

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 13
20-950 Lublin
(nazwa i dane adresowe podmiotu habilitującego,
wybranego do przeprowadzenia postępowania)
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Ewa Jabłońska-Ryś
(imię i nazwisko wnioskodawcy)

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego
i Gastronomii
Zakład Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów
ul. Skromna 8
20-704 Lublin
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 8 lutego 2023 r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie **nauk rolniczych** w dyscyplinie¹ **technologia żywności i żywienia**.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

Cykl prac tworzących osiągnięcie naukowe pod wspólnym tytułem: *Wpływ procesu fermentacji mlekowej na wybrane aspekty jakościowe owocników grzybów jadalnych*

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu ~~tajnym~~/jawnym*²

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

.....
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy
2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora
3. Autoreferat przedstawiający opis kariery zawodowej oraz istotnej aktywności naukowej
4. Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny
5. Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe
6. Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie prac stanowiących osiągnięcie naukowe

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Załącznik 3

**do wniosku o przeprowadzenie postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych
w dyscyplinie technologia żywności i żywienia**

AUTOREFERAT

**Wpływ procesu fermentacji mlekowej na wybrane aspekty jakościowe
owocników grzybów jadalnych**

dr inż. Ewa Jabłońska-Ryś

Lublin, 2023

Spis treści	s.
1. Dane personalne	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)	3
4.1. Tytuł osiągnięcia	3
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego	4
4.3. Syntetyczne omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego	6
4.3.1. Wstęp	6
4.3.2. Cel naukowy i zakres badań	8
4.3.3. Omówienie wyników badań w ramach założonych celów	9
4.3.4. Podsumowanie	31
4.3.5. Piśmiennictwo	34
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	39
5.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora	39
5.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora	39
5.3. Działalność naukowo-badawcza realizowana w więcej niż jednej uczelni	45
5.4. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego	47
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	50
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne	50
6.2. Osiągnięcia organizacyjne	50
6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę	51
7. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej	53

1. Dane personalne

Ewa Jabłońska-Ryś (pozostałe dane w załączniku 1.)

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

- 2005 Doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia – przetwórstwo owoców i warzyw, nadany uchwałą Rady Wydziału Rolniczego Akademii Rolniczej w Lublinie. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ wybranych procesów technologicznych na zawartość biologicznie aktywnych składników selera korzeniowego *Apium graveolens* L. var. *rapaceum*”. Promotor: dr hab. Janusz Kalbarczyk
- 1997 Ukończenie szkolenia pedagogicznego, Międzywydziałowe Studium Pedagogiczne, Akademia Rolnicza w Lublinie
- 1996 Ukończenie studiów magisterskich na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka i uzyskanie tytułu magistra inżyniera. Tytuł pracy magisterskiej: „Wpływ preparatu enzymatycznego na wydajność soków dietetycznych z warzyw korzeniowych”. Promotor: dr hab. Janusz Kalbarczyk

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 2005-obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego i Gastronomii, Zakład Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów; adiunkt
- VII 2001-I 2002 urlop macierzyński, V 2002-IX 2002 urlop wychowawczy
- 1996-2005 Akademia Rolnicza w Lublinie, Wydział Rolniczy, Katedra Przetwórstwa Owoców i Warzyw; asystent

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

4.1. Tytuł osiągnięcia

Wpływ procesu fermentacji mlekowej na wybrane aspekty jakościowe owocników grzybów jadalnych

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

H1. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant properties and phenolic acid contents of oyster (*Pleurotus ostreatus*) and chanterelle (*Cantharellus cibarius*) mushrooms. **Ewa Jabłońska-Ryś**, Aneta Sławińska, Dominik Sz wajgier. Food Sci. Biotechnol. 2016, 25, 2, 439-444, DOI: 10.1007/s10068-016-0060-4 (**20 pkt, IF₂₀₁₆=0,699**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca badań, opracowanie koncepcji pracy, pozyskanie materiału do badań, opracowanie metod badawczych, wykonanie badań laboratoryjnych, opracowanie i interpretacja wyników, redagowanie manuskryptu i korekta tekstu po uwagach recenzentów, autor korespondencyjny.

H2. Evaluation of the potential use of probiotic strain *Lactobacillus plantarum* 299v in lactic fermentation of button mushroom fruiting bodies. **Ewa Jabłońska-Ryś**, Aneta Sławińska, Wojciech Radzki, Waldemar Gustaw. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 2016, 15, 4, 399-407, DOI: 10.17306/J.AFS.2016.4.38 (**15 pkt, IF=0**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca badań, opracowanie koncepcji pracy, opracowanie metod badawczych, wykonanie badań laboratoryjnych, opracowanie i interpretacja wyników, redagowanie manuskryptu i korekta tekstu po uwagach recenzentów, autor korespondencyjny.

H3. Lactic acid fermentation of edible mushrooms: tradition, technology, current state of research: A review. **Ewa Jabłońska-Ryś**, Katarzyna Skrzypczak, Aneta Sławińska, Wojciech Radzki, Waldemar Gustaw. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2019, 18, 3, 655-669, DOI: 10.1111/1541-4337.12425 (**200 pkt, IF₂₀₁₉=9,912**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca pracy, opracowanie koncepcji pracy, zbieranie danych, interpretacja danych, redagowanie manuskryptu i korekta tekstu po uwagach recenzentów, autor korespondencyjny.

H4. Spontaneously fermented fruiting bodies of *Agaricus bisporus* as a valuable source of new isolates of lactic acid bacteria with functional potential. Katarzyna Skrzypczak, Klaudia Gustaw, **Ewa Jabłońska-Ryś**, Aneta Sławińska, Waldemar Gustaw, Stanisław Winiarczyk. Foods 2020, 9, 11, 1631, DOI: 10.3390/foods9111631 (**100 pkt, IF₂₀₂₀=4,350**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca badań, wykonanie badań laboratoryjnych, administrowanie projektem, pozyskanie środków do finansowania badań.

H5. High-performance liquid chromatography determination of free sugars and mannitol in mushrooms using corona charged aerosol detection. Aneta Sławińska, **Ewa Jabłońska-Ryś**, Anna Stachniuk. Food Anal Method 2021, 14, 2, 209-216, DOI: 10.1007/s12161-020-01863-8 (**70 pkt, IF₂₀₂₁= 3,498**)

Wkład habilitanta: Pozyskanie materiału do badań, pomoc przy opracowaniu metod badawczych, wykonanie badań laboratoryjnych, opracowanie wyników, redagowanie manuskryptu, autor korespondencyjny, administrowanie projektem, pozyskanie środków do finansowania badań.

H6. Dynamics of changes in pH and the contents of free sugars, organic acids and LAB in button mushrooms during controlled lactic fermentation. **Ewa Jabłońska-Ryś**, Aneta Sławińska, Katarzyna Skrzypczak, Karolina Goral. Foods 2022, 11, 11, 1553, DOI: 10.3390/foods11111553 (**100 pkt, IF₂₀₂₂= 5,561**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca badań, opracowanie koncepcji pracy, pozyskanie materiału do badań, opracowanie metod badawczych, wykonanie badań laboratoryjnych, interpretacja wyników, redagowanie manuskryptu i korekta tekstu po uwagach recenzentów, nadzór nad przebiegiem realizacji badań, autor korespondencyjny, administrowanie projektem, pozyskanie środków do finansowania badań.

H7. Content of biogenic amines and physical properties of lacto-fermented button mushrooms. **Ewa Jabłońska-Ryś**, Aneta Sławińska, Katarzyna Skrzypczak, Dariusz Kowalczyk, Joanna Stadnik. Appl. Sci.-Basel 2022, 12, 18, 8957, DOI: 10.3390/app12188957 (**100 pkt, IF₂₀₂₂= 2,838**)

Wkład habilitanta: Pomysłodawca badań, opracowanie koncepcji pracy, pozyskanie materiału do badań, opracowanie metod badawczych, wykonanie badań laboratoryjnych, interpretacja wyników, graficzne opracowanie wyników, redagowanie manuskryptu i korekta tekstu po uwagach recenzentów, nadzór nad przebiegiem realizacji badań, autor korespondencyjny, administrowanie projektem, pozyskanie środków do finansowania badań.

Wkład pozostałych Autorów artykułów 1-7 przedstawiono w Załączniku 6.

Sumaryczna wartość punktowa MNiSW/MEiN = 605, IF = 26,858

4.3. Syntetyczne omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

4.3.1. Wstęp

Obecnie znanych jest około 14 000 gatunków grzybów wielkoowocnikowych, wśród których nieco ponad 2000 scharakteryzowano jako gatunki jadalne i / lub lecznicze [Kirk i in. 2008, Zhang i in. 2013, Meenu i Xu 2019]. Owocniki grzybów pozyskiwane są ze środowiska naturalnego bądź też z uprawy. Znane są możliwości uprawy około 100 gatunków grzybów jednak 85% obecnej światowej produkcji opiera się na uprawie zaledwie 5 najważniejszych gatunków: *Lentinus* (22%), *Pleurotus* (19%), *Auricularia* (18%), *Agaricus* (15%) i *Flammulina* (11%) [Royse i in. 2017]. Uprawa grzybów jadalnych wywodzi się z Chin [Zhang i in. 2013]. Kraj ten jest od wielu lat uważany za głównego producenta uprawnych grzybów jadalnych. W 2020 roku Polska była szóstym producentem grzybów jadalnych po Japonii, Stanach Zjednoczonych, Holandii i Indiach [FAO]. Polska jest krajem o długoletniej tradycji spożywania grzybów. Pierwsze wzmianki o ich zbieraniu i spożywaniu datowane są na 1004 r. [Grzywacz 2015]. Obecnie wśród wielu konsumentów powszechna jest niestety opinia, że grzyby posiadają znikomą wartość odżywczą. Przeczą temu wyniki badań prowadzonych w ostatnich dziesięcioleciach, dowodzące, że surowiec ten zawiera cenne białka, węglowodany, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, wiele składników mineralnych oraz niektóre witaminy [np. Kalač 2013]. Podczas gdy w Europie grzyby są głównie cenione za walory organoleptyczne, w innych częściach świata, głównie w krajach azjatyckich, docenia się możliwość wykorzystania ich w lecznictwie. Działanie prozdrowotne i lecznicze grzybów wynika z zawartości w nich szeregu substancji biologicznie aktywnych. Grzybom przypisuje się właściwości przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwmikrobiologiczne, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze, hipocholesterolemiczne, przeciwcukrzycowe, przeciwalergiczne, immunomodulacyjne, przeciwzapalne, hepatoprotekcyjne i wiele innych [np. Samsudin i Abdullah 2019, Abdelshafy i in. 2021, Cateni i in. 2021]. Do związków biologicznie aktywnych odpowiedzialnych za wyżej wymienione właściwości zaliczyć można między innymi polisacharydy (głównie β -glukany), białka (m. in. lektyny) i aminokwasy (ergotioneina), lipidy (sterole, terpenoidy) oraz związki fenolowe.

Owocniki grzybów jadalnych ze względu na dużą zawartość wody, sięgającą nawet ponad 90% i wysoką aktywność enzymatyczną są surowcem nietrwałym. Duża ilość związków białkowych oraz pH w okolicach obojętnego również pośrednio są powodem szybkiego psucia się owocników. Pogorszenie się jakości grzybów świeżych związane jest głównie z rozkładem białek oraz rozwojem bakterii gnilnych. Dlatego też grzyby przeznaczone na rynek świeży wymagają przechowywania w

warunkach chłodniczych, natomiast przeznaczone do przetwórstwa powinny być przetwarzane w ciągu 24 godzin po zbiorze [Chang i Mshigeni 2001, Siwulski i in. 2011].

Najważniejsze kierunki przetwórstwa grzybów to suszenie, mrożenie i produkcja konserw, głównie w zalewie kwaśnej (marynat) [Bernaś i Jaworska 2010]. Biologiczne utrwalanie owocników grzybów jadanych przy wykorzystaniu fermentacji mlekowej nie ma obecnie w Polsce zastosowania na skalę przemysłową, choć w połowie ubiegłego wieku metoda ta była bardzo popularna. Umożliwiała bowiem w szybki i tani sposób zagospodarowanie i zabezpieczenie dużych ilości surowca, w związku z tym odgrywała podobną rolę, co solenie. Powszechnie jednak uznawano, że fermentacja mlekowa grzybów daje produkt o lepszych właściwościach niż solonki, zarówno ze względu na znacznie niższą zawartość soli w kiszonkach, jak i mniejsze straty składników odżywczych. Proces solenia wymagał bowiem zwykle trzykrotnej wymiany solanki, wraz z którą pozbywano się wyługowanych z grzybów niektórych składników rozpuszczalnych. W warunkach przemysłowych kiszono głównie rydze, rzadziej borowiki i inne grzyby leśne. Mering [1955] podaje, że ta metoda utrwalania była bardzo popularna w krajach byłego Związku Radzieckiego oraz Czechosłowacji. Grzyby w postaci kiszonej są produktem znanym i cenionym również w krajach południowo-wschodniej Azji, gdzie procesy fermentacji są powszechnie używane w produkcji żywności i stosowane w celu zagospodarowania odpadów lub surowców niejadalnych [Stanton i Owens 2003, Rai i Arumuganathan 2008]. W Japonii, w prefekturze Nagano, popularną przekąską są owocniki muchomora czerwonego (*Amanita muscaria*), które po pokrojeniu i obgotowaniu są solone i poddawane fermentacji mlekowej. Prawdopodobnie w procesie technologicznym usuwanych zostaje większość substancji toksycznych i w postaci kiszonej grzyby te są bezpieczne do spożycia [Phipps i in. 2000].

