

ZAŁĄCZNIK 2

AUTOREFERAT

dotyczący działalności naukowo badawczej

1. Imię i nazwisko:

Zdzisław Domiszewski

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:

2002 – doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia,

Akademia Rolnicza w Szczecinie, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa.

Tytuł pracy doktorskiej: Wpływ obróbki cieplnej na ryby jako źródło n-3 PUFA.

Promotor: prof. dr hab. Anna Kołakowska

1998 – dyplom magistra inżyniera technologii żywności, Akademia Rolnicza w Szczecinie,
Wydział Rybactwa Morskiego i Technologii Żywności.

Tytuł pracy magisterskiej: Przydatność wybranych wskaźników utlenienia lipidów do oceny jakości tłuszczów jadalnych. Promotor: prof. dr hab. Anna Kołakowska

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

od 03. 2016 – starszy wykładowca (1/2 etatu), Zakład Towaroznawstwa i Oceny Jakości, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie (ZUT)

01.2003 – 02.2016 adiunkt, Katedra Towaroznawstwa i Oceny Jakości, ZUT

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

4.1. Tytuł osiągnięcia:

„Konserwy rybne jako źródło długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3”

4.2. Osiągnięcie stanowi

rozprawa habilitacyjna - monografia,

której jestem jedynym autorem. Monografia została wydana w 2016 r przez Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie;

ISBN 978-83-7663-218-6

Recenzenci: prof. dr hab. Józef Korczak, prof. dr hab. Zdzisław Sikorski

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

Wprowadzenie i cel pracy

Ryby od bardzo dawna są uważane za bardzo cenny składnik diety, przede wszystkim ze względu na obecność długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 (LC n-3 PUFA), z których najważniejszą rolę odgrywają kwas ikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA). Korzystne działanie lipidów rybnych tłumaczy się głównie wysoką aktywnością biologiczną LC n-3 PUFA, z których w wyniku przemian enzymatycznych powstają przede wszystkim hormony tkankowe, czyli ikozaoidy.

Mimo że EPA i DHA występują w owocach morza, wodorostach i algach, jednak głównym ich źródłem są ryby tłuste.

Konserwy rybne należą do ważniejszych grup towarów rybnych, których największymi atutami są wygoda przy transporcie, brak konieczności chłodniczego przechowywania, a co najważniejsze długi okres przydatności do spożycia, który może wynieść nawet 3–4 lata. Uważane są one również za żywność wygodną, którą można spożyć niemalże w każdych warunkach.

Ze względu na te cechy konserwy mogą stać się przedmiotem szczególnego zainteresowania w żywieniu człowieka.

Na przestrzeni ostatnich lat pod względem technologicznym konserwy rybne bardzo się rozwinęły. W sprzedaży dostępne są różne asortymenty konserw jak: paprykarze, sałatki, pasztety, konserwy faszerowane, w sosie własnym, w galarecie, owocowo-warzywne i inne, jednak najliczniejszą grupę na rynku krajowym wciąż stanowią konserwy w zalewie olejowej i sosie pomidorowym. Ta różnorodność, cenna z punktu żywieniowego, stwarza jednak pewne problemy w podejściu do ich spożycia. W konserwach w zalewie olejowej i sosie pomidorowym znaczna część konsumentów spożywa tylko rybę i to nie zawsze w całości, natomiast resztę konserwy traktuje najczęściej jako zbędny dodatek, który wyrzuca. Tylko część konserw takich jak sałatki, paprykarze, pasztety czy konserwy w galarecie jest spożywana w całości. Większość konserw składa się jednak z części stałych które stanowi ryba oraz części ciekłych, którymi mogą być różnego rodzaju zalewy i sosy.

Przy spożyciu niepełnej konserwy szczególnie tych w zalewach, może pojawić się znaczna strata składników w tym EPA i DHA spowodowana przenikaniem ich do części ciekłej.

Wyjaśnienie skali tego zagadnienia wpłynęłoby nie tylko na spopularyzowanie spożycia całych konserw w celu zminimalizowania strat LC n-3 PUFA ale także na ukierunkowanie technologii na przyszłość.

Przy produkcji konserw w zalewach i sosach podstawowym surowcem są śledzie, szproty i makrele. Są to typowe gatunki ryb konserwowych różniących się między sobą m.in. grubością skóry, która może stanowić pewną barierę w przenikaniu składników zarówno podczas obróbki cieplnej, jak i późniejszego składowania.

W dostępnych pracach można napotkać jedynie wzmianki nt. przenikania cennych LC n-3 PUFA z ryby do części ciekłych, jednakże nie uwzględniają one takich czynników jak rodzaj obróbki cieplnej przed sterylizacją, octowania, rodzaju zalewy oraz czynnika biologicznego (rodzaju tkanki mięśniowej).

Wpływ na zachowanie PUFA może być wieloraki. Z jednej strony takie czynniki jak wrażliwość lipidów rybnych na utlenienie czy możliwość wchodzenia ich w interakcje z innymi składnikami tkanki mogą powodować obniżenie ich zawartości. Z drugiej jednak strony pakowanie na gorąco, wypełnienie całej puszkę zalewą, brak powietrza oraz szczelność opakowań może stwarzać warunki ograniczające straty PUFA w konserwach.

