



**WYDZIAŁ
NAUK O ŻYWNOŚCI
I BIOTECHNOLOGII**

dr inż. Dariusz Kowalczyk
adiunkt
Katedra Biochemii i Chemii Żywności
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Załącznik II
Autoreferat w języku polskim

Lublin, 2016

Spis treści

1. Dane osobowe	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	3
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia	3
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
4.3.1. Wprowadzenie	5
4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników badań	10
4.3.4. Podsumowanie	24
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)	27
6. Zestawienie dorobku	37

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Dariusz Kowalczyk

Miejsce pracy: Katedra Biochemii i Chemii Żywności

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- mgr inż. technologii żywności i żywienia człowieka, specjalność biotechnologia żywności, Akademia Rolnicza w Lublinie, Wydział Rolniczy, 2004
- dyplom uzyskania kwalifikacji pedagogicznych do pracy nauczycielskiej, Akademia Rolnicza w Lublinie, Międzywydziałowe Studium Pedagogiczne, 2007
- dr nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia – chemia żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, 2008

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- adiunkt (2011–obecnie), Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności
- asystent (2008–2011), Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności

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

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego stanowi cykl sześciu publikacji naukowych ujętych pod wspólnym tytułem:

”Otrzymywanie i właściwości funkcjonalno-użytkowe folii jadalnych o działaniu przeciwutleniającym i przeciwmikrobiologicznym”.

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

Badania, których wyniki przedstawiono w Osiągnięciu zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu badawczego N N312 501540 „Badania nad otrzymywaniem folii i powłok jadalnych o działaniu przeciwmikrobiologicznym i przeciwutleniającym”.

- O1. Kowalczyk D., Świeca M., Cichocka J., Gawlik-Dziki U. (2013):** The phenolic content and antioxidant activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of hops and their pellets. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(3), 103-110.
(MNiSW= 25 pkt, IF₂₀₁₃= 0.837*, 1.122**; liczba cytowań wg WoS=5, Scopus=6)
- O2. Kowalczyk D., Baraniak B. (2014):** Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films – A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 41, 195-209.
(MNiSW= 45 pkt, IF₂₀₁₄= 4.090*, 4.637 **; liczba cytowań wg WoS=9, Scopus=13)
- O3. Kowalczyk D., Kordowska-Wiater M., Sołowiej B., Baraniak B. (2015):** Physicochemical and antimicrobial properties of biopolymer-candelilla wax emulsion films containing potassium sorbate – A comparative study. *Food and Bioprocess Technology*, 8(3), 567-579.
(MNiSW= 40 pkt, IF_{2014/2015}= 2.691*, 3.187**; liczba cytowań wg WoS=2, Scopus=2)
- O4. Kowalczyk D., Kordowska-Wiater M., Nowak J., Baraniak B. (2015):** Characterization of films based on chitosan lactate and its blends with oxidized starch and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 350-359.
(MNiSW= 25 pkt, IF_{2014/2015}= 2.858 *, 3.016**; liczba cytowań wg WoS=3, Scopus=3)
- O5. Kowalczyk D. (2016):** Biopolymer/candelilla wax emulsion films as carriers of ascorbic acid – A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 52, 543-553.
(MNiSW= 45 pkt, IF_{2014/2015}= 4.090*, 4.637**; liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=3)
- O6. Kowalczyk D., Biendl M. (2016):** Physicochemical and antioxidant properties of biopolymer/candelilla wax emulsion films containing hop extract - A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 60, 384-392.
(MNiSW= 45 pkt, IF_{2014/2015}= 4.090*, 4.637**; liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)

Łącznie:

Impact Factor – 18.656*, 21.236**

Punkty MNiSW – 225

*obowiązujące w roku wydania publikacji (w przypadku publikacji z lat 2015-2016 przyjęto wartość IF wyliczoną dla lat 2014/2015)

**średni pięcioletni Impact Factor

Wkład Wnioskodawcy w ww. publikacje obejmuje: autorstwo hipotez i koncepcji badań, udział w wykonaniu doświadczeń oraz większości oznaczeń; analizę, opracowanie i dyskusję wyników, napisanie manuskryptów (załączono oświadczenia współautorów).

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

Wykaz skrótów: ΔE^* – całkowita różnica barw, **AA** – kwas L-askorbinowy, **ABTS^{*+}** – kationorodnik kwasu 2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolin-6-sulfonowego, **ATR-FTIR** – spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni z transformacją Fouriera, **CHL** – mlecza chitozanu, **CnW** – воск kandelila, **CMC** – karboksymetyloceluloza, **DPPH^{*}** – rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu, **EA** – aktywność emulgowania, **EAI** – indeks aktywności emulgowania, **EDTA** – kwas wersenowy (etylenodinitrylotetraoctowy), **EHE** – etanolowy ekstrakt chmielu, **ES** – stabilność emulsji, **ESI** – indeks stabilności emulsji, **FRAP** – zdolność redukcji Fe (III), **GAE** – ekwiwalent kwasu galusowego, **GEL** – żelatyna, **GRAS** – ogólnie uznawane za bezpieczne, **HPMC** – hydroksypropylometyloceluloza, **KS** – sorbinian potasu, **MBC** – minimalne stężenie bakteriobójcze, **MFC** – minimalne stężenie grzybobójcze, **OD₆₀₀** – gęstość optyczna mierzona przy długości fali 600 nm, **OPS** – utleniona skrobia ziemniaczana, **MIC** – minimalne stężenie hamujące, **RH** – wilgotność względna, **SEM** – skaningowa mikroskopia elektronowa, **SNA** – substancje nierozpuszczalne w acetonie, **SPI** – izolat białka soi, **TFC** – zawartość flawonoidów ogółem, **TPC** – zawartość polifenoli ogółem, **WPC** – koncentrat białek serwatkowych, **WVP** – szybkość przenikania pary wodnej.

4.3.1. Wprowadzenie

Zadaniem producentów żywności jest wytworzenie dobrej jakościowo i bezpiecznej żywności o możliwie najdłuższym okresie przydatności do spożycia. Istotną funkcję w tym procesie pełni opakowanie. W rozwoju opakowalnictwa zarówno w Polsce, jak i na świecie, rysują się dwa wyraźne kierunki badawcze. Pierwszy z nich związany jest z ochroną produktu opartą na zastosowaniu nowych typów opakowań, tzw. opakowań aktywnych. Drugi kierunek jest ściśle związany z wytwarzaniem materiałów opakowaniowych przyjaznych środowisku, otrzymywanych na bazie odnawialnych surowców naturalnych. Opakowania aktywne definiuje się jako systemy, które oprócz tradycyjnej funkcji izolowania produktu od otoczenia dodatkowo aktywnie oddziałują na produkt lub atmosferę wewnątrz opakowania, wpływając na poprawę jego jakości lub przedłużenie okresu przechowywania. W celu spełnienia tych zadań opakowania aktywne zawierają m.in. absorbenty gazowe, regulatory wilgotności, przeciwutleniacze i substancje przeciwmikrobiologiczne. Związek aktywny umieszczony jest wewnątrz opakowania w postaci saszetki lub wprowadzany jest do materiału opakowaniowego w trakcie jego wytwarzania. Drugi sposób jest korzystniejszy, ponieważ zwiększa powierzchnię kontaktu substancji aktywnej z produktem. Aktualnie trwają liczne badania nad opracowaniem odpowiedniej technologii otrzymywania aktywnych folii polimerowych. Główne przeciwwskazania w stosowaniu folii z surowców petrochemicznych odnoszą się m.in. do niestabilności związków aktywnych, np. podczas ekstruzji materiałów opakowaniowych. Z tego powodu substancjami czynnymi, które nie

tolerują wysokiej temperatury, powleka się już gotowy materiał opakowaniowy lub wprowadza się je w skład folii (filmów) i powłok jadalnych.

Podstawowymi materiałami do produkcji opakowań jadalnych są polisacharydy, białka i lipidy. Każda z wymienionych grup związków cechuje się charakterystycznymi właściwościami funkcjonalnymi. Lipidy są stosowane głównie jako bariera chroniąca produkt przed utratą wilgoci, natomiast warstewki polisacharydów i białek jako bariery ograniczające dyfuzję tlenu, ditlenku węgla, związków aromatycznych, olejów. Dobre właściwości strukturotwórcze biopolimerów zapewniają foliom spoistość i wytrzymałość, jednak hydrofilowy charakter sprawia, że warstewki takie nie stanowią dobrej bariery dla pary wodnej. Materiałom opakowaniowym aplikowanym na żywność stawiane są różne wymagania, m.in. adhezyjność; barierowość wobec wody, gazów, światła; przezroczystość; wytrzymałość mechaniczna; plastyczność; nietoksyczność. W celu umożliwienia spełnienia tych wszystkich funkcji opakowanie powinno stanowić mieszaninę związków o charakterze zarówno hydrofobowym jak i hydrofilowym. Niezbędny jest też dodatek substancji pomocniczych: plastyfikatorów, emulgatorów i/lub surfaktantów.

Obecnie prowadzi się intensywne badania nad wprowadzaniem substancji takich jak: triacyloglicerole, woski i kwasy tłuszczowe do filmów polisacharydowych lub białkowych w celu poprawienia ich właściwości barierowych dla pary wodnej. Spośród wielu naturalnych substancji hydrofobowych najlepszą barierą dla wilgoci są woski. Do powlekania owoców i warzyw spożywanych razem ze skórką dopuszczone jest stosowanie wosku pszczelego, wosku kandelila (CnW) oraz wosku karnauba (E 901-903). Woski te różnią się m.in. przepuszczalnością pary wodnej (WVP, ang. Water Vapour Permeability). Wartość WVP dla CnW jest blisko dwukrotnie niższa niż wosku karnauba i ponad trzykrotnie niższa w porównaniu z woskiem pszczelim [Donhowe i Fennema, 1993]. CnW ma zatem potencjalnie najlepsze predyspozycje do obniżania szybkości przenikania pary wodnej. Potwierdzeniem tego są wyniki badań Chick i Hernandez [2002] oraz Kowalczyk i wsp. [2016]. Jednakże Shellhammer i Krochta [1997] zaobserwowali, że filmy z białek serwatkowych z dodatkiem CnW i wosku karnauba nie różnią się pod względem WVP i są mniej barierowe aniżeli filmy z dodatkiem wosku pszczelego czy bezwodnego tłuszczu mlecznego. Jak sugerują wyżej cytowani autorzy, typ substancji lipidowej jest tylko jednym z czynników decydujących o barierowości filmów. Istotną rolę odgrywa również rozmiar cząstek lipidu w emulsji, stabilność emulsji oraz interakcje lipidu z polimerem. Negatywnym skutkiem wprowadzenia lipidów do matrycy polisacharydowej lub białkowej jest obniżenie wytrzymałości mechanicznej, wskutek zakłócenia sieci polimerowej w związku z utworzeniem heterogennej struktury polimerowo-lipidowej [Shellhammer i Krochta, 1997; Fabra i wsp., 2008; Kowalczyk i wsp., 2016]. Niekiedy obserwuje się także spadek przezroczystości filmów [Kim i Ustunol, 2001; Kowalczyk i wsp., 2016].

Powszechnie wiadomo, że owoce i warzywa ze względu na dużą zawartość wody należą do produktów bardzo wrażliwych na warunki otoczenia. Liczne badania wykazały, że zaporowe warstewki na bazie emulsji polisacharyd/lipid lub białko/lipid mogą efektywnie ograniczać

transpirację i zmieniać skład wewnętrznej atmosfery owoców i warzyw, co sprzyja spowolnieniu przemian metabolicznych i wydłużeniu trwałości pozbiorczej [Galus i Kadzińska, 2015].

W wielu przypadkach pogorszenie jakości żywności podczas przechowywania jest wynikiem procesów utlenienia. Dlatego ważną grupę opakowań aktywnych stanowią opakowania o działaniu antyoksydacyjnym. Znakomite właściwości barierowe warstewek polisacharydowych i białkowych w stosunku do tlenu sprawiają, że są one użyteczne w formowaniu powłok ochronnych dla produktów wrażliwych na tlen. Przepuszczalność tlenu (w warunkach niskiej wilgotności względnej powietrza (RH)) przez warstwy uzyskane z izolatu białka sojowego (SPI) jest od 325 do 1750-krotnie niższa niż dla folii polietylenowej [McHugh i Krohta, 1994]. Włączenie substancji przeciwutleniających w skład filmów/powłok jadalnych pozwala na stworzenie aktywnej ochrony, w której stopniowa migracja przeciwutleniacza z matrycy polimerowej do powierzchniowych warstw produktu zapewnia wysoką efektywność działania. Materiały tego typu ograniczają przede wszystkim niekorzystne zmiany jakości surowców zawierających tłuszcz: mięsa [Oussalah i wsp., 2004], ryb [Gómez-Estaca i wsp., 2007] i orzechów [Min i Krochta, 2007], ale mogą być również przydatne w inhibicji brązowienia enzymatycznego minimalnie przetworzonych owoców [Perez-Gago i wsp., 2006]. W ostatnich latach obserwuje się coraz większe zainteresowanie naturalnymi przeciwutleniaczami. Wśród nich największą grupę, bardzo zróżnicowaną pod względem budowy jak i właściwości, stanowią polifenole. Ich bogatym źródłem są zioła i przyprawy. Jadalne filmy i powłoki o działaniu przeciwutleniającym uzyskiwano wprowadzając do roztworów powłokotwórczych m.in. ekstrakty z rozmarynu, oregano, ogórecznika lekarskiego, żeńszenia [Gómez-Estaca i wsp., 2009a, 2009b; Norajit i wsp., 2010], związki fenolowe [Cheng i wsp., 2015], kwas L-askorbinowy (AA) [Min i Krochta, 2007] i α -tokoferol [Jongjareonrak i wsp., 2008]. Przy inkorporacji przeciwutleniaczy (np. fenolowych lub tokoferoli) do żywności należy pamiętać, iż ich dodatek w stężeniu wyższym niż optymalne może przyspieszyć utlenianie i spowodować efekt odwrotny od zamierzonego. Oprócz rodzaju i stężenia przeciwutleniacza na końcowy efekt ochronny wpływa również środowisko. Związki fenolowe mają zdolność tworzenia kompleksów białkowo-fenolowych, co negatywnie wpływa na ich dostępność. Jak wykazali Tsai i She [2006] aktywność przeciwutleniająca flawonoidów może być zmniejszona (maskowana) wskutek ich interakcji z białkami przy czym poziom tego procesu jest warunkowany wieloma czynnikami. Arts i wsp. [2002] wykazali, że potencjał przeciwutleniający związków bioaktywnych zielonej i czarnej herbaty może zostać obniżony w przypadku obecności różnych białek takich jak: α -, β -, i κ -kazeina i albumina wołowa. Również badania przeprowadzone przez Alexandropoulou i wsp. [2006] potwierdzają, że białka mięsa i kazeina obniżają aktywność antyoksydacyjną zielonej herbaty oraz czekolady. Aktualne badania wskazują, że niektóre z powszechnie stosowanych gum polisacharydowych mogą maskować cierpki smak polifenoli, co pozwala na otrzymywanie funkcjonalnej żywności o wysokim potencjale antyoksydacyjnym i jednocześnie o cechach sensorycznych akceptowanych przez konsumentów. Najskuteczniejszym polisacharydem w maskowaniu niekorzystnego smaku jest karboksymetyloceluloza (CMC), a w

dalszej kolejności gumy: guar, ksantanowa i arabska. Jak przypuszczają badacze, spiralna struktura CMC może pułapkować cząsteczki polifenoli [Troszczyńska i wsp., 2010]. Prowadzone powinny być jednak dalsze badania wykazujące czy interakcje polifenoli z polisacharydami nie modyfikują ich właściwości antyoksydacyjnych.

