek ten ceniony jest ze względu na zawartość aktywnych biologicznie substancji, takich jak np.: α-tujon, kamfora, β-pinen i α-pinen. Zastosowanie olejków szałwiowych do opakowań jadanych stosowanych do żywności może także stanowić alternatywę dla chemicznych dodatków do żywności – konserwantów i antyoksydantów. Innym wartym wyróżnienia składnikiem powłok jadalnych jest olejek konopny, którego dodatek wpływać może na poprawę właściwości barierowych opakowania jadalnego w stosunku do pary wodnej. Ponadto olejek konopny charakteryzuje się wysoką zawartością substancji bioaktywnych (kannabinoidów) o właściwościach antyoksydacyjnych i antymikrobiologicznych.

Zarówno olejek szałwiowy, jak również olejek konopny mogą stanowić wartościowy dodatek do powłok i filmów jadalnych w przemyśle mięsnym poprzez wpływ na wydłużenie trwałości produktu podczas jego przechowywania. Nie są dostępne natomiast badania wpływu zastosowania wymienionych wcześniej dodatków na jakość produktu mięsnego. Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu zastosowania powłoki jadalnej na bazie żelatyny z udziałem olejku z szałwii i/oraz olejku konopnego na wybrane parametry jakości mięsa wieprzowego podczas jego przechowywania w warunkach chłodniczych.

Zakres publikacji obejmował analizę fizyko-chemicznych parametrów jakości: pH, utraty masy podczas przechowywania, instrumentalnej analizy barwy w systemie L*a*b*, stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), procentowej zawartości metmioglobiny (MetMb), analizę mikrobiologiczną (całkowita liczba bakterii tlenowych: TAPC) oraz ocenę semi-konsumencką próbek mięsa wieprzowego pozyskanego z mięśnia najdłuższego loszek rasy mieszanej Polish Landrace x Duroc, a także analizę statystyczną otrzymanych wyników.

Zaobserwowano istotny ($p<0,05$) wpływ czasu przechowywania na utratę masy w przypadku wszystkich badanych próbek, jednak zastosowanie powłok jadalnych na bazie żelatyny istotnie ($p<0,05$) zmniejszyło utratę masy próbek w porównaniu do próbki kontrolnej. W 4 i 8 dniu badawczym nie odnotowano istotnych statystycznie ($p>0,05$) różnic w procentowym ubytku masy pomiędzy próbkami powlekanymi powłokami z udziałem olejków eterycznych E2, E3 i E2 w porównaniu do próbki E1, której powłoka jadalna nie zawierała olejków w składzie. W 12 dniu badawczym najniższy procentowy ubytek masy odnotowano w przypadku próbek, które powleczono powłokami z udziałem olejku konopnego: E2 (2%-udział olejku konopnego do zaaplikowanej na mięso powłoki jadalnej) oraz próbki E3 (1%-udział olejku szałwiowego i 1%-olejku konopnego do zaaplikowanej na mięso powłoki jadalnej), ubytek masy był istotnie niższy ($p<0,05$) niż w przypadku pozostałych próbek.

W ostatnim (12) dniu badawczym najniższą wartością parametru barwy L* (najciemniejszą barwą) charakteryzowała się próbka kontrolna, która ze względu na brak aplikacji powłoki jadalnej, przez cały okres przechowywania miała bezpośredni kontakt powierzchni mięsa z powietrzem. Spośród próbek badawczych najciemniejszą barwą ($p<0,05$) w porównaniu do pozostałych próbek (E2, E3 i E4) charakteryzowała się natomiast próbka E1, która powleczona została powłoką żelatynową bez udziału olejków eterycznych. Z wyjątkiem próbki E4, we wszystkich pozostałych próbkach udział barwy czerwonej (wartość parametru a*) ulegał obniżeniu w czasie przechowywania ($p<0,05$). W 12 dniu badawczym najwyższym nasyceniem barwy czerwonej charakteryzowała się próbka E4, a najniższym próbka kontrolna (C). Uzyskane wyniki były zgodne z wynikami pozyskanymi w badaniach Herring i wsp. (2010) i dowodzić mogą wpływu zastosowania powłok jadalnych na obniżenie utraty barwy czerwonej przez mięso wieprzowe w czasie przechowywania. Ponadto, zastosowanie udziału olejku konopnego i/lub olejku szałwiowego do zastosowanych powłok dodatkowo wpływać może na utratę barwy czerwonej mięsa w czasie przechowywania ze względu na właściwości antyoksydacyjne olejków eterycznych. Podczas przechowywania zaobserwowano wzrost ($p<0,05$) udziału barwy żółtej we wszystkich badanych próbkach mięsa wieprzowego, przy czym udział barwy żółtej w ostatnim dniu przechowywania był istotnie niższy ($p<0,05$) w próbkach E2, E3 i E4 w porównaniu do próbek E1 i próby kontrolnej. Wyniki te dowodzić mogą wpływu obecności olejków eterycznych jako dodatku do powłok jadalnych na spowolnienie żółknięcia mięsa w czasie przechowywania. Odnotowane wartości ΔE wskazują, że największą zmianą barwy w czasie przechowywania charakteryzowała się próbka kontrolna (bez powłoki). W ostatnim dniu przechowywania zaobserwowano istotne różnice barwy ($p<0,05$) pomiędzy próbką kontrolną oraz próbką E1 w porównaniu do próbek E2, E3 i E4. Barwa próbek, które powleczono powłokami jadalnymi z udziałem olejków eterycznych nie różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p>0,05$).