W pracy założono, że konserwy rybne są dobrym źródłem EPA i DHA pod warunkiem, że:

- surowcem podstawowym są ryby tłuste,
- sterylizacja nie spowoduje istotnego obniżenia zawartości EPA i DHA oraz nadmiernego utlenienia lipidów,
- długotrwałe przechowywanie nie spowoduje istotnego zmniejszenia zawartości EPA i DHA oraz utlenienia lipidów obniżającego jakość produktu

Aby sprawdzić przyjęte założenia w badaniach uwzględniono wpływ następujących czynników: rodzaju mięśni (białych, czerwonych), octowanie surowca, gatunku oleju (rzepakowego, słonecznikowego), rodzaju zalewy (olejowej, sosu pomidorowego), sposobu zabezpieczenia surowca (świeżego, mrożonego) oraz rodzaju cieplnej obróbki wstępnej przed sterylizacją (parowanie, podwędzanie).

Badania przeprowadzono na 3 gatunkach ryb (szprotcie, śledziu i makreli), w tym 8 partiach i 15 asortymentach konserw. Analizie poddano surowce (rybę, oleje) oraz części stałe i ciekłe konserw. Lipidy ekstrahowano metodą Bliigha Dyera. W otrzymanych ekstraktach oznaczono zawartość kwasów tłuszczowych (KT), poziom utlenienia lipidów (liczbę nadtlenną – LN, liczbę anizydynową – LA, zawartość skoniugowanych dienów – CD, wyliczono wskaźnik Totox,) oraz zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT). Oznaczono także zawartość wody, tłuszczu, soli, a także przeprowadzono analizę sensoryczną.

Wyniki

Przetworzenie ryb na konserwy w zalewie olejowej spowodowało generalnie zmniejszenie zawartości wody oraz wzrost zawartości tłuszczu w częściach stałych konserw w stosunku do

ryb surowych. Natomiast w częściach stałych konserw w sosie pomidorowym zaobserwowano spadek zawartości tłuszczu, a w częściach ciekłych stwierdzono jego wzrost o 45-137%.

Po sterylizacji okazało się że najpoważniejszym problem w technologii konserw w zalewach i sosach stanowi przemieszczanie się lipidów z ryby do zalewy i na odwrót.

Wykazano, że w zależności od asortymentu konserw straty sumy EPA i DHA **w porcji parowanego mięsa** pobranego do konserwy jako tzw. wsad surowcowy wynosiły aż 13–25%. Reszta kwasów została „wyluowana” do części ciekłych, w istotny sposób wzbogacając ich wartość odżywczą. Stwierdzono istotny wpływ octowania, rodzaju zalewy i obróbki cieplnej przed sterylizacją na wielkość strat kwasów. Zarówno w konserwach ze śledzia, jak i ze szprota surowiec po mrożeniu tracił średnio o 37% większą ilość sumy EPA i DHA niż surowiec świeży.

W zależności od asortymentu konserw zawartość sumy EPA i DHA **w 100 g części ciekłych** konserw wynosiła 0,12–0,56 g. Wykazano istotny wpływ rodzaju tkanki mięśniowej, octowania, rodzaju obróbki cieplnej oraz zalewy na zawartość kwasów w częściach ciekłych.

Parowanie ryb na ogół nie wpłynęło w istotny sposób na wartości wskaźnika PI, który stanowi stosunek sumy EPA i DHA do kwasu palmitynowego.

Natomiast po sterylizacji konserw zaobserwowano istotny (wynoszący 14–36%) spadek wartości PI w stosunku do ryby parowanej. W konserwach w sosie pomidorowym zmiany wskaźnika były mniejsze i nie przekraczały 6%. Obserwowane zmiany wskaźnika wynikały z przemieszczania się lipidów z zalewy lub sosu do części stałych i na odwrót.

W pracy nie stwierdzono przydatności tego wskaźnika do obserwowania zmian zawartości dwóch najważniejszych kwasów tłuszczowych w lipidach ryb tj.: EPA i DHA, co świadczy o złożoności problemu związanego z eluowaniem LC n-3 PUFA z mięsa do zalewy.

Biorąc pod uwagę zawartość sumy EPA i DHA w częściach stałych i ciekłych czyli w całej konserwie stwierdzono, że straty kwasów były istotne i wynosiły 4,2–6%. Równoczesne zastosowanie ekstrakcji selektywnej lipidów w rybach parowanych i częściach stałych pozwoliło mi na stwierdzenie, że proces technologiczny nie powoduje istotnych strat sumy EPA i DHA w całej konserwie.

Mimo że zawartość lipidów mocno związanych po sterylizacji w częściach stałych na ogół wzrosła aż 2–3-krotnie, w stosunku do ryby parowanej, w ogólnej ich ilości frakcja ta nie przekraczała 2 %.

Po sterylizacji zawartość izomerów *trans* w samym oleju nie zmieniła się istotnie, natomiast w częściach stałych wynosiła 0,02–0,03 g. Na podstawie tych analiz mogłem

stwierdzić, że proces sterylizacji (przy parametrach typowych dla przemysłu rybnego) nie niesie ryzyka powstawania izomerów *trans*. Oznaczone zawartości izomerów były typowe dla olejów rafinowanych, które są uznawane za produkty o niskiej zawartości tych związków. Obecność izomerów *trans* w częściach stałych konserw była wynikiem jedynie przemieszczania się oleju z zalewy do tkanki mięsnej.