Ludzkość od dawna wykorzystuje procesy fermentacyjne do przetwarzania i utrwalania żywności. Żywność fermentowana jest wytwarzana i spożywana na całym świecie, uważa się, że obecnie stanowi ona około 20-40% światowej konsumpcji żywności. Najbardziej rozpowszechnionym typem fermentacji jest ta z zastosowaniem bakterii kwasu mlekowego. Fermentacja jest jedną z najtańszych metod przetwórstwa, pozwala na uzyskanie produktów o dużej trwałości bez stosowania chemicznych substancji konserwujących, czy też procesów termicznego utrwalania. Pomimo długiej historii tej biologicznej metody utrwalania, popularności i znaczenia kulinarnego, rozwój nowoczesnych metod utrwalania żywności i uprzemysłowienie jej produkcji w ciągu ostatniego stulecia zmniejszyło istotnie różnorodność fermentowanej żywności, szczególnie w tak zwanych krajach zachodnich [Marco i in. 2017]. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania fermentowaną żywnością, co można tłumaczyć rozwojem wiedzy w zakresie jej prozdrowotnego oddziaływania. Potencjalne korzyści zdrowotne wynikające ze spożywania fermentowanej żywności

obejmują między innymi zmniejszone ryzyko nadciśnienia, cukrzycy, otyłości, wysokiego poziomu cholesterolu, biegunki, zakrzepicy oraz chorób nowotworowych. Działanie takie wynika z właściwości mikroflory biorącej udział w procesie fermentacji oraz powstałych metabolitów, m.in. witamin, egzopolisacharydów, bioaktywnych peptydów i aminokwasów [np. Şanlıer i in. 2019, Castellone i in. 2021]. Dowody przedstawione w literaturze naukowej sugerują, że zwiększenie udziału żywności fermentowanej przy pomocy bakterii mlekowych w diecie może istotnie przyczynić się do utrzymania dobrego zdrowia, zapobiegać rozwojowi chorób a nawet wspomagać proces leczenia. Ze względu na niezaprzeczalne zalety tej metody utrwalania już w 1998 roku WHO uznała, że żywność fermentowana powinna być uznana jako część dziedzictwa kulturowego każdego kraju i powinny być podejmowane wysiłki zmierzające do zachowania tej metody produkowania i utrwalania żywności [Battcock i Azam-Ali 1998].

Badania w kierunku możliwości zastosowania fermentacji mlekowej w procesie utrwalania owocników grzybów jadalnych, zarówno ze względu na właściwości surowca jak i korzyści płynące z biologicznej metody jego utrwalania wydają się być w pełni uzasadnione.

4.3.2. Cel naukowy i zakres badań

Nadrzędnym celem badań i analizy piśmiennictwa, opisanych w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy było określenie przydatności owocników grzybów jadalnych do kiszenia z uwzględnieniem wybranych aspektów jakościowych produktów gotowych.

Zakres badawczy cyklu publikacji, stanowiących podstawę postępowania o nadanie tytułu doktora habilitowanego obejmował:

- A.** Dogłębną analizę piśmiennictwa i dotychczasowych dokonań związanych z wykorzystaniem fermentacji mlekowej w procesie utrwalania owocników grzybów jadalnych;
- B.** Ocenę wpływu procesu fermentacji mlekowej na zawartość związków fenolowych ogółem i profil kwasów fenolowych, oraz na właściwości przeciwutleniające owocników grzybów jadalnych;
- C.** Dobór kultury startowej z określeniem możliwości stosowania bakterii mlekowych o udokumentowanych właściwościach probiotycznych oraz mikroflory autochtonicznej, wyizolowanej z owocników grzybów poddanych spontanicznej fermentacji mlekowej;
- D.** Ocenę przebiegu procesu fermentacji mlekowej ze szczególnym uwzględnieniem przemian cukrów i kwasów organicznych wraz z opracowaniem dokładnej i szybkiej metody ilościowego oznaczania cukrów wolnych i mannitolu w owocnikach grzybów;

- E. Ocenę wpływu procesu fermentacji mlekowej na właściwości fizyczne, takie jak barwa i twardość oraz jakość sensoryczną grzybów kiszonych;
- F. Określenie bezpieczeństwa zdrowotnego grzybów kiszonych w zakresie zawartości amin biogennych.

4.3.3. Omówienie wyników badań w ramach założonych celów

A. Analiza piśmiennictwa i dotychczasowych dokonań związanych z wykorzystaniem fermentacji mlekowej w procesie utrwalania owocników grzybów jadalnych

Pierwsze prace z zakresu możliwości wykorzystania fermentacji mlekowej w procesie utrwalania owocników grzybów jadalnych podjęłam już na początku pracy zawodowej. Wyniki badań dotyczące głównie przebiegu procesu fermentacji oraz podstawowych parametrów fizykochemicznych gotowego produktu były prezentowane na konferencjach (Ogólnopolskie Sympozjum - Grzyby - technologia uprawy i przetwarzanie, Poznań 1999, V Jubileuszowa Konferencja Naukowa z cyklu: Jakość i bezpieczeństwo żywności, Białobrzegi 2005 oraz 2nd International Conference and Workshop, Plant - the source of research material, Lublin 2012). Prace te przyczyniły się do intensywnych poszukiwań literatury naukowej i dokładnej analizy dotychczasowych dokonań innych autorów w tej tematyce. Dalszym wynikiem zainteresowań badawczych było powstanie dwóch pierwszych prac, wchodzących w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego, poświęconych tematyce wpływu procesu fermentacji mlekowej na właściwości przeciwutleniające i zawartość związków fenolowych w kiszonych grzybach (**H1** i **H2**). Zdobyta w tym czasie wiedza i doświadczenie naukowe zaowocowały ukazaniem się obszernej pracy przeglądowej p.t. *Lactic acid fermentation of edible mushrooms: tradition, technology, current state of research: A review*, opublikowanej w prestiżowym czasopiśmie *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (**H3**). Czasopismo to wg Journal Citation Reports zajmuje obecnie 3 miejsce w rankingu 144 czasopism poświęconych nauce o żywności.

Biologiczna metoda utrwalania grzybów uprawnych i leśnych była przedmiotem stosunkowo niewielu badań, mających głównie na celu szczegółowe jej doskonalenie. Badania te dotyczyły różnych gatunków grzybów, najwięcej prac było poświęconych pieczarce - *Agaricus bisporus* i bocznikowi ostrygowatemu - *Pleurotus ostreatus*. Badano również inne gatunki: *Pleurotus sajorajju*, *Pleurotus cornucopiae*, *Pleurotus erynii*, *Flammulina velutipes*, *Paxillus* spp., *Lactarius* spp., *Auricularia auricula*, *Cantharellus cibarius* oraz *Termitomyces robustus*. Do fermentacji mlekowej przeznaczano zwykle same kapelusze grzybów, całe lub rozdrobnione. Większość autorów poddawało surowiec procesowi blanszowania we wrzącej wodzie, przez okres 2 - 5 minut, co pozwala oprócz

inaktywacji enzymów i redukcji mikroflory na usunięcie powietrza z surowca i przyczynia się do uzyskania warunków beztlenowych w procesie fermentacji. W procesie blanszowania dochodzi niestety do dużych strat składników odżywczych, głównie rozpuszczalnych w wodzie oraz niszczenia substancji wrażliwych na działanie wysokiej temperatury. Blanszowanie wpływa również niekorzystnie na teksturę owocników grzybów, przyczyniając się do wzrostu ich twardości i gumowatości. Pomimo wad nie można jednak pominąć tego procesu. Jakość grzybów fermentowanych, niepoddanych wcześniej obróbce termicznej, była nieakceptowalna [Zhuk-Yu i in. 1982, Zhuk-Yu i Papilina 1983].

Najważniejszym dodatkiem stosowanym w procesie kiszenia grzybów jest sól, wykorzystywana głównie w celu wywołania zjawiska egzosmozy oraz poprawy smaku. W większości prac stosowano dodatek chlorku sodu w ilości 2% w stosunku do masy surowca. Podczas solenia bardzo ważne jest dokładne wymieszanie surowca z solą i ściśle ułożenie w pojemnikach, w których będzie przebiegał proces fermentacji. Dokładne wymieszanie a nawet pozostawienie grzybów z przyprawami na 2 - 3 godziny pozwala uzyskać warunki beztlenowe. Sól może być dodawana także w postaci wodnego roztworu, jeśli grzyby są kiszone w zalewie. W przypadku kiszenia grzybów tą metodą proporcje surowca do zalewy, zawierającej 2 - 5% soli, wynosiły od 4:1 do 1:1,5 [Zheng i in. 2018, Zivanovic 2006]. Oprócz soli ważnym dodatkiem jest cukier, stosowany jako łatwo dostępne źródło węgla dla bakterii mlekowych w celu przyspieszenia fermentacji. W większości badań stosowano sacharozę w ilości 1-3% [np. Niksic i in. 1997, Zivanovic 2006, Milanowic i in. 2010, Liu i in. 2016].

W większości dostępnych prac, dotyczących kiszenia grzybów, fermentacja mlekowa prowadzona była z udziałem kultur startowych bakterii fermentacji mlekowej, co pozwala przede wszystkim zapewnić prawidłowy i powtarzalny przebieg procesu. Do fermentacji owocników grzybów jadalnych najczęściej stosowano kultury startowe *Lactobacillus plantarum* (obecnie *Lactiplantibacillus plantarum*), dedykowane głównie fermentacji surowców pochodzenia roślinnego. Z dobrym skutkiem stosowano również *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. pentosus*, *Streptococcus lactis*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* a także *Propionibacterium freudenreichii*. Dodatek kultur startowych mieścił się w granicach od 10^4 do 10^8 jtk/g surowca, a w produkcie finalnym wynosił od 10^7 do 10^9 jtk/g. Fermentację owocników grzybów jadalnych prowadzono zwykle w temperaturze 18 – 26 °C przez okres od kilku do nawet 30 dni. Według niektórych autorów grzyby fermentowane w niższej temperaturze (około 20 °C) charakteryzują się lepszymi właściwościami organoleptycznymi [Zhuk-Yu i in. 1982, Zhuk-Yu i Papilina 1983].

Uważa się, że kiszony produkt jest trwały, kiedy wytwarzane podczas fermentacji kwasy obniżą wartość pH do poziomu 4,0 – 4,1 [Joshi i in. 1996, Steinkraus 2002]. Głównym produktem fermentacji mlekowej jest kwas mlekowy, w grzybach kiszonych zidentyfikowano także obecność innych kwasów organicznych [Liu i in. 2016]. Na trwałość kiszzonek wpływają także warunki przechowywania. Autorzy sugerują przechowywanie produktu gotowego w warunkach chłodniczych, w temperaturze 4 – 6 °C. Jedynie Khaskheli i in. [2015] przechowywali gotowy produkt w temperaturze 26 ± 4 °C. Autorzy stwierdzili, że na trwałość i stabilność mikrobiologiczną kiszonych grzybów miał wpływ dodatek oleju, który tworząc na powierzchni produktu cienką warstwę zabezpieczał go przed zepsuciem.

Przytoczone powyżej dane literaturowe były podstawą do ustalenia podstawowych parametrów technologicznych w przypadku fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych, które stosowałam w dalszych pracach badawczych. Surowcem do fermentacji były świeże owocniki grzybów jadalnych, poddane procesowi blanszowania we wrzącej wodzie przez 2 lub 4 minuty (odpowiednio w przypadku owocników *Agaricus bisporus* oraz *Pleurotus ostreatus* i *Cantharellus cibarius*). Receptura uwzględniała dodatek sacharozy i soli w ilości odpowiednio 1 i 2%. Fermentację prowadzono z użyciem kultur startowych, stosowanych w ilości 10⁷ jtk/g surowca, w temperaturze 21 - 22 °C przez okres 1 tygodnia. Po tym czasie próby przechowywano w warunkach chłodniczych (5 °C) przez 5 tygodni.

W pracy przeglądowej przedstawiłam także dotychczasową wiedzę z zakresu wpływu fermentacji mlekowej na skład chemiczny i jakość grzybów kiszonych. Zebrane w pracy przeglądowej badania dotyczyły analizy składu chemicznego, właściwości przeciwutleniających, oceny sensorycznej oraz instrumentalnej analizy barwy, jakości mikrobiologicznej i tendencji do akumulacji azotynów. Część przedstawionych wyników badań była mojego autorstwa, m.in. opublikowane wcześniej prace **H1** i **H2**.

Khaskheli i in. [2015] badali zawartość polisacharydów w fermentowanych owocnikach *Auricularia auricula*. Autorzy wykazali, że zawartość polisacharydów zmniejszała się w trakcie przetwarzania z 4,25% do 1,64 – 2,35% w zależności od rodzaju fermentowanego produktu.

Liu i in. [2016] analizowali zawartość kwasów organicznych powstających podczas fermentacji mlekowej owocników *Pleurotus* spp. Autorzy wykazali, że w produktach finalnych w największej ilości występował kwas mlekowy. Oprócz tego związku zidentyfikowano cztery inne kwasy organiczne: kwas octowy, cytrynowy, jabłkowy i bursztynowy.

Bello i Akinyele [2007] poddawali procesowi fermentacji owocniki *Termitomyces robustus* w postaci świeżej, blanszowanej lub solonej. Wykazano, że solenie grzybów ma istotny wpływ na zwiększenie zawartości wapnia, magnezu, potasu, manganu, żelaza i sodu w gotowym produkcie. Z

kolei najmniejsze ilości cynku, wapnia i magnezu stwierdzono w próbach surowych (nie blanszowanych) grzybów fermentowanych.

Zmiany właściwości przeciwutleniających i zawartości związków fenolowych ogółem w trakcie procesu fermentacji owocników grzybów były tematem 3 prac badawczych [Skąpska i in. 2008, **H1**, **H2**]. Tematyka wpływu tej metody utrwalania grzybów na profil kwasów fenolowych poruszana była w jednej pracy [**H1**]. Zagadnienie to przedstawiłam obszernie w ramach omówienia zakresu badawczego cyklu publikacji, stanowiących podstawę postępowania o nadanie tytułu doktora habilitowanego (punkt **B**).

Utrwalanie metodą fermentacji mlekowej wpływa na zmianę barwy owocników grzybów, przy czym do największych zmian w wartości parametrów barwy dochodzi w czasie obróbki wstępnej – mycia i blanszowania. Problem ten był omawiany w dwóch pracach. Według Liu i in. [2016] w ciągu 18 dni fermentacji mlekowej owocników *Pleurotus* spp. obserwowano systematyczny spadek wartości parametru L* (jasność) oraz wzrost wartości parametrów a* (barwa czerwona) i b* (barwa żółta). W przypadku owocników pieczarki w czasie obróbki wstępnej doszło do obniżenia wartości parametru L* i wzrostu wartości parametrów a* i b*, natomiast sam proces fermentacji mlekowej nie powodował dalszych zmian w jasności owocników, przyczyniał się natomiast do zmniejszenia udziału barwy czerwonej i zwiększenia udziału barwy żółtej [**H2**]. Zagadnienie to przedstawiłam obszernie w ramach omówienia zakresu badawczego cyklu publikacji, stanowiących podstawę postępowania o nadanie tytułu doktora habilitowanego (punkt **E**).