Stopień oksydacji lipidów w próbkach mięsa analizowano na podstawie wyników zawartości substancji wchodzących w reakcje barwne z kwasem 2-tiobarbiturowym. Zależność pomiędzy czasem przechowywania a wzrostem wskaźnika TBARS zaobserwowano w przypadku wszystkich poddanych badaniom próbek mięsa wieprzowego. Odnotowano także, że próbki powlekane powłokami jadalnymi na bazie żelatyny charakteryzowały się niższym wskaźnikiem TBARS ($p<0,05$) w porównaniu do próbki kontrolnej (C) podczas całego okresu przechowywania. Otrzymane wyniki wskazują, że aplikacja żelatynowych powłok jadalnych może wpływać korzystnie na spowolnienie procesu oksydacji lipidów w mięsie wieprzowym

podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. Spośród próbek powlekanych powłokami jadalnymi najwyższą wartością TBARS w 4, 8 i 12 dniu badawczym charakteryzowała się próbka E1, próbki E2 i E3 przyjmowały wartości pośrednie, a wartości najniższe odnotowano dla próbki E4. Uzyskane wyniki wskazują, że dodatek olejków eterycznych do żelatynowych powłok jadalnych może hamować proces oksydacji lipidów produktu mięsnego podczas jego przechowywania, przy czym najkorzystniejszy efekt zaobserwowano w przypadku zastosowania powłoki jadalnej z 2%-udziałem olejku szałwiowego.

Wartość krytyczną liczby bakterii w odniesieniu do psucia się mięsa ustalono na około 6–7 log jtk/g (EC Regulation, 2004). Analiza wyników pomiarów TAPC wykazała zależność ($p<0,05$) pomiędzy czasem przechowywania a wzrostem liczby bakterii tlenowych we wszystkich badanych próbkach mięsa. W ostatnim dniu badawczym najwyższą wartością TAPC (7,05 log jtk/g) charakteryzowała się próbka kontrolna (C), a otrzymany wynik był statystycznie istotnie wyższy ($p<0,05$) od wyników otrzymanych dla pozostałych próbek mięsa i osiągnął ustaloną wartość krytyczną. Na podstawie otrzymanych wyników wnioskować można, że trwałość mięsa wieprzowego bez powłoki jadalnej wynosi około 8 dni (w warunkach chłodniczych), podczas gdy trwałość próbek powlekanych powłokami na bazie żelatyny co najmniej 12 dni. Spośród próbek powlekanych w ostatnim dniu przechowywania najniższymi wartościami TAPC charakteryzowały się próbki E3 i E4 (kolejno 4,40 log jtk/g i 4,57 log jtk/g), wartością pośrednią próbka E2 (5,15 log jtk/g), a próbka E1 cechowała się wartością najwyższą (5,62 log jtk/g). Na podstawie analizy wyników badań wnioskować można, że zastosowanie powłok jadalnych na bazie żelatyny może spowalniać rozwój bakterii podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. Ponadto lepsze wyniki uzyskano dla grup powlekanych powłokami z dodatkiem olejków eterycznych, przy czym najbardziej korzystny efekt zaobserwowano po zastosowaniu powłok z dodatkiem olejku szałwiowego.

Przeprowadzona ocena semi-konsumencka badanych próbek mięsa wieprzowego wykazała, że w dniu powlekania wszystkie próbki charakteryzowały się aromatem typowym dla produktu mięsnego, akceptowalną barwą i dobrą akceptacją ogólną. W 12 dniu badawczym najniższe oceny ($p<0,05$), spośród wszystkich badanych próbek, w odniesieniu do każdej z poddawanych ocenie cech otrzymała próbka kontrolna. Uzyskane wyniki korelowały z wynikami otrzymanymi podczas analizy fizykochemicznej i mikrobiologicznej próbek. Biorąc pod uwagę aromat polędwiczek wieprzowych powlekanych powłokami żelatynowymi, największe zmiany zaobserwowano w przypadku grupy E4 (z 2% udziałem oleju szałwiowego). Uzyskane wyniki mogą wiązać się z charakterystycznym, intensywnym aromatem szałwii. Akceptowalność ogólna próbek powlekanych podczas całego okresu przechowywania utrzymywała się na dobrym poziomie. Niemniej jednak, ponieważ ogólna akceptacja jest związana między innymi z aromatem mięsa, obecność olejku szałwiowego w powłokach żelatynowych mogła być powodem, dla którego grupy E3 i E4 otrzymały niższe wyniki w stosunku do próbek z grup E1 i E2.

Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano, że powłoki jadalne na bazie żelatyny, stosowane jako nośniki przeciwutleniaczy i środków przeciwdrobnoustrojowych w produktach mięsnych, wywarły korzystny wpływ na ich stabilność oksydacyjną i mikrobiologiczną w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych. Zastosowanie powłok jadalnych z dodatkiem substancji bioaktywnych w przemyśle mięsnych może wpłynąć

na przedłużenie trwałości mięsa oraz wpłynąć na ograniczenie produkcji odpadów opakowaniowych.

Opakowania jadalne definiowane są jako cienkie warstwy materiału stanowiące barierę pomiędzy produktem, a środowiskiem. Filmy i powłoki jadalne cechują się dostępnością, niską ceną i biodegradowalnością, co sprawia, że stają się powszechnie stosowaną formą opakowania żywności o średnim i niskim poziomie zawartości wody w składzie (Chen i wsp., 2021). Zastosowanie powłok i filmów jadalnych na powierzchni żywności może korzystnie wpłynąć na jej jakość i trwałość podczas przechowywania, a ponadto przyczynić się do ograniczenia produkcji odpadów opakowaniowych. Wyróżnia się opakowania jadalne wytwarzane z biopolimerów z biomasy, biopochodnych monomerów i polimerów pochodzenia mikrobiologicznego. Najpopularniejszymi bazami w produkcji opakowań jadalnych są: białka roślinne i zwierzęce, lipidy i polisacharydy. Na przestrzeni lat zaobserwowano, że dodatek substancji bioaktywnych do opakowań jadalnych może poprawić ich właściwości funkcjonalne i tym samym wydłużyć trwałość żywności opakowywanej (Quirós-Sauceda i wsp., 2014). Niemniej jednak niezbędne jest dalsze prowadzenia badań w tym zakresie.

Substancją bioaktywną użytą jako współskładnik do powłok jadalnych w opakowalnictwie mięsa może być propolis. Propolis jest mieszaniną żywicy z drzew i krzewów oraz wydzielin z gruczołów pszczelich. Charakteryzuje się on działaniem przeciwutleniającym, przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybicznym, przeciwwirusowym, przeciwnowotworowym i przeciwzapalnym (Silva i wsp., 2019). Propolis charakteryzuje się zawartością polifenoli (kwasów fenolowych i flawonoidów) oraz terpenoidów, wosków, polisacharydów, a także mikroelementów: żelaza, miedzi, krzemu, magnezu, selenu, fosforu i krzemu. Badania przedstawione w publikacji II.4.25. wskazują, że dodatek propolisu do produkcji powłok jadalnych może korzystnie wpłynąć na przedłużenie trwałości mięsa z drobiu, wołowiny, owoców i warzyw.

Na podstawie analizy otrzymanych w niniejszym badaniu wyników wnioskować można, że udział ekstraktu z propolisu w ilości 2% oraz wyższej może pozytywnie wpływać na wydłużenie trwałości mięsa wieprzowego przechowywanego w warunkach chłodniczych. Zaobserwowano także, że dodatek ekstraktu z propolisu do powłok żelatynowych w ilości 2% oraz 3% opóźnia niekorzystne zmiany barwy mięsa wieprzowego podczas przechowywania, spowalnia proces oksydacji lipidów, jak również hamuje rozwój mikroorganizmów w porównaniu ze zmianami zachodzącymi w mięsie niepowlekanym oraz powlekanym powłoką żelatynową bez obecności w składzie ekstraktu propolisu. Poczynając od 8 dnia przechowywania odnotowano wpływ 3%-udziału propolisu do powłoki jadalnej użytej do powlekania mięsa na obniżenie utraty masy produktu w porównaniu do próbek z grupy kontrolnej oraz grupy P0. Mimo wpływu 3% występowania w składzie propolisu na ocenę aromatu próbki w 4 dniu przechowywania, próbka P3 cechowała się pożądaną akceptowalnością ogólną oraz barwą. Podsumowując, udział propolisu w ilości 2-3% do powłok żelatynowych wydaje się stanowić dobrą alternatywę dla konwencjonalnych metod przedłużania trwałości mięsa wieprzowego podczas przechowywania w warunkach chłodniczych.

Producenci żywności ustawicznie poszukują sposobów na wydłużenie okresu trwałości produktów bez ingerencji w ich właściwości fizyczne i chemiczne oraz bez dodawania substancji dodatkowych. Te kryteria idealnie spełnia również technologia MAP, czyli