Podczas przechowywania w częściach stałych obserwowano ubytek zawartości sumy EPA i DHA. Po 3 latach, w zależności od asortymentu konserw, zawartość sumy EPA i DHA zmniejszyła się istotnie o (5–15%). Na ogół stwierdzano istotną ujemną korelację między czasem przechowywania a zawartością tych kwasów w częściach stałych. W przeciwieństwie do części stałych w częściach ciekłych obserwowano podczas przechowywania wzrost zawartości sumy EPA i DHA, który w zależności badanego asortymentu konserw wyniósł 12–30%.

Długotrwałe przechowywanie konserw zwiększyło straty sumy EPA i DHA w całej konserwie do maksymalnie do 7%. Jednakże i w tym przypadku równoczesne zastosowanie ekstrakcji selektywnej wykazało, że straty EPA i DHA w całej konserwie zmniejszają się do około 3% i są nieistotne statystycznie.

Proces produkcji konserw wpłynął także w odmienny sposób na poziom utlenienia lipidów w częściach stałych i ciekłych. W konserwach otrzymanych z surowca świeżego w częściach stałych obserwowano istotny wzrost wskaźników (o 26–100%), a z mrożonego – spadek o 32–80%. W częściach ciekłych konserw olejowych stwierdzono wzrost wartości wskaźników utlenienia o 6–30%, a pomidorowych aż 2–3-krotny. Największy wpływ na zmiany wskaźników miał sposób zabezpieczenia ryb oraz rodzaj obróbki cieplnej przed sterylizacją.

Podczas przechowywania konserw zmiany wskaźników utlenienia lipidów w częściach stałych i ciekłych przebiegały odmiennie. W lipidach części stałych obserwowano generalnie wahania wskaźników, natomiast w ciekłych stwierdzono na ogół liniowy wzrost. Szybszy wzrost wskaźników utlenienia stwierdzono w samych olejach, niż w olejach pochodzących z części ciekłych konserw olejowych (zalew).

Wskutek sterylizacji LK w częściach stałych konserw wzrosła o 50–100%, natomiast w częściach ciekłych konserw w zalewie olejowej o 12–60%, a w sosie pomidorowym aż 5–34-krotnie. Podczas przechowywania zarówno w częściach stałych jak i ciekłych konserw obserwowano na ogół liniowy wzrost zawartości WKT. Po 3 latach większy wzrost LK stwierdzono w częściach ciekłych (1,4–4,5-krotny) niż stałych (o 50–150%).

Potwierdzeniem tego, że specyficzne cechy procesu technologicznego jak m.in. stopień wypełnienia puszki miały istotne znaczenie, były wyniki badań przeprowadzonych na samym

tranie i olejach roślinnych. Poddanie sterylizacji samego tranu przyczyniło się do istotnych strat sumy EPA i DHA w puszkach wypełnionych do połowy. Długotrwałe przechowywanie tych puszek spowodowało istotne straty sumy EPA i DHA po drugim roku, natomiast puszek pełnych dopiero po trzecim. W puszkach pełnych proces utlenienia zachodził zawsze wolniej niż w puszkach wypełnionych do połowy.

Sterylizacja nie wpłynęła w negatywny sposób na jakość sensoryczną części stałych ani ciekłych. Podczas przechowywania w częściach stałych i ciekłych obserwowano obniżenie wartości wyróżników jakościowych. Na ogół istotne zmiany następowały dopiero po 2 latach. Stwierdzono istotną ujemną korelację między czasem przechowywania a wartościami wyróżników. Szybszy spadek dotyczył wyróżników smaku i zapachu ($a = -0,04-0,07$) niż tekstury i barwy ($a = -0,02 -0,05$).

Przeprowadzone badania wykazały, że w konserwach rybnych problemem nie są straty LC n-3 PUFA spowodowane obróbką cieplną czy proces utlenienia lecz przemieszczanie się cennych lipidów rybnych z części stałych do ciekłych. Jako obowiązujący do niedawna udział części stałych w konserwach w zalewie olejowej i sosie pomidorowym wynoszący odpowiednio 70 i 50% obecnie nie musi być respektowany. Można domniemywać, że zwiększenie z przyczyn ekonomicznych, udziału części ciekłych, jeszcze bardziej spotęguje straty LC n-3 PUFA w częściach stałych konserw rybnych.

Podsumowanie

Straty długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3, tj. EPA i DHA, w całej konserwie po procesie technologicznym są stosunkowo małe i nie przekraczają 6%. Jednak główną przyczyną tych strat była zmiana formy ich związania i przejście części lipidów w postać nieekstrahowalną. Biorąc pod uwagę zarówno lipidy ekstrahowalne jak i nieekstrahowalne straty EPA i DHA były nieistotne.

Główną przyczyną strat kwasów w częściach stałych konserw jest przejście lipidów z części stałych do części ciekłych. Dlatego odrzucanie zalewy lub sosu podczas spożywania konserw prowadzi do istotnego obniżenia wartości odżywczej produktu. Zawartość konserwy należy traktować jako całość, tak aby konsument mógł spożyć wszystkie LC n-3 PUFA, które występują w obu częściach. Nie należy więc preferować konserw ze zbyt dużym udziałem części ciekłych lub przeciwdziałać temu zjawisku przez włączenie do receptury środków wiążących.