W trzech pracach przedstawiano wyniki oceny organoleptycznej kiszonych grzybów. Badania prowadzone były dla kilku gatunków grzybów jadalnych – *Pleurotus* spp. [Liu i in. 2016], *Agaricus bisporus* [**H2**] oraz *Auricularia auricula* [Khaskheli i in. 2015]. Kiszzone grzyby uzyskiwały wysokie noty w ocenie organoleptycznej, co świadczy o akceptacji takich produktów przez konsumentów. Jedynie fermentowane owocniki *Auricularia auricula* uzyskały słabsze noty, szczególnie w przypadku barwy i tekstury, co prawdopodobnie spowodowane było przechowywaniem gotowego produktu w temperaturze 26 °C, a nie w warunkach chłodniczych.

Liu i in. [2016] oraz Zheng i in. [2018] poddawali kiszone owocniki *Pleurotus* spp. analizie mikrobiologicznej pod kątem zawartości drożdży i *Enterobacteriaceae*, odpowiedzialnych za pogorszenie jakości mikrobiologicznej produktów kiszonych. W początkowym okresie fermentacji zaobserwowano wzrost zawartości drożdży i enterobakterii, po zakończonym procesie odnotowano spadek ich liczebności. Przemiany te były uzależnione od zróżnicowanego sposobu prowadzenia fermentacji (m. in. temperatura, wstępne zakwaszenie) i były ściśle związane z kwasowością produktu. Badania mikrobiologiczne przeprowadzono również w przypadku fermentowanych owocników *Termitomyces robustus* [Bello i Akinyele 2007]. W produktach finalnych stwierdzono zróżnicowaną

mikroflorę w zależności od zastosowanej metody obróbki wstępnej. Wykryto obecność *Pseudomonas aeruginosa*, *P. capacia*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Aerococcus viridians*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Badane próbki zawierały także grzyby, jak *Penicillium italicum*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Brachysporium nigrum* i *Aspergillus Niger*. Po 72 godzinach fermentacji zaobserwowano spadek zawartości badanych drobnoustrojów. Należy zaznaczyć, że gotowe produkty fermentacji otrzymano w drodze naturalnej fermentacji, gdyż autorzy nie stosowali kultur starterowych.

Podczas fermentacji warzyw częstym problemem związanym z bezpieczeństwem żywności jest akumulacja azotynów. Jednak, jak przedstawiono w badaniach Liu i in. [2016] oraz Zheng i in. [2018] poziom azotynów w grzybach fermentowanych jest stosunkowo niski i nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumenta.

Dokonany obszerny przegląd literatury z jednej strony pozwolił na określenie optymalnych parametrów procesu fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych, z drugiej był podsumowaniem dotychczasowych dokonań w tej tematyce i pozwolił wskazać dalsze kierunki badawcze. **Ze względu na brak badań z zakresu możliwości wykorzystania mikroflory autochtonicznej do kierowanej fermentacji mlekowej owocników grzybów uznałam, że istotnym celem jest pozyskanie i zbadanie właściwości izolatów LAB, pozyskanych z owocników grzybów poddanych spontanicznej fermentacji mlekowej. Jako istotne uznałam także przeprowadzenie badań w kierunku oceny przebiegu procesu fermentacji mlekowej, ze szczególnym uwzględnieniem przemian cukrów i kwasów. Zaplanowałam również rozszerzenie badań nad wpływem procesu kiszenia na właściwości fizyczne grzybów o analizę twardości. Dodatkowo, ze względu na potencjalne ryzyko, uwzględniłam w planach ocenę wpływu procesu fermentacji mlekowej na zawartość amin biogennych.** Badania te zaplanowałam i wykonałam w ramach projektu „Systemy produkcji i pakowania żywności zapewniające zachowanie jej bioaktywnych składników ważnych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych” finansowanego w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” w latach 2019 - 2023 (nr projektu 029/RID/2018/19). W projekcie tym koordynowałam pracę zespołu badawczego w ramach podzadania 5.2. „Metody przetwarzania surowców pochodzenia grzybowego w celu uzyskania żywności wzbogaconej w substancje aktywne biologicznie”. Wyniki części przeprowadzonych w ramach projektu badań opublikowałam w pracach **H4 - H7**.

B. Ocena wpływu procesu fermentacji mlekowej na zawartość związków fenolowych ogółem i profil kwasów fenolowych, oraz na właściwości przeciwutleniające owocników grzybów jadalnych

Związki fenolowe to bioaktywne składniki żywności, które mogą przyczynić się do prewencji i terapii różnych zaburzeń, takich jak choroby neurologiczne i nowotwory. Działanie takie jest ściśle związane z ich właściwościami przeciwutleniającymi i przeciwrodnikowymi [Valverde i in. 2015]. Związki fenolowe obecne w owocnikach grzybów reprezentowane są w szczególności przez kwasy fenolowe [Ferreira i in. 2009]. Dostępne są prace naukowe na temat zawartości związków fenolowych i profilu kwasów fenolowych oraz właściwości przeciwutleniających owocników grzybów uprawnych i dzikich. **Badania takie nie były jednak prowadzone w przypadku grzybów utrwalonych przy pomocy fermentacji mlekowej.** Temat ten przedstawiłam w dwóch pracach wchodzących w skład dzieła: **H1** oraz **H2**.

Wpływ procesu fermentacji mlekowej na zawartość związków fenolowych ogółem oraz aktywność przeciwutleniającą badałam dla owocników 3 gatunków grzybów jadalnych: pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*), bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*) oraz pieprznika jadalnego (*Cantharellus cibarius*). Spośród 3 badanych gatunków najwyższą zawartością związków fenolowych ogółem wśród grzybów nieprzetworzonych charakteryzowały się owocniki pieczarki dwuzarodnikowej, zawierające 4,87 mg GAE (ang. gallic acid equivalent) w 1 g suchej masy. Owocniki bocznika i pieprznika jadalnego zawierały ponad dwukrotnie mniej tych związków (odpowiednio 2,10 oraz 1,88 mg GAE/g s.m.). Do oceny właściwości przeciwutleniających stosowano metodę z użyciem roztworu wolnego rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oraz metodę oznaczania zdolności redukcji jonów żelaza (ang. ferric ion reducing antioxidant parameter – FRAP). Najwyższą aktywność przeciwutleniającą wyrażoną jako $\mu\text{mol TE}$ (ang. trolox equivalent) na jeden g suchej masy określoną metodą DPPH wykazały owocniki pieprznika jadalnego (34,08 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$), a metodą FRAP owocniki pieczarki (26,00 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$). Proces blanszowania przyczynił się do istotnego ($p < 0,05$) spadku zawartości związków fenolowych ogółem a także zmniejszenia właściwości przeciwutleniających we wszystkich badanych gatunkach grzybów. Fakt ten jest związany zarówno z destrukcyjnym działaniem wysokiej temperatury jak i wypłukiwaniem różnorodnych związków, m.in. fenolowych w czasie tej obróbki hydrotermicznej [Choi i in. 2006, Barros i in. 2007].

Proces fermentacji mlekowej wywierał zróżnicowany wpływ na zawartość związków fenolowych ogółem i właściwości przeciwutleniające, zależny od rodzaju zastosowanego szczepu. W przypadku owocników pieczarki stwierdzono spadek zawartości związków fenolowych i aktywności przeciwutleniających w próbach fermentowanych szczepem *L. plantarum* Ib, podczas gdy właściwości owocników pieczarek fermentowanych z udziałem szczepu probiotycznego *L. plantarum* 299v nie zmieniły się istotnie w stosunku do grzybów blanszowanych. W przypadku owocników bocznika ostrygowatego i pieprznika jadalnego fermentowanych z udziałem *L. plantarum*, *L.*

helveticus i *L. casei* w grzybach kiszonych nie stwierdzono istotnych zmian zawartości związków fenolowych ogółem w stosunku do grzybów blanszowanych. Nie zaobserwowano także istotnych zmian właściwości przeciwutleniających, z wyjątkiem owocników bocznika ostrygowatego, fermentowanych z udziałem *L. casei*, gdzie wykazano istotny statystycznie wzrost zdolności przeciwutleniających. Wzrost ten można tłumaczyć hydrolizą przez enzymy zewnątrzkomórkowe i wewnątrzkomórkowe (po lizie) LAB (ang. – lactic acid bacteria), które mogły przeprowadzać związki o właściwościach przeciwutleniających z postaci związanej do wolnej i tym samym zwiększać ich stopień ekstrakcji.

Według dostępnych danych literaturowych [np. Kalač 2013] właściwości przeciwutleniające grzybów są ściśle związane z zawartością związków fenolowych. W badaniach potwierdzono silną korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych a zdolnością do wychwytywania wolnego rodnika DPPH oraz między całkowitą zawartością związków fenolowych a zdolnością redukcji jonów żelaza (metoda FRAP) w świeżych i przetworzonych owocnikach *P. ostreatus*, odpowiednio $R = 0,997$ i $R = 0,970$, *C. cibarius*, odpowiednio $R = 0,956$ i $R = 0,922$ (**H1**) oraz *A. bisporus*, odpowiednio $R = 0,783$ i $R = 0,972$ (**H2**).

Za najpowszechniejsze związki fenolowe występujące w grzybach uważa się kwasy fenolowe. Są one odpowiedzialne za działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwhiperglykemiczne, przeciwosteoporotyczne, przeciwtyrozynazowe i przeciwdrobnoustrojowe [Abdelshafy i in. 2021]. W publikacji **H1** przedstawiłam **pionierskie wyniki badań dotyczące wpływu procesu fermentacji mlekowej na profil kwasów fenolowych w owocnikach grzybów**. Świeże i przetworzone owocniki dwóch gatunków grzybów: *P. ostreatus* i *C. cibarius* poddano analizie zawartości kwasów fenolowych wykorzystując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej w połączeniu z detekcją UV. W obu gatunkach zidentyfikowano 2 pochodne kwasu benzoowego: kwas galusowy i kwas homogentyzynowy oraz 2 pochodne kwasu cynamonowego: kwas *p*-kumarowy i kwas ferulowy. Kwasy homogentyzynowy i galusowy występowały w największej ilości w obu gatunkach grzybów. Świeże owocniki *P. ostreatus* i *C. cibarius* zawierały odpowiednio 507,93 i 626,47 µg kwasu homogentyzynowego oraz 333,37 i 431,94 µg kwasu galusowego na g s.m. W mniejszej ilości występował kwas *p*-kumarowy (76,91 i 15,26 µg/g s.m. odpowiednio dla *P. ostreatus* i *C. cibarius*) oraz ferulowy (5,30 i 2,20 µg/g s.m. odpowiednio dla *P. ostreatus* i *C. cibarius*). Kwas synapinowy wykryto tylko w świeżych i przetworzonych owocnikach *P. ostreatus*. Kwas wanilinowy występował jedynie w fermentowanych owocnikach *C. cibarius*, a kwasu 4-OH-benzoowego nie wykryto w żadnej z analizowanych próbek grzybów.

Proces blanszowania przyczynił się do istotnego ($p < 0,05$) spadku zawartości kwasu galusowego (80%) i *p*-kumarowego (69%) w owocnikach bocznika ostrygowatego oraz kwasu

galusowego (59%), homogentyzynowego (76%) i p-kumarowego (48%) w owocnikach pieprznika jadalnego w porównaniu z grzybami nieblanszowanymi, prawdopodobnie na skutek stosowania wysokich temperatur i wypłukiwania związków rozpuszczalnych w wodzie.

Proces fermentacji przyczynił się do zmian profilu kwasów fenolowych, które były zależne od gatunku grzyba i zastosowanego startera. W przypadku owocników *P. ostreatus* w próbach fermentowanych zaobserwowano istotny wzrost zawartości kwasu ferulowego w stosunku do grzybów blanszowanych. Zwiększyła się także zawartość kwasu p-kumarowego, ale wzrost ten nie był statystycznie istotny. Zawartość kwasu synapinowego była podobna w blanszowanych i fermentowanych próbkach boczników, z wyjątkiem grzybów fermentowanych przy użyciu *L. plantarum*, w których nie wykryto obecności tego kwasu. Zawartość kwasu galusowego i homogentyzynowego w próbkach fermentowanych grzybów zależała od zastosowanego startera. Najwyższą zawartością charakteryzowały się boczniki fermentowane z użyciem *L. plantarum*, w których zawartość kwasu homogentyzynowego i galusowego wynosiła odpowiednio 304,20 i 116,71 µg/g s.m. Najniższą zawartość tych kwasów stwierdzono w bocznikach fermentowanych z użyciem *L. casei*, odpowiednio 98,37 i 38,68 µg/g s.m.

W przypadku owocników *C. cibarius* zaobserwowano istotny ($p < 0,05$) spadek zawartości kwasu galusowego i p-kumarowego w grzybach kiszonych w porównaniu z grzybami blanszowanymi. Zawartość **kwasu ferulowego** w czasie fermentacji nie uległa zmianie, z wyjątkiem grzybów fermentowanych z użyciem *L. plantarum*, gdzie zaobserwowano istotny statystycznie ($p < 0,05$) ponad **6-krotny wzrost jego zawartości w porównaniu do grzybów blanszowanych**. Związkowi temu przypisuje się szereg pozytywnych efektów biologicznych, w tym działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwzkrzepowe oraz hepatoprotekcyjne [Zhao i Moghadasian 2008]. Proces fermentacji mlekowej nie miał istotnego wpływu na zawartość kwasu homogentyzynowego w owocnikach pieprznika jadalnego. W fermentowanych owocnikach *C. cibarius* stwierdzono obecność kwasu wanilinowego w ilości 134,86 - 200,50 µg/g s.m., choć związku tego nie wykryto w próbkach grzybów świeżych ani blanszowanych. Othman i in. [2009], analizując wpływ fermentacji na zawartość kwasów fenolowych w oliwkach, wzrost zawartości tych związków tłumaczyli głównie przejściem (pod wpływem działania enzymów wytwarzanych przez LAB) z formy związanej, w której głównie występują, do formy wolnej. Z drugiej strony kwasy fenolowe w czasie fermentacji mlekowej mogą być metabolizowane przez LAB, głównie z udziałem enzymów dekarboksylujących i reduktaz ale spadek zawartości tych związków spowodowany jest głównie ekstrakcją do zalewy [Svensson i in. 2010, Othman i in. 2009, Rodríguez i in. 2008].