pakowanie w modyfikowanej atmosferze gazów. Stąd też, kolejnym moim badaniem w obrębie tej grupy badawczej było określenie wpływu składu mieszanin gazowych oraz rodzaju folii opakowaniowej na zmiany jakości świeżych pieczarek w trakcie przechowywania chłodniczego (publikacja II.4.5). Zastosowanie odpowiednio dobranego składu gazów i folii o odpowiedniej przepuszczalności może mieć pozytywny wpływ na parametry jakościowe pieczarek (barwę i jędrność), a także pozwala przedłużyć okres ich trwałości przechowalniczej. Zgodnie z uzyskanymi przeze mnie wynikami, najkorzystniejszy skład gazów to 20% O_2, i 80% N_2, natomiast grubość folii 44 µm. Modyfikowana atmosfera przyczyniła się do opóźnienia przebarwień na powierzchni pieczarek oraz do mniejszego spadku wartości L*. Czas przechowywania, zastosowanie warunków MAP i materiał opakowaniowy miały istotny wpływ na jędrność grzybów. Zastosowanie odpowiedniego składu gazu i filmu odpowiedniej przepuszczalności gazu może korzystnie wpływać na parametry jakościowe takie jak barwa i jędrność oraz przedłużyć okres przydatności do spożycia *Agaricus bisporus*. Przy optymalnych warunkach (20% O_2, i 80% N_2 i grubości folii 44 µm) uzyskano następujące parametry jakościowe: L* = 88,90 ± 0,15; b* = 20,31 ± 0,14; BI = 24,82 ± 0,10; jędrność = 26,28 ± 0,77).

Kontynuując badania z zakresu przedłużenia trwałości przechowalniczej pieczarek byłam współautorem badań opisanych w publikacji II.4.6**.** Celem tego badania było określenie wpływu zastosowania powłok jadalnych na jakość świeżych pieczarek *Agaricus bisporus* podczas przechowywania w temperaturze 2°C. W ramach eksperymentu, pieczarki podzielono na 6 grup badawczych – zastosowano sześć różnych zabiegów (woda destylowana (kontrola), E1: 0,3% $CaCl_2$, E2: 2% $CaCl_2$, E3: 0,1% chitozanu w 1% wodnym roztworze kwasu cytrynowego, E4: 0,5% chitozan w 1% wodnym roztworze kwasu cytrynowego, E5: 0,1% chitozanu w 0,5% kwasie octowym). Właściwości fizykochemiczne, takie jak barwa w systemie L*a*b*, ubytek masy, tekstura, całkowita zdolność antyoksydacyjna i całkowita zawartość fenoli były badane w grzybach w 0, 4, 7, 11 i 14 dniu przechowywania. Wyniki wykazały, że grzyby powlekane chlorkiem wapnia i roztworem chitozanu w kwasie cytrynowym mogą być przechowywane do 14 dni w temperaturze 2°C bez znaczącego obniżenia ich jakości. Powlekanie pieczarek roztworem chitozanu w kwasie octowym umożliwiało przechowanie grzybów do 4 dni. Powłoki te nie chroniły grzybów przed utratą związków fenolowych i ich całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, ponieważ parametry te były zbliżone do grupy kontrolnej (grzyby niepowleczone). Przeprowadzone badania mają duży potencjał aplikacyjny, ponieważ zgodnie z literaturą okres przechowywania pieczarek wynosi zaledwie 3-4 dni w temperaturze pokojowej (20-25°C). Zgodnie z przedstawionymi wynikami, zastosowanie powłoki z chlorkiem wapnia i roztworem chitozanu w kwasie cytrynowym daje możliwość utrzymania dobrej jakości produktu do 14 dni przechowywania.

Podsumowując cały ten obszar tematyczny (II.4.29., II.4.32, II.4.18., II.4.25., II.4.5., II.4.6., II.4.34) można stwierdzić, iż istnieją skuteczne metody przedłużania trwałości przechowalniczej mięsa oraz grzybów, które w niedestrukcyjny sposób ograniczają straty masy oraz pozwalają zachować wysoką ich jakość sensoryczną żywności. Opisane przeze mnie kierunki badań, dzięki odpowiednio dobranym metodom pakowania, przyczynią się do redukcji niekorzystnych zmian (strat masy, brązowienia), a tym samym do rozwoju sektora przemysłu spożywczego nie tylko w Polsce, ale i na całym świecie. Prowadzone badania wnoszą istotny wkład w dziedzinę rolnictwa nauki i

dyscypliny technologii żywności i żywienia, przyczyniając się do rozwoju innowacyjnych metod pakowania żywności charakteryzującej się wysoką jakością.

Literatura:

Chen, W.; Ma, S.; Wang, Q.; McClements, D.J.; Liu, X.; Ngai, T.; Liu, F. Fortification of edible films with bioactive agents: Areview of their formation, properties, and application in food preservation. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2021, 0, 1–27.

Galus, S.; Lenart, A. Effect f protein concentration on kinetics of water vapour adsorption by coatings prepared on the basis ofwhey protein isolate. Żywność Nauk. Technol. Jakość 2011, 4, 66–73.

Quirós-Sauceda, A.E.; Zavala, J.F.A.; Olivas, G.; González-Aguilar, G.A. Edible coatings as encapsulating matrices for bioactivecompounds: A review. J. Food Sci. Technol. 2014, 51, 1674–1685.

Herring, J.L.; Jonnalongadda, S.C.; Narayanan, V.C.; Coleman, S.M. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigeratedstorage. Meat Sci. 2010, 85, 651–656.