Wyniki przytoczonych badań wskazują, że efektywność antyoksydacyjna substancji czynnych jest w dużym stopniu warunkowana matrycą produktu. W dostępnej literaturze niewiele jest kompleksowych opracowań dotyczących wpływu rodzaju matrycy polimerowej na aktywność przeciwutleniającą wzbogacanych filmów i powłok jadalnych. Dobór właściwego polimeru powinien stanowić punkt wyjścia w projektowaniu takich materiałów. Gómez-Estaca i wsp. [2009a] zaobserwowali, że w przypadku dodatku większej ilości ekstraktu z oregano (1,25g/100ml) występują istotne różnice w zdolności neutralizowania wolnych rodników ABTS^{*+} pomiędzy filmami otrzymanymi z żelatyny rybiej i żelatyny wołowej. Interakcje związków fenolowych z matrycą białkową mogą nie tylko różnicować stopień uwalniania aktywnego składnika do żywności ale wpływają także na właściwości fizykochemiczne filmów, np. poprzez zmiany rozpuszczalności lub barierowości [Gómez-Guillén i wsp., 2007].

W ostatnich latach zainteresowania naukowców koncentrują się na otrzymywaniu folii i powłok inkorporowanych substancjami inhibitującymi wzrost drobnoustrojów. W grupie substancji o charakterze przeciwdrobnoustrojowym, przebadanych pod kątem przydatności w otrzymywaniu aktywnych folii, znajdują się chemiczne konserwanty (E 200-299), enzymy (np. lizozym), bakteriocyny (np. nizyna), ekstrakty roślinne (np. z nasion grejpfruta) i składniki przypraw/ziół (np. olejek oregano, cynamonowy, lemongrasowy) [Yoshida i wsp., 2010, Mecitoğlu i wsp., 2006; Rojas-Graü i wsp., 2007, Sivarooban i wsp., 2008]. Największym zainteresowaniem cieszą się substancje o szerokich zakresach aktywności antagonistycznej, zdolne już w niewielkich stężeniach do silnego oddziaływania na drobnoustroje chorobotwórcze z rodzaju *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, enteropatogenne *Escherichia coli* O157: H7 oraz toksynotwórcze pleśnie. Uwaga badaczy zwrócona jest na ocenę skuteczności filmów z dodatkiem substancji przeciwdrobnoustrojowych zarówno w warunkach modelowych, jak i w żywności. Z danych literaturowych wynika, że parametrem, który determinuje efektywność działania filmów jest szybkość uwalniania zawartych w nich substancji przeciwdrobnoustrojowych. Migracja powinna przebiegać z taką szybkością, aby możliwe było utrzymanie w żywności liczby drobnoustrojów na niskim poziomie przez cały okres jej przechowywania. Zbyt szybkie uwalnianie jest równoznaczne z utratą przez materiał zdolności do przeciwdrobnoustrojowego działania. O szybkości przenikania substancji przeciwmikrobiologicznej do żywności decyduje wiele czynników, z których największe znaczenie ma pH, temperatura przechowywania i skład matrycy [Guilbert i wsp., 1996]. Stwierdzono, że dyfuzja sorbinianu potasu (KS) z filmu otrzymanego z bazy białek serwatkowych jest ponad 30 razy wyższa ($D = 4,12 \times 10^{-12} \text{m}^2/\text{s}$) w porównaniu z filmem chitozanowym ($D = 1,22 \times 10^{-13} \text{m}^2/\text{s}$) [Sadikoglu i wsp., 2006; Yoshida i wsp., 2010]. Inkorporacja substancji lipidowej, w zależności od rodzaju zastosowanej

matrycy, może zarówno obniżyć [Redl i wsp., 1996], jaki i zwiększyć [Yoshida i wsp., 2010] szybkość dyfuzji KS.

Sorbinię potasu jest substancją o statusie GRAS (ogólnie uznaną za bezpieczną) i wykazuje szerokie działanie w stosunku do pleśni, drożdży i bakterii, stąd też chętnie jest stosowany jako składnik filmów i powłok o działaniu przeciwmikrobiologicznym. Innym związkiem posiadającym silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe jest chitozan. Ze względu na właściwości błonotwórcze polisacharyd ten wykorzystywany jest samodzielnie jako powłoka ochronna, ale z uwagi na relatywnie wysoką cenę korzystniej jest stosować go jako dodatek do folii z udziałem tańszych polimerów np. skrobi czy żelatyny. Alternatywę dla powszechnie wykorzystywanego chitozanu, rozpuszczalnego w rozcieńczonych roztworach kwasów organicznych, stanowią jego pochodne w postaci octanu, askorbinianu, mleczanu, malonianu. Takie formy charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie [Jenon i wsp., 2000] i w związku z tym są bardziej użyteczne w nakładaniu powłok. Działanie przeciwdrobnoustrojowe materiałów chitozanowych jest dość dobrze udokumentowane. Skuteczność przeciwdrobnoustrojowego działania chitozanu zależy od jego pochodzenia, masy cząsteczkowej, stopnia deacetylacji, typu mikroorganizmu, a także obecności niektórych składników żywności. Dlatego też minimalne stężenie hamujące (MIC) chitozanu jest zróżnicowane i waha się od 0,0018 do 1% [Rabea i wsp., 2003]. Wykazano, że negatywny wpływ na aktywność tego kationowego polisacharydu mają białka serwatkowe i NaCl [Devlieghere i wsp., 2004]. Z kolei Vargas i wsp. [2006] zaobserwowali, że wprowadzenie kwasu oleinowego w skład powłoki aplikowanej na truskawki powoduje wzrost aktywności przeciwmikrobiologicznej chitozanu. Rodzaj stosowanego nośnika wpływa na aktywność przeciwmikrobiologiczną otrzymanych materiałów. Dokumentują ten fakt wyniki badań, w trakcie których dokonano porównania aktywności nizyny osadzonej na chitozanie, karagenie i pochodnych celulozowych. Ustalono, że oddziaływania elektrostatyczne obniżają aktywność antybakteryjną nizyny wprowadzonej do karagenu. Dodatnio naładowana nizyna oddziałuje z resztami anionowymi karagenu ($-O_3SO_3^-$) i to prawdopodobnie decyduje o niskiej desorpcji tej bakteriocyiny i słabej jej migracji [Cha i wsp., 2003].

Przytoczone wybrane dane z bogatego piśmiennictwa z zakresu otrzymywania i właściwości filmów i powłok jadalnych, wskazują na potrzebę wykonania jeszcze wielu badań przed wprowadzeniem na rynek nowej generacji opakowań aktywnych. Zgodnie z opinią ekspertów opakowania aktywne stanowią przyszłość opakowalnictwa żywności, w której niewątpliwie znaczenie będą miały również folie i powłoki jadalne. Szersze ich wykorzystanie do przedłużania trwałości produktów spożywczych zależy jednak od postępu w doskonaleniu właściwości funkcjonalno-użytkowych. Badania nad interakcjami pomiędzy składnikami matrycy a składnikami aktywnymi będą mieć istotne znaczenie dla kontynuacji przyszłych prac analizujących skutki oddziaływań białek, polisacharydów i lipidów z substancjami o działaniu przeciwutleniającym i przeciwmikrobiologicznym.

4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników badań

Głównym celem osiągnięcia będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest ocena właściwości funkcjonalno-użytkowych folii jadalnych otrzymanych na bazie biopolimerów polisacharydowych: karboksymetylocelulozy (CMC) i utlenionej skrobi ziemniaczanej (OPS) oraz białkowych: izolatu białka soi (SPI) i żelatyny wieprzowej (GEL)) aktywowanych dodatkiem substancji o działaniu przeciwutleniającym: kwasu L-askorbinowego (AA), etanolowego ekstraktu chmielu (EHE)) i przeciwmikrobiologicznym: sorbinianu potasu (KS), mleczanu chitozanu (CHL).

Szczegółowe cele pracy:

1. Otrzymywanie i charakterystyka właściwości funkcjonalno-użytkowych folii polimerowo-woskowych.
 - 1.1. Porównanie cech fizykochemicznych (szybkość przenikania pary wodnej, właściwości mechaniczne, właściwości optyczne, rozpuszczalność, mikrostruktura) folii polimerowych otrzymanych z CMC, OPS, SPI i GEL.
 - 1.2. Określenie wpływu dodatku wosku kandelila (CnW) na stabilność emulsji foliotwórczych.
 - 1.3. Określenie wpływu dodatku CnW na właściwości fizykochemiczne folii.
2. Otrzymywanie i charakterystyka właściwości funkcjonalno-użytkowych folii polimerowo-woskowych z dodatkiem przeciwutleniaczy.
 - 2.1. Ocena właściwości przeciwutleniających oraz ilościowo-jakościowa analiza związków fenolowych zawartych w ekstraktach z szyszek chmielu.
 - 2.2. Określenie wpływu dodatku EHE oraz AA na właściwości fizykochemiczne folii (szybkość przenikania pary wodnej, właściwości mechaniczne, właściwości optyczne, rozpuszczalność, zdolność pęcznienia, mikrostruktura).
 - 2.3. Analiza efektywności przeciwutleniającej folii (szybkość uwalniania substancji aktywnej, właściwości przeciwutleniające w warunkach modelowych, ocena kinetyczna trwałości AA).
3. Otrzymywanie i charakterystyka właściwości funkcjonalno-użytkowych folii z dodatkiem substancji przeciwmikrobiologicznych.
 - 3.1. Badanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej KS i CHL (określenie najmniejszego stężenia inhibitującego oraz bójczonego względem wybranych bakterii i fitopatogenów grzybowych).
 - 3.2. Określenie wpływu dodatku substancji przeciwmikrobiologicznych na właściwości fizykochemiczne folii (szybkość przenikania pary wodnej, właściwości mechaniczne, właściwości optyczne, rozpuszczalność).

3.3. Analiza efektywności aktywowania folii (aktywność antybakteryjna i przeciwgrzybicza w warunkach modelowych).

AD 1.1. Dobór materiałów jest procesem optymalizacyjnym polegającym na wytypowaniu surowca, który najlepiej nadaje się do określonych zastosowań przy założonych ograniczeniach. Każdy biopolimer posiada swoje specyficzne właściwości wpływające na cechy użytkowe otrzymanego z niego tworzywa. W pracy **O2** porównano właściwości fizykochemiczne folii otrzymanych z CMC, OPS, SPI i GEL, uplastycznianych sorbitolem. Folie otrzymywane były poprzez rozproszanie cienkiej warstwy wodnego roztworu polimeru (5,0% m/m) wraz z dodatkami, a następnie odparowanie rozpuszczalnika. Badania WVP wykazały, że folia z SPI charakteryzowała się nieznacznie słabszymi właściwościami barierowymi ($41,6 \text{ g mm}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$), w porównaniu do pozostałych otrzymanych materiałów ($36,0\text{-}39,3 \text{ g mm}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$), co jak wykazały fotografie SEM mogło być spowodowane różnicami w mikrostrukturze. Badanie SEM ujawniło, że na powierzchni folii z SPI widoczne były wady w postaci dziurek, powierzchnia folii z CMC była pokryta licznymi zagłębieniami, zaś powierzchnie folii z OPS i GEL były gładkie i stosunkowo jednolite. Folie otrzymane z GEL i CMC odznaczały się znacznie większą wytrzymałością mechaniczną i sztywnością aniżeli folie z OPS i SPI. Wynika to z naturalnych funkcji pełnionych przez ww. polimery: GEL i CMC to pochodne polimerów budulcowych, natomiast skrobia i białka soi to głównie komponenty zapasowe. Najlepsze cechy wytrzymałościowe posiadała folia z GEL, której wytrzymałość na zerwanie była odpowiednio $\sim 1,5$, $3,2$ i $5,8$ razy większa w porównaniu do folii z CMC, OPS i SPI. Folia żelatynowa posiadała również największą podatność na rozciąganie (83,5%). Z kolei najmniej rozciągliwa była folia z CMC (23,0%). Folia z SPI, w odróżnieniu od pozostałych otrzymanych materiałów była żółta, jednakże najlepiej pochłaniała promieniowanie UV. Wartości składowych barwy (CIE $L^*a^*b^*$) folii z CMC, OPS i GEL były porównywalne. Wszystkie uzyskane folie były przezroczyste, przy czym folia z OPS wykazywała największe zamglenie. Wykazano różnice w hydrofilowości otrzymanych materiałów. Najwyższą wilgotność (10,8%) miała folia z CMC, zaś najniższą folia skrobiowa (7,4%). Użycie CMC, w odróżnieniu od pozostałych polimerów, pozwoliło otrzymać folię całkowicie rozpuszczalną w wodzie o temperaturze pokojowej. Ponadto, zastosowanie CMC - stabilizatora znanego ze zdolności hamowania krystalizacji cukru w produktach cukierniczych, zapobiegło rekrytalizacji plastyfikatora w przechowywanych foliach. Kryształy były formowane najszybciej w folii z OPS, co najprawdopodobniej związane było z tworzeniem amylozowych zarodków krystalizacji (retrogradacja skrobi), które inicjowały krystalizację sorbitolu.

Folie jadalne wyróżniają się właściwościami barierowymi, które sprawiają, że powstają wzajemne oddziaływania między produktem i otoczeniem. Transpiracja i ususzką są głównymi przyczynami strat produktów spożywczych podczas ich składowania, dlatego też poprawa właściwości barierowych folii polimerowych w stosunku do pary wodnej, poprzez inkorporację fazy lipidowej, była kolejnym celem badań wchodzących w skład Osiągnięcia.

AD1.2. Analiza indeksu aktywności emulgowania (EAI), indeksu stabilności emulsji (ESI) oraz wielkość kropeł fazy lipidowej stanowi uniwersalne i obiektywne kryterium jakości otrzymanej emulsji. W pracy **O2** określono wpływ dodatku CnW (w ilości 0,5-2,0% , tj. 0,1-0,4g/1g polimeru) na stabilność emulsji foliotwórczych zawierających polimery (CMC, OPS, SPI i GEL). W celu ułatwienia powstania jednolitej emulsji „wosk w wodzie” konieczne było zastosowanie dodatku emulgatora Tween[®] 40 (monopalmitynian polioksyetylenosorbitolu). Bez względu na rodzaj polimeru, zwiększenie udziału wosku w emulsji spowodowało wzrost wartości EAI. Przy zastosowaniu 1,0-2,0% dodatku CnW, najmniejsze wartości EAI wykazywała emulsja z CMC, co wskazuje na najslabszą aktywność powierzchniowo-czynną tego polisacharydu. GEL, z uwagi na zdolność szybkiego żelowania, umożliwiła uzyskanie stabilnych emulsji, które tylko w niewielkim stopniu ulegały „śmietankowaniu” ($ESI_{0,5h} \approx 82.1-89.1\%$). W przypadku emulsji zawierających SPI, wraz ze wzrostem stężenia CnW obserwowano wzrost stabilności emulsji, co mogło być spowodowane zmianami reologicznymi emulsji. Wzrost ilości CnW powodował obniżenie stabilności emulsji zawierających polisacharydy. Emulsje otrzymane na bazie CMC były najmniej stabilne - po 10 min od momentu ich przygotowania wartość ESI spadła z 100,0 do 41,6-77,6% (w zależności od stężenia CnW). Wizualizacja cząstek wosku przy użyciu techniki krio-SEM wykazała, że emulsje zawierające CMC charakteryzowały się największą średnicą cząstek fazy lipidowej (~5-20 μm), co może tłumaczyć ich dużą niestabilność. Według prawa Stokes’a szybkość destabilizacji emulsji jest proporcjonalna do kwadratu promienia kuleczek fazy rozproszonej. Maksymalna średnica cząstek CnW w pozostałych emulsjach była mniejsza i wynosiła od <1 μm (układy zawierające białka) do ~1-2 μm (emulsja zawierająca OPS).