Spośród 3 stosowanych starterów na szczególną uwagę zasługuje szczep *L. plantarum* Ib. W przypadku grzybów fermentowanych z jego udziałem stwierdzono najwyższe stężenia kwasu

galusowego (dla *P. ostreatus* i *C. cibarius*), homogentyzynowego (dla *P. ostreatus*) i ferulowego (dla *C. cibarius*).

C. Dobór kultury startowej z określeniem możliwości stosowania bakterii mlekowych o udokumentowanych właściwościach probiotycznych oraz mikroflory autochtonicznej

Grzyby są surowcem, który trudno poddaje się spontanicznej fermentacji, między innymi z powodu procesu blanszowania, któremu są poddawane. Dlatego w przypadku tego surowca stosowanie kultur startowych jest konieczne. Jako startery w procesie kiszenia wykorzystać można zarówno mikroflorę autochtoniczną, wyizolowaną z surowca świeżego lub poddanego spontanicznej fermentacji mlekowej, a także allochtoniczną, wyodrębnioną z innych źródeł. W przypadku grzybów we wszystkich dostępnych danych literaturowych autorzy stosowali jako kultury startowe mikroflorę allochtoniczną. Jak wykazano w obszernej pracy przeglądowej (H3) do fermentacji owocników grzybów jadalnych najczęściej stosowano kultury startowe *L. plantarum*.

W publikacji H1 fermentację mlekową owocników boczniaka ostrygowatego i pieprznika jadalnego prowadzono z udziałem *L. plantarum*, *L. helveticus* i *L. casei*. **Najszybszy spadek wartości pH fermentowanych owocników obu gatunków zaobserwowano przy użyciu *L. plantarum*.** Po 3 lub 4 dniach fermentacji odpowiednio dla *C. cibarius* i *P. ostreatus* pH osiągnęło wartość 3,5 i pozostało stabilne przez cały okres przechowywania. **Wskazuje to na wysoką przydatność tego startera w procesie kierowanej fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych.**

W publikacji H2 porównałam przebieg procesu fermentacji mlekowej owocników pieczarki dwuzarodnikowej prowadzonej przez dwa szczepy *L. plantarum*: Ib oraz 299v. Szczep 299v jest jednym z najlepiej opisanych w literaturze naukowej szczepów *L. plantarum* na świecie, o udokumentowanych właściwościach probiotycznych. Został wyizolowany ze zdrowej błony śluzowej jelita człowieka [Nordström i in. 2021]. Dostępne są liczne badania nad możliwością zastosowania tego szczepu w produkcji fermentowanej żywności zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. **Do tej pory szczep ten nie był jednak badany pod kątem możliwości zastosowania w kierowanej fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych.**

Po tygodniowym procesie fermentacji mlekowej pieczarki dwuzarodnikowej wartość pH obniżyła się do poziomu 3,6 i 3,75 odpowiednio w przypadku starterów *L. plantarum* Ib oraz *L. plantarum* 299v. Wartości te utrzymywały się lub nieznacznie spadały w całym okresie chłodniczego przechowywania. Liczebność LAB w produktach finalnych przechowywanych w warunkach chłodniczych (43 doba doświadczenia) wynosiła $5,5 \times 10^8$ jtk/g oraz $9,2 \times 10^7$ jtk/g odpowiednio w grzybach fermentowanych z użyciem *L. plantarum* Ib oraz *L. plantarum* 299v. W wielu publikacjach sugeruje się, że liczba bakterii w jednym gramie probiotycznego produktu spożywczego powinna

wynosić nie mniej niż 10^6 jtk. Wówczas stugramowa porcja takiej żywności zapewni wystarczającą liczbę bakterii probiotycznych do wywołania korzystnych efektów zdrowotnych w organizmie człowieka. Grzyby kiszane z udziałem szczepu probiotycznego charakteryzowały się zbliżoną zawartością związków fenolowych ogółem oraz istotnie wyższą aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu do prób fermentowanych *L. plantarum* Ib. Produkty otrzymane z wykorzystaniem obu szczepów charakteryzowały się dobrymi cechami organoleptycznymi, jednak w przypadku startera probiotycznego smak i zapach kiszonych grzybów uzyskał niższą notę w porównaniu do prób fermentowanych szczepem *L. plantarum* Ib.

Na podstawie tej części przeprowadzonych badań można wnioskować, że szczep *L. plantarum* 299v charakteryzuje się wysoką przydatnością do biologicznej metody utrwalania grzybów a liczba bakterii probiotycznych w produktach finalnych jest wystarczająca do uznania tych produktów za probiotyczne.

W kulturach starterowych często stosowane są kolekcyjne szczepy drobnoustrojów dobrane na podstawie charakterystyki biochemicznej, fizjologicznej i genetycznej. Jednak produkowanie żywności w ten sposób prowadzi do utraty tradycyjnego smaku i do ujednoczenia smaku wyrobów niezależnie od kraju i regionu. Za charakterystyczne właściwości sensoryczne produktów fermentowanych odpowiedzialne są tzw. endogenne (autochtoniczne) zawarte w surowcu szczepy bakterii fermentacji mlekowej [Ammor i in. 2004]. **Zgodnie z posiadaną wiedzą do tej pory nie było prowadzonych badań nad zastosowaniem mikroflory autochtonicznej w kiszeniu grzybów.** W związku z tym zaplanowałam i przeprowadziłam odpowiednie badania, których wyniki opublikowałam w pracy **H4**. Przeprowadzone badania pozwoliły na uzyskanie izolatów z fermentacji spontanicznej owocników pieczarki (*Agaricus bisporus*), z których jeden (EK3) został wykorzystany w dalszych pracach (**H6** i **H7**).

W celu pozyskania autochtonicznej mikroflory kwaszającej założono szereg doświadczeń, w których optymalizowano obróbkę wstępną, recepturę i warunki procesu fermentacji. Na podstawie wstępnych wyników (głównie dynamiki fermentacji mlekowej) opracowano metodę spontanicznej fermentacji owocników pieczarki dwuzarodnikowej. Grzyby po procesie mycia rozdrabniano na plastry o grubości 2 mm w celu lepszego dostępu LAB do naturalnego źródła węglowodanów grzybowych. Grzybów nie poddawano procesowi blanszowania, by zachować naturalną mikroflorę. Stosowano jedynie dodatek soli w postaci 2% roztworu, nie dodawano sacharozy. Podniesiono temperaturę do 28 °C by stworzyć korzystniejsze warunki dla przebiegu procesu fermentacji. Po 5 dobach fermentacji spontanicznej przystąpiono do izolacji materiału mikrobiologicznego. W próbkach grzybów kiszonych stwierdzono obecność następujących gatunków LAB: *L. plantarum*, *L. paraplantarum*, *Lactococcus lactis* oraz *Leuconostoc mesenteroides*. Przy wykorzystaniu technik

molekularnych określono przynależność filogenetyczną otrzymanych izolatów. Wyizolowany materiał DNA badanych drobnoustrojów wykorzystano jako matrycę do amplifikacji i sekwencjonowania fragmentu 16 sRNA, dodatkowo wykonano analizę Multiplex PCR. Uzyskane sekwencje nukleotydowe poddano analizom bioinformatycznym. Ponadto, w celu pełniejszej identyfikacji gatunkowej do analiz wykorzystano MALDI-TOF Biotyper. Przeprowadzono szereg analiz mikrobiologicznych oraz fizykochemicznych, obejmujących badania mikro- i makroskopowe określające właściwości morfologiczne bakterii, zdolności do produkcji kwasu mlekowego i wytwarzania katalazy. Uzyskane izolaty badano pod kątem właściwości technologicznych, takich jak wzrost na podłożu grzybowym, dynamikę ukwaszania surowca, możliwość wykorzystania alternatywnych źródeł węgla oraz profil fermentacji węglowodanów i polioli. Analizowano również pożądane właściwości funkcjonalne: wrażliwość na niskie pH środowiska, tolerancje na sole żółciowe, poziom hydrofobowości komórek bakterii oraz ich zdolność do produkcji egzopolisacharydów. **Uzyskane wyniki wykazały, że niektóre izolaty mogą mieć potencjalne zastosowanie jako kultury startowe o właściwościach probiotycznych.**

Do dalszych badań ukierunkowanych na możliwości zastosowania mikroflory autochtonicznej w procesie kierowanej fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych wytypowałam *L. plantarum* EK3. Izolat ten wykazywał wzrost zarówno na podłożu zakwaszonym do pH 3 i 4, jak i modyfikowanym, gdzie glukozę w całości zastąpiono sproszkowanym liofilizatem z owocników pieczarki. Charakteryzował się ponad to najszybszym tempem ukwaszania materiału grzybowego obserwowanym po 3 godzinach oraz fermentował główne cukry grzybowe, takie jak ryboza, trehaloza oraz mannitol. Badania z udziałem tego izolatu opublikowałam w pracach: H6 i H7.

Planowane dalsze badania w tym kierunku pozwolą na opracowanie złożonej kultury startowej do fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych.

D. Ocena przebiegu procesu fermentacji mlekowej ze szczególnym uwzględnieniem przemian cukrów i kwasów organicznych

Na trwałość produktów kiszonych istotny wpływ mają kwasy organiczne, powstałe w czasie fermentacji mlekowej, a w szczególności kwas mlekowy. Profil kwasów organicznych w grzybach kiszonych był do tej pory tematem jedynie jednej pracy. Liu i in. (2016) poddawali boczniki fermentacji mlekowej z udziałem *L. pentosus*. Proces prowadzono 18 dni w temperaturze 20 °C. Oprócz kwasu mlekowego autorzy zidentyfikowali w kiszonym produkcie jeszcze 4 inne kwasy organiczne: kwas octowy, cytrynowy, jabłkowy oraz bursztynowy. Autorzy nie badali jednak zawartości cukrów. Praca ta zainspirowała mnie do przeprowadzenia dokładnych analiz w zakresie

przemian cukrów i kwasów w trakcie fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych, których wyniki przedstawiłam w publikacji **H6**. Badania rozpoczęto od opracowania szybkiej i prostej metody oznaczania wolnych cukrów i mannitolu charakterystycznych dla owocników grzybów jadalnych z zastosowaniem HPLC-CAD (high-performance liquid chromatography coupled to corona charged aerosol detector - wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem wyładowań koronowych). Metoda została opisana w publikacji **H5**.

Do oznaczania cukrów stosowane są różne metody. Powszechnie stosowane są techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), czy też chromatografii gazowej (GC) [np. Medeiros i Simoneit 2007] lub elektroforezy kapilarnej (CE) [Cao i in. 2004]. Przytoczone metody mają jednak swoje wady. Chromatografia gazowa wymaga kosztownej, czasochłonnej i problematycznej derywatywacji próbki przed analizą. Z kolei HPLC i elektroforeza kapilarna to powszechnie stosowane narzędzia analityczne w połączeniu z detekcją UV [Asthana i in. 2019]. Ze względu na brak chromoforów w cukrach i polioliach nie ma możliwości zastosowanie popularnego detektora UV. Detektory stosowane w badaniu tej klasy związków to głównie RID (refractive index detector – detektor refraktometryczny) oraz ELSD (evaporative light scattering detector - detektor rozpraszania światła przez odparowanie). Wadą tych detektorów jest jednak słaba czułość oraz powtarzalność wyników. Możliwość analizowania związków niezawierających w swej budowie chromoforów sprawia, że CAD stanowi doskonałe uzupełnienie dla powszechnie stosowanych w chromatografii cieczowej detektorów. Poza tym detektor ten charakteryzują wyższa czułość, szerszy zakres dynamiczny, prostsza obsługa i możliwość pracy w gradiencie eluentów [Kijewska i in. 2022].

W publikacji H5 po raz pierwszy przedstawiono identyfikację i oznaczanie wolnych cukrów i mannitolu w próbkach grzybów za pomocą metody HPLC-CAD. Najlepszy rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Shodex Asahipak NH2P-50 4E 5 µm i fazie ruchomej składającej się z 75% acetonitrylu i 25% wody przy szybkości przepływu 1 ml/min. Zoptymalizowana metoda okazała się czuła, powtarzalna i dokładna. Zapewnia dobrą liniowość w zakresie stężeń 0,001 – 0,01 lub 0,01 – 0,2 mg/mL dla badanych związków o $R^2 > 0,99$. Granica wykrywalności analitów mieściła się w zakresie 7,1 – 120,2 ng. Metoda HPLC-CAD wykazała bardzo dobrą powtarzalność, względne odchylenie standardowe było nie większe niż 5,1%. Opracowana metoda pozwala na ilościowe oznaczanie cukrów wolnych i mannitolu w owocnikach grzybów w krótkim czasie (22 minuty). **Wyniki uzyskane z analizowanych próbek rzeczywistych (owocniki *Agaricus bisporus* i *Pleurotus ostreatus*) wykazały możliwość zastosowania proponowanej metody do rutynowej analizy cukrów i polioli w grzybach przy jednym wstrzyknięciu próbki.**

Opracowaną powyższą metodę wykorzystałam do analizy cukrów i mannitolu w owocnikach grzybów poddanych procesowi kierowanej fermentacji mlekowej (publikacja **H6**). Jako kultury

startowe stosowano probiotyczny szczep *L. plantarum* 299v oraz *L. plantarum* EK3, jeden z izolatów uzyskanych w ramach wcześniejszych badań (publikacja H4).