Konserwy, nawet długo przechowywane są dobrym źródłem LC n-3 PUFA z względu na wysoką zawartość EPA i DHA oraz stosunkowo niski poziom utlenienia lipidów. Ponadto są produktem trwałym, który nie wymaga stosowania wysokich stężeń soli i chemicznych konserwantów.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk rolniczych

Mimo że początek mojej pracy naukowej związany jest z realizacją pracy magisterskiej w Zakładzie Towaroznawstwa i Oceny Jakości, to jednak pierwsze zainteresowania jakością żywności pojawiły się w Technikum Gastronomicznym podczas praktycznych zajęć z technologii gastronomicznej. Po zdaniu matury w 1992 r. rozpocząłem studia na Wydziale Rybactwa Morskiego i Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Szczecinie. Już podczas III roku studiów podjąłem podczas praktyk współpracę z Zakładem Towaroznawstwa uczestnicząc w badaniach naukowych.

Praca ta zainspirowała mnie do rozpoczęcia w tym Zakładzie pracy magisterskiej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Anny Kołakowskiej. Badania przeprowadzone do pracy magisterskiej dotyczyły przydatności wybranych wskaźników utlenienia lipidów do oceny jakości tłuszczów jadalnych. Zapoznałem się praktycznie z analizą lipidów i doбором odpowiednich metod badawczych. Tematyka lipidów i ocena jakości żywności pozostały moimi najważniejszymi zainteresowaniami naukowymi. Świadomość doskonalenia metod analitycznych w ocenie jakości żywności towarzyszy mi w całym rozwoju naukowym.

Po ukończeniu studiów (1998 r.) kontynuowałem naukę i rozwijałem zainteresowania naukowe jako doktorant na Międzywydziałowych Studiach Doktoranckich w macierzystej Uczelni. Badania kontynuowałem, pod kierunkiem profesor Anny Kołakowskiej w Katedrze Towaroznawstwa i Oceny Jakości i dotyczyły one wpływu obróbki cieplnej na ryby jako źródło n-3 PUFA. Prace doktorską obroniłem w terminie, w listopadzie 2002 roku.

Celem realizowanej pracy doktorskiej było zbadanie wpływu ogrzewania tkanki mięśniowej ryb, na zawartość n-3 PUFA i poziom utlenienia lipidów.

Praca została poświęcona obróbce cieplnej, ponieważ operację tę bardzo często stosuje się zarówno w przemyśle rybnym jak i podczas przygotowywania potraw z ryb w warunkach domowych i w zakładach żywienia zbiorowego.

Badania przeprowadziłem na przykładzie dwóch gatunków ryb tłustych: śledzi z różnych okresów połowu i szprocie bałtyckim. W pracy skoncentrowałem się na lipidach, ze względu na ich szczególną rolę żywieniową, oraz fakt, że ryby są głównym naturalnym źródłem LC n-3 PUFA. Zastosowanie w pracy dłuższego czasu ogrzewania, niezbędnego do osiągnięcia gotowości kulinarnej, bo wynoszącego co najmniej 60 min. pozwoliło mi na prześledzenie dynamiki zmian lipidów w każdej ze stosowanych temperatur (60, 100 i 160°C).

W badaniach wykazałem, że ogrzewanie tkanki mięśniowej ryb w temp. 60, 100 i 160°C nawet przez 1-3 h nie powoduje strat n-3 PUFA, a zmiany lipidów mięśniowych ryb podczas

obróbki cieplnej zależą od tego, czy ogrzewana jest tkanka, czy wyizolowane lipidy oraz od zaawansowania zmian, jakie zaszły w lipidach/tkance przed obróbką cieplną. Wykazałem również, że przechowywanie rozdrobnionej tkanki mięśniowej ryb: zamrażalnicze ($-18^{\circ}\text{C}/ 3$ mies.) lub chłodnicze ($4^{\circ}\text{C}/ 4$ dni) nie miało wpływu na wielkość strat n-3 PUFA podczas obróbki cieplnej, natomiast przechowywanie ryb po obróbce cieplnej wiąże się ze stratami n-3 PUFA.

Realizacja pracy doktorskiej nie była jedynym tematem badawczym, jakim zajmowałem się podczas studiów doktoranckich. Istotny wpływ na mój rozwój naukowy miał udział w szeroko zakrojonych badaniach nad wpływem czynników biologicznych i technologicznych na ryby, jako źródła n-3 wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Był to projekt badawczy (KBN nr PO 6 G 019 17) realizowany pod kierunkiem profesor Anny Kołakowskiej.

Okres studiów doktoranckich oraz praca w grantie przyczyniła się do poznania i zastosowania kolejnych metod instrumentalnych wykorzystywanych do analizy lipidów. Już od pierwszego roku uczyłem się metod chromatograficznych. Nauczyłem się zarówno analizy jakościowej i ilościowej składu KT z wykorzystaniem zarówno detektora FID jak i MS.

Dzięki uczestniczeniu w grantie, nauczyłem się po zakupie nowej aparatury badawczej wykorzystania metod spektrofotometrycznych w zakresie IR do oceny jakości lipidów. Były to jedne z pierwszych badań wykorzystujących tę technikę do oceny zmian jakości w lipidach rybnych.

Podczas realizacji grantu otrzymałem pierwsze samodzielne zadania do wykonania. Było to przeprowadzenie kilku obróbek cieplnych a następnie analiza lipidów (poziom utlenienia i analiza składu KT) na jednej z partii śledzia bałtyckiego.

Wyższe zawartości LC n-3 PUFA czasami uzyskiwane podczas badań w próbach po obróbkach cieplnych niż w próbach surowych zainspirowały mnie do rozpoczęcia badań metodycznych nad oznaczaniem składu KT bezpośrednio w próbach (pomijając ekstrakcję lipidów). Jedne z pierwszych uzyskanych wyników wykazały istotny wpływ nie tylko zastosowanego stężenia metanolanu sodu przy transestryfikacji lipidów, ale także ilość dodanego trójfluorku boru w metanolu.