AD 1.3. Z emulsji foliotwórczych inkorporowanych różnymi stężeniami CnW otrzymano folie, które porównano pod kątem cech fizykochemicznych. Wyniki badań zamieszczono w pracy **O2**. Fotografie SEM wykazały, że dodatek CnW spowodował zmiany w teksturze powierzchni folii. Największe cząstki lipidowe występowały na powierzchni folii z SPI (max. $\varnothing \approx 20 \mu\text{m}$) i CMC (max. $\varnothing \approx 8 \mu\text{m}$). Średnica cząsteczek CnW w foliach z OPS i GEL była znacznie mniejsza ($\leq 1 \mu\text{m}$). Zaobserwowane różnice najprawdopodobniej odzwierciedlają różną tendencję wosku do koalescencji. Niska lepkość emulsji zawierających SPI i CMC najprawdopodobniej sprzyjała koalescencji i tworzeniu dużych kropeł wosku w rozgrzanej (do 90°C) emulsji foliotwórczej. Z kolei w przypadku polimerów zwiększających lepkość ośrodka dyspersyjnego (OPS i GEL) możliwość koalescencji CnW była najwyraźniej ograniczona.

Z wyjątkiem folii żelatynowej dodatek CnW umożliwił poprawę barierowości folii w stosunku do pary wodnej. Brak efektywnego działania CnW w matrycy żelatynowej związany był najprawdopodobniej z brakiem możliwości separacji faz podczas formowania folii (wysokie wartości ESI). Wyniki wielu badań wskazują, że śmietankowanie fazy lipidowej, zachodzące w niestabilnych emulsjach foliotwórczych, prowadzi do powstania gradientu stężenia lipidu w materiale, tj. wytworzenia dwuwarstwowej struktury, w której odseparowana warstwa lipidowa istotnie zmniejsza

WVP. Najniższy poziom inkorporacji CnW (0,5%) okazał się najefektywniejszy w redukcji WVP - przenikalność folii otrzymanych z OPS, CMC i SPI spadła odpowiednio o 41,6, 34,0 i 11,4% w porównaniu do prób kontrolnych. Dalszy wzrost stężenia wosku spowodował podwyższenie wartości WVP w przypadku folii z CMC i OPS, nie miał natomiast istotnego wpływu na barierowość folii otrzymanych z SPI.

Ogólnie, inkorporacja CnW w skład folii polimerowych spowodowała obniżenie ich wytrzymałości mechanicznej, rozciągliwości i sprężystości. Obecność CnW spowodowała większy spadek wytrzymałości mechanicznej folii polisacharydowych aniżeli folii białkowych. Przykładowo, odporność na przebicie folii polisacharydowych otrzymanych z emulsji zawierających 2,0% wosku, była około 3,5- (CMC) i 2,6-razy (OPS) niższa w porównaniu do folii niezawierających CnW. W przypadku folii z SPI i GEL wartości te były odpowiednio tylko 1,4- i 1,8-razy niższe. Podobne zależności uzyskano stosując test wytrzymałości na zerwanie. Mniejszy spadek wytrzymałości mechanicznej matryc białkowych po inkorporacji CnW był najprawdopodobniej związany z amfifilowym charakterem białek, co umożliwiło ich lepszą adhezję i interakcję z lipidem.

Dodatek CnW modyfikował cechy optyczne folii. Ogólnie, wraz ze wzrostem udziału CnW folie stawały coraz mniej transparentne, prawdopodobnie na skutek rozpraszania światła przez cząstki skryształizowanej fazy lipidowej. Wyjątek stanowiły folie z SPI, w przypadku których 0,5% dodatek CnW przyczynił się do większego spadku przezroczystości aniżeli inkorporacja na poziomie 1,0-1,5%. Jak wykazały pomiary ESI [O2] przyczyn tego zjawiska należy upatrywać w niższej stabilności emulsji z SPI inkorporowanych 0,5% dodatkiem CnW (w porównaniu do układów z większą ilością wosku). Spośród przebadanych folii emulsyjnych najmniej przezroczyste były folie z CMC. Przyczyną mogła być stosunkowo duża wielkość cząsteczek CnW w ww. foliach. Dodatek CnW zmniejszył przepuszczalność światła w zakresie widzialnym, ale jednocześnie poprawił właściwości barierowe folii w stosunku do promieniowania UV. Wraz ze wzrostem dodatku CnW w widmie odbiciowym folii malał udział barwy czerwonej, a zwiększał się udział barwy żółtej, co było spowodowane żółtą barwą wosku. Zmiany w obrębie parametru L^* (jasność) uzależnione były od rodzaju biopolimeru z którego uzyskano folie. Obecność cząsteczek wosku przyspieszyła nukleację plastifikatora w foliach otrzymanych z OPS, SPI i GEL. Folia z CMC, niezależnie od stężenia CnW, nie wykazywała oznak krystalizacji.

Wprowadzenie CnW umożliwiło obniżenie wilgotności folii, jednakże dopiero przy zastosowaniu wyższych poziomów dodatku (1,5-2,0%). Poziom redukcji zawartości wody w foliach uzależniony był od typu matrycy. Przykładowo, w przypadku 1,5% inkorporacji CnW, spadek wilgotności wyniósł 29,9, 13,5, 16,6 i 14,7%, odpowiednio dla folii z CMC, OPS, SPI i GEL. Z wyjątkiem folii z CMC, dodatek CnW obniżył rozpuszczalność folii (o 14,4-27,2% w zależności od typu polimeru). Niezależnie od poziomu inkorporacji, CnW najefektywniej ograniczył rozpuszczalność folii żelatynowej.

Wyniki badań przeprowadzonych w pracy **O2** wykazały, że względnie najlepszymi właściwościami użytkowymi odznaczały się folie polimerowo-woskowe inkorporowane 0,5% dodatkiem CnW. W porównaniu do folii polimerowych posiadały one lepszą barierowość w stosunku do wody i jednocześnie wykazywały najmniej zmienione cechy mechaniczne i optyczne. Dlatego też w dalszych etapach badań [**O3**, **O5**, **O6**] folie te były wykorzystane jako nośnik substancji aktywnych.

AD 2.1. Składniki biologicznie czynne stanowią integralną część ekstraktów, nalewek i wyciągów roślinnych powszechnie stosowanych w celach farmaceutycznych, spożywczych i kosmetycznych. Spośród wielu fitonutraceutyków na szczególną uwagę zasługują związki polifenolowe, które charakteryzuje wielokierunkowa aktywność biologiczna, m.in. przeciwzapalna, przeciwalergiczna, antyhepatotoksyczna, antymutagenna, przeciwnowotworowa i przeciwmiażdżycowa. Ww. aktywności uwarunkowane są w dużej mierze właściwościami przeciwutleniającymi polifenoli. Chmiel należy do unikalnych roślin pod względem zawartości związków możliwych do wykorzystania w wielu dziedzinach przemysłu. Aktualnie polifenole izolowane z szyszek chmielu wprowadzane są na rynki żywności funkcjonalnej, branży leczniczej i terapeutycznej. Zawartość polifenoli w materiale roślinnym zależy nie tylko od odmiany rośliny ale również od metod pozbiorniczego przetwarzania, w tym warunków ekstrakcji, co wykazano w pracy **O1** na przykładzie produktów chmielowych.

Zbadano zawartość związków fenolowych (polifenoli ogółem, flawonoidów i wybranych kwasów fenolowych) oraz aktywność przeciwutleniającą (zdolność przeciwrodnikową wobec ABTS^{*+}, zdolność redukcji Fe(III) (FRAP), zdolność chelatowania Fe(II)) wodnych, wodno-metanolowych (50% v/v) i wodno-etanolowych (50% v/v) ekstraktów dwóch odmian chmielu: Magnum i Marynka, dostępnych na rynku w formie szyszek i granulatów typ 45 i typ 90. Badania wykazały, że wyciągi wodno-alkoholowe odznaczały się wyższą zawartością polifenoli ogółem (TPC) (38,7-73,5 mg/g) i flawonoidów (TFC) (2,7-16,5 mg/g) w porównaniu do wyciągów wodnych (TPC: 16,2-25,6 mg/g, TFC: 1,1-2,2 mg/g). Zastąpienie części wody alkoholem umożliwiło uzyskanie ekstraktów o około dwukrotnie większym potencjale przeciwutleniającym. Najskuteczniejszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji flawonoidów okazał się 50% etanol. Z kolei analiza HPLC wykazała, że ekstrakty wodno-metanolowe były lepszym źródłem kwasu chlorogenowego. Nie zaobserwowano istotnych różnic w TPC i TFC pomiędzy ekstraktami z szyszek i granulatów, gdy czynnikiem ekstrahującym była woda. Niezależnie od odmiany, ekstrakty wodno-etanolowe otrzymane z granulatu typ 45, charakteryzowały się wyższą TFC aniżeli ekstrakty z granulatu typ 90. Zależności takiej nie obserwowano w przypadku ekstraktów wodnych i wodno-metanolowych. Ekstrakcja przy użyciu wody ujawniła, że szyszki i granulaty odm. Marynka posiadały wyższą TPC niż produkty otrzymane z odm. Magnum, co skutkowało ich większą aktywnością przeciwrodnikową oraz wyższą FRAP. Ekstrakty wodno-alkoholowe, niezależnie od typu alkoholu i testowanego produktu, nie różniły się istotnie pod względem właściwości przeciwutleniających. Analiza korelacji przeprowadzona sumarycznie dla wszystkich uzyskanych ekstraktów wykazała istnienie silnej oraz umiarkowanej

zależności, odpowiednio pomiędzy właściwościami przeciwutleniającymi a TPC i TFC. Odrębne analizy przeprowadzone dla poszczególnych typów ekstraktów wykazały istotną korelację jedynie pomiędzy TPC i zdolnością przeciwrodnikową oraz TPC i FRAP.

Reasumując wykazano, że etanolowe ekstrakty chmielowe, z uwagi na wysoką zawartość flawonoidów, właściwości przeciwutleniające oraz nietoksyczność, mogą być rekomendowane jako aktywny składnik folii jadalnych. Mając na względzie wysoką jakość komercyjnych ekstraktów roślinnych oraz powtarzalność wyników badań w dalszej pracy [O6] wykorzystano etanolowy ekstrakt z szyszek chmielu firmy Hopsteiner – międzynarodowego producenta przetworów chmielowych, z którym nawiązałem współpracę naukową mającą na celu intensyfikację wykorzystania ekstraktów chmielowych oraz izolowanych z nich fitonutraceutyków w dziedzinach przemysłu innych niż browarnictwo.

AD 2.2. Zbadano właściwości fizykochemiczne folii polimerowo-woskowych inkorporowanych EHE w ilości 0,1, 0,25 i 0,50% (tj. 0,02-0,10g/1g polimeru). Wyniki analiz przedstawiono w pracy **O6**. Inkorporacja EHE zwiększyła WVP folii polisacharydowych, nie miała zaś wpływu ($p > 0,05$) na WVP folii białkowych. Zróżnicowane działanie ekstraktu w matrycach mogło być spowodowane zmianami w dystrybucji fazy lipidowej w foliach na skutek inkorporacji składnika aktywnego. Analiza SEM wykazała, że dodatek EHE do folii z CMC spowodował zwiększenie rozmiarów cząsteczek CnW z 15-35 do 100-120 μm . W konsekwencji para wodna mogła łatwiej dyfundować pomiędzy rzadziej rozmieszczonymi kryształami wosku. Spośród otrzymanych materiałów folie CMC-EHE posiadały najslabsze właściwości barierowe w stosunku do pary wodnej. Wprowadzenie EHE spowodowało również zmiany w dystrybucji wosku w folii skrobiowej. Wzrost WVP, zaobserwowany po dodaniu EHE, mógł być również spowodowany zaburzeniem przez ekstrakt upakowania łańcuchów polisacharydów, czego wynikiem była mniej usieciowana i bardziej przepuszczalna matryca polimerowa. W odróżnieniu od folii polisacharydowych, EHE poprawił zdyspergowanie fazy lipidowej w foliach białkowych. Zmniejszenie rozmiarów cząsteczek CnW nie było jednak przyczyną zmian w barierowości folii. Fakt, iż w odróżnieniu od folii polisacharydowych EHE nie spowodował wzrostu WVP folii białkowych mógł być związany z amfifilowym charakterem białek, sprzyjającym powstawaniu homogennego układu białkowo-lipidowego.

Wprowadzenie EHE w skład folii z GEL i CMC istotnie obniżyło ich wytrzymałość mechaniczną, podczas gdy nie zmieniło wytrzymałości folii z OPS i SPI. Przyczyn odmiennego wpływu EHE na cechy tekstualne folii należy upatrywać w interakcji EHE z polimerami. GEL i celuloza zawdzięczają swoją dobrą wytrzymałość mechaniczną licznym między- i wśrodcząsteczkowym wiązaniom wodorowym, warunkującym gęste i uporządkowane upakowanie łańcuchów polimerowych w przestrzeni. Możliwe jest, że w przypadku ww. polimerów inkorporacja EHE ograniczyła zbliżenie makrocząsteczek i tym samym powstawanie silnych wiązań pomiędzy łańcuchami. OPS i SPI to mieszaniny polimerów o różnej masie cząsteczkowej (i budowie) o teoretycznie mniejszych możliwościach kohezji w porównaniu do CMC i GEL. Mniej uporządkowana

budowa przestrzenna tych polimerów najwyraźniej sprawiła, że ich przestrzenna konfiguracja była mniej wrażliwa na obecność EHE. Dodatek EHE nie miał istotnego wpływu na rozciągliwość folii, jednakże w większości przypadków (oprócz folii z SPI) obserwowano spadek ich elastyczności.

Z wyjątkiem folii z CMC, która uległa szybkiemu rozpuszczeniu w kontakcie z wodą, inkorporacja EHE zmniejszyła podatność folii na rozpuszczanie, najprawdopodobniej na skutek kleistej konsystencji ekstraktu, przyczyniającej się do wzrostu sił spójności wewnętrznej w foliach. Folia otrzymana z OPS wykazywała znacznie mniejszą zdolność pęcznienia (126,3%) aniżeli folia z GEL (1306,1%). Z uwagi na szybką rozpuszczalność/dezintegrację w wodzie niemożliwe było określenie zdolności pęcznienia folii z CMC i SPI. Wzrost zawartości EHE spowodował istotny wzrost wodochłonności folii z GEL, przypuszczalnie na skutek wytworzenia mniej upakowanej struktury, w której woda była immobilizowana w porach żelu. EHE nie miał wpływu na pęcznienie folii z OPS.

Wraz ze wzrostem zawartości EHE folie stawały się coraz bardziej ciemne, zielone i żółte. Folie z SPI w najmniejszym stopniu posiadały zieloną barwę, co spowodowane było zamaskowaniem barwy chlorofilu przez żółte pigmenty obecne w SPI. Wprowadzenie EHE w skład folii polisacharydowych na ogół zmniejszyło przepuszczalność światła widzialnego. Folie inkorporowane EHE dobrze absorbowały promieniowanie przy $\lambda \approx 650$ nm (maksimum absorpcji dla chlorofilu). Folie otrzymane z OPS charakteryzowały się najslabiej zarysowanymi pikami chlorofilu, co najprawdopodobniej było spowodowane ich niskim pH (4,0-4,7), sprzyjającym procesowi degradacji chlorofilu (feofitynizacji). Z uwagi na obecność w ekstrakcie chromoforów absorbujących promieniowanie UV (m.in. żywie chmielowych), folie inkorporowane EHE, w porównaniu do folii kontrolnych, odznaczały się lepszą barierowością w zakresie światła <400 nm. Wraz ze wzrostem zawartości EHE folie polisacharydowe stawały się coraz mniej przezroczyste. W przypadku folii z SPI dodatek EHE zwiększył ich niską przejrzystość, najprawdopodobniej na skutek poprawy stopnia zemulgowania wosku w polimerowej strukturze folii, co wykazały wyniki analizy topografii folii. EHE nie zmienił przezroczystości folii żelatynowej.