Silva, F.R.G.; Matias, T.M.S.; Souza, L.I.O.; Matos-Rocha, T.J.; Fonseca, S.A.; Mousinho, K.; Santos, A.F. Phytochemical screeningand in vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. Braz. J. Biol. 2019, 79, 452–459, doi:10.1590/1519-6984.182959.

Gómez-Estaca, J.; Gómez-Guillén, M.C.; Fernández-Martín, F.; Montero, P. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin,on the properties of compound gelatin–chitosan films. Food Hydrocoll. 2011, 25, 1461–1469.

Ebadi, Z.; Khodanazary, A.; Hosseini, S.M.; Zanguee, N. The shelf life extension of refrigerated Nemipterus japonicus fillets by chitosan coating incorporated with propolis extract. Int. J. Biol. Macromol. 2019, 139, 94–102.

Ercolini, D.; Russo, F.; Torrieri, E.; Masi, P.; Villani, F. Changes in the Spoilage-Related Microbiota of Beef during Refrigerated Storage under Different Packaging Conditions. Appl. Environ. Microbiol. 2006, 72, 4663–4671.

Alahakoon, A. U., Jayasena, D. D., Ramachandra, S., & Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. Trends in Food Science and Technology, 45(1), 37–49.

Cassens, R. G., Ito, T., Lee, M., & Buege, D. (1978). The nitrite use in of meat. BioScience, 28(10), 633–637.

EFSA. (2003). Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the commission related to the effects of nitrites / nitrates on the microbiological safety of meat products. The EFSA Journal, 11, 1–31.

European Parliament and the Concil of the European Union. (2008). Regulation (EC) no 1333/2008 of the European Parliament ans of the council of 16 December 2998 on food additives. Official Journal of the European Union, L 354, 16–33.

Flores, M., & Toldr´a, F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products. Meat Science, 171 (August 2020), 108272.

Herrmann, S. S., Duedahl-Olesen, L., & Granby, K. (2015). Occurrence of volatile and non-volatile N-nitrosamines in processed meat products and the role of heat treatment. Food Control, 48, 163–169.

Majou, D., & Christieans, S. (2018). Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. Meat Science, 145(July), 273–284.

Melngaile, A., Ciekure, E., Valcina, O., Safety, F., Health, A., & Bior, E. (2014). Foodbalt 2014 microbiological quality of meat preparations and meat products. January, 61–65.

Stannard, C. (1997). Development and use of microbiological criteria for foods guidance for those involved in using and interpreting microbiological criteria for foods. Food Science and Technology Today, 11(3), 137–176.

Skibsted, L. H. (2011). Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. Nitric Oxide - Biology and Chemistry, 24(4), 176–183.

7.1.7 Badanie aktywności białek z grupy cystatyn jako potencjalnych markerów schorzeń nerek i układu moczowego

Artykuły: **II.4.1, II.4.7** – Numeracja zgodna z załącznikiem 4.

Badania opisane w tej grupie tematycznej prowadzone były **we współpracy z Panią Profesor Ewą Gorodkiewicz, Prof. UwB, Panem Tomaszem Guszcz i Panem Robertem Kozłowskim będącymi lekarzami Kliniki Urologii, Szpitala Wojewódzkiego im. J. Śniadeckiego w Białymstoku oraz mgr Anną Tokarzewicz będącą doktorantką Zakładu Elektrochemii, Wydziału Biologii i Chemii, Instytutu Chemii w Uniwersytecie w Białymstoku.**

Cystatyny należą do pospolitej grupy białek o charakterystycznej III-rzędowej strukturze mającej zdolność do ścisłego jednak odwracalnego wiązania się z centrum aktywnym proteaz cysteinowych oraz hamowania ich aktywności na zasadzie inhibicji kompetycyjnej. Pełnią one w organizmie bardzo odpowiedzialną funkcję, jaką jest kontrola aktywności wspomnianych enzymów (zarówno endogennych jak i egzogennych), a także procesów przez te enzymy wykonywanych. Ich obecność spowodowana jest działaniem mechanizmu obronnego, który wpływając na produkcję inhibitorów proteaz cysteinowych, zabezpiecza organizm przed działaniem niekorzystnych enzymów i zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia stanów patologicznych (Barrett, 1981; Laterza i wsp., 2002).

Cystatyna C stanowi głównie obiekt badań jako biomarker funkcji nerek. Ze względu na dosyć małe rozmiary i brak białek wiążących może być ona swobodnie przesączana w kłębuszkach nerkowych i efektywnie reabsorbowana w kanalikach, co powoduje, że przy braku wydzielania kanalikowego do moczu dostają się jej niewielkie ilości. W związku z tym stężenie cystatyny C we krwi jest praktycznie stałe i określone przez stopień filtracji kłębuszkowej, co czyni ją dobrym wskaźnikiem GFR (*glomerular filtration rata*) (Zappitelli i wsp., 2006).