Uzyskane wyniki z realizacji pracy doktorskiej i grantu przyczyniły się do ukazania się, jeszcze przed uzyskaniem tytułu doktora, współautorstwa oryginalnej pracy w bazie JCR (II.A.7.) oraz 10 doniesień naukowych (3 na konferencje zagraniczne: III.B1.1- III.B1.3; oraz 7 na konferencje krajowe: III.B2.1- III.B2.7).

5.2. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych

Przeprowadzając badania zarówno w ramach pracy magisterskiej i doktorskiej w Zakładzie Towaroznawstwa i Oceny Jakości, uzyskałem cenne doświadczenie zawodowe przygotowujące mnie do przeprowadzenia badań w laboratorium chemicznym i instrumentalnym z zakresu analizy żywności. Przyczyniło się to także do wypracowania własnego warsztatu badawczego oraz ukształtowania zainteresowań naukowych, w których można wyodrębnić cztery główne obszary.

1. Wpływ wybranych procesów i czynników technologicznych na jakość lipidów w surowcach i produktach rybnych.
2. Badania metodyczne dotyczące oznaczania izomerów *trans*, składu kwasów tłuszczowych bezpośrednio w próbkach (z pominięciem ekstrakcji) oraz analizy spektroskopowej.
3. Jakość żywności (zawartość NNKT i stopień utlenienia lipidów) w produktach żywnościowych, zwłaszcza pochodzenia wodnego.
4. Fortyfikacja żywności lipidami rybnymi.

Ad. 1A

Dzięki zdobytemu doświadczeniu przy realizacji grantu PO 6 G 019 17 uczestniczyłem w realizacji grantu 3 PO6T 060 25, którego kierownikiem była profesor Anna Kołakowska. Celem projektu było zbadanie, czy szczególnie cenne żywieniowo białko i lipidy pstrąga tracą na wartości odżywczej podczas obróbki cieplnej i jaki wpływ na te straty ma stopień świeżości surowca. Chociaż w badaniach zajmowałem się głównie oceną jakości lipidów, to też uczestniczyłem wspólnie z zespołem w innych analizach.

W projekcie byłem odpowiedzialny za kilka zadań m.in. za przeprowadzenie kilku obróbek cieplnych, badań dotyczących paszy, odpadów a także przechowywania chłodniczego ryb całych i patroszonych. W ramach zadań dokonałem głównie analizy składu KT i w części prób analizy poziomu utlenienia lipidów.

Wykonana przeze mnie część badań pozwoliła na stwierdzenie, że pstrąg nawet niezbyt świeży, nadal jest dobrym mało wrażliwym na utlenianie źródłem LC n-3 PUFA, pod warunkiem, że nie jest przygotowany do spożycia za pomocą gotowania mikrofalowego i smażenia (III.B1.10; III.B2.12; III.B2.17).

Badania jakie przeprowadziłem na śledziu i szprotach (wpływ ogrzewania na jakość lipidów) powtórzyłem na pstrągach. Otrzymane wyniki dotyczące zarówno zmian KT i poziomu utlenienia lipidów zgodne były z wcześniejszymi obserwacjami, że długotrwała

obróbka cieplna pstrągów w warunkach o ograniczonym dostępie powietrza nie powoduje istotnych strat LC n-3 PUFA. Nie przyczyniła się ona również do dynamicznego wzrostu produktów utlenienia lipidów. Wyniki tych badań przedstawiłem w publikacji II.A.5.

W projekcie z moim udziałem podjęto badania paszy i ryb. Badania powtórzono przy zmianie hodowcy, oraz po uzyskaniu od hodowcy informacji o zmianie dostawcy paszy. Wykazano, że ryby do badań muszą być karmione tą samą paszą, a w przypadku zmiany paszy należy ponownie poddać ją analizie. Wyniki tych badań porównawczych przedstawiono w postaci doniesienia (III.B.2.13) i wykorzystano w rozdziale na temat kwasów n-3 PUFA (II.D.15). Dzięki tym badaniom można było bezpiecznie podjąć decyzję o wielkości próby, zwłaszcza że w projekcie istniała konieczność porównania różnych obróbek cieplnych na tym samym materiale, przy założonym szerokim zakresie analiz. Wykazano, że jeżeli partia jest jednorodna pod względem stadium rozwoju gonad i płci próba laboratoryjna może stanowić mniej niż 5 sztuk. W przeciwnym przypadku należy pobierać taką samą ilość osobników obu płci o zbliżonym stadium rozwoju gonad (II.D.14).

Uczestniczyłem także w badaniach, których celem było wyznaczenie klas świeżości w zależności od czasu przechowywania pstrągów w lodzie w dwóch różnych temperaturach. Wykazano, że podczas 2-tygodniowego przechowywania chłodniczego ryb zachodzi raczej wygaszanie produktów utlenienia obecnych w tkance niż utlenianie lipidów. Wyniki uzyskane z tej części badań zamieszczono w pracy oryginalnej (II.D.1) i w doniesieniu naukowym (II.D.15).

Podczas realizacji Projektu podjęto również badania odpadów z ryb. W pracy i w doniesieniu (II.A.1; II.B.2.13) z moim udziałem wykazano, że odpady są cennym produktem ubocznym, które można wykorzystać na cele paszowe i do pozyskiwania składników funkcjonalnych (w tym n-3 PUFA). Mogą pochodzić z ryb przechowywanych przez 7 dni, a nawet 2 tygodnie, bez obawy o straty n-3 PUFA.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach Projektu miały bardzo szeroki aspekt praktyczny, ponieważ mogą być wykorzystane w hodowli pstrąga, przetwórstwie rybnym oraz przez organy (urzędowej i handlowej) oceny jakości.