Przemysłowo produkowany kwas L-askorbinowy wytwarzany jest z glukozy, stąd też niski koszt produkcji w połączeniu z aktywnością biologiczną i zdolnością pochłaniania tlenu sprawiają, że AA może stanowić idealny składnik opakowań o działaniu przeciwutleniającym. W celu uzyskania aktywnych materiałów opakowaniowych folie polimerowo-woskowe inkorporowano AA w ilości 0,5, 1,0 i 2,0% (tj. 0,1-0,4g/1g polimeru). Wpływ AA na wybrane właściwości fizykochemiczne omówiono w pracy **O5**. Z uwagi na fakt, że AA posiada właściwości higroskopijne, wzrost jego udziału skutkował stopniowym wzrostem wilgotności folii. Rozpuszczalność folii otrzymanych z OPS i GEL stopniowo wzrastała wraz ze wzrostem stężenia AA. Najprawdopodobniej związane było to ze zwiększającym się udziałem łatwo rozpuszczalnej frakcji w składzie folii. W przypadku folii z OPS możliwe jest także, że obecność AA przyczyniała się do hydrolizy wiązań glikozydowych, co w efekcie zmniejszyło masę cząsteczkową skrobi i tym samym zwiększyło jej podatność na

rozpuszczanie. Odmianą tendencję, tj. spadek rozpuszczalności wraz ze wzrostem stężenia AA, zaobserwowano dla folii z SPI. Przyczyn tego zjawiska należy upatrywać w stopniowo zmniejszającej się rozpuszczalności białek na skutek zakwaszania folii przez wzrastający udział AA (przesunięcie pH w kierunku pI białek). Możliwe także, że AA w wyniku interakcji z białkami soi (reakcja Maillarda) przyczynił się do zwiększenia usieciowania matrycy białkowej, co w efekcie poprawiło wodoodporność folii. Folie z CMC, niezależnie od zawartości AA, były szybko i całkowicie rozpuszczalne w wodzie. Wprowadzenie AA spowodowało zwiększenie zdolności hydratacyjnych folii otrzymanych z OPS i GEL, przypuszczalnie na skutek wzrostu porowatości matrycy (mniejszego upakowania sieci polimerowej).

Zaobserwowano, że folie o niższym pH (OPS i GEL) ulegały wolniejszemu brązowieniu w porównaniu do materiałów o wyższym pH (CMC i SPI). Największe zmiany w barwie w trakcie jednomiesięcznego przechowywania zaobserwowano dla folii z SPI, co było prawdopodobnie wynikiem interakcji białek z śladowymi ilościami cukrów obecnych w składzie SPI, jak również z produktami rozpadu AA (reakcja Maillarda). Dodatek AA zwiększył nieprzezroczystość folii otrzymanych z OPS i GEL, z kolei odwrotny efekt obserwowano w przypadku folii z CMC i SPI. Zjawisko to mogło być związane z ewentualnym wpływem AA na stabilność fazy woskowej w emulsjach foliotwórczych. Wprowadzenie AA w skład folii polimerowo-woskowych obniżyło ich wytrzymałość mechaniczną oraz sprężystość. Zmiany te miały charakter liniowy, tj. ze wzrostem stężenia AA obserwowano stopniowy spadek mierzonych wartości. Najprawdopodobniej przyczyną była coraz większa zawartość wody w foliach, jak również zaburzenie oddziaływań typu polimer-polimer przez rozproszone w matrycy cząsteczki AA. AA w największym stopniu zmodyfikował cechy mechaniczne folii z OPS. Test odporności na przebicie wykazał, że folie z OPS inkorporowane 2,0% dodatkiem AA, w porównaniu do próby kontrolnej (folie bez dodatku AA), miały o 75% niższą wytrzymałość mechaniczną. Natomiast w przypadku pozostałych folii spadek wytrzymałości na przebicie wynosił 29-53%. Charakter zmian rozciągliwości folii po inkorporacji AA uzależniony był od rodzaju polimeru. Obserwowano zarówno wzrost podatności na rozciąganie (CMC i SPI) jak i spadek tej cechy (OPS). Dodatek AA nie zmienił rozciągliwości folii z GEL. Wprowadzenie AA w skład folii z CMC spowodowało znaczną poprawę ich właściwości barierowych w stosunku do pary wodnej. Podobny efekt obserwowano po 2,0% inkorporacji AA w skład folii z OPS. Inkorporacja AA nie spowodowała natomiast zmian w WVP folii białkowych.

AD 2.3. Określono kinetykę uwalniania EHE i AA z folii polimerowo-woskowych [O5, O6]. Płynem modelowym symulującym żywność o wysokiej a_w była woda. Stopień uwalniania EHE oszacowano pośrednio na podstawie przyrostu TPC w płynie akceptorowym. Wykazano, że stopień migracji ww. składników w dużej mierze uzależniony był od rozpuszczalności folii oraz ich zdolności do absorbowania wody (pęcznienia). Folie otrzymane na bazie CMC i SPI odznaczały się szybszym uwalnianiem substancji aktywnych w porównaniu do folii z OPS i GEL, które najprawdopodobniej dzięki zdolności formowania lepkiego żelu w kontakcie z wodą, spowalniały dyfuzję i zabezpieczały

przed zbyt szybkim wymywaniem przeciwutleniaczy z matrycy. Stopień migracji substancji aktywnych z folii otrzymanej na bazie GEL był najmniejszy, co wskazuje że poprzez zastosowanie matrycy żelatynowej możliwe jest kontrolowane uwalnianie przeciwutleniaczy do żywności. Najszybsze uwalnianie zapewniała folia z CMC, co związane było z jej szybką dezintegracją w wodzie. Zarówno w przypadku EHE, jaki i AA wzrost ich zawartości w składzie folii powodował zwiększenie stopnia uwalniania.

Zbadano właściwości przeciwutleniające folii polimerowo-woskowych inkorporowanych EHE. Wyniki analiz zamieszczono w pracy **O6**. Spośród folii kontrolnych najwyższą zdolność redukcji wykazywała folia z SPI (~1,5-razy większą w porównaniu do pozostałych materiałów). Folie inkorporowane EHE otrzymane z CMC i SPI, wykazywały wyższą FRAP w porównaniu do folii uzyskanych z OPS i GEL. Wykazano, że siła redukcji badanych folii była wysoce dodatnio skorelowana ze zdolnością folii do uwalniania EHE ($r^2=0,96$), która z kolei była związana z rozpuszczalnością lub zdolnością pęcznienia polimerów w wodzie. Folie kontrolne otrzymane z SPI, w odróżnieniu od pozostałych folii, wykazywały zdolność chelatowania jonów Fe(II) ($0,95 \mu\text{g EDTA}/\text{cm}^2$). Związane jest to z możliwością kompleksowania jonów metali przez liczne reszty funkcyjne białek. Jony żelaza są głównie wiązane przez grupy tiolowe cysteiny [Yamashita i wsp., 1990]. Ekstrakty folii kontrolnych z GEL nie wykazywały zdolności chelatowania, co najprawdopodobniej związane było z faktem, że GEL nie rozpuszcza się w wodzie o temperaturze pokojowej. Wraz ze wzrostem zawartości EHE w foliach obserwowano ich intensywniejszą zdolność chelatowania. Analiza przeprowadzona dla czterech typów nośników jednocześnie wykazała słabą zależność pomiędzy chelatowaniem a stopniem uwalniania EHE ($r^2=0,52$), jednakże wyniki analiz cząstkowych przeprowadzonych dla poszczególnych matryc ujawniły wysokie i bardzo wysokie skorelowanie cech ($r^2=0,78-0,96$). Polisacharydowe folie kontrolne wykazywały nieznaczną aktywność przeciwrodnikową oznaczoną poprzez bezpośredni kontakt materiału z roztworem wolnego rodnika (~5%). Z kolei folie z SPI i GEL neutralizowały odpowiednio 100 i 30% ABTS^{*+} (po 10 min reakcji). Właściwości przeciwrodnikowe ww. folii tłumaczyć można możliwością międzycząsteczkowego przeniesienia elektronu z niektórych aminokwasów na wolny rodnik. Folie z SPI były bardziej podatne na rozpuszczanie niż folie z GEL, dlatego charakteryzowała je większa aktywność. Z reguły wzrost stężenia EHE powodował wzrost aktywności przeciwrodnikowej. Jedynie w przypadku folii z CMC, przy wyższym poziomie inkorporacji (0,25-0,50%), nie obserwowano istotnych różnic w aktywności, co wytłumaczyć można wysyceniem układu pomiarowego substancją aktywną (100% neutralizacja ABTS^{*+}). Podobnie jak w przypadku FRAP, folie aktywowane EHE otrzymane z CMC i SPI miały wyższą zdolność neutralizowania wolnych rodników aniżeli folie z OPS i GEL.

Wiele, jeśli nie wszystkie właściwości biologiczne AA są związane z jego właściwościami redox. Jak wykazano w pracy **O5** folie otrzymane z CMC i SPI wykazywały wyższą FRAP aniżeli folie uzyskane z OPS i GEL. Podobnie jak w przypadku folii inkorporowanych EHE, obserwowane

różnice przede wszystkim odzwierciedlają zdolność folii do uwalniania AA, wykazano bowiem istnienie wysokiej dodatniej korelacji ($r^2=0,92$) pomiędzy stężeniem AA w płynie akceptorowym a FRAP. Folia żelatynowa, z uwagi na znaczne pęcznienie w wodzie, najwolniej uwalniała AA i posiadała najniższą siłę redukcji. AA był najmniej stabilny w folii żelatynowej, co również mogło przyczynić się do niskiej aktywności przeciwutleniającej. Folie bez dodatku AA wykazywały nieznaczną zdolność neutralizowania ABTS^{•+} ($\sim 0,08 \mu\text{g Trolox}/\text{cm}^2$), która przy maksymalnym poziomie inkorporacji AA (2,0%) wzrosła 12-16-krotnie. Podobnie jak w przypadku FRAP, aktywność przeciwrodnikowa i stężenie AA w płynie akceptorowym były dodatnio skorelowane ($r^2=0,91$). Folie kontrolne otrzymane z CMC, OPS i GEL w niewielkim stopniu przeciwdziały utlenianiu kwasu linolowego w układzie modelowym (3,4-5,9%). Z kolei folia z SPI zapewniała znacznie wyższy stopień inhibicji peroksydacji (32,3%), co tłumaczyć można dobrą rozpuszczalnością folii oraz właściwościami przeciwutleniającymi i powierzchniowo-czynnymi białek soi. 0,5% dodatek AA zwiększył potencjał antyperoksydacyjny folii, a w szczególności materiałów z niską aktywnością początkową. Zaobserwowano, że przy wyższym stopniu inkorporacji (1,0-2,0%) folie nie różniły się pod względem aktywności peroksydacyjnej, co związane było z wysyceniem układu pomiarowego AA (1% dodatek AA był wystarczający do zapewnienia maksymalnej ochrony antyoksydacyjnej na poziomie $\sim 70\%$).

Zbadano kinetykę degradacji AA w foliach w czasie ich dwutygodniowego przechowywania [O5]. Rzędowość reakcji ustalono metodą graficzną. Przeprowadzono analizę regresji liniowej dla ubytku AA w czasie przechowywania dla reakcji rzędów zerowego, pierwszego i drugiego. Najlepsze dopasowanie ustalono na podstawie współczynnika determinacji (r^2) i średniej kwadratowej błędów (RMSE). Prawdopodobnie z uwagi na dużą złożoność procesów powodujących degradację AA ww. modele słabo lub umiarkowanie dobrze opisywały rozkład AA w matrycach ($r^2=0,21-0,72$). Stała szybkości rozkładu AA (k_{AA}), obliczona na podstawie krzywych kinetycznych reakcji pierwszego rzędu zawierała się w przedziale $0,01-0,49 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. Zastosowane nośniki hamowały rozkład AA w następującej kolejności: OPS > SPI > CMC > GEL. Folia z OPS zapewniła największą stabilność AA, co najprawdopodobniej spowodowane było jej niskim pH (2,7-4,8) oraz niską zawartością wody (6,9-8,7%). Stężenie jonów wodorowych decyduje o obecności różnych form jonowych AA, różniących się podatnością na degradację oksydacyjną. Uprotonowana forma (AH_2), która występuje przy niskim pH, jest dość stabilna. W miarę jak pH zbliża się do pK_{a1} AA (4,04) stabilność spada. Z kolei duża zawartość wody w materiale powoduje wzrost stężenia rozpuszczonego tlenu, zwiększa rozpuszczalność i mobilność czynników o działaniu prooksydacyjnym, a także przyczynia się do pęcznienia matrycy i ekspozycji nowych centrów katalitycznych. Większa zawartość wody sprzyja ponadto nieodwracalnej hydrolitycznej degradacji kwasu dehydroaskorbinowego do kwasu 2,3-diketogulonowego – związku biologicznie nieaktywnego. Folie z SPI posiadały mniejszą zawartość wody aniżeli folie z CMC i GEL, co także może tłumaczyć ich stosunkowo dobre działanie ochronne w stosunku do AA. Ponadto folie z SPI charakteryzuje stosunkowo niska przepuszczalność tlenu

[Krochta, 2002; McHugh i Krochta, 1994]. Z uwagi na fakt, że w prezentowanej pracy folie przechowywane były w warunkach otoczenia, można przypuszczać że właściwości barierowe polimerów w stosunku do tlenu również odegrały istotną rolę w stabilizacji AA. Wraz ze wzrostem stężenia AA obserwowano spowolnienie tempa jego degradacji, co było związane z wzrastającym zakwaszeniem folii, sprzyjającym stabilizacji AA.

AD 3.1. Oznaczono MIC oraz minimalne stężenie bakteriobójcze/grzybobójcze (MBC/MFC) KS i CHL względem czterech bakterii i czterech grzybów strzępkowych wpływających na jakość higieniczną i handlową owoców i warzyw. Wartość MIC określa najmniejsze stężenie preparatu hamujące wzrost drobnoustroju w hodowli płynnej (podczas gdy po usunięciu substancji czynnej lub po przeniesieniu mikroorganizmu będzie on w stanie rozwijać na pożywce zestalonej). Z kolei najmniejsze stężenie preparatu w hodowli płynnej, przy którym drobnoustrój nie wykazuje wzrostu po przeniesieniu na pożywkę zestaloną określa minimalne stężenie bójcze preparatu.