W surowcach przeznaczonych do kiszenia ważna jest zawartość węglowodanów, jako źródła węgla dla bakterii mlekowych. **W publikacji H6 po raz pierwszy przedstawiłam wyniki kompleksowych badań dotyczących przemian cukrów i kwasów organicznych w trakcie fermentacji mlekowej owocników grzybów.**

W owocnikach grzybów wśród cukrów wolnych zidentyfikowano trzy monosacharydy (glukoza, fruktoza i ryboza), dwa disacharydy (sacharoza i trehaloza) oraz jeden poliol (mannitol). Dominującymi cukrami w owocnikach pieczarek świeżych są mannitol i ryboza, występujące odpowiednio w ilości $738,43 \pm 26,58$ i $377,08 \pm 33,73$ mg/100 g świeżej masy. Trehaloza, charakterystyczny grzybowy disacharyd, była obecna w stężeniu $116,46 \pm 6,85$ mg/100 g świeżej masy. W znacznie mniejszych ilościach występowała sacharoza, glukoza i fruktoza. Proces blanszowania spowodował redukcję zawartości analizowanych cukrów. W próbkach grzybów blanszowanych nie stwierdzono obecności glukozy, fruktozy i sacharozy. Zawartość mannitolu i trehalozy zmniejszyła się istotnie do poziomu odpowiednio $543,4 \pm 47,6$ i $93,51 \pm 5,55$ mg / 100 g świeżej masy. Zaobserwowano także straty rybozy, ale nie były one statystycznie istotne. Prawdopodobnie straty badanych związków były związane z przechodzeniem cukrów rozpuszczalnych do wody.

Dynamikę zmian cukrów w procesie kiszenia badano zarówno w owocnikach pieczarki jak i w zalewie. Próbkę do badań pobierane były w 2, 4, 7, 14 i 42 dobie doświadczenia. Zawartość cukrów w czasie procesu kiszenia podlegała dynamicznym zmianom, które w sposób istotny zależały od zastosowanej kultury startowej.

Zawartość rybozy w grzybach w drugiej dobie procesu fermentacji istotnie spadła w stosunku do poziomu w grzybach blanszowanych. **Wyniki badań wskazują, że spadek ten w większej mierze można jednak przypisać ekstrakcji tego monocukru do zalewy, gdzie stwierdzono jego znaczne ilości, niż wykorzystaniu przez LAB.** Przez cały okres fermentacji zawartość rybozy w próbkach fermentowanych *L. plantarum* 299v była na zbliżonym poziomie, zarówno w owocnikach jak i w zalewie. W przypadku prób fermentowanych *L. plantarum* EK3 zawartość tego związku podlegała w tym okresie pewnym wahaniom. Szczepy *L. plantarum* są zróżnicowane jeżeli chodzi o zdolność do wykorzystania rybozy jako źródła węgla. Niektóre z nich nie wykazują wzrostu na podłożu z rybozą jako jedynym źródłem węgla, inne potrafią z niego korzystać. Większość szczepów *L. plantarum* wymaga jednak obecności glukozy i aminokwasów aby indukować układ enzymatyczny do metabolizmu rybozy [Westby i in. 1993]. Badania przeprowadzone przez nasz zespół wykazały, że

izolat *L. plantarum* EK3 wykazuje wzrost na podłożu z rybozą jako jedynym źródłem węgla (publikacja H4).

Fruktoza, glukoza i sacharoza, których obecności nie stwierdzono w grzybach blanszowanych, zostały ponownie wykryte w grzybach kiszonych i w zalewie, ponieważ receptura przewidywała 1% dodatek sacharozy. Niewielkie ilości cukrów prostych, obecnych w próbkach fermentowanych grzybów oraz w zalewie mogą pochodzić z dodanego cukru spożywczego, lub też z hydrolizy sacharozy. Obecność glukozy i fruktozy, zarówno w owocnikach jak i w zalewie, stwierdzono jedynie w próbach fermentowanych izolatem EK3. Ilości tych cukrów istotnie zmniejszały się w czasie procesu fermentacji. Według Yang i in. [2019] **LAB jako źródło węgla preferują cukry redukujące, głównie glukozę i fruktozę. Tych jednak w owocnikach pieczarki jest niewiele i nie mogą odgrywać kluczowej roli w procesie fermentacji mlekowej, jak to ma miejsce np. w kiszeniu warzyw.**

Sacharoza, której dodatek wynosił 1% w stosunku do masy produktu, już w 2 dobie doświadczenia była w połowie wykorzystana przez LAB. W początkowym okresie fermentacji większe ilości sacharozy stwierdzano w zalewie, natomiast w 14 dobie zaobserwowano wyrównanie stężeń w surowcu i w zalewie, z jednej strony na skutek wysycenia tkanki grzyba sacharozą, z drugiej na skutek zużycia tego cukru z zalewy przez LAB. Zaobserwowano, że sacharoza nie została wykorzystana całkowicie przez LAB w procesie fermentacji. **Istotnie mniej sacharozy zostało w grzybach fermentowanych izolatem *L. plantarum* EK3** (132.42 ± 1.4 mg /100 g grzybów oraz 134.27 ± 1.78 mg/100ml zalewy) niż szczepem probiotycznym (271.45 ± 2.25 mg /100 g grzybów oraz 261.05 ± 3.94 mg/100ml zalewy). **Może to oznaczać, że izolat EK3 lepiej wykorzystywał sacharozę, wytwarzał również większe ilości kwasu mlekowego niż szczep probiotyczny.** W przyszłości można rozważać zmniejszenie dodatku tego cukru. Pozostałości sacharozy mogą bowiem stanowić łatwo dostępną pożywkę dla drożdży i pleśni, które mogą się rozwijać w środowisku o niskim pH i stanowią potencjalne zagrożenie dla jakości produktów kiszonych. Z drugiej jednak strony należy też pamiętać, że obecność tego cukru wpływa na właściwości organoleptyczne finalnych produktów, równoważąc smak kwaśny.

Zawartość trehalozy w grzybach kiszonych była istotnie niższa niż w grzybach blanszowanych. **Istotnie mniejszą zawartość tego cukru zarówno w owocnikach grzybów jak i w zalewie, stwierdzono w przypadku prób fermentowanych szczepem probiotycznym, co może wskazywać, że *L. plantarum* 299v potrafi lepiej wykorzystać trehalozę niż *L. plantarum* EK3.** Wcześniejsze badania naszego zespołu wykazały, że izolat EK3 wykazuje wzrost na podłożu z trehalozą (publikacja H4).

Stężenie mannitolu w owocnikach grzybów i w zalewie już w drugiej dobie fermentacji było zbliżone, **jednocześnie nie zaobserwowano istotnego spadku tego związku w porównaniu do grzybów blanszowanych**. Jedynie w przypadku szczepu probiotycznego w 42 dniu doświadczenia stwierdzono istotny spadek zawartości tego związku zarówno w owocnikach jak i w zalewie. Mannitol jest poliolem, który może być wykorzystywany przez LAB, jako źródło węgla. Zarówno *L. plantarum* 299v jak i *L. plantarum* EK3 wykazywały wzrost na podłożu z mannitolem [Hedberg i in. 2008, H4]. Z drugiej strony może być także produkowany przez bakterie mlekowe w procesie fermentacji. Mannitol może być przekształcany z glukozy, fruktozy i sacharozy głównie przez bakterie heterofermentatywne. Jednak niektóre homofermentatywne LAB również mogą produkować pewne ilości tego związku [Wisselink i in. 2002].

W kierowanej fermentacji mlekowej istotne jest by startery szybko produkowały duże ilości kwasu mlekowego, wykorzystując dostępne węglowodany. Dynamika zmian tych związków jest więc ważnym wskaźnikiem prawidłowości przebiegu fermentacji mlekowej.

Grzyby w postaci świeżej zawierają pewne ilości kwasów organicznych. Wpływają one na smak, ale także są czynnikiem kształtującym zapach grzybów, szczególnie kwas jabłkowy i bursztynowy [Li i in. 2017, Barros i in. 2013]. Związki te odgrywają także istotną biologiczną rolę. Kwasy jabłkowy, cytrynowy i bursztynowy mają właściwości przeciwutleniające [Barros i in. 2013], zapobiegając tym samym procesowi ciemnienia enzymatycznego, który w przypadku owocników pieczarki stanowi istotny problem w czasie zbioru, obrotu, przechowywania czy przetwarzania. W owocnikach pieczarki świeżej zidentyfikowano 6 kwasów organicznych. W największej ilości występowały kwasy jabłkowy i bursztynowy (odpowiednio $476,18 \pm 21,42$ i $465,6 \pm 84,92$ mg/100 g), następnie mlekowy i cytrynowy (odpowiednio $280,59 \pm 19,6$ i $273,23 \pm 26,52$ mg/100 g). Kwasy fumarowy i octowy występowały w najmniejszych ilościach (odpowiednio $40,02 \pm 0,92$ i $67,55 \pm 1,62$ mg/100 g). Proces blanszowania przyczynił się do spadku zawartości kwasów organicznych. W największym stopniu dotyczyło to kwasu bursztynowego, którego ilość spadła niemal dziesięciokrotnie. W badaniach Li i in. [2017] proces blanszowania spowodował 100% strat tego związku. Autorzy tłumaczyli ten fakt procesem dekarboksylacji podczas blanszowania w gorącej wodzie. Kwas jabłkowy, który był dominującym kwasem w pieczarce świeżej, w grzybach blanszowanych występował w ilościach czterokrotnie mniejszych. W przypadku pozostałych kwasów, z wyjątkiem mlekowego, również stwierdzono statystycznie istotne straty, spowodowane prawdopodobnie wypłukaniem do wody oraz, w przypadku kwasów lotnych, jak np. kwas octowy, działaniem wysokiej temperatury.

Kwasy organiczne odgrywają szczególnie istotną rolę w produktach poddanych fermentacji mlekowej, gdyż decydują w znacznym stopniu o trwałości produktu gotowego. W produktach

finalnych dominujący był kwas mlekowy. Zawartość tego związku w czasie fermentacji systematycznie rosła, przy czym największy przyrost masy tego kwasu miał miejsce w początkowym okresie fermentacji. **Finalnie zawartość kwasu mlekowego była istotnie wyższa w próbach fermentowanych *L. plantarum* EK3** i wynosiła $1531,28 \pm 103,9$ mg/100 g i $1520,91 \pm 28,06$ mg/100 mL odpowiednio w grzybach i w zalewie, podczas gdy w próbach fermentowanych szczepem probiotycznym osiągnęła wartość $1266,93 \pm 35,37$ mg/100 g i $1364,02 \pm 10,09$ mg/100 mL odpowiednio w grzybach i w zalewie. **Wyniki te są zbieżne z obserwacjami dotyczącymi zmian wartości pH w kiszonych grzybach, gdzie wartość tego parametru w finalnym produkcie była istotnie niższa dla prób uzyskanych przy pomocy startera EK3. Sacharoza, która była głównym źródłem węgla w procesie fermentacji mlekowej, była także szybciej i w większym stopniu wykorzystana przez izolat EK3. W przypadku tego startera zaobserwowano także istotnie większą liczbę komórek LAB.**

Zawartość kwasu jabłkowego w grzybach fermentowanych była istotnie niższa w porównaniu z grzybami blanszowanymi. Częściowo można to wytłumaczyć przejściem tego związku z grzybów do zalewy, jednak w zalewie obserwowano w czasie fermentacji dalszy spadek jego zawartości. Podobną zależność w trakcie fermentacji mlekowej owocników *Pleurotus* spp. zaobserwowali także Liu i in. [2016]. Główną tego przyczyną prawdopodobnie jest dekarboksylacja kwasu jabłkowego do mlekowego przez enzym dekarboksylazy jabłczanowej, który występuje w większości gatunków LAB. Jak podają inni autorzy, redukcja kwasu jabłkowego przez szczepy *L. plantarum* jest największa w pierwszych 24 – 72 godzinach fermentacji [Tkacz i in. 2020], co jest całkowicie zgodne z wynikami badań własnych.

Zawartość kwasu bursztynowego w początkowym okresie fermentacji wzrosła prawie trzykrotnie w stosunku do ilości w grzybach blanszowanych. Podobne ilości tego związku występowały również w zalewie. Liu i in. [2016] także obserwowali wzrost zawartości tego kwasu w czasie fermentacji mlekowej owocników *Pleurotus* spp. Kwas bursztynowy może powstawać z kwasu cytrynowego co jest związane z cyklem kwasów trikarboksylowych. Według Yang i in. [2019] **kwasy bursztynowy i jabłkowy odpowiadają za zapach kiszonych produktów. Zawartość obu tych kwasów w produktach finalnych była istotnie większa w próbach fermentowanych szczepem probiotycznym.**

Zawartość kwasu cytrynowego, zarówno w owocnikach grzybów jak i w zalewie, istotnie zmniejszała się w czasie fermentacji, niezależnie od kultury startowej. Tłumaczyć to można stopniową degradacją tego kwasu przez bakterie mlekowe. Mirmohammadi i in. [2021] wykazali, że bakterie *L. plantarum* są zdolne do metabolizowania kwasu cytrynowego jako źródło węgla podczas fermentacji. Produktem końcowym tych przemian mogą być związki aromatyczne C4. Z drugiej strony

kwasy cytrynowy może być przekształcany do kwasu bursztynowego, o czym pisano wcześniej, a także do octowego [Díaz-Muñiz i in. 2006].

Ilość kwasu octowego systematycznie wzrastała w czasie fermentacji. W 42 dobie doświadczenia zawartość tego kwasu w próbach fermentowanych szczepem probiotycznym wyniosła $90,72 \pm 1,5$ mg/100 g i $86,86 \pm 5,31$ mg/100 mL odpowiednio w owocnikach grzybów i w zalewie, a w przypadku zastosowania izolatu EK3 $76,35 \pm 6,73$ mg/100 g i $109,48 \pm 4,49$ mg/100 mL odpowiednio w owocnikach grzybów i w zalewie. Podobne wyniki uzyskał Liu i in. [2016]. Obecność kwasu octowego w produktach fermentowanych przez szczepy *Lactiplantibacillus* może być wynikiem degradacji kwasu mlekowego [Zalán i in. 2010]. Według Tkacz i in. [2020] *L. plantarum* należy do bakterii fakultatywnie heterofermentacyjnych, co oznacza, że są zdolne do tworzenia kwasu mlekowego i innych związków, w tym kwasu octowego, w zależności od warunków. Kwas octowy może też powstać z kwasu cytrynowego.