Zakres moich zainteresowań naukowych w tej grupie badawczej obejmuje badanie aktywności białek z grupy cystatyn jako potencjalnych markerów schorzeń nerek i układu moczowego. Cystatyna C jest biomarkerem uszkodzenia nerek, który może znaleźć zastosowanie w diagnostyce ostrej i przewlekłej niewydolności nerek. Jej oznaczanie w surowicy i moczu, które są materiałem biologicznym stosowanym rutynowo w diagnostyce

laboratoryjnej, jest przydatne w codziennej praktyce klinicznej. Cystatyna C uczestniczy w patomechanizmie choroby nowotworowej i procesów zapalnych. W takich patologicznych stanach obserwuje się znaczące zmiany ilościowe, jakościowe i lokalizacyjne katepsyn, a także ich inhibitorów. Proteazy cysteinowe zaangażowane są w procesy kancerogenezy na wielu poziomach- uczestniczą w transformacji nowotworowej, inwazji oraz powstawaniu przerzutów, co szczegółowo zostało opsane w publikacji II.4.1. Dlatego podjęłam próby wykorzystania tej wiedzy do celów diagnostycznych. Efekty moich prac zostały przedstawione w publikacji II.4.7.

Cystatyna C to nowoodkryty biomarker uszkodzenia nerek, który, obok tradycyjnych wskaźników, może znaleźć zastosowanie w diagnostyce ostrej i przewlekłej niewydolności nerek (Gorodkiewicz i Luszczyn, 2010). Oznaczanie stężenia cystatyny C może służyć diagnostyce i monitorowaniu chorób nowotworowych, ponieważ zdolność do przerzutów idzie w parze ze wzrostem aktywności peptydaz cysteinowych (katepsyn) i obniżeniem stężenia cystatin, co zostało udowodnione w trakcie badan opisanych w publikacji II.4.7. Badaniem objętych zostało 95 pacjentów cierpiących na nowotwór pęcherza moczowego oraz 27 pacjentów zdrowych w przedziale od 36 do 96 lat. Aktywność cystatyny C w osoczu i moczu badałam za pomocą techniki powierzchniowego rezonansu plazmonów. Konstrukcja biosensora oparta była na interakcji inhibitor- enzym (papaina-cystatyna C). Stężenie cystatyny C w osoczu u pacjentów z rakiem pęcherza mieściło się w przedziale 0,35±0,02 µg/ml, podczas gdy u zdrowych dawców było znacznie wyższe i mieściło się w zakresie 0,68±0,05 µg/ml. W moczu stężenie cystatyny C u chorych wynosiło 0,19±0,01 µg/ml, u zdrowych dawców było w zakresie 0,24±0,02 µg/ml. Cystatyna C może być potencjalnym markerem diagnostycznym nowotworu pęcherza moczowego, ponieważ wzrostowi nowotworu towarzyszy znaczny spadek stężenia cystatyny C w płynach ustrojowych w porównaniu do próby kontrolnej, którą stanowili dawcy zdrowi.

Rzetelna i wiarygodna ocena czynności nerek stanowi jeden z głównych elementów oceny stanu klinicznego pacjentów. Szczególnie istotne jest jak najwcześniejsze rozpoznanie dysfunkcji nerek. Umożliwia ono bowiem wdrożenie natychmiastowych działań, które hamując proces pogłębiania się zmian, wydłużają okres poprzedzający potencjalne leczenie nerkozastępcze. Określenie funkcji nerek może być bardzo poważnym wyzwaniem w wielu sytuacjach klinicznych. U chorych hospitalizowanych w szczególności w ciężkim stanie, monitorowanie czynności nerek jest niezwykle istotne w podejmowaniu ważnych działań diagnostycznych i terapeutycznych. Oprócz wstępnej oceny czynności nie mniej ważne jest ustalenie dynamiczności zmian, zwłaszcza szybkości zmniejszenia ich czynności filtracyjnej. Wykrycie pogarszającej się czynności nerek w fazie przedklinicznej oraz monitorowanie ich funkcji w stanach nagłych stwarza konieczność ustalenia precyzyjnych i wczesnych metod oceny. Funkcja nerek może mieć wpływ na rokowanie w wielu schorzeniach o przewlekłym oraz często ostrym przebiegu. Wynika to z roli, jaką odgrywają, nerki w utrzymaniu równowagi wodno-elektrolitowej, kwasowo-zasadowej, w przemianach metabolicznych, w szczególności w regulacji neurohumoralnej i enzymatycznej.

Podsumowując, analiza białek jest obecnie szeroko stosowana w wielu aspektach związanych nie tylko z przemysłem spożywczym, ale także z medycyną. Zarówno białka pełniące funkcję markerów nowotworowych oraz stanowiące źródło egzogennych aminokwasów determinują prawidłowe funkcjonowanie organizmu człowieka.

Prowadzane przeze mnie badania w zakresie opisanym wyżej oraz uzyskane wyniki mają charakter aplikacyjny i mają szczególne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, bowiem potwierdzają istnienie białek mogących pełnić funkcję markerów nowotworowych.