Wartości MIC oraz MBC/MFC dla KS zamieszczono w pracy **O3**. Pomiary OD₆₀₀ wykazały, że wzrost *Staphylococcus aureus* w pożywkach zawierających KS był stosunkowo dobry, choć w miarę wzrostu stężenia KS obserwowano coraz słabszy rozwój tej bakterii. Pomimo tego, w badanym zakresie stężeń (1,0-20,0 mg/ml), nie osiągnięto całkowitego efektu hamującego (MIC >20,0 mg/ml). Po wysiewie na podłoże stałe kolonie gronkowca pojawiały się niezależnie od zastosowanego stężenia substancji aktywnej. Wykazano zatem, że w warunkach testu *Staphylococcus aureus* był stosunkowo odporny na działanie KS. KS działał ograniczająco na szybkość wzrostu *Escherichia coli*. Przy zastosowaniu stężenia 7,0 mg/ml wzrost bakterii był około 10-krotnie wolniejszy w porównaniu do kontroli (pożywka bez dodatku KS). Po zwiększeniu stężenia do 10,0 mg/ml praktycznie nie obserwowano wzrostu *Escherichia coli* w bulionie, jednakże na podstawie obserwacji znikomego wzrostu kolonii na płytce Petriego, MBC oznaczono na poziomie 12,0 mg/ml. Wzrost bakterii *Pectobacterium carotovorum* (synonim *Erwinia carotovora*) był ograniczony już w zakresie stężeń 1,0-3,0 mg/ml. Począwszy od stężenia 4,0 mg/ml wzrost był niezauważalny (MIC = 4,0 mg/ml), lecz po przeniesieniu bakterii na płytki z podłożem stałym rozwoju kolonii nie zaobserwowano dopiero przy stężeniu 7 mg/ml. Bakterie *Bacillus cereus* również charakteryzowały się ograniczonym wzrostem w zakresie stężeń 1,0-6,0 mg/ml i nie wzrastały w bulionie zawierającym 7,0 mg KS/ml. *Bacillus cereus* znany jest z zdolności tworzenia przetrwalników w niesprzyjających warunkach, stąd MBC dla tej bakterii oznaczono na poziomie 16,0 mg/ml.

Wśród grzybów strzępkowych, *Rhizopus nigricans* był najbardziej odporny na działanie KS. Przy stężeniu KS 1,0-7,0 mg/ml obserwowano wzrost grzyba w bulionie słodowym, natomiast w zakresie 8,0-20,0 mg/ml grzybnia się nie rozwijała, mimo to na płytkach Petriego obserwowano wzrost kolonii (słabszy w porównaniu do kontroli), aż do stężenia 16,0 mg KS/ml. Grzyb *Alternaria alternata* nie rozwijał się w bulionie zawierającym 3,0 mg KS/ml (i powyżej). Natomiast na podłożu stałym kolonie grzyba nie rozwijały się dopiero przy stężeniu 4,0 mg/ml. *Botrytis cinerea* i *Monilinia fructigena* były stosunkowo wrażliwe na KS (MIC i MFC = 0,2 mg/ml). Podsumowując wykazano, że

wolno namnażające się grzyby (*Botrytis cinerea* i *Monilinia fructigena*) były bardziej podatne na działanie KS niż grzyby charakteryzujące się stosunkowo szybkim wzrostem (*Rhizopus nigricans* i *Alternaria alternata*).

Wartości MIC oraz MBC/MFC dla CHL zamieszczono w pracy **O4**. *Staphylococcus aureus* był bardzo wrażliwy na działanie CHL; już przy stężeniu 0,3 mg/ml nie obserwowano wzrostu bakterii zarówno w bulionie, jak i na podłożu stałym (MIC = 0,2 i MBC = 0,3 mg/ml). *Escherichia coli* charakteryzowała się bardzo słabym wzrostem w obecności CHL, ale dopiero stężenie 4,0 mg/ml całkowicie uniemożliwiło wzrost tej bakterii. *Pectobacterium carotovorum* nie rozwijał się w pożywce zawierającej 3,5 mg CHL/ml, jednakże wyższe stężenie było potrzebne aby zahamować wzrost bakterii na płytkach Petriego (MBC = 5,5 mg/ml). *Bacillus cereus* praktycznie nie rozwijał się w zakresie stężeń 0,5-10,0 mg/ml. Po przesianiu bakterii na agar odżywczy kolonie nie wzrastały dopiero przy stężeniu CHL powyżej 9,5 mg/ml. Stosunkowo wysoka oporność (wysokie MBC) *Botrytis cereus* na CHL związana była z możliwością tworzenia przetrwalników w niesprzyjających warunkach. Podsumowując - na podstawie wartości MIC wykazano, że bakterie Gram-dodatnie (*Staphylococcus aureus* i *Botrytis cereus*) były bardziej wrażliwe na działanie CHL niż bakterie Gram-ujemnie (*Pectobacterium carotovorum* i *Escherichia coli*).

Wśród badanych grzybów, *Rhizopus nigricans* był najbardziej odporny na CHL (MIC i MFC >10,0 mg/ml). *Alternaria alternata* nie wzrastała przy stężeniu 4,5 mg CHL/ml, ale rozwój grzybni na płytkach Petriego obserwowano aż do stężenia 5,0 mg/ml. *Botrytis cinerea* i *Monilinia fructigena* były najbardziej wrażliwe na CHL, ich wzrost był hamowany przy stężeniu odpowiednio 1,5 i 2,0 mg/ml.

AD 3.2. W celu uzyskania aktywnych materiałów opakowaniowych, folie polimerowo-woskowe wzbogacono dodatkiem KS na czterech poziomach inkorporacji: 1,0; 2,0; 3,0 i 4,0% (tj. 0,2-0,8g/1g polimeru). Wpływ KS na właściwości fizyko-chemiczne folii otrzymanych na bazie CMC, OPS, SPI i GEL opisano w pracy **O3**. Z wyjątkiem folii otrzymanych z CMC, wraz ze wzrostem stężenia KS folie stawały się coraz bardziej kleiste, co utrudniało ich badanie. Znaczna lepkość folii żelatynowej inkorporowanej 4,0% dodatkiem KS całkowicie uniemożliwiła jej analizę. Z wyjątkiem folii żelatynowej stopniowy wzrost stężenia KS skutkował stopniowym spadkiem właściwości barierowych folii w stosunku do pary wodnej. Najprawdopodobniej związane było to z silnym hydrofilowym charakterem KS i/lub zmniejszeniem gęstości upakowania łańcuchów polimerowych poprzez obecność cząsteczek KS. Na uwagę zasługuje fakt, iż folie z SPI, które były najbardziej hydrofilowe (tj. posiadały największą wilgotność), charakteryzowały się największymi wartościami WVP. Z kolei w przypadku folii z GEL pomimo, że dodatek KS zwiększył zdolność absorpcji pary wodnej (wzrost wilgotności folii), WVP zmniejszyła się ($p < 0,05$). Zjawisko to mogło być związane z absorbowaniem pary wodnej, która zamiast migrować poprzez badany materiał była przez niego zatrzymywana (wchłaniana). Możliwe także, że KS spowodował destabilizację żelatynowych emulsji, co z kolei przyczyniło się do utworzenia dwuwarstwowej struktury o zwiększonych właściwościach zaporowych w stosunku do pary wodnej. Z wyjątkiem folii z CMC, stopniowy wzrost stężenia KS

spowodował stopniowy wzrost ich wilgotności oraz rozpuszczalności w wodzie. Największy, ponad dwukrotny, przyrost zawartości wody zaobserwowano w przypadku folii z SPI inkorporowanej 4,0% dodatkiem KS. Folie otrzymane na bazie CMC były całkowicie rozpuszczalne w wodzie. Wzrost stężenia KS powodował stopniowy spadek wytrzymałości mechanicznej i elastyczności folii. Wprowadzenie KS w skład folii białkowych znacznie zwiększyło ich podatność na rozciąganie - 3,0% dodatek KS spowodował około 4-krotny wzrost rozciągliwości folii z SPI i ponad 10-krotny folii z GEL. Już 1,0% dodatek KS zwiększył rozciągliwość folii z OPS, natomiast dalszy wzrost stężenia powodował spadek wydłużenia względnego. KS nie wpłynął natomiast na rozciągliwość folii z CMC ($p > 0.05$), co częściowo mogło być związane z ich niezmienną (tj. nie zwiększoną) wilgotnością. Dodatek KS zwiększył zdolności barierowe folii w stosunku do promieniowania UV, co nie jest zaskoczeniem, gdyż detekcja UV jest wykorzystywana do ilościowego oznaczania tego związku. W przypadku folii otrzymywanych z polisacharydów i GEL, stopniowy wzrost stężenia KS spowodował także obniżenie przepuszczalności światła w zakresie promieniowania widzialnego. Przy wzroście stężenia KS następował na ogół liniowy spadek przezroczystości folii, prawdopodobnie na skutek coraz większego rozpraszania promieniowania na cząsteczkach KS lub cząsteczkach zdestabilizowanej fazy lipidowej. Wyjątek stanowiły folie z SPI, w przypadku których dodatek KS spowodował zarówno zwiększenie (1,0-3,0% poziom inkorporacji) jak i obniżenie przezroczystości (4,0% dodatek). Wzrost przezroczystości folii z SPI wynikał najprawdopodobniej ze zwiększenia stopnia zdyspergowania CnW w polimerowej matrycy. Wykazano, że dodatek KS zapobiegł krystalizacji plastyfikatora w czasie przechowywania folii, co najprawdopodobniej było spowodowane wzrostem ich wilgotności.

W celu uzyskania kolejnych aktywnych materiałów, roztwory foliotwórcze inkorporowano CHL. W toku badań wstępnych obserwacje wizualne wykazały brak kompatybilności pomiędzy CHL a CMC i CHL a SPI. Utworzenie nierozpuszczalnych agregatów ww. polimerów powodowało otrzymanie folii z wadami w postaci nierówności, licznych grudek i pęknięć. Fotografie krio-SEM zaprezentowane w pracy **O4** wykazały natomiast pełną mieszalność CHL z OPS i GEL, przy czym konieczna okazała się zamiana skrobi (stosowanej w poprzednich badaniach: LU-1404-2 produkcji WPPZ S.A. Luboń) na preparat o wyższym stopniu utlenienia (LU-1404-3), co pozwoliło uzyskać roztwory o niższej lepkości, a w konsekwencji o zadawalających cechach użytkowych. Analiza widm ATR-FTIR ujawniła występowanie interakcji pomiędzy CHL i polimerami. Interakcje te występowały pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami aminowymi chitozanu i grupami hydroksylowymi polimerów (przesunięcia poszczególnych pasm absorpcyjnych). W folii CHL50/GEL50 występowały także interakcje pomiędzy grupami karbonyłowymi CHL i aminowymi GEL (zanik charakterystycznego pasma CHL przy 1717 cm^{-1}). Badania SEM, w połączeniu z ATR-FTIR wykazały, że silniejsze interakcje występowały pomiędzy CHL i GEL aniżeli CHL i OPS. Nieopublikowane wyniki badań wstępnych wykazały, że inkorporacja CHL w skład emulsji woskowych zawierających OPS i GEL spowodowała ich destabilizację. Na skutek szybkiego

rozdziału faz otrzymane folie były niejednorodne, co dyskwalifikowało je jako materiał opakowaniowy. W konsekwencji CHL inkorporowano w roztwory nie zawierające CnW.

Folie otrzymywano z 5,0% roztworów polimerów (OPS, GEL i CHL) oraz ich mieszanin (CHL/OPS lub CHL/GEL) w stosunku 50/50, uplastycznianych sorbitolem. Uzyskane wyniki omówiono w pracy **O4**. Wykazano, że dodatek CHL spowodował wzrost WVP, wilgotności i rozpuszczalności folii. Wartości WVP folii CHL/OPS i CHL/GEL były stosunkowo zbliżone. Folie CHL/GEL, w porównaniu z foliami CHL/OPS, wykazywały nieznacznie większą wilgotność oraz lepszą rozpuszczalność w wodzie. Dodatek CHL spowodował spadek wytrzymałości mechanicznej i sprężystości folii. Przyczyn tego zjawiska należy upatrywać w niskiej wytrzymałości mechanicznej komponentu chitozanowego oraz we wzroście zawartości wody w foliach. Folia CHL/GEL charakteryzowała się lepszą wytrzymałością mechaniczną w porównaniu do folii CHL/OPS. Inkorporacja CHL zwiększyła rozciągliwość folii z OPS, nie miała natomiast wpływu na wydłużenie folii chitozanowo-żelatynowej. Dodatek CHL nie miał istotnego wpływu na przezroczystość badanych folii, jednakże folie inkorporowane CHL przepuszczały mniej promieniowania UV, co można wytłumaczyć faktem, że monomery chitozanu (N-cetyloglukozoamina i glukozoamina) absorbują tzw. daleki UV. Inkorporacja CHL w skład folii z GEL i OPS, odpowiednio zapobiegła rekryształizacji plastyfikatora lub ją opóźniła.

AD 3.3. Zbadano właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze folii polimerowo-woskowych (otrzymanych na bazie CMC, OPS, SPI i GEL) inkorporowanych KS. Właściwości przeciwmikrobiologiczne wobec bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pectobacterium carotovorum* oraz grzybów: *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria alternata* testowano metodą dyfuzyjno-krażkową. Wyniki badań zamieszczono w pracy **O3**. Folie kontrolne (bez dodatku KS) nie wykazywały właściwości przeciwmikrobiologicznych. Obserwowano natomiast, że wraz ze wzrostem stężenia KS strefy inhibicji wzrostu drobnoustrojów wokół próbek folii zwiększały się. Z reguły zwiększenie stężenia KS z 1,0 do 4,0% pozwoliło uzyskać kilkakrotnie większe strefy inhibicji. Bakterie *Staphylococcus aureus* charakteryzowały się największą opornością na KS zawarty w foliach, co potwierdziło wyniki badań MIC. Z kolei *Bacillus cereus* i *Escherichia. coli* były stosunkowo wrażliwe na działanie folii. Działanie przeciwmikrobiologiczne było również uzależnione od rodzaju użytego nośnika. Stosunkowo najslabszą aktywność wykazywały folie z SPI, szczególnie przy niskich poziomach inkorporacji KS. Przyczyną mogły być interakcje pomiędzy KS a licznymi grupami funkcyjnymi białek sojowych. Fizykochemiczne związanie KS w matrycy polimerowej może tłumaczyć stosunkowo wysokie poziomy inkorporacji (w porównaniu do wartości MIC lub MBC/MFC) potrzebne w celu indukcji działania przeciwmikrobiologicznego folii. Bakteria *Monilinia fructigena* była bardzo wrażliwa na działanie folii zawierających KS; przy 4,0% poziomie dodatku KS strefy inhibicji wzrostu wynosiły 24,3-27,0 mm (w zależności od rodzaju matrycy). Wykazano, że folie inkorporowane KS były bardziej efektywne w stosunku do grzybów charakteryzujących się

wolniejszym wzrostem (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena*). Stosunkowo szybko rosnący *Rhizopus nigricans* wykazywał zdolności adaptacyjne w stosunku do KS, tj. wraz z upływem czasu trwania hodowli strefy zahamowania wzrostu zmniejszały się.

Zbadano właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze folii otrzymanych z 5,0% roztworów polimerów (OPS, GEL i CHL) oraz ich mieszanin (CHL/OPS i CHL/GEL) w stosunku 50/50. Wyniki badań zamieszczono w pracy **O4**. Wykazano, że wśród badanych folii jedynie te uzyskane z CHL wykazywały aktywność antybakteryjną. Wzrost bakterii *Bacillus cereus* był inhibitowany efektywniej niż wzrost *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*, podczas gdy w przeciwieństwie do obserwacji w podłożu płynnym (test MIC) CHL w postaci folii nie hamował wzrostu *Pectobacterium carotovorum*. Folie uzyskane z mieszanin CHL/OPS i CHL/GEL nie wykazywały działania antybakteryjnego, co najprawdopodobniej było spowodowane zablokowaniem/neutralizacją dodatnio naładowanych reaktywnych grup chitozanu (warunkujących działanie przeciwmikrobiologiczne) przez ujemnie naładowane grupy obecne w OPS i GEL. Możliwe także, że z uwagi na właściwości wiążące/żelujące OPS i GEL uniemożliwiły uwalnianie cząsteczek CHL do podłoża wzrostowego. Działanie przeciwgrzybicze w stosunku do *Alternaria alternata* i *Monilinia fructigena* posiadały folie otrzymane na bazie i CHL i CHL50/GEL50, co najprawdopodobniej było związane ze stosunkowo wysoką zawartością w nich wody, sprzyjającą uwalnianiu substancji aktywnej do podłoża.