Zawartość kwasu fumarowego w początkowym okresie fermentacji zmniejszała się istotnie w stosunku do ilości w grzybach blanszowanych, jednak od 4 doby pozostawała praktycznie na stałym, bardzo niskim poziomie. Zawartość tego związku w produkcie finalnym wynosiła nieco ponad 3 mg/100g owocników grzybów lub 100 mL zalewy, niezależnie od stosowanej kultury startowej. **Niska zawartość tego kwasu jest korzystna, ponieważ w większych stężeniach może on być czynnikiem hamującym wzrost LAB.**

Bardzo ważnym wskaźnikiem postępu fermentacji jest wartość pH, a jej spadek związany jest z wydzielanymi przez LAB do środowiska kwasami organicznymi, głównie kwasu mlekowego. Początkowa wartość pH zalewy wynosiła w przypadku obu stosowanych starterów niespełna 6,8 i w pierwszych dniach fermentacji gwałtownie spadła. W 4 dobie doświadczenia wartość pH w obu przypadkach spadła poniżej 4, a po 7 dniach fermentacji ustabilizowała się i utrzymywała na stałym poziomie przez pozostały okres doświadczenia. Początkowo tempo zmian wartości pH było niezależne od zastosowanego szczepu, jednak już od 4 doby różnice między próbami grzybów fermentowanych różnymi starterami były statystycznie istotne. **Wartości pH gotowych kiszzonek grzybowych były istotnie niższe w przypadku izolatu EK3 w porównaniu ze szczepem *L. plantarum* 299v** i wynosiły odpowiednio $3,55 \pm 0,03$ oraz $3,68 \pm 0,03$. **Również liczebność komórek LAB, która w produkcie gotowym wynosiła 7,11 i 7,68 log jtk/mL odpowiednio dla prób fermentowanych z *L. plantarum* 299v i *L. plantarum* EK3, już od 7 doby do końca doświadczenia była istotnie wyższa w próbach fermentowanych z udziałem izolatu EK3.**

Podsumowując tę część przeprowadzonych badań należy stwierdzić, że stosowane kultury startowe w różnym stopniu wykorzystują dostępne cukry grzybowe oraz stosowaną jako dodatkowe źródło węgla sacharozę. **Sacharoza była szybciej i w większym stopniu wykorzystana przez izolat**

EK3. W przypadku tego startera zaobserwowano także istotnie wyższą finalną zawartość kwasu mlekowego, niższą wartość pH oraz większą liczbę komórek LAB. Są to istotne parametry, świadczące o jakości i decydujące w dużej mierze o trwałości kiszonych produktów. Uzyskane wyniki badań potwierdzają przydatność izolatu *L. plantarum* EK3 jako startera w procesie fermentacji mlekowej owocników grzybów jadalnych.

E. Ocena wpływu procesu fermentacji mlekowej na właściwości fizyczne i jakość sensoryczną grzybów kiszonych

Jedną z ważniejszych cech w ocenie jakościowej produktów spożywczych są właściwości fizyczne, jak barwa i tekstura. Oba te parametry zmieniają się istotnie w procesie produkcji żywności, głównie pod wpływem działania wysokiej temperatury, ale także w zależności od pH środowiska. Dlatego istotną częścią prowadzonych badań była ocena wpływu procesu fermentacji mlekowej na wybrane właściwości fizyczne grzybów kiszonych. Badano także jakość sensoryczną produktów gotowych. Wyniki przeprowadzonych w tym zakresie badań przedstawiłam w 3 pracach: **H2**, **H6** i **H7**.

Grzyby są cenionym produktem spożywczym ze względu na walory organoleptyczne, głównie za smak i zapach, jaki nadają przyrządzonym z nich potrawom. W badaniach prezentowanych w publikacji **H6** oceniano wpływ stosowanych starterów (szczep *L. plantarum* 299v o udokumentowanych właściwościach probiotycznych oraz izolat *L. plantarum* EK3) na jakość sensoryczną kiszonych owocników pieczarki dwuzarodnikowej. Jest to najbardziej popularny gatunek grzybów jadalnych w Polsce a także jeden z 4 najpopularniejszych na świecie. Do oceny parametrów sensorycznych zastosowano 5-stopniową skalę hedoniczną, w której 5 oznaczało najwyższą notę badanego wyróżnika. Oceniano barwę, aromat, smak, teksturę i ogólną jakość gotowych produktów.

Najwyżej ocenianym parametrem była tekstura, niezależnie od stosowanej kultury startowej produkt finalny uzyskał notę 4,56 punktów. Oceniający w uwagach wskazywali, że pod względem konsystencji grzyby kiszone przypominają grzyby marynowane, mają jednak delikatniejszy smak oraz pełniejszy aromat z wyczuwalną nutą grzybową. Wysoko ocenianym parametrem (4 i 4,11 dla grzybów fermentowanych odpowiednio *L. plantarum* 299v i *L. plantarum* EK3) była także barwa. Finalny produkt charakteryzował się kremową, atrakcyjną barwą. **Wyższą notę za smak i aromat, a także za jakość ogólną uzyskały grzyby fermentowane izolatem EK3**, przy czym z wyjątkiem oceny za aromat różnice w zależności od zastosowanego startera nie były statystycznie istotne. Należy podkreślić, że receptura w tym doświadczeniu nie przewidywała dodatku przypraw aromatyczno-smakowych. Udział tych dodatków przyczynia się do otrzymania wyższych not w ocenie organoleptycznej. Zostało to wykazane w publikacji **H2**, gdzie do jednej z kombinacji

doświadczalnych zaplanowano dodatek przypraw w postaci mielonego pieprzu czarnego, liści laurowych i plastrów cebuli w ilościach odpowiednio: 0,1, 0,2 i 5%. Dodatek przypraw przyczynił się do podwyższenia noty za aromat i smak. Wykazano także, że stosowany zestaw przypraw przyczynił się do uzyskania wyższej oceny w przypadku barwy. Znalazło to odzwierciedlenie również w wynikach instrumentalnej analizy barwy, gdzie wartość parametru L^* , mimo braku różnic istotnych statystycznie, była najwyższa w kombinacji z dodatkiem przypraw. Prawdopodobnie fakt ten można wytłumaczyć wybielającymi właściwościami cebuli. Bernaś i Jaworska [2015] podają, że wodny ekstrakt z cebuli hamuje enzymatyczne brązowienie owocników *A. bisporus* oraz korzystnie wpływa na barwę pieczarek podczas 8-miesięcznego przechowywania w stanie zamrożonym.

Barwa jest jedną z najważniejszych cech jakościowych żywności. Jest także cechą, która zmienia się istotnie w trakcie procesu fermentacji mlekowej. Zmiany poszczególnych parametrów barwy w trakcie fermentacji mlekowej owocników pieczarki przedstawiłam w publikacjach **H2** i **H7**.

W publikacji **H7** oceniano zmiany parametrów barwy w trakcie procesu fermentacji mlekowej owocników pieczarki dwuzarodnikowej odmiany białej i brązowej. Odmiany te różnią się istotnie barwą kapelusza. W przypadku odmiany białej wartość poszczególnych parametrów L^* , a^* i b^* owocników świeżych wyniosła odpowiednio $89,02 \pm 2,55$, $0,73 \pm 0,43$ i $12,8 \pm 1,38$ a brązowej $58,51 \pm 2,85$, $9,30 \pm 0,55$ i $16,21 \pm 1,26$. Jasność (L^*) jest najczęściej opisywanym parametrem w ocenie barwy owocników *A. bisporus*. Cecha ta jest szczególnie istotna w przypadku odmiany białej, gdzie jasna barwa owocników (wysoka wartość parametru L^*) świadczy o świeżości [Damińska i Szudyga 2006]. Proces blanszowania spowodował istotny spadek wartości parametru L^* do poziomu $74,91 \pm 1,38$ i $49,52 \pm 5,34$, odpowiednio w przypadku pieczarki białej i brązowej. Jednocześnie zaobserwowano istotny wzrost wartości parametrów a^* i b^* . Jak podają inni autorzy [Gałązka-Czarnecka i Krala 2009, Jaworska i in. 2008] proces blanszowania powoduje pogorszenie jasności barwy o około 9-26%.

Proces fermentacji przyczynił się do istotnych zmian wszystkich parametrów barwy. Zaobserwowano wzrost wartości parametru L^* , co w przypadku pieczarek odmiany białej jest zjawiskiem korzystnym. W przypadku odmiany brązowej owocniki fermentowane charakteryzowały się jaśniejszą barwą niż świeże. We wszystkich fermentowanych próbkach zaobserwowano istotny spadek udziału barwy czerwonej z jednoczesnym wysokim wzrostem udziału barwy żółtej. Parametry barwy nie ulegały istotnym zmianom w czasie przechowywania chłodniczego. W większości przypadków nie zaobserwowano także istotnych różnic w zależności od stosowanej kultury startowej. Należy jednak podkreślić, że **fermentowane z udziałem izolatu *L. plantarum* EK3 pieczarki białe, przechowywane w warunkach chłodniczych, w 42 dobie doświadczenia charakteryzowały się**

istotnie wyższym parametrem jasności w porównaniu z próbami otrzymanymi z zastosowaniem jako startera szczepu probiotycznego *L. plantarum* 299v.

Podobne wyniki, dotyczące wpływu procesu blanszowania na istotny spadek wartości parametru L^* oraz procesu fermentacji na wzrost wartości tego parametru uzyskano w badaniach prezentowanych w publikacji **H2**. W ramach prowadzonych badań uwzględniono dodatkowo pomiar parametrów barwy po procesie mycia owocników pieczarki. Wykazano, że w czasie tej obróbki wstępnej dochodzi do zmian wartości wszystkich parametrów barwy. Proces mycia przyczynił się do istotnego zmniejszenia wartości parametru L^* , a także istotnego zwiększenia wartości parametrów a^* i b^* , co tłumaczyć można zachodzącymi z dużą intensywnością reakcjami brązowienia enzymatycznego [Bernaś i in. 2006].

Twardość jest ważną właściwością tekstury świeżych i przetworzonych grzybów. **Temat ten nie był jak dotąd poruszany w kontekście grzybów utrwalonych w procesie fermentacji mlekowej.** W publikacji **H7** przedstawiłam wpływ procesu fermentacji mlekowej na twardość owocników pieczarki dwuzarodnikowej odmiany białej i brązowej. Twardość określono testem penetracyjnym, przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i, wyposażonego w cylindryczną sondę o średnicy 2 mm. Świeże owocniki grzybów różniły się istotnie pod względem twardości w zależności od odmiany. Maksymalna siła przebicia w przypadku odmiany brązowej wynosiła $3,21 \pm 0,23$ N, a odmiany białej $2,78 \pm 0,22$ N. W obydwu przypadkach wartości tego parametru istotnie wzrosły po procesie blanszowania, do poziomów odpowiednio $5,59 \pm 0,3$ N i $4,90 \pm 0,43$ N. W badaniach Zivanovic i Buescher [2004] blanszowanie spowodowało znaczny wzrost siły przebicia z 2,33 N w pieczarkach świeżych do 4,92 N po obróbce termicznej. Autorzy tłumaczą ten fakt znacznym spadkiem masy i objętości w wyniku utraty wody w procesie blanszowania oraz związaną z tym redukcją przestrzeni międzykomórkowej i w konsekwencji ściślejszą organizacją strzępek w tkance kapelusza grzyba. Pomimo niekorzystnego wpływu blanszowania na właściwości tekstury oraz barwę owocników pieczarki, procesu tego nie można pominąć. Blanszowanie prowadzi do inaktywacji enzymów, poprawia jakość mikrobiologiczną oraz usuwa powietrze z tkanek grzyba, co jest istotne ze względu na prawidłowość przebiegu fermentacji mlekowej. **Po procesie fermentacji mlekowej zaobserwowano spadek twardości owocników grzybów, przy czym w przypadku odmiany brązowej był on statystycznie istotny. Nie wykazano różnic w twardości w zależności od zastosowanej kultury startowej. Należy podkreślić, że wartość tego parametru utrzymywała się na niezmiennym poziomie przez cały okres chłodniczego przechowywania, co ma istotny wpływ na jakość produktu kiszzonego.** Mięknienie tkanek, spowodowane głównie aktywnością enzymów, jest istotną i często występującą wadą produktów kiszonych [McMurtrie i in. 2019].

F. Określenie bezpieczeństwa zdrowotnego grzybów kiszonych w zakresie zawartości amin biogennych

Aminy biogenne (BA, ang. – biogenic amines) to związki azotowe, powstające w wyniku dekarboksylacji aminokwasów lub aminowania i transaminacji aldehydów i ketonów. W komórkach organizmów żywych pełnią istotne funkcje, jednak duże ilości tych związków, a głównie histaminy, dostarczane z pożywieniem mogą wywoływać efekt toksyczny. W żywności aminy są produkowane przy udziale enzymów bakteryjnych (dekarboksylaz), które przekształcają aminokwasy w biogenne aminy. Na wysoką zawartość BA narażone są produkty z dużą zawartością białka (źródło aminokwasów – prekursorów BA), łatwo psujące się oraz poddane fermentacji (obecność drobnoustrojów, a dokładnie ich enzymów - dekarboksylaz) [Doeun i in. 2017, Feddern i in. 2019, Ruiz-Capillas i Herrero 2019]. Owocniki grzybów jadalnych, utrwalone w procesie fermentacji mlekowej, spełniają wszystkie te kryteria, mogą więc być potencjalnie źródłem BA.

Dostępne są badania na temat zawartości amin biogennych w owocnikach grzybów jadalnych, jednak **temat ten nie był do tej pory poruszany w kontekście grzybów kiszonych**. Żywność fermentowana jest szczególnie narażona na obecność tych związków, dotyczy to głównie produktów uzyskanych na drodze fermentacji spontanicznej. Niektóre szczepy LAB są zdolne do przekształcania aminokwasów w BA poprzez aktywność dekarboksylazy podczas procesów fermentacji różnych artykułów spożywczych. Zdolność taką mogą jednak posiadać także szczepy stosowane jako kultury startowe [Alvarez i Moreno-Arribas 2014], stąd ważne jest badanie ich właściwości pod tym kątem. Analizę zawartości amin biogennych w kiszonych grzybach uznałam jako bardzo istotny element w ocenie jakości tego produktu. Wyniki prowadzonych w tym zakresie badań przedstawiłam w publikacji **H7**.