Literatura:

Laterza O., Price C.P., Scott M.G. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? Clin. Chem. 48 (2002) 699–707.

Gorodkiewicz E., Luszczyn J. Surface Plasmon Resonance Imaging (SPRI) sensor for cystatin determination based on immobilized papain, Protein Pept. Lett. 18 (2010) 23–29.

Barrett A.J. Cystatin, the egg white inhibitor of cysteine proteinases, Meth. Enzymol. 80 (1981) 771–778.

Zappitelli M., Parvex P., Joseph L. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children, Am. J. Kidney Dis. 48 (2006) 221–230

7.2 Podsumowanie dorobku naukowego

Jestem autorem lub współautorem 36 publikacji znajdujących się w basie JCR, spośród których 21 ukazało się po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (Tabela 1). Opublikowałam także 9 rozdziałów w monografiach naukowych. Wszystkie moje prace naukowe to publikacje anglojęzyczne - stanowią one 100% mojego dotychczasowego dorobku naukowego. Sumaryczna liczba punktów MEiN za publikacje, których jestem autorem lub współautorem wynosi 2840 pkt, w tym 2180 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Z kolei całkowita wartość współczynnika IF za moje publikacje naukowe wynosi 121,037, w tym po doktoracie 98.342. Po wyłączeniu prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe wartość mojego pozostałego dorobku naukowego wynosi: sumaryczny IF= 83,387 oraz 2060 pkt. Pełna i szczegółowa lista moich osiągnięć znajduje się w załączniku 4 do wniosku o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

Tabela 1. Zestawienie oryginalnych prac twórczych.

Lp.	Nazwa czasopisma	Liczba publikacji	Rok publikacji	Ilość punktów MNiSW/MEiN*	IF**
	Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora				
1	Advances in Clinical Chemistry	1	2015	45	2,295
2	Journal of Veterinary Research	1	2016	20	0,811
3	CyTA-Journal of Food	1	2017	20	1,371
4		1	2017	20	1,371
5		1	2019	40	1,653
6	Indian Journal of Medical Research	1	2018	25	1,251
7	Journal of Food Process Engineering	1	2018	20	1,448
8	Journal of Food Processing and Preservation	1	2018	20	1,288
9		1	2018	20	1,288
10		1	2018	20	1,288
11		1	2018	20	1,288
12		1	2018	20	1,288
13	LWT-Food Science and Technology	1	2018	40	3,714
14	Animal Science Papers and Reports	1	2019	40	0,688
15	Food Science and Technology	1	2019	40	1,653

16		1	2018	5	-
17		1	2018	5	-
18	Rozdziały w monografiach	1	2018	5	--
19		1	2018	5	-
20		1	2018	5	-
21		1	2019	75	-
22	Patenty	1	2019	75	-
23		1	2019	75	-
Razem przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora		15	-	660	22,695
Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora					
1		1	2020	40	2,255
2	CyTA-Journal of Food	1	2020	40	2,255
3		1	2021	40	2,255
4	Journal of Food Processing and Preservation	1	2019	40	2,190
5	Animal Science Papers and Reports	1	2021	100	0,967
6	Agriculture	1	2021	100	3.408
7	Coatings	1	2021	100	3.236
8	European Food Research and Technology	1	2021	70	3,498
9	European Journal of Lipid Science and Technology	1	2021	100	3,196
10		1	2022	70	3,196
11	Trends in Food Science & Technology	1	2021	200	16,002
12	Food Chemistry	1	2022	200	9,231
13		1	2022	100	5,561
14	Foods	1	2022	100	5,561
15		1	2022	100	5,561
16		1	2022	100	5,561
17	Livestock Science	1	2022	140	1,929
18	Meat Science	1	2022	140	7,077
19		1	2022	140	7,077
20	Molecules	1	2022	140	4,927

21	LWT-Food Science and Technology	1	2022	100	4,006
22	Rozdziały w monografiach	1	2020	5	-
23		1	2020	5	-
24		1	2020	5	-
25		1	2020	5	-
Razem po uzyskaniu stopnia naukowego doktora		21	-	2180	98,342
Razem		**36**	-	**2840**	**121,037**

* Punkty za publikacje z lat 2015-2018 naliczono zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych.
Punkty publikacji od 2019 do 2020 roku przyznano zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31 lipca 2019 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych.
Punkty publikacji od 2021 do 2022 roku przyznano zgodnie z komunikatem Ministra Edukacji i Nauki z dnia 1 grudnia 2021 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych.
** Impact Factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, w przypadku prac z roku 2021-2022 Impact Faktor podano z roku 2021.

Jestem autorką lub współautorką 47 doniesień konferencyjnych, w tym 34 referatów, które prezentowane były na wydarzeniach krajowych i międzynarodowych (Tabela 2). Mój indeks Hirscha wg bazy Web of Science i Scopus wynosi odpowiednio: 9 i 10, według Google Scholar 11. Liczba cytowań moich prac wynosi 258 wg bazy Web of Science, 283 wg bazy Scopus oraz 386 wg Google Scholar. Przedstawiono dane obowiązujące na dzień 29.09.2022 r.