4.3.4. Podsumowanie

Przedstawiony jako Osiągnięcie cykl prac stanowi kompilację zagadnień z zakresu technologii żywności i żywienia oraz inżynierii materiałów biopolimerowych. Podjęcie zaprezentowanej tematyki badawczej wynika z zapotrzebowania krajowego i światowego rynku na nowoczesne opakowania, pozwalające produktom zachować ich wartość odżywczą, a szczególnie prozdrowotną. Przeprowadzone badania pozwoliły opracować receptury funkcjonalnych materiałów opakowaniowych, które poprzez ukierunkowane oddziaływanie na procesy zachodzące w żywności mogą ograniczyć powstawanie strat w trakcie przechowywania i obrotu handlowego. Opakowania pozwalające na zachowanie właściwej jakości żywności gwarantują jej bezpieczeństwo. W tym aspekcie, jak również w aspekcie ochrony środowiska poprzez wykluczanie z opakowań żywności syntetycznych polimerów Osiągnięcie ma szczególne znaczenie społeczne poprzez ochronę zdrowia konsumentów i ograniczanie zanieczyszczenia środowiska odpadami opakowaniowymi. Dynamiczny rozwój opakowań ekologicznych wskazuje, że zastąpienie opakowań z tworzyw sztucznych materiałami ulegającymi degradacji biologicznej jest niezbyt odległą przyszłością, w której niewątpliwie istotne znaczenie praktyczne znajdują folie i powłoki jadalne.

Wybór biopolimerów do produkcji opakowań aktywnych ma zwykle charakter intuicyjny. Dowiedziona została teza, że pożądane cechy użytkowo-funkcjonalne jadalnych folii aktywowanych substancjami o działaniu przeciwtleniającym i przeciwmikrobiologicznym w pierwszej kolejności

zależą od wytypowania właściwej matrycy. Idealnym nośnikiem jest taki biopolimer, którego wzbogacenie w substancje aktywne nie powoduje obniżenia (a wręcz stwarza możliwości wzrostu) właściwości fizyko-chemicznych otrzymanych materiałów opakowaniowych.

Przeprowadzone badania wykazały, że jest to możliwe w przypadku wybranych parametrów użytkowych. I tak:

- Zastosowanie CMC umożliwiło otrzymanie folii emulsyjnych rozpuszczalnych w wodzie folii, o wysokim potencjale antyoksydacyjnym w warunkach modelowych. Folie z CMC inkorporowane KS, w odróżnieniu od pozostałych otrzymanych materiałów, nie były lepkie i nie wykazywały oznak krystalizacji plastyfikatora, co predysponuje je do dalszych badań nad określeniem ich możliwości aplikacyjnych. Wśród potencjalnych zastosowań hydrofolii z CMC można wymienić łatwo zmywalne powłoki ochronne owoców i warzyw, rozpuszczalne saszetki porcjowanych produktów spożywczych i dodatków do żywności, osłonki produktów wędliniarskich, mikrokapsułki, etc.

- Folia otrzymana z OPS zapewniła najlepszą stabilność AA, co dowodzi, że niska kwasowość czynna oraz niska wilgotność matrycy stanowią istotne czynniki zapobiegające degradacji AA, i w związku z tym powinny stanowić jedno z kryteriów doboru nośników dla witaminy C. Wzrost stężenia AA powoduje zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego folii, z jednoczesnym znacznym obniżeniem pH materiału, dlatego 0,5% stężenie należy zarekomendować jako optymalny poziom dodatku AA. Emulsyjne folie skrobiowe z uwagi na zdolność chłonięcia wody umożliwiają tworzenie matryc hydrożelowych uwalniających do żywności nieprzerwanie lub w sposób kontrolowany wbudowane w nie substancje czynne. OPS wykazuje kompatybilność z chitozaniem, jednakże w teście dyfuzji krążkowej uzyskana folia nie wykazywała pożądanego działania przeciwmikrobiologicznego, co potwierdza że interakcje pomiędzy chitozaniem a składnikami żywności determinują jego aktywność biologiczną. Szybka rekrytalizacja sorbitolu w folii otrzymanej na bazie OPS wskazuje na konieczność zastosowania innego czynnika uplastyczniającego. Wykazane w Osiągnięciu działanie „nawilżające” AA lub KS sugeruje, że dodatek odpowiednich ilości ww. związków może wyeliminować potrzebę inkorporacji plastyfikatora.

- Folia otrzymana z SPI najefektywniej blokowała promieniowanie UV, co predysponuje ją do ochrony składników żywności wrażliwych na fotodegradację. Podobnie jak w przypadku CMC, szybkie uwalnianie przeciwutleniaczy z folii SPI następowało na drodze dyfuzji oraz erozji matrycy polimerowej. Zapewnia to wysoką aktywność w testach *in vitro*, z drugiej zaś strony powoduje szybkie wyczerpanie aktywności materiału. Na uwagę jednak zasługuje fakt, że folia z SPI nieinkorporowana przeciwutleniaczami, w odróżnieniu od pozostałych matryc pozbawionych własnej aktywności, wykazywała zdolność chelatowania metali prooksydacyjnych oraz aktywność antyperoksydacyjną. Stopniowe brązowienie folii SPI-AA wraz z upływem czasu (reakcja Maillarda) może zawęzić jej potencjał użytkowy do określonych zastosowań, np. powlekania ciemno zabarwionej żywności (w tym orzechów) lub koloryzacji powierzchni stosowanej w systemach

opakowań inteligentnych (indykator czasu i temperatury). Prawdopodobnie na skutek unieruchomienia KS przez liczne grupy funkcyjne białek, folie otrzymane na bazie SPI najslabiej inhibitowały wzrost bakterii i grzybowych fitopatogenów.

- Niezależnie od typu wprowadzonej substancji czynnej, materiały otrzymane z GEL odznaczały się największą wytrzymałością mechaniczną i rozciągliwością. Cecha ta jest niezwykle istotna, umożliwia bowiem obróbkę folii – foliowanie – na maszynach pakujących. Ponadto wysokie właściwości mechaniczne pozwalają na uzyskanie folii o mniejszej grubości folii, a więc zmniejszenie kosztów pakowania. Hydrożelowy charakter folii z GEL wskazuje na możliwość otrzymania aktywnych systemów, które z odpowiednią szybkością, w kontrolowany sposób, przez długi czas uwalniały będą osadzone w nośniku środek aktywny, zapewniając jego optymalne stężenie na powierzchni zabezpieczanego produktu.

Podsumowując, wyniki badań zaprezentowane w Osiągnięciu przyczynią się do uzupełnienia obecnego stanu wiedzy w obszarze opakowań aktywnych, dostarczając nowych kompleksowych informacji w zakresie możliwości inkorporowania folii biopolimerowych substancjami czynnymi.

Literatura

1. Alexandropoulou I., Komaitis M., Kapsokefalou M.: Effects of iron, ascorbate, meat and casein on the antioxidant capacity of green tea under conditions of in vitro digestion. *Food Chem.*, 2006, 94, 359-365.
2. Arts M.J., Haenen G.R., Wilms L.C., Beetstra S.A., Heijnen C.G., Voss H.P., Bast A.: Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 1184-1187.
3. Cha D. S., Cooksey K., Chinnan M. S., Park H. J.: Release of nisin from various heat-pressed and cast films. *LWT*, 2003, 36, 209-213.
4. Cheng S.-Y., Wang B.-J., Weng Y.-M.: Antioxidant and antimicrobial edible zein/chitosan composite films fabricated by incorporation of phenolic compounds and dicarboxylic acids. *LWT*, 2015, 63, 115–121.
5. Chick J., Hernandez R.J.: Physical, thermal, and barrier characterization of casein-wax-based edible films. *J. Food Sci.*, 2002, 67, 1073-1079.
6. Devlieghere F., Vermeulen A., Debevere J.: Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiol.* 2004, 21, 703-714.
7. Donhowe I.G., Fennema O.: Water vapor and oxygen permeability of wax films. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1993, 70, 876-873.
8. Fabra M.J., Talens P., Chiralt A.: Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *J. Food Eng.*, 2008, 85, 393-400.
9. Galus S., Kadzińska J.: Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends Food Sci. Tech.*, 2015, 45, 273-283.
10. Gómez-Estaca J., Monteroa P., Giménez B., Gómez-Guillén M.C.: Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.*, 2007, 105, 511-520.
11. Gómez-Estaca J., Bravao L., Gómez-Guillén M.C., Alemána A., Monteroa P.: Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chem.*, 2009a, 112, 18-25.
12. Gómez-Estaca J., Giménez B., Montero P., Gómez-Guillén M.C.: Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *J. Food Eng.*, 2009b, 92, 78-85.
13. Gómez-Guillén M.C., Ihl M., Bifani V., Silva A., Montero P.: Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae Turcz.*). *Food Hydrocolloid.*, 2007, 21, 1133-1143.
14. Guilbert S., Gontard N., Gorris L.G.M.: Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LWT*, 1996, 29, 10-17.
15. Jeon Y.J., Shahidi F., Kim S.K.: Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods. *Food Rev. Int.*, 2000, 16, 159-76.

16. Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M.: Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocolloid.*, 2008, 22, 449-458.
17. Kim S-J., Ustunol Z.: Sensory attributes of whey protein isolate and candelilla wax emulsion edible films. *J. Food Sci.*, 2001, 66, 909-911.
18. Kowalczyk D., Gustaw W., Emil Zięba, Lisiecki S., Stadnik J., Baraniak B.: Microstructure and functional properties of sorbitol-plasticized pea protein isolate emulsion films: Effect of lipid type and concentration. *Food Hydrocolloid.*, 2016, 60, 353-363.
19. Krochta J.M.: Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: *Protein-based films and coatings*, A. Gennadios (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, 2002, pp. 1-41.
20. McHugh T.H., Krochta J.M.: Permeability properties of edible films. In: *Edible coatings and films to improve food quality*. Krochta J.M., Baldwin E.A., Nisperos-Carriedo M.O. Eds. Technomic Publishing, Lancaster, PA, 1994, pp. 189-187.
21. Mecitoğlu C., Yemencioğlu A., Arslanoğlu A., Korel F., Çetin A.E.: Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Res. Int.*, 2006, 39, 12-21.
22. Min S., Krochta J.M.: Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 2964-2969.
23. Norajit K., Kim K.M., Ryu G.H.: Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *J. Food Eng.*, 2010, 98, 377-384.
24. Oussalah M., Caillet S., Salmieri S., Saucier L., Lacroix M.: Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, 18, 5598-5605.
25. Perez-Gago M.B., Serra M., del Río M.A.: Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biol. Tec.*, 2006, 39, 84-92.
26. Rabea E.I., Badawy M.E.I., Stevens C.V., Smagghe G., Steurbaut W.: Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 2003, 4, 1457-1465.
27. Redl A., Gontard N., Guilbert S.: Determination of sorbic acid diffusion in edible wheat gluten and lipid based films. *J. Food Sci.*, 1996, 61, 116-120.
28. Rojas-Graü M.A., Avena-Bustillos R.J., Olsen C., Pan Z., McHugh T.H.: Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *J. Food Eng.*, 2007, 81, 634-641.
29. Sadikoglu H., Sen D., Ozdemir M.: A mathematical model for potassium sorbate diffusion through whey protein films. *Drying Technol.*, 2006, 24, 21-29.
30. Shellhammer T.H., Krochta J.M.: Whey protein emulsion films performance as affected by lipid type and amount. *J. Food Sci.*, 1997, 62, 390-394.
31. Sivarooban T., Hettiarachchy N.S., Johnson M.G.: Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int.*, 2008, 41, 781-785.
32. Troszyńska A., Narolewska O., Robredo S., Estrella I., Hernández T., Lamparski G., Amarowicz R.: The effect of polysaccharides on the astringency induced by phenolic compounds. *Food Qual. Prefer.*, 2010, 21, 463-469.
33. Tsai P.J., She C.H.: Significance of phenol-protein interactions in modifying the antioxidant capacity of peas. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 8491-8494.
34. Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C.: Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharv. Biol. Technol.* 2006, 41, 164-171.
35. Yamashita M.M., Wesson L., Eisenman G., Eisenberg D.: Where metal ions bind in proteins. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 5648-5652.
36. Yoshida C.M. P., Bastos C.E.N., Franco T.T.: Modeling of potassium sorbate diffusion through chitosan films. *LWT*, 2010, 43, 584-589.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)

Działalność naukową rozpocząłem w 2004 roku wraz z podjęciem studiów doktoranckich na Wydziale Rolniczym (obecnie Wydział Agrobiotechnologii) Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy). Zostałem włączony w prace Zespołu, kierowanego przez prof. dr hab. Barbarę Baraniak (promotor pracy magisterskiej oraz promotor późniejszej dysertacji doktorskiej), zajmującego się m.in. badaniami proteomu oraz właściwościami funkcjonalnymi białek nasion roślin

strączkowych. Cechy te mają istotne znaczenie w procesie wdrażania białek roślinnych jako substytutów białka zwierzęcego, czy też dodatków teksturujących do żywności. Wyniki badań nad możliwością zastosowania modyfikacji chemicznej i enzymatycznej jako narzędzia kształtowania właściwości funkcjonalnych białek, w tym aktywności przeciwutleniającej, zostały przedstawione w 3 oryginalnych pracach twórczych [D1-1, D1-2, D1-4].

Obecnie światowy rynek preparatów białkowych zdominowany jest przez produkty sojowe. Niska cena, dostępność oraz różnorodność zastosowań sprawiły, że trudno jest z nimi konkurować ceną lub jakością. Niemniej jednak, z uwagi na stale rosnącą populację ludzką oraz rolę jaką pełni białko w prawidłowym żywieniu człowieka, prowadzone są badania nad wykorzystaniem białek z innych źródeł botanicznych, w tym roślin typowych dla danych regionów geograficznych. W pracy D1-4 scharakteryzowano właściwości funkcjonalne niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek nasion soczewicy, otrzymanych metodą koagulacji kwasowej lub flokulacyjno-kwasowej (z zastosowaniem flokulantów Magnafloc LT-22 i Magnafloc LT-25) oraz oceniono wpływ hydrolizy trypsyną na ww. właściwości. Zarówno modyfikacja, jak i sposób agregacji białka spowodowały zmianę poszczególnych właściwości funkcjonalnych. Acylowanie istotnie zwiększyło wodochłonność koncentratów, w największym stopniu o 136% (przy precypitacji białek z udziałem flokulanta anionowego), a w przypadku koncentratów otrzymanych z wykorzystaniem flokulacji nastąpiło również istotne zwiększenie zdolności pochłaniania tłuszczu (max. o 15%). Acylacja poprawiła właściwości pianotwórcze białek soczewicy, jednakże wzrost trwałości piany zaobserwowano jedynie w przypadku białek koagulowanych kwasem. W wyniku chemicznej modyfikacji nastąpił wzrost rozpuszczalności białek w pH powyżej pI. Natomiast w silnie kwasowym środowisku rozpuszczalność acylowanych białek uległa zmniejszeniu. Hydrolizaty w porównaniu z koncentratami charakteryzowały się na ogół wyższą absorpcją wody i trwałością emulsji, zwiększoną rozpuszczalnością w środowisku kwasowym oraz poprawionymi właściwościami pianotwórczymi.