Badania, jakie prowadziłem nt. wpływu obróbek cieplnych na ryby w ramach pracy doktorskiej i grantów, obejmowały oprócz wyżej wymienionych śledzi, szprotów i pstrągów także inne gatunki: pangę, sieję i płóc.

Wybór przez mnie pangi na badania nie był przypadkowy, ponieważ filety z tych ryb mogą być ze względu na białe mięso i brak rybiego zapachu alternatywą dla dorsza czy morszczuka. Mimo rosnącego spożycia filetów z pangi, w dostępnej literaturze brak było

informacji na temat wpływu obróbek cieplnych na jakość lipidów. Zbadałem wpływ czterech obróbek cieplnych (gotowanie z dodatkiem i bez dodatku soli, smażenie, gotowanie mikrofalowe z wodą, gotowanie mikrofalowe bez wody) na skład kwasów tłuszczowych oraz poziom utlenienia i hydrolizy lipidów.

Wykazałem, że przeprowadzone obróbki cieplne nie stanowią żadnego niebezpieczeństwa utlenienia lipidów, a porcja 100 g filetów zapewnia maksymalnie do 5% dziennego zapotrzebowania na sumę EPA i DHA. Jednakże ze względu na niską zawartość tłuszczu i odpowiedni stosunek n-6 do n-3 PUFA panga może być alternatywą dla dań np. z wieprzowiny. Wyniki tych badań przedstawiono w pracy oryginalnej (II.D.4).

Kolejnym przeprowadzonym badaniem w ramach tego samego obszaru zainteresowań naukowych, była ocena przydatności mięsa ryb małowcennych do produkcji żywności przekąskowej, które powstało we współpracy z Katedrą Technologii Żywności. Płoc jest marginalnie wykorzystywana w przemyśle rybnym i zaliczana jest do ryb małowcennych.

Wykazano, że zarówno dodatek surowego, jak i przemywanego mięsa rybiego odkostnionego mechanicznie wpłynął na wzbogacenie paluszków w KT z rodziny n-3 w tym EPA i DHA. Mimo że we frakcji lipidowej dominowały głównie kwasy typowe dla użytego oleju rzepakowego (C18:1, C18:2 i C18:3), zawartość sumy EPA i DHA w 100g produktu dochodziła nawet do około 1 g. Zarówno surowe, jak i przemywane mięso odkostnione mechanicznie z płoci stanowi dobry surowiec do produkcji wyrobów przekąskowych o korzystnym profilu kwasów tłuszczowych. Wyniki tych badań przedstawiono w pracy oryginalnej (II.D.14).

Tematem naukowym jakim się interesowałem, był też wpływ wędzenia na jakość siei i łososa. Przeprowadzone razem z zespołem badania wykazały, że mimo wysokiego poziomu utlenienia lipidów w surowcu nie stwierdzono strat PUFA po wędzeniu. Wręcz przeciwnie, bezwzględna zawartość sumy EPA i DHA w 100 g tkanki mięsnej zwiększyła się i wynosiła średnio 1 g. Obserwowany wzrost zawartości sumy EPA i DHA wynikał głównie ze zmian zawartości tłuszczu. Mimo nagromadzenia aldehydów i ketonów lipidy siei są dobrym źródłem LC n-3 PUFA, ponieważ spożycie już 50 g tkanki mięśniowej ryb zapewnia w 100% dzienne zapotrzebowanie na te kwasy. Dodatkowo lipidy te odznaczają się bezpośrednio po wędzeniu stosunkowo niskim poziomem utlenienia. Wyniki tych badań przedstawiono w pracy oryginalnej (II.A.3).

Ponieważ pochodzenie ryb wpływa na jakość wędzonego łososa badania obejmowały zarówno ryby dzikie jak i hodowlane. Uwzględniono zarówno wędzenie na zimno jak i gorąco. Przeprowadzone badania wykazały, że wędzenie na zimno powodowało zmiany w składzie

lipidów (głównie w MUFA i PUFA różnie w każdej z badanych partii ryb). Największe zmiany zaobserwowano w dzikim łosiosiu, przy czym straty dotyczyły wyłącznie LC n-3 PUFA. Ponieważ zawartość lipidów po wędzeniu była większa niż przed, łosiosie wędzone na zimno nie dostarczały mniej PUFA w tym LC n-3 PUFA niż surowe. Wyniki tych badań przedstawiono w doniesieniu naukowym prezentowanym na Euro Fed Lipids (III.B1.11).

Ad.2

Prowadząc badania dotyczące jakości lipidów, uznałem za konieczne zainteresowanie się możliwością powstawania izomerów *trans* podczas obróbek cieplnych. Ze względu na obserwowane w piśmiennictwie duże rozbieżności w ich zawartości w zależności od zastosowanej metody badawczej oraz niebezpieczeństwo interpretacyjne wyników uznałem za konieczne przeprowadzenie badań metodycznych. W pierwszym etapie na prostych modelach, które stanowiły tłuszcze uwodornione do wstępnego rozdzielania EMKT na frakcję *cis* i *trans*, wykorzystałem zarówno technikę Ag^+ -TLC jak i Ag^+ -HPLC. Zasadnicze rozdzielanie EMKT dokonałem za pomocą chromatografii gazowej. Porównałem także różne fazy ruchome pod względem możliwości wstępnego rozdzielania izomerów *trans* w tłuszczach. Wykazałem, że zawartość izomerów *trans* może różnić się istotnie w zależności od zastosowanej fazy ruchomej. Stwierdziłem że zastosowanie fazy ruchomej toluen : heksan (90:10) pozwala jednocześnie nie tylko na analizę izomerów kwasu C20:1 ale również C18:1. Wyniki badań przedstawiłem w publikacji (II.D.17).