Tabela 2. Zestawienie dorobku naukowego przed i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Rodzaj aktywności	Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora	Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	SUMA
Publikacje znajdujące się w bazie JCR	15	21	36
w języku polskim	-	-	-
w języku angielskim	15	21	36
Publikacje nie znajdujące się w bazie JCR	-	-	-
w języku polskim	-	-	-
w języku angielskim	-	-	-
Rozdziały w monografiach	5	4	9
w języku polskim	-	-	-
w języku angielskim	5	4	9
Projekty naukowo-badawcze	6	3	9
krajowe finansowane przez NCBR, NCN lub MEiN	6	3	9
międzynarodowe finansowane przez UE lub NCBR			
pozostałe (np. „grant wewnętrzny”)		1	1
Doniesienia konferencyjne			

Referaty na zaproszenie i wykłady plenarne	1
Referaty na międzynarodowych konferencjach	17
Referaty na krajowych konferencjach	17
Postery na międzynarodowych konferencjach	7
Postery na krajowych konferencjach	6
Indeks Hirscha wg bazy Web of Science do dnia 29.09.2022	9
Indeks Hirscha wg bazy Scopus do dnia 29.09.2022	10
Indeks Hirscha wg Google Scholar do dnia 29.09.2022	11
Liczba cytowań wg bazy Web of Science do dnia 29.09.2022 (w nawiasie podano liczbę bez autocytowań)	258 (217)
Liczba cytowań wg bazy Scopus do dnia 29.09.2022 (w nawiasie podano liczbę bez autocytowań)	283 (237)
Liczba cytowań wg Google Scholar do dnia 29.09.2022	386
IF	121,037

7.3 Nagrody i wyróżnienia

Moja działalność naukowa była wielokrotnie nagradzana i wyróżniana. Spis najważniejszych nagród i wyróżnień:

1. Nagroda Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za znaczące osiągnięcia w zakresie działalności wdrożeniowej, Minister Edukacji i Nauki Przemysław Czarnek, Warszawa, 19 luty 2022 r. Nagroda zespołowa.
2. Nagroda na Międzynarodowej Wystawie Wynalazków w Genewie za prace opracowane w ramach Projektu "SAUSANTOX Wegańskie parówki o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym", gdzie wyzwaniem technologicznym było opracowanie receptury, technologii produkcji oraz uzyskanie prozdrowotnych analogów produktów mięsnych, na bazie składników pochodzenia roślinnego, o podwyższonej wartości biologicznej i odżywczej.
3. Nagroda Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wybitne osiągnięcia naukowe - Stypendium ministra dla studentów i doktorantów za wybitne osiągnięcia na rok akademicki 2016/2017. Nagroda indywidualna.
4. Dyplom Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wynalazek pod nazwą „Sposób wytwarzania suszonej wołowiny i suszona wołowina, zwłaszcza dla dzieci. marzec 2016, Warszawa, Nagroda zespołowa.
5. Nagroda Stowarzyszenia Wynalazców z Tajwanu na Międzynarodowych Targach Wynalazczości, Badań Naukowych i Nowych Technologii BRUSSELS INNOVA 2015

za opracowanie i zgłoszenie do ochrony patentowej „Sposób wytwarzania wołowiny funkcjonalnej dla dzieci", 19-21.11.2015r. Bruksela. Nagroda zespołowa.

6. Złoty medal z wyróżnieniem na Międzynarodowych Targach Wynalazczości, Badań Naukowych i Nowych Technologii BRUSSELS INNOVA 2015 za opracowanie i zgłoszenie do ochrony patentowej „Sposób wytwarzania suszonej wołowiny i wołowiny funkcjonalnej dla dzieci", 19-21.11.2015r. Bruksela. Nagroda zespołowa.
7. Nagroda INSTITUTE OF HEALTH AND BEAUTY of Russia na Międzynarodowych Targach Wynalazczości, Badań Naukowych i Nowych Technologii BRUSSELS INNOVA 2015 za opracowanie i zgłoszenie do ochrony patentowej „Sposób wytwarzania wołowiny funkcjonalnej dla dzieci", 19-21.11.2015r. Bruksela. Nagroda zespołowa.
8. Nagroda zespołowa II° za osiągnięcia naukowe JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, 1.10.2019.
9. Nagroda zespołowa I° za osiągnięcia naukowe JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, 1.10.2018.
10. Wyróżnienie Rektora za dotychczasowe osiągnięcia naukowe, które znacząco wpływają na rozwój, promocję oraz prestiż Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa 10 marca 2020.
11. Wyróżnienie Rektora za dotychczasowe osiągnięcia naukowe, które znacząco wpływają na rozwój i prestiż Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa 11 kwietnia 2022.
12. Nagroda zespołowa II° za osiągnięcia naukowe JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, 31.08.2022.

.....Onopiuk Anna.....
(podpis wnioskodawcy)