W kolejnych badaniach potwierdzono, że acetylacja białek nasion wybranych roślin strączkowych (groch, soczewica, wyka), przeprowadzona podczas procesu izolowania białek, na ogół polepsza właściwości funkcjonalne uzyskiwanych z nich hydrolizatów. Obserwowano m.in. wzrost wodochłonności (max. o 74%), absorpcji tłuszczu (max. o 7%), aktywności emulgowania i trwałości emulsji, a także wydajności pienienia i trwałości piany [D1-2]. Gatunek rośliny, jak i odmiana, wywierały kluczowy wpływ na właściwości funkcjonalne otrzymanych preparatów. Liofilizowany hydrolizat acetylowanych białek wyki posiadał największą zdolność absorpcji wody i oleju oraz największą wydajność pienienia. Gatunek surowca roślinnego, z którego otrzymano hydrolizat, był również głównym czynnikiem różnicującym zdolność neutralizowania wolnych rodników. Aktywność przeciwutleniająca produktów hydrolizy białek wyki była o kilka procent wyższa aniżeli hydrolizatów z soczewicy. Zastosowana acetylacja, jak i metody wytrącania białek, w niewielkim stopniu różnicowały badane właściwości [D1-1].

Tematykę badawczą dotyczącą aktywności przeciwutleniającej żywności pochodzenia roślinnego kontynuowałem realizując badania z współpracownikami z Katedry Biochemii i Chemii Żywności UP w Lublinie [D1-3, D2-7, D2-8, D2-15]. Kiełki są naturalnym źródłem substancji bioaktywnych, m.in. o właściwościach przeciwutleniających, stąd też zdobywają popularność wśród konsumentów ceniących sobie zdrowy styl życia. Wyniki badań potencjału antyoksydacyjnego kiełków rzodkiewki przedstawiono w pracy D1-3. Ekstrakty z kiełków wykazywały znaczącą aktywność przeciwrodnikową, jednakże była ona znacznie niższa od aktywności syntetycznych przeciwutleniaczy takich jak Trolox, butylohydroksytoluen i butylohydroksyanizol. Aktywność przeciwutleniająca warunkowana była zastosowanym układem ekstrakcyjnym. Badane próby skutecznie neutralizowały H₂O₂, przy czym wyższą aktywnością charakteryzował się ekstrakt metanolowy niż acetonowy. Z kolei ekstrakt acetonowy wykazywał wyższą zdolność chelatowania jonów Fe(II) aniżeli metanolowy. Nie stwierdzono wpływu rozpuszczalnika zastosowanego do ekstrakcji na zawartość związków fenolowych ogółem. Skuteczniejszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji flawonoidów okazał się 50% metanol, natomiast stosując 50% aceton wyekstrahowano więcej fenolokwasów.

Początek kiełkowania i jego przebieg uzależniony jest od czynników środowiskowych, podobnie jak przebieg innych faz rozwoju rośliny. Wprowadzanie w trakcie hodowli czynników indukujących kierunkową syntezę poszczególnych metabolitów umożliwia otrzymanie produktu końcowego o zmodyfikowanym składzie chemicznym. W pracy opublikowanej w *Scientia Horticulturae* (IF₂₀₁₂=1.396) [D2-7] udowodniono, że poprzez zastosowanie czynników abiotycznych obejmujących zmienne warunki kiełkowania, w tym oświetlenia, możliwa jest modyfikacja profilu polifenolowego i aktywności przeciwutleniającej kiełków soczewicy jadalnej. Kilkudniowe kiełkowanie nasion w warunkach ciągłego oświetlenia spowodowało wzrost zawartości kwasów p-hydroksybenzoesowego, benzoesowego i kawowego. Aktywność przeciwutleniająca kiełków była dodatnio skorelowana z zawartością polifenoli i ściśle uzależniona od warunków kiełkowania. Uzyskane wyniki wskazują, iż naświetlanie podczas kiełkowania potęguje wartość nutraceutyczną kiełków soczewicy.

W roku 2006 uczestniczyłem w programie Socrates Intensive Programme „Food and Consumer” w Corvinus University (Budapeszt, Węgry, 30.01.2006-10.02.2006), w wyniku czego moje zainteresowania naukowe zwróciły się w kierunku badań jakości żywności mających na celu ułatwienie konsumentom dokonywania wyboru produktów spożywczych o lepszym profilu żywieniowym.

Likopen jest naturalnym przeciwutleniaczem o udokumentowanym działaniu antynowotworowym. Związek ten zdecydowanie łatwiej wchłania się w postaci przetworzonej, przez co przetwory pomidorowe okazują się być bardziej wartościowe niż świeże pomidory. Badania [D2-8] wykazały, że ketchupy dostępne na rynku mogą różnić się nawet dziesięciokrotnie pod względem zawartości likopenu (0,9-10,6 mg/100g) i czterokrotnie pod względem zdolności przeciwrodnikowych

(zdolność neutralizowania ABTS^{*+} kształtowała się na poziomie 7,7-33,8%). Spośród przebadanych produktów najwyższą zawartość likopenu i zarazem wysoką zdolność neutralizowania wolnych rodników posiadały marki dyskontowa i ekologiczna. Marka najtańsza miała najmniejszą zawartość likopenu i jednocześnie najslabsze właściwości przeciwutleniające. Stwierdzono, że analizowane cechy były wysoce dodatnio skorelowane z procentową zawartością koncentratu pomidorowego w ketchupie, natomiast słabo lub wcale z ilością pomidorów użytych do wyprodukowania ketchupu. Informacja ta może być kluczowa przy wyborze marki ketchupu, ponieważ na opakowaniach nie ma informacji o zawartości tego składnika.

Herbata jest drugim z najczęściej spożywanych napojów na świecie, ustępuje pod tym względem tylko wodzie. Rynek herbat oferuje wiele jej odmian, m.in. czarną, zieloną, czerwoną, białą, żółtą oraz różnego rodzaju herbatki owocowe. Te ostatnie zdobywają coraz większą popularność. Właściwości smakowe i prozdrowotne herbat owocowych zależą od konkretnych odmian owoców, z których zostały sporządzone. Na rynku można spotkać też herbaty owocowe, które są jedynie aromatyzowane, dlatego też porównanie aktywności przeciwutleniającej wybranych herbat owocowych było celem mojej kolejnej pracy [D2-15]. Badane napary herbat wykazywały aktywność przeciwrodnikową, która była dodatnio skorelowana ze stężeniem związków polifenolowych. Największą zawartością polifenoli ogółem (156,2 i 159,0 mg GAE/100 ml) i jednocześnie najlepszą aktywnością przeciwrodnikową wobec DPPH^{*} (57,1 i 68,0%) i ABTS^{*+} (98,5 i 98,9%) charakteryzowały się napary herbat odpowiednio „Lipton” oraz „Saga”. Obydwie herbaty pochodziły od tego samego producenta i cechowała je stosunkowo duża ilość suszu owoców dzikiej róży. Najmniejszą zawartością związków polifenolowych (63,8 mg GAE/100 ml) i jednocześnie najniższą zdolnością neutralizowania wolnych rodników odznaczał się napar herbaty „Minutka”. Nie stwierdzono zależności pomiędzy czerwoną barwą naparów, a ich zdolnością przeciwrodnikową oraz zawartością związków polifenolowych.

Właściwości powierzchniowo-czynne lecytyny powodują, iż stosowana jest jako emulgator poprawiający stabilność emulsji. Surowa lecytyna roślinna jest mieszaniną fosfolipidów i oleju. W zależności od sposobu dalszej obróbki, zawartość fosfatydów w końcowym produkcie może się znacznie różnić, co z kolei może być przyczyną zróżnicowania właściwości funkcjonalnych, w tym właściwości emulgujących. Dlatego celem moich kolejnych badań [D2-14], zrealizowanych w ramach współpracy z producentem lecytyny P.P.H.U. SOMAR z Wąchocka, było porównanie zdolności emulgujących komercyjnych preparatów lecytynowych. Materiał do badań stanowiły preparaty sojowe i rzepakowe: lecytyna proszkowa, lecytyna płynna i proszek lecytynowy. Największą zawartością fosfolipidów (oznaczonych jako substancje nierozpuszczalne w acetonie (SNA)) charakteryzowały się lecytyny proszkowe (88,4 i 95,2%). Zawartość SNA w lecytynach płynnych (będących mieszaniną fosfolipidów i oleju) i proszkach lecytynowych (będących mieszaniną fosfolipidów i nośnika) wynosiła odpowiednio 72,1-73,5 i 46,7-50,1%. Dodatek lecytyny (0,2%), niezależnie od rodzaju preparatu i typu emulsji, spowodował wzrost aktywności emulgowania (EA) i stabilności emulsji (ES) typu

30O/70W, 50O/50W, 70O/30W. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem udziału fazy olejowej w emulsjach, lecytyna proszkowa i proszek lecytinowy wykazywały coraz większą EA. Sojowe preparaty lecytyny proszkowej i płynnej wykazywały wyższą zdolność emulgowania i stabilizowania emulsji (bez względu na rodzaj emulsji) aniżeli odpowiedniki rzepakowe. Związane było to z mniejszą wielkością kropelek oleju w emulsjach zawierających dodatek preparatu sojowego. Nie stwierdzono występowania zależności pomiędzy zawartością SNA a EA/ES.

W ramach współpracy z Katedrą Ekologii Rolniczej UP w Lublinie brałem udział w badaniach dotyczących oceny wybranych parametrów technologicznych oraz wartości odżywczej sześciu odmian pszenicy. Wyniki zostały opublikowane w *Cereal Chemistry* (IF₂₀₁₄=1.231) [D2-11]. Ziarna wszystkich odmian charakteryzowały się podobną twardością oraz relatywnie niską energią niezbędną do przemiału. Najwyższą zawartość białka oznaczono w ziarniakach odmiany Spelt I.N.Z. oraz Schwabenkorn (15,5%). Zawartość skrobi była podobna dla wszystkich analizowanych odmian, przy czym stwierdzono istotne różnice w zawartości skrobi odpornej oraz strawności skrobi. Odmiany nie różniły się pod względem zawartości polifenoli ogółem.

Ocena towaroznawcza kefirów dostępnych na lubelskim rynku była przedmiotem badań [D2-16] zrealizowanych we współpracy z Zakładem Technologii Mleka i Hydrokolidów Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności UP w Lublinie. Badane kefiry cechowały się prawidłową kwasowością. Największą lepkością odznaczał się kefir o najwyższej zawartości białka (4,0%). Wszystkie przebadane produkty wykazywały cechy płynów pseudoplastycznych, rozrzedzanych ścinaniem. Zaobserwowano, że kefir o większej zawartości białka cechowała większa odporność na warunki ścinania. Kefiry w różnym stopniu wykazywały zjawisko tiksotropii.

W ramach współpracy z ww. Zakładem brałem również udział w badaniach poświęconych otrzymywaniu analogów serów topionych, których wyniki zostały opublikowane w *European Food Research and Technology* (IF_{2014/2015}=1.559) [D2-20]. Dobór surowcowy stwarza możliwość otrzymania nowych produktów o specyficznym składzie i właściwościach funkcjonalnych. W pracy oceniono wpływ dodatku skrobi modyfikowanych na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych różniących się zawartością kazeiny kwasowej. Stwierdzono, że twardość, przylegarność, spójność i lepkość analogów wzrastała wraz ze wzrostem stężenia białka oraz skrobi. Wprowadzenie do receptury produktu acetylowanego adypinianu diskrobiowego spowodowało większy wzrost lepkości niż dodatek hydroksypropylowego fosforanu diskrobiowego. Analogi z dodatkiem skrobi wykazywały bardziej lepkie własności ($\tan \delta > 1$) przy wyższych wartościach pH (6,0-7,0) i bardziej elastyczne ($\tan \delta < 1$) w niskim zakresie pH (4,5-5,0). Wszystkie analogi otrzymane w pH 5,0-7,0 wykazywały dobrą topliwość. Uzyskane wyniki sugerują możliwość wyprodukowania analogów serów topionych przeznaczonych zarówno do smarowania jak i do krojenia.

Na jakość i wartość handlową zebranych owoców i warzyw wpływają m.in. oddychanie, transpiracja, zmiany składu chemicznego, wzrost i rozwój, starzenie się. Straty spowodowane tymi

procesami ogranicza się podczas przechowywania obniżając temperaturę i zmieniając skład atmosfery na optymalny. Jednocześnie poszukuje się innych metod pozwalających na zwiększenie trwałości owoców i warzyw. Opis wybranych zagadnień technicznych umożliwiających długotrwałe pozbiornicze składowanie płodów rolnych w komorach chłodniczych opisałem, we współpracy z Katedrą Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji SGGW w Warszawie, w dwóch artykułach przeglądowych [D2-12, D2-13].

W czasie swojej pracy naukowej szczególną uwagę poświęciłem otrzymywaniu opakowań jadalnych i/lub biodegradowalnych oraz ich wykorzystaniu w technologii żywności. Badania z tego zakresu zaowocowały publikacją 14 oryginalnych prac naukowo-badawczych (włącznie z Osiągnięciem) i 2 opracowań przeglądowych. Jadalne filmy i powłoki mają na celu wydłużenie okresu trwałości produktów spożywczych, zapewnienie atrakcyjnego wyglądu i ogólnie dobrej jakości w obrocie towarowym. Ich głównymi składnikami są lipidy, polisacharydy i białka. Tematyka dotycząca badań nad otrzymywaniem i wykorzystaniem filmów i powłok jadalnych zawierających białka grochu była tematem mojej dysertacji doktorskiej wykonanej pod opieką naukową prof. dr hab. Barbary Baraniak. Część badań została zrealizowana w ramach promotorskiego projektu badawczego N N312 1722 33 „Badania nad otrzymywaniem filmów i powłok jadalnych zawierających białka grochu”, którego byłem głównym wykonawcą. Obrona pracy odbyła się w roku 2008 na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie, a recenzenci pracy doktorskiej wnioskowali o jej wyróżnienie. Studium literaturowe przedstawione w dysertacji doktorskiej dotyczące wykorzystania lipidów, białek oraz polisacharydów w procesie otrzymywania filmów i powłok jadalnych opublikowałem w monografii tematycznej pt. „Tłuszcze w technologii i żywieniu” [D2-17] oraz recenzowanej monografii pokonferencyjnej [D2-18]. Wyniki badań zawarte w dysertacji zostały umieszczone w oryginalnych pracach opublikowanych w *Journal of Food Engineering* (IF₂₀₁₁=2.414) [D2-4], *Journal of Food Processing and Preservation* (IF₂₀₁₄=1.159) [D2-10], *Food Hydrocolloids* (IF_{2014/2015}=4.090) [D2-19], *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* (IF₂₀₁₀=0.157; IF₂₀₁₁=0.155; IF₂₀₁₂=0.190) [D2-1, D2-2, D2-3, D2-5, D2-9] i *Zeszytach Naukowych Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu* [D2-6]. Ponadto wyniki prezentowano na licznych konferencjach, a prace pt. „Wpływ powłok hydrokolidowych na zmianę jakości frytek ziemniaczanych” oraz „Wpływ jadalnej powłoki białkowo-woskowej na jakość przechowalniczą winogron (*Vitis vinifera* L.)” prezentowane przeze mnie kolejno na XIV i XV Sesji Naukowej Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ w latach 2009 i 2010 dwukrotnie uzyskały nagrodę za I miejsce w kategorii poster.