Po dopracowaniu technik analizy izomerów *trans* skoncentrowałem się nad wpływem różnych obróbek cieplnych ryb na możliwość powstawania izomerów *trans* w lipidach. W pracy przeanalizowałem również wpływ trzech temperatur: 100, 160 oraz 220°C na występowanie izomerów *trans* podczas ogrzewania tkanki mięśniowej pstrąga potokowego. Wykazałem, że niezależnie od zastosowanej temperatury i czasu ogrzewania tkanki ryb nie istnieje niebezpieczeństwo powstawania tak niebezpiecznych związków, jakimi są izomery *trans* (III.B1.9).

Skupiłem się także na metodyce bezpośredniego oznaczania KT. Badania rozpocząłem jeszcze na studiach doktoranckich, ale ze względu na pewne trudności metodyczne kontynuowałem je w późniejszym czasie rozszerzając o kolejne gatunki ryb. Założyłem, że standardowe przygotowanie EMKT ogranicza się jedynie do oznaczenia KT tylko w części lipidów ekstrahowanych, których zawartość w dużym stopniu zależy od użytych rozpuszczalników i sposobu przeprowadzenia ekstrakcji.

W zasadniczych badaniach porównałem skład KT w 3 gatunkach ryb tłustych (śledziu, szprocie i pstrągu), w próbach surowych oraz po obróbce cieplnej. W jednym wariancie EMKT przygotowałem wg AOAC, a w drugim metodą bezpośrednią.

Wykazałem, że w próbach poddanych ogrzewaniu udział procentowych EPA i DHA w których EMKT przygotowano metodą bezpośrednią, był od 5 do 10% wyższy niż w wariancie z metodą AOAC. W przypadku ryb surowych sposób przygotowania EMKT nie miał istotnego wpływu na skład KT. Może to wskazywać na fakt, że w stosunku do prób surowych należałoby rozważyć dalsze kontynuowanie badań. W pracy jednoznacznie dowiedziono, że sposób przygotowania EMKT może mieć istotny wpływ na udział procentowy kwasów i grup w tłuszczu a tym samym na rzutować na jego wartość odżywczą (II.D.2).

Ad.3

Kolejnym obszarem badawczym realizowanym w ramach zainteresowań naukowych, była ocena jakości produktów żywnościowych, zwłaszcza pochodzenia wodnego. Badania realizowano w ramach projektu UE, którego kierownikiem był dr inż. Grzegorz Bienkiewicz. W Projekcie byłem odpowiedzialny za kilka grup towarowych produktów rybnych (sałatki, marynaty, ryby wędzone, konserwy rybne). W ramach badań oznaczyłem w nich nie tylko skład KT ale również poziom utlenienia i jakość sensoryczną.

Przeprowadzone badania wykazały, że zawartość sumy EPA i DHA w sałatkach kształtowała się w bardzo szerokim zakresie. Mimo że wydawałoby się, iż sałatki rybne będą dobrym źródłem LC n-3 PUFA, w rzeczywistości prawie w 50% asortymentów spożycie rekomendowanej ilości sumy EPA i DHA wymagałoby zakupu powyżej 1 opakowania. Potwierdzono również, że ta grupa towarowa posiada stosunkowo wysoki poziom utlenienia lipidów. Co istotne poziom utlenienia nie był skorelowany ani z zawartością PUFA, ani z zawartością filetów śledziowych (II.D.6).

Następną dokładnie przebadaną przez mnie grupą towarową były marynaty w zalewie olejowej. Badania przeprowadzono zarówno na filetach ze śledzia dalekomorskiego, jak i zalewie olejowej. Stwierdzono, że w celu dostarczenia rekomendowanej ilości sumy EPA i DHA należy spożywać max. 25 g mięsa. Analiza składu KT zalew wykazała, że dominującą grupą we wszystkich sortymentach były MUFA, co wynikało z użycia oleju rzepakowego jako zalewy. Bardzo niski udział procentowy sumy EPA i DHA w zalewach świadczył o stosunkowo małej migracji lipidów rybnych z mięsa do zalewy. Analiza poziomu utlenienia lipidów zalew wykazała dobrą ich jakość, ponieważ wartości wskaźników utlenienia (LN,

LA, Totox) spełniały zalecenia jakościowe zawarte w polskich normach oraz w Codex Alimentarius. Poziom utlenienia filetów ze śledzia był kilkakrotnie wyższy niż zalew, co może budzić pewne obawy nie tylko o jakość sensoryczną, ale również o bezpieczeństwo zdrowotne. Nie stwierdziłem istotnej zależności między okresem przydatności do spożycia marynat a poziomem utlenienia lipidów mięsa. Nie wszystkie asortymenty, które znajdowały się relatywnie najbliżej końca okresu przydatności do spożycia, miały najwyższy poziom utlenienia. Wyniki tych badań przedstawiono w pracy oryginalnej (II.D.5) i doniesieniu naukowym prezentowanym na Euro Fed Lipids (III.B1.12).