Materiałem do badań, w ramach pracy **H7**, były owocniki pieczarki białej i brązowej, poddane procesowi kierowanej fermentacji mlekowej. Jako kultury startowe stosowano probiotyczny szczep *L. plantarum* 299v oraz *L. plantarum* EK3, jeden z izolatów uzyskanych w ramach wcześniejszych badań (**H4**). Analizę BA przeprowadzono stosując analizator aminokwasów AAA500. W badanych próbkach grzybów stwierdzono obecność 3 amin biogennych – spermidyny (SPD), putrescyny (PUT) i tyraminy (TYR). Spermidyna występowała we wszystkich próbkach, przy czym grzyby w postaci świeżej zawierały istotnie więcej tego związku niż w postaci przetworzonej. W owocnikach pieczarki brązowej stwierdzono obecność SPD w ilości istotnie wyższej niż w pieczarce białej (odpowiednio $367,22 \pm 14,19$ i $266,47 \pm 13,38$ mg/kg). SPD i PUT to typowe dla grzybów poliaminy, występująca zazwyczaj w największej ilości spośród wszystkich BA [np. Dadáková i in. 2009]. Spermidyna wykazuje wybitne działanie kardioprotekcyjne i neuroprotekcyjne, ma właściwości przeciwzapalne i zapobiega starzeniu

się komórek macierzystych. W modelach przedklinicznych wykazano, że suplementacja diety spermidyną wydłuża życie i zdrowie [np. Madeo i in. 2018].

Proces blanszowania spowodował istotny spadek zawartości SPD do poziomu $296,02 \pm 11,43$ i $227,92 \pm 16,94$ mg/kg odpowiednio w owocnikach pieczarki brązowej i białej. Uważa się, że aminy biogenne są termicznie stabilne, jednak obróbka hydrotermiczna obniża ich zawartość do poziomu około 80%, na skutek wymywania do wody [Yen 1992]. **Proces fermentacji nie przyczynił się do wzrostu zawartości SPD w badanych grzybach. Stwierdzono, że owocniki pieczarki brązowej niezależnie od fazy procesu fermentacji i chłodniczego przechowywania zawierały istotnie więcej SPD w porównaniu do pieczarki białej. Rodzaj zastosowanej kultury startowej nie miał wpływu na zróżnicowanie zawartości SPD w fermentowanym produkcie. W czasie chłodniczego przechowywania grzybów kiszonych nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian zawartości tego związku.**

Obecność putrescyny stwierdzono wyłącznie w próbkach poddanych fermentacji. W przypadku pieczarki białej stwierdzono istotne różnice w zawartości PUT zarówno w zależności od rodzaju zastosowanej kultury startowej jak i czasu trwania doświadczenia. W przypadku szczepu probiotycznego zawartość tego związku mieściła się w zakresie od $6,93 \pm 0,43$ do $10,11 \pm 0,5$ mg/kg odpowiednio w 7 i 42 dobie doświadczenia. **Izolat EK3 wykazywał istotnie mniejszą tendencję do produkcji PUT.** W tym przypadku zawartość tego związku wynosiła od $0,58 \pm 0,25$ do $2,6 \pm 0,0$ mg/kg odpowiednio w 7 i 42 dobie doświadczenia. Nie stwierdzono obecności PUT w pieczarce brązowej w początkowym okresie fermentacji. Natomiast w późniejszym okresie zawartość tej aminy mieściła się w granicach od $3,61 \pm 0,5$ do $4,62 \pm 0,5$ mg/kg i nie różniła się istotnie ani w zależności od zastosowanego startera ani czasu przechowywania chłodniczego. Obecność PUT w próbkach fermentowanych może świadczyć o zdolności stosowanych kultur startowych do produkcji tej aminy. Potwierdzają to wyniki badań innych autorów [Karošičová i Kohajdová 2003], według których *Lactiplantibacillus* sp. obecne w żywności fermentowanej wykazują zdolność do produkcji PUT i TYR.

Podobnie jak w przypadku PUT, w pieczarkach świeżych i blanszowanych nie stwierdzono obecności tyraminy. Podobne wyniki uzyskano we wcześniejszej pracy, analizując zawartość BA w dostępnych na polskim rynku owocnikach grzybów świeżych i przetworzonych [Jabłońska-Ryś i in. 2020]. **W przypadku pieczarek fermentowanych obecność TYR stwierdzono wyłącznie w próbkach, gdzie stosowano izolat EK3. Zawartość tej aminy istotnie rosła w trakcie chłodniczego przechowywania.** W fermentowanej pieczarce białej zaobserwowano wzrost z poziomu $1,44 \pm 0,25$ do $28,89 \pm 3,93$ mg/kg, a w przypadku fermentowanej pieczarki brązowej z wartości $36,98 \pm 3,13$ do $69,04 \pm 1,39$ mg/kg, odpowiednio w 7 i 42 dobie doświadczenia. Istotnie wyższa zawartość TYR w

fermentowanych pieczarkach brązowych wynikać może z ewentualnie większej zawartości tyrozyny, aminokwasu będącego prekursorem tego związku. Według Bernaś [2017] pieczarki brązowe zawierają o 43 - 44% więcej wolnych aminokwasów niż pieczarki białe.

Histamina nie została wykryta w żadnej z badanych próbek. Jest to obecnie jedyna amina, dla której zostały prawnie określone limity zawartości. Przepisy te (Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1019/2013 z dnia 23 października 2013 r.) dotyczą jednak jedynie ryb i przetworów rybnych, w których zawartość HIS nie powinna przekraczać odpowiednio 100 i 200 mg/kg. W przypadku pozostałych amin obecnie brak jest takich przepisów. EFSA (European Food Safety Authority) uznała, że nie ma negatywnych skutków dla zdrowia człowieka w przypadku spożycia 50 mg histaminy i 600 mg tyraminy przez zdrową osobę w czasie jednego posiłku. Jak podają Til i in. [1997] spożycie putrescyny i spermidyny w dawce odpowiednio 180 i 83 mg/kg masy ciała nie wywołuje żadnych szkodliwych dla zdrowia skutków. Według powyższych danych **pieczarki fermentowane zarówno z udziałem szczepu probiotycznego *L. plantarum* 299v jak i izolatu *L. plantarum* EK3 są produktem jak najbardziej bezpiecznym pod względem zawartości amin biogennych.**

4.3.4. Podsumowanie

Proces fermentacji mlekowej może być z powodzeniem wykorzystywany do przetwarzania i utrwalania owocników grzybów jadalnych, co w pełni potwierdzają przedstawione w osiągnięciu naukowym stanowiącym cykl publikacji wyniki. Przeprowadzone badania stanowią rozszerzenie dotychczasowej wiedzy w tym temacie, ale **w wielu aspektach wnoszą nowe istotne informacje.**

Na podstawie otrzymanych wyników badań można sformułować wnioski dotyczące wpływu procesu fermentacji mlekowej na wybrane aspekty jakościowe owocników grzybów jadalnych:

- **Grzyby kiszone są uboższe w związki fenolowe i wykazują słabsze właściwości przeciwutleniające w stosunku do surowca świeżego ale wynika to głównie z zastosowania procesu obróbki hydrotermicznej (blanszowanie), poprzedzającego proces fermentacji.** Sam proces fermentacji mlekowej miał zróżnicowany wpływ na zawartość związków fenolowych ogółem i profil kwasów fenolowych a także na właściwości przeciwutleniające, zależny zarówno od rodzaju zastosowanego startera jak i gatunku przetwarzanych grzybów. W przypadku zastosowania *L. plantarum* jako kultury startowej w fermentowanych owocnikach boczniaków i kurek stwierdzono wyższą zawartość kwasów galusowego, homogentyzynowego i ferulowego niż w przypadku *L. helveticus* czy *L. casei*. Badania wykazały, że **odpowiednio dobrany starter może przyczynić się do niwelowania negatywnego wpływu procesu obróbki termicznej na zawartość kwasów fenolowych.** Aby zachować właściwości przeciwutleniające, konieczne jest

stosowanie kontrolowanego procesu fermentacji mlekowej z udziałem odpowiednio dobranych do gatunku grzybów kultur startowych, który minimalizowałby utratę związków fenolowych.

- Dobór odpowiedniej kultury startowej jest ważnym czynnikiem, który w dużej mierze może decydować o właściwościach produktu finalnego. Stosowane w badaniach startery autochtoniczne jak i allochtoniczne skutecznie prowadziły fermentację mlekową owocników grzybów jadalnych, obniżając pH do wartości poniżej 4,0, co gwarantuje trwałość produktów kiszonych. Dobrymi zdolnościami fermentacyjnymi charakteryzuje się także szczep *L. plantarum* 299v, o udokumentowanych właściwościach probiotycznych. Grzyby fermentowane z jego udziałem, ze względu na wysoką liczebność komórek LAB w produkcie finalnym (około 10^7 jtk/g) **spełniają kryteria żywności probiotycznej.**
- Uzyskane w toku przeprowadzonych badań nowe izolaty LAB mogą być wykorzystane jako mikroflora autochtoniczna w procesie fermentacji mlekowej grzybów, ale także prawdopodobnie innych surowców. **Przedstawione wyniki wskazują, że niektóre izolaty mogą mieć potencjalne zastosowanie jako kultury startowe o właściwościach probiotycznych.**
- Wytypowany do dalszych badań izolat *L. plantarum* EK3 charakteryzował się dobrymi właściwościami fermentacyjnymi. W oparciu o uzyskane wyniki badań, oraz wysokie noty w ocenie organoleptycznej kiszonych grzybów, **można rekomendować izolat *L. plantarum* EK3 jako odpowiednią kulturę startową w procesie fermentacji mlekowej owocników pieczarki.**
- Zawartość cukrów wolnych i mannitolu w owocnikach grzybów poddanych fermentacji mlekowej ulegała dynamicznym zmianom. Wpływ na to miał przede wszystkim **proces blanszowania**, który **przyczynił się do istotnej redukcji tych związków** z wyjątkiem rybozy. Preferowane przez LAB jako źródło węgla cukry redukujące, takie jak **glukoza i fruktoza, nie mogą odgrywać kluczowej roli w procesie fermentacji mlekowej grzybów ze względu na ich znikomą zawartość w surowcu.** Spadek zawartości cukrów grzybowych – rybozy i trehalozy w czasie fermentacji z jednej strony był spowodowany wykorzystaniem przez LAB, z drugiej ekstrakcją do zalewy. **Stosowane startery prawdopodobnie nie wykorzystywały jako źródła węgla mannitolu.** Dodawana w procesie technologicznym sacharoza nie została wykorzystana całkowicie przez LAB, jednak finalnie znacznie mniejszą jej zawartość zarówno w grzybach jak i w zalewie stwierdzono w próbach fermentowanych z udziałem izolatu EK3.
- **W trakcie kierowanej fermentacji mlekowej oprócz produkowanego przez LAB w największej ilości kwasu mlekowego zwiększała się też zawartość innych kwasów organicznych, w tym bursztynowego i octowego, wywierając tym samym wpływ na właściwości organoleptyczne finalnego produktu.** Z kolei zawartość kwasów jabłkowego, cytrynowego i fumarowego, obecnych w świeżych owocnikach grzybów systematycznie spadała

w czasie procesu technologicznego, na co miał wpływ proces blanszowania ale także przemiany zachodzące w czasie fermentacji mlekowej. Kwasy te mogły być metabolizowane przez LAB. Prawdopodobnie stosowane jako kultury startowe bakterie mlekowe wykorzystywały częściowo te związki jako alternatywne źródło węgla.

- Utrwalanie owocników grzybów z zastosowaniem fermentacji mlekowej przyczyniało się istotnie do zmian właściwości fizycznych surowca. **W największym stopniu na zmiany te wpływał proces obróbki hydrotermicznej.** W wyniku blanszowania obserwowano spadek wartości parametru L^* oraz wzrost wartości parametrów a^* i b^* owocników pieczarki. **Proces fermentacji mlekowej miał wpływ na zwiększenie jasności oraz znaczny wzrost udziału barwy żółtej i spadek udziału barwy czerwonej w fermentowanych grzybach.** Istotny wpływ na zachowanie jasnej barwy owocników pieczarki odmiany białej mogą mieć stosowane dodatki, jak np. cebula. Blanszowanie wpłynęło także istotnie na teksturę owocników grzybów, przyczyniając się do wzrostu wartości siły przebicia. Dalsze przetwarzanie wykazywało zróżnicowany wpływ na twardość owocników, zależny od rodzaju stosowanego surowca. **W czasie fermentacji i chłodniczego przechowywania nie doszło do zmian twardości owocników pieczarki odmiany białej. W przypadku odmiany brązowej proces fermentacji przyczynił się do istotnego spadku wartości siły przebicia.** Pomimo zwiększenia twardości w czasie przetwarzania tekstura jest wysoko ocenianym parametrem w ocenie organoleptycznej kiszonych grzybów.
- Blanszowanie, jako niezbędny element obróbki wstępnej grzybów przeznaczonych do kiszenia, w istotny sposób wpływa na właściwości owocników grzybów. **W czasie tego procesu dochodzi do strat cukrów, kwasów organicznych, związków fenolowych a także zmniejszenia właściwości przeciwutleniających. Blanszowanie przyczynia się także do istotnego pogorszenia parametrów barwy, a także do znacznego wzrostu twardości owocników.** Mimo negatywnego wpływu na skład chemiczny i właściwości fizyczne procesu tego w czasie obróbki wstępnej grzybów przeznaczonych do kiszenia nie można pominąć. Jego głównym celem jest usunięcie powietrza z tkanek grzyba, co stwarza warunki beztlenowe. Jest to niezbędne do prawidłowego przebiegu procesu fermentacji mlekowej. Ponadto blanszowanie dezaktywuje enzymy i zmniejsza liczebność mikroflory, co może mieć istotny wpływ na bezpieczeństwo zdrowotne kiszonych grzybów, w tym również na zawartość amin biogennych.
- Grzyby należy traktować jako żywność potencjalnie bogatą w aminy biogenne. Istotny wpływ na zawartość tych związków ma proces fermentacji mlekowej. Aby grzyby fermentowane były bezpiecznym produktem spożywczym niezwykle ważne jest stosowanie sprawdzonych kultur startowych. **W grzybach fermentowanych z udziałem *L. plantarum* 299v i *L. plantarum* EK3 nie stwierdzono obecności histaminy, czyli aminy potencjalnie stwarzającej największe**

zagrożenie dla zdrowia. Również pod względem zawartości putrescyny i tyraminy grzyby kiszone są produktem bezpiecznym. Spośród analizowanych BA zarówno w świeżych, jak i przetworzonych owocnikach pieczarki białej i brązowej w największej ilości występuje spermidyna. W mniejszych ilościach, niestanowiących zagrożenia dla zdrowia, występuje putrescyna i tyramina. Wiele ostatnich wyników badań wskazuje, że żywność bogata w spermidynę może być stosowana w leczeniu i profilaktyce chorób związanych z wiekiem. Określenie roli grzybów w diecie pod tym względem wydaje się być ciekawą perspektywą dalszych badań.