Dotychczasowe badania wskazują, że możliwości aplikacyjne opakowań jadalnych zależą od postępu nad doskonaleniem ich właściwości użytkowych. W pracach D2-4 i D2-10 wykazano, że cechy fizykochemiczne filmów z białek grochu w dużej mierze zależą od doboru odpowiednich plastyfikatorów, ich stężenia, jak również wykorzystania czynników fizycznych (ogrzewanie, alkalizacja). Filmy plastyfikowane sorbitolem odznaczały się dziesięciokrotnie niższą WVP, większą wytrzymałością mechaniczną, mniejszą podatnością na rozciąganie i większą rozpuszczalnością w

wodzie w porównaniu do filmów uplastycznianych glicerolem. Izotermy sorpcji pary wodnej wykazały, że znaczne różnice we właściwościach barierowych filmów uplastycznianych glicerolem i sorbitolem były spowodowane różną hydrofilowością tych polioli. Wzrost udziału glicerolu przyczynił się do pogorszenia właściwości barierowych filmów w stosunku do pary wodnej. Wzrost udziału plastyfikatorów w recepturze filmów (zarówno sorbitolu i glicerolu) prowadził do liniowego spadku cech wytrzymałościowych i sprężystości. Filmy formowane z alkalicznych roztworów (pH=11) charakteryzowały się większą odpornością na przebicie i rozciągliwością w porównaniu do filmów formowanych w pH=7. Ogrzewanie roztworów filmotwórczych pozwoliło uzyskać filmy o zwiększonej przezroczystości. Wszystkie otrzymane filmy miały żółtawą barwę i wykazywały wysoką zdolność blokowania promieniowania UV. Analiza SEM wykazała, że filmy otrzymane w odczynie obojętnym, z uwagi na słabą rozpuszczalność białek, stanowiły konglomeraty cząsteczek izolatu białek grochu połączonych w spójną matrycę na skutek sił kohezji powstających w czasie suszenia dyspersji filmotwórczych. Rozpraszanie promieniowania rentgenowskiego nie wykazało różnic w wewnętrznej strukturze materiałów uplastycznianych różnymi plastyfikatorami. Zaobserwowano możliwość rekrytalizacji sorbitolu w filmach przechowywanych w warunkach otoczenia.

Mieszanie różnych naturalnych polimerów, np. białek z polisacharydami, prowadzi do uzyskania materiałów o nowych cechach użytkowych. W pracy **D2-9** wykazano, że zakres zmian powodowanych wprowadzeniem polisacharydów w skład folii białkowych uzależniony był nie tylko od rodzaju i stężenia polisacharydu, ale także od typu użytego plastyfikatora. Dodatek 0,5 % CHL uniemożliwił uzyskanie spójnych filmów, gdy do uplastyczniania zastosowano sorbitol. Zaobserwowano, że dodatek polisacharydów nie zmienił wilgotności filmów plastyfikowanych glicerolem, a zmniejszył wilgotność filmów z sorbitolem. Z kolei dodatek polisacharydów nie różnicował WVP filmów uplastycznianych sorbitolem, a w przypadku filmów z glicerolem stwierdzono możliwość zarówno obniżenia, jak i podwyższenia tego parametru. Dodatek hydroksypropylometylocelulozy (HPMC) i CHL spowodował zwiększenie rozpuszczalności filmów plastyfikowanych glicerolem. Odmienny wpływ polisacharydów na właściwości filmów plastyfikowanych glicerolem i sorbitolem wskazuje, że obecność polioli w układach białkowo-polisacharydowych może modyfikować przebieg interakcji pomiędzy tymi polimerami. Obecność polisacharydów zwiększyła lepkość roztworów filmotwórczych, znacząco zmniejszyła przezroczystość oraz spowodowała zwiększenie udziału barwy żółtej w filmach, prawdopodobnie na skutek reakcji Maillarda.

Warstewki białkowe z uwagi na swoją hydrofilową naturę wykazują bardzo słabą barierowość w stosunku do pary wodnej, dlatego w kolejnych badaniach oceniłem możliwość ulepszenia właściwości barierowych filmów z białek grochu poprzez dodatek substancji hydrofobowych. Badania zostały zrealizowane we współpracy z czterema jednostkami naukowymi (Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie; Laboratorium Mikroskopii Konfokalnej i Elektronowej KUL;

Katedrą Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów UP w Lublinie; Katedrą Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością UP w Lublinie) i opublikowane w *Food Hydrocolloids* (IF_{2014/2015}=4.090) [D2-19]. Wykazano, że jedynie dodatek bezwodnego tłuszczu mlecznego i CnW obniżył WVP filmów, co najprawdopodobniej spowodowane było wzrostem hydrofobowości powierzchniowej filmów zawierających ww. lipidy. Najefektywniejszy w redukcji WVP okazał się CnW (2,0% dodatek obniżył WVP 2,5-krotnie). Inkorporacja lipidów spowodowała pogorszenie właściwości barierowych filmów w stosunku do tlenu oraz spadek ich wytrzymałości mechanicznej. Filmy zawierające CnW posiadały najlepsze parametry wytrzymałościowe. Obecność lecytyny w matrycy białkowej zaburzyła jej spójną strukturę (wzrost porowatości), co w konsekwencji zwiększyło zwilżalność i rozpuszczalność filmów. Kwas oleinowy, w odróżnieniu pozostałych zastosowanych lipidów, tj. o konsystencji stałej, nie zmniejszył przezroczystości filmów oraz działał uplastyczniająco na matrycę białkową, zwiększając jej podatność na rozciąganie. Filmy z dodatkiem CnW, w porównaniu do materiałów zawierających inne lipidy stałe, wykazywały najwyższą przezroczystość. Mikrostruktura powierzchni filmów emulsyjnych uzależniona była zarówno od typu jak i stężenia użytego lipidu. Podsumowując analiza porównawcza filmów emulsyjnych wykazała, że najlepsze właściwości użytkowe posiadał film inkorporowany 2,0% dodatkiem CnW. Zdecydowały o tym jego najniższa WVP, stosunkowo dobra wytrzymałość mechaniczna oraz przezroczystość. Dlatego też w cyklu trzech prac [D2-2, D2-3, D2-5] oceniono skuteczność jadalnych powłok białkowo-woskowych w zabezpieczaniu jakości pozbiorczej wybranych owoców i warzyw.

Powlekanie winogron ograniczyło ubytki masy, kwasu askorbinowego i cukrów redukujących w czasie ich przechowywania w warunkach otoczenia, co przyczyniło się do przedłużenia ich świeżości. Dodatkową korzyścią powlekania było nadanie owocom atrakcyjnego połysku [D2-2]. W kolejnych badaniach [D2-3] wykazano, że powłoka zastosowana na róże porcjowanych brokułów jako warstwa ochronna w czasie ich przechowywania (21 dni, 4°C, RH = 90 %) ograniczyła straty kwasu askorbinowego, zmniejszyła szybkość wzrostu kwasowości, żółknięcie oraz spadek twardości kwiatostanu. Powłoka nie miała natomiast wpływu na zmniejszenie ususzki i szybkość rozkładu barwników chlorofilowych. Nieskuteczność powłoki w zapobieganiu utracie masy wynikała najprawdopodobniej z faktu przechowywania surowca w warunkach wysokiej RH powietrza. Po przeprowadzeniu powlekania nastąpiło pociemnienie powierzchni brokułów. Pozbiorcze traktowanie kapusty brukselskiej powłoką ograniczyło transpirację, zwiększyło retencję witaminy C i polifenoli oraz spowolniło utratę twardości [D2-5]. Powlekanie nie zmieniło aktywności oksydazy polifenolowej, poziomu barwników chlorofilowych (w suchej masie warzyw) oraz udziału barwy zielonej. W symulowanych warunkach obrotu towarowego powłoka pozwoliła utrzymać atrakcyjność warzyw tylko w pierwszych czterech dniach przechowywania. W czasie dalszego składowania obecność powłoki powodowała żółknięcie główek kapusty i wzrost jasności powierzchni. Podsumowując, w zaprezentowanych pracach dotyczących aplikacji powłok białkowo-woskowych [D2-2, D2-3, D2-5] dowiedziono, że powlekanie wpływa na przebieg niektórych procesów

fizjologicznych i biochemicznych decydujących o jakości handlowej i konsumpcyjnej owoców i warzyw.

Właściwości barierowe hydrokoloidów w stosunku do oleju sprawiają, że są one użyteczne w produkcji smażonej żywności o zredukowanej zawartości tłuszczu (kaloryczności). Przeprowadzone badania [D2-1] wykazały, że obecność warstewki hydrokoloidu na powierzchni krajanki ziemniaczanej może obniżyć ilość pochłanianego oleju. Statystycznie istotne zmniejszenie zawartości oleju we frytkach odnotowano w przypadku pięciu z siedmiu zastosowanych hydrokoloidów. Najmniejszą zawartością oleju (15,9 g/100 g s.s.) odznaczały się frytki powlekane roztworem koncentratu białek serwatkowych (WPC). Zmniejszenie zawartości tłuszczu w stosunku do próby kontrolnej wyniosło w tym przypadku 36,9 %. Powlekanie nie zwiększyło retencji wody, jak również nie zwiększyło ubytków powstających w trakcie obróbki cieplnej. Pomiary siły cięcia frytek ujawniły, że powlekane frytki na ogół charakteryzowały się istotnie twardszą konsystencją (4,7-6,1 N) w porównaniu z próbą kontrolną (3,2 N). Powlekanie spowodowało wzrost udziału barwy czerwonej i/lub żółtej na powierzchni frytek. Analiza wartości ΔE^* wykazała, że powlekanie roztworem WPC dało w rezultacie produkt najbardziej odbiegający barwą od próby kontrolnej. Najwyższą jakością pod względem ogólnej oceny sensorycznej charakteryzowały się frytki powlekane roztworem SPI. Najmniej akceptowane były natomiast frytki powlekane roztworem WPC. Zadecydowała o tym przede wszystkim barwa odbierana przez konsumentów jako zbyt intensywna, co potwierdziło wyniki oceny instrumentalnej. Przyjmując, że minimalna ogólna ocena powinna wynosić co najmniej 3/5 pkt wykazano, że dzięki zastosowaniu powlekania możliwe jest otrzymanie frytek o obniżonej zawartości tłuszczu, a jednocześnie dostatecznych atrybutach sensorycznych.

W kolejnej pracy [D2-6] wykazano, że powlekanie roztworami WPC, pektyny i SPI zmniejsza zawartość oleju w smażonym mięsie, odpowiednio o 24,1 21,5 i 17,7% w stosunku do próby kontrolnej. Zastosowanie hydrokoloidów z reguły nie miało wpływu na retencję wody i wielkość ubytków powstających w trakcie obróbki cieplnej. Jedynie w wypadku roztworu CMC 10000 (o największej gęstości) zaobserwowano wzrost ubytków masy. Powlekanie roztworami hydrokoloidów, z wyjątkiem SPI, nie spowodowało zmian twardości mięsa, przyczyniło się natomiast do wzrostu udziału barwy czerwonej oraz spadku jasności jego powierzchni. W ogólnej ocenie sensorycznej mięso poddawane powlekaniami odznaczało się korzystniejszymi cechami jakościowymi w porównaniu z produktem kontrolnym.

Tematykę badań poświęconych otrzymywaniu filmów i powłok jadalnych kontynuowałem również w późniejszym okresie mojej pracy naukowej. W latach 2011-2015 byłem kierownikiem projektu N N312 501540 „Badania nad otrzymywaniem folii i powłok jadalnych o działaniu przeciwmikrobiologicznym i przeciwtleniającym”, finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki. Część wyników uzyskanych w ramach projektu, w postaci monotematycznego zbioru publikacji, składa się na Osiągnięcie.

Moja aktywność naukowa wiąże się również ściśle z dydaktyką akademicką. Jestem współautorem wydanego w 2011 roku podręcznika akademickiego pt. „Enzymologia w zarysie”. powstałego w ramach realizowania projektu „Zamawiane kształcenie na kierunkach technicznych, matematycznych i przyrodniczych – pilotaż” przez Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie. Zaprezentowany na 70 stronach rozdział mojego autorstwa omawia przemysłowe wykorzystanie preparatów enzymatycznych w branży mleczarskiej, piekarskiej, piwowarskiej i gorzelniczej oraz w sektorach owocowo-warzywnym i mięsnym.

Podsumowując, w okresie zatrudnienia w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie prowadzone przeze mnie badania związane są z następującymi zagadnieniami:

- modyfikacja właściwości funkcjonalnych białek nasion roślin strączkowych,
- badanie zawartości składników aktywnych i aktywności przeciwutleniającej żywności pochodzenia roślinnego,
- zastosowanie biopolimerów do otrzymywania jadalnych/biodegradowalnych oraz aktywnych materiałów opakowaniowych,
- ocena skuteczności wykorzystania powłok w zabezpieczaniu jakości przechowalniczej owoców i warzyw,
- ocena przydatności hydrokoloidów w produkcji żywności smażonej o zredukowanej kaloryczności.

Mój dorobek naukowy, łącznie z pracami uwzględnionymi w cyklu publikacji powiązanych tematycznie stanowiących Osiągnięcie naukowe, obejmuje autorstwo lub współautorstwo 26 oryginalnych prac naukowo-badawczych, 4 opracowań przeglądowych, rozdziału w podręczniku akademickim oraz 23 komunikatów naukowych. Wszystkie szczegółowe informacje dotyczące wykazu opublikowanych prac naukowych przedstawiłem w załączniku V.

6. Zestawienie dorobku

Wskaźniki naukometyczne mojego dorobku naukowego (łącznie z osiągnięciem, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego)

Lp.	Rodzaj publikacji	Liczba publikacji			IF ^a	Punkty MNiSW ^b	
		Przed doktoratem	Po doktoracie	Ogółem			
1	Oryginalne prace twórcze	Prace indeksowane w bazie JCR	0	16	16	31.164	453
		Prace opublikowane w czasopismach nieindeksowanych w bazie JCR	4	5	9	-	39
2		Monografie naukowe	0	1	1	-	20
3		Rozdziały w monografiach naukowych	0	4	4	-	16
4		Rozdziały w podręcznikach	0	1	1	-	3
5	Komunikaty naukowe	Konferencje zagraniczne i międzynarodowe	0	8	8	-	-
		Konferencje krajowe	5	10	15	-	-
6		Dorobek publikacyjny ogółem	9	44	54	31.164	531

W tym oryginalne prace twórcze wchodzące w skład Osiągnięcia

7	6	18.656	225
----------	----------	---------------	------------

^a - obowiązujący w roku opublikowania (w przypadku publikacji z lat 2015-2016 przyjęto wartość IF wyliczoną dla lat 2014/2015)

^b - zgodnie z listą czasopism punktowanych z roku opublikowania

Liczba cytowań publikacji według bazy:

- Web of Science (WoS): 99

- Scopus: 134

Indeks Hirscha według bazy:

- Web of Science: 5

- Scopus: 6

Lp.	Nazwa czasopisma	L-ba publikacji	IF	Pkt MNiSW
1	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna	1	0	4
2	Cereal Chemistry	1	1.231	25
3	Chłodnictwo	1	0	4
4	European Food Research and Technology	1	1.559	25
5	Food and Bioprocess Technology	1	2.691	40
6	Food Hydrocolloids	4	16.360	180
7	International Journal of Biological Macromolecules	1	2.858	25
8	Journal of Food Engineering	1	2.414	35
9	Journal of Food Processing and Preservation	1	1.159	20
10	Journal of the Institute of Brewing	1	0.837	25
11	Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny	1	0	5
12	Scientia Horticulturae	1	1.396	30
13	Zeszyty Naukowe. Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu	1	0	6
14	Żywność. Nauka. Technologia. Jakość	9	0.659	68
15	Monografie naukowe	1	0	20
16	Rozdziały w monografiach naukowych	4	0	16
17	Rozdziały w podręcznikach akademickich	1	0	3
SUMA:		31	31.164	531

IF- wartość IF obowiązujące w roku opublikowania (w przypadku publikacji z lat 2015-2016 przyjęto wartość IF wyliczoną dla lat 2014/2015)

Pkt MNiSW - punkty zgodnie z rokiem publikacji

Lublin, dn. 03.06.2015 r.