W Projekcie oznaczono także zawartość NNKT w paluszkach rybnych. Oznaczano udział panieru, zawartość lipidów i skład KT w panierce, rdzeniu i całym produkcie. Wykazano, że paluszki otrzymane z ryb chudych są ubogim źródłem LC n-3 PUFA, ponieważ dostarczenie zalecanej dawki sumy EPA i DHA wymagałoby spożycia 300-500 g gotowego produktu. Wyjątkiem były paluszki wyprodukowane z łososia, w którym zawartość LC n-3 PUFA wynosiła 0,96 g/100 g produktu (II.A.2).

Badania przeprowadzono także na liofilizatach oraz daniach z nich przygotowanych. Wykazano, że liofilizaty charakteryzują się stosunkowo wysokim poziomem utlenienia lipidów, a zalanie ich gorącą wodą spowodowało w niektórych próbach dalsze rozwinięcie utlenienia. Przygotowanie dań nie miało generalnie istotnego wpływu na skład KT. Tylko ok. 20% przebadanych dań miało prawidłowy stosunek n-6 do n-3 PUFA. Stwierdzono także, że dania w końcowym okresie przydatności do spożycia mogą być źródłem znacznych ilości produktów utlenienia lipidów oraz charakteryzują się bardzo słabą pożądalnością ogólną (II.D.10).

Podczas całego okresu zatrudnienia utrzymywałem kontakt z przemysłem w celu poprawy jakości produktów żywnościowych. Ponadto w ramach współpracy wykonałem szereg ekspertyz a także byłem współautorem poradnika nt. „Oznaczanie i zawartość polifosforanów w mrożonych filetach rybnych”.

Ad.4

Obszarem naukowym jakim się zajmowałem były badania związane z jakością żywności foryfikowanej lipidami rybnymi. O ile podaż NNKT z żywnością jest wystarczająca, o tyle w przypadku LC n-3 PUFA występują bardzo duże niedobory związane ze zbyt małym spożyciem ryb. W związku z powyższym jednym z rozwiązań mającym zwiększyć spożycie LC n-3 PUFA jest wzbogacanie żywności olejami rybnymi zarówno w stanie ciekłym jak i postaci mikrokapsuł.

Badania w tym obszarze naukowym realizowane były w ramach Projektu „ProBioKap”, którego kierownikiem był profesor Artur Bartkowiak z Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych. Uczestniczyłem zarówno przy otrzymaniu mikrokapsułkowanego tranu jak i prozdrowotnego produktu spożywczego. Wyniki badań przedstawiono w zgłoszeniach patentowych, których jestem współautorem (II.B.1 i 2).

W projekcie byłem odpowiedzialny także za otrzymanie produktu (dania) które miałyby dostarczać nie tylko odpowiednią ilość LC n-3 PUFA, ale również znalazłoby szerokie zastosowanie w zakładach żywienia zbiorowego. W badaniach zastosowano mikrokapsuły o pewnym już stopniu zaawansowania utlenienia lipidów zdając sobie sprawę, że takie „suplemety” są na ogół długo przechowywane. Wykazano, że można skutecznie wzbogacić produkt, bez pogorszenia jakości sensorycznej. Już 300 gramowa porcja klusek śląskich serwowana jako danie zasadnicze jest w stanie zapewnić dzienne zapotrzebowanie EPA i DHA. Przeprowadzony proces technologiczny nie wpłynął istotnie na poziom utlenienia i hydrolizy lipidów, a ilość produktów utlenienia w porcji klusek (300 g) była niższa np. niż w 100 g porcji frytek. Stwierdziłem, że przy fortyfikacji żywności bogatej w skrobię istnieje ryzyko trwałego związania części LC n-3 PUFA. Wykazano także że interakcje skrobia – lipidy odpowiedzialne są prawdopodobnie za maskowanie deskryptorów smaku i zapachu negatywnie wpływających na jakość wzbogacanych produktów. Wyniki badań przedstawiono w pracy oryginalnej (II.D.11).

Prawdopodobnie ze względu na zaawansowaną technologię i cenę mikrokapsuły mogą być niedostępne dla każdego konsumenta. Dlatego, też fortyfikacja mikrokapsułami nie była jedynym tematem badawczym realizowanym w tym obszarze zainteresowań naukowych.

W celu obniżenia kosztów finalnego produktu przeprowadziłem badania nad możliwością wzbogacenia potraw z mięsnej masy mięsnej (pulpety) tranem. Ustaliłem optymalny dodatek tranu do masy mięsnej, zbadałem wpływ gotowania w wodzie, na parze oraz chłodniczego przechowywania pulpetów na jakość produktu. Wykazałem, że w dniu przygotowania pulpetów, połączenie mięsa czerwonego z tranem nie stanowi ryzyka gwałtownego wzrostu poziomu utlenienia lipidów. Gotowanie na parze spowodowało wyższy wzrost LN niż gotowanie w wodzie. Niestety chłodnicze przechowywanie takich produktów wiąże się z dynamicznym rozwojem utlenienia, co może stanowić pewne już zagrożenie. Dodatek tranu do masy mięsnej pozwolił na obniżenie stosunku n-6 do n-3 PUFA do poziomu zalecanego, a 100 g porcja pulpetów zawierała połowę zalecanej dawki dziennego spożycia sumy EPA i DHA. Wyniki tych badań przedstawiłem w publikacji (II.D.13).

Zdzisław
Domiszewski