- Proces fermentacji mlekowej ma wpływ nie tylko na zmianę składu chemicznego utrwalonego surowca, ale także w istotny sposób kształtuje jego cechy sensoryczne. **Ocena organoleptyczna wykazała, że kiszony grzyby są produktem o wysokiej akceptacji konsumenckiej.** Najwyżej oceniane wyróżniki jakościowe to tekstura i barwa, pomimo istotnych zmian tych cech w procesie technologicznym, potwierdzonych wynikami badań instrumentalnych. Nie zaobserwowano istotnych różnic w ocenie barwy, smaku i tekstury produktów finalnych w zależności od stosowanej kultury startowej. Wykazano natomiast istotny wpływ startera na aromat. Smak i zapach to ważne wyróżniki jakościowe, których ocenę można podwyższyć stosując dodatek przypraw. Aby poprawić właściwości organoleptyczne należałoby rozważyć w przyszłych badaniach stosowanie złożonych kultur startowych, zawierających bakterie heterofermentatywne, np. *Leuconostoc mesenteroides*, które ze względu na wydzielane metabolity w większym stopniu mogłyby kształtować smak i zapach produktów finalnych.
- Opracowana w toku badań chromatograficzna metoda oznaczania cukrów wolnych i polioli z zastosowaniem detektora CAD okazała się przydatna do rutynowej analizy składu chemicznego owocników grzybów świeżych i przetworzonych. **Metodę charakteryzuje wysoka czułość, powtarzalność oraz dokładność. Niewątpliwą zaletą jest krótki czas trwania analiz.**

4.3.5. Piśmiennictwo

1. Abdelshafy A. M., Belwal T., Liang Z., Wang L., Li D., Luo Z., Li L. 2021. A comprehensive review on phenolic compounds from edible mushrooms: Occurrence, biological activity, application and future prospective. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 62, 22, 6204-6224
2. Alvarez M. A., Moreno-Arribas M. V. 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends Food Sci Technol*, 39, 146-155
3. Ammor S., Dufour E., Chevalier I. 2004. *Ecologie microbienne dirigée au niveau des ateliers fermiers de salaison: selection de bactéries lactiques pour l'elaboration de ferment*". En Résumés de Communications de 13eme Colloque des Bactéries Lactiques, Nantes, 8-10 Septembre.

4. Asthana C., Peterson G. M., Shastri M., Patel R. P. 2019. Development and validation of a novel high performance liquid chromatography coupled with Corona charged aerosol detector method for quantification of glucosamine in dietary supplements. *PLoS One*, 14, e0216039
5. Barros L., Pereira C., Ferreira I. C. 2013. Optimized analysis of organic acids in edible mushrooms from Portugal by ultra fast liquid chromatography and photodiode array detection. *Food Anal Methods*, 6, 309-316
6. Barros L., Baptista P., Correia D. M., Morais J. S., Ferreira I. C. 2007. Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *J Agr Food Chem*, 55, 4781-4788
7. Battcock M., Azam-Ali S. 1998. Fermented fruits and vegetables. A global perspective. *FAO Agricultural Services Bulletin*, 134, FAO, Rome
8. Bello B. K., Akinyele B. J. 2007. Effect of fermentation on the microbiology and mineral composition of an edible mushroom *Termitomyces robustus* (Fries). *Int J Biol Chem*, 1(4), 237-243
9. Bernaś E. 2017. Monosodium glutamate equivalents and B-group vitamins in frozen mushrooms. *Int J Food Prop*, 20(sup2), 1613-1626
10. Bernaś E., Jaworska G., Kmiecik W. 2006. Storage and processing of edible mushrooms. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 5(2), 5-23
11. Bernaś E., Jaworska G. 2010. Zawartość aminokwasów w mrożonkach i konserwach sterylizowanych z borowika szlachetnego (*Boletus edulis* (Bull:Fr.)). *Żywn Nauka Technol Jakość*, 6(73), 134-145
12. Bernaś E., Jaworska G. 2015. Use of onion extract to prevent enzymatic browning of frozen *Agaricus bisporus* mushrooms. *Int J Refrig*, 57, 257-264
13. Cao Y., Wang Y., Chen X., Ye J. 2004. Study on sugar profile of rice during ageing by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Food Chem*, 86, 131-136
14. Castellone V., Bancalari E., Rubert J., Gatti M., Neviani E., Bottari B. 2021. Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. *Foods*, 10(11), 2639.
15. Cateni F., Gargano M. L., Procida G., Venturella G., Cirlincione F., Ferraro V. 2021. Mycochemicals in wild and cultivated mushrooms: nutrition and health. *Phytochem Rev*, 21(2), 339-383
16. Chang S. T., Mshigeni K. E. 2001. Mushrooms and human health: Their growing significance as potent dietary supplements. University of Nambia Ed., Windhoek
17. Choi Y., Lee S. M., Chun J., Lee H. B., Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem*, 99, 381-387
18. Damięcka J., Szudyga K. 2006. Jakość owocników pieczarki dla przetwórstwa a sposób uprawy. *Przem Spoż*, 12, 38-40
19. Díaz-Muñiz I., Banavara D. S., Budinich M. F., Rankin S. A., Dudley E. G., Steele J. 2006. *Lactobacillus casei* metabolic potential to utilize citrate as an energy source in ripening cheese: A bioinformatics approach. *J Appl Microbiol*, 101, 872-882
20. Doeun D., Davaatseren M., Chung M. S. 2017. Biogenic amines in foods. *Food Sci Biotechnol*, 26, 1463-1474
21. FAO. 2020. Top 10 country production of macrofungi and truffles 2020
22. Feddern V., Mazzuco H., Fonseca F. N., de Lima G. J. 2019. A review on biogenic amines in food and feed: Toxicological aspects, impact on health and control measures. *Anim Prod Sci*, 59, 608-618

23. Ferreira I. C., Barros L., Abreu, R. 2009. Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543-1560
24. Gąsecka M., Magdziak Z., Siwulski M., Mleczek M. 2018. Profile of phenolic and organic acids, antioxidant properties and ergosterol content in cultivated and wild growing species of *Agaricus*. *Eur Food Res Technol*, 244, 259-268
25. Grzywacz A. 2015. Tradycje zbiorów grzybów leśnych w Polsce. *Studia i Materiały CEPL w Rogowie*, 44(3), 189-199
26. Hedberg M., Hasslöf P., Sjöström I., Twetman S., Stecksén-Blicks C. 2008. Sugar fermentation in probiotic bacteria – an in vitro study. *Oral Microbiol Immunol*, 23, 482-485
27. Jabłońska-Ryś E., Sławińska A., Stachniuk A., Stadnik J. 2020. Determination of biogenic amines in processed and unprocessed mushrooms from the Polish market. *J Food Compos Anal*, 92, 103492
28. Jaworska G., Bernaś E., Cichoń Z., Possinger P. 2008. Establishing the optimal period of storage for frozen *Agaricus bisporus*, depending on the preliminary processing applied. *Int J Refrig*, 31, 1042-1050
29. Joshi V. K., Kaur M., Thakur N. S. 1996. Lactic acid fermentation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) for preservation and preparation of sauce. *Acta Aliment*, 25(1), 1-11
30. Kalač P., 2013. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *J Sci Food Agric*, 93, 209-218
31. Khaskheli S.G., Zheng W., Sheikh S.A., Khaskheli A.A, Liu Y., Wang Y.-F., Huang W. 2015. Effect of processing techniques on the quality and acceptability of *Auricularia auricula* mushroom pickle. *J Food Nutr Res*, 3, 1, 46-51
32. Kijewska I., Frączak O., Wilczek R. 2022. Zastosowanie detektora wyładowań koronowych (CAD) w analizach chemicznych. *Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski*, 1, 25-30
33. Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. 2008. Ainsworth & Brisby's dictionary of the fungi, 10th edn. CAB International, Wallingford
34. Li B., Kimatu B. M., Pei F., Chen S., Feng X., Hu Q., Zhao L. 2017. Non-volatile flavour components in *Lentinus edodes* after hot water blanching and microwave blanching. *Int J Food Prop*, 20, S2532-S2542
35. Liu Y., Xie X. X., Ibrahim S. A., Khaskheli S. G., Yang H., Wang Y. F., Huang W. 2016. Characterization of *Lactobacillus pentosus* as a starter culture for the fermentation of edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *LWT Food Sci Technol*, 68, 21-26
36. Madeo F., Eisenberg T., Pietrocola F., Kroemer G. 2018. Spermidine in health and disease. *Science*, 359, eaan2788
37. Marco M. L., Heeney D., Binda S., Cifelli C. J., Cotter P. D., Folligné B., Ganzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., Smid E. J., Hutkins R. 2017. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol*, 44, 94-102.
38. Medeiros P. M., Simoneit B. R. T. 2007. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography - mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1141, 271-278
39. Meenu M., Xu B., 2019. Application of vibrational spectroscopy for classification, authentication and quality analysis of mushroom: A concise review. *Food Chem*, 289, 545-557
40. Mering A. 1955. *Przetwory grzybowe*, Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego, Warszawa
41. Milanovic, N., Davidović, A., & Savić, A. (2010). Lactic acid fermentation of

42. mushroom (*Agaricus bisporus*) with *Lactobacillus plantarum*. In: 9th
43. Savjetovanje hemicara i tehnologa Republike Srpske (338–345).12–13 ~
44. November, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina N., Davidovic, A., Savic, A. 2010. Lactic acid fermentation of mushroom (*Agaricus bisporus*) with *Lactobacillus plantarum*. In: 9th Savjetovanje hemicara i tehnologa Republike Srpske (338–345). 12–13 November, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina
45. Mirmohammadi R., Zamindar N., Razavi S. H., Mirmohammadi M., Paidari S. 2021. Investigation of the possibility of fermentation of red grape juice and rice flour by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*. *Food Sci Nutr*, 9, 5370-5378
46. Niksic M., Stojanovic M., Zivanovic S., Veljic S. 1997. Ecological approach in preservation of edible mushrooms by lactic acid fermentation. National Meeting of Biotechnologists, 8–11 June, Vrnjacka Banja, Yugoslavia
47. Nordström E. A., Teixeira C., Montelius C., Jeppsson B., Larsson N. 2021. *Lactiplantibacillus plantarum* 299v (LP299V®): Three decades of research. *Benef Microbes*, 12, 441-465
48. Othman N. B., Roblain D., Chammen N., Thonart P., Hamdi M. 2009. Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of chétoui olives. *Food Chem*, 116, 662-669
49. Phipps A. G., Bennett B.C., Downum K. R. 2000. Japanese use of Beni-tengu-dake (*Amanita muscaria*) and the efficacy of traditional detoxification methods. Florida International University, Miami, Florida
50. Rai R. D., Arumuganathan T. 2008. Post harvest technology of mushrooms. National Research Centre for Mushroom, Indian Council of Agricultural Research
51. Rodríguez H., Landete J. M., de las Rivas B., Muñoz R. 2008. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T. *Food Chem*, 107, 1393-1398
52. Royse D. J., Baars J., Tan Q., 2017. Current overview of mushroom production in the world. W: C. Z. Diego, A. Pardo-Giménez (Eds.), *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications* (s. 5-13), John Wiley & Sons Ltd., Chichester
53. Ruiz-Capillas C., Herrero A. M. 2019. Impact of biogenic amines on food quality and safety. *Foods*, 8, 62
54. Samsudin N. I. P., Abdullah N., 2019. Edible mushrooms from Malaysia; a literature review on their nutritional and medicinal properties. *Int Food Res J*, 26(1), 11-31
55. Şanlıer N., Gökçen B. B., Sezgin A. C. 2019. Health benefits of fermented foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(3), 506-527
56. Siwulski M., Jasińska A., Sobieralski K., Sas-Golak I. 2011. Comparison of chemical composition of fruiting bodies of some edible mushrooms cultivated on sawdust. *Ecological Chemistry and Engineering*, 18(1), 89-96
57. Skąpska S., Owczarek L., Jasińska U., Chałasińska A., Danielczuk J., Sokołowska B. 2008. Changes in the antioxidant capacity of edible mushrooms during lactic acid fermentation. *Food Science. Technology. Quality*, 4(59), 243–250
58. Stanton W. R., Owens J. D. 2003. Fermentations of the Far East. W: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Elsevier Science, 2344-2351
59. Steinkraus K. H. 2002. Fermentations in world food processing. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 1, 23-32
60. Svensson L., Sekwati-Monang B., Lutz D. L., Schieber A., Gänzle M. G. 2010. Phenolic acids and flavonoids in nonfermented and fermented red sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *J Agr Food Chem*, 58, 9214-9220
61. Til H. P., Falke H. E., Prinsen M. K., Willems M. I. 1997. Acute and subacute toxicity of tyramine, spermidine, spermine, putrescine and cadaverine in rats. *Food Chem Toxicol*, 35, 337-348

62. Tkacz K., Chmielewska J., Turkiewicz I. P., Nowicka P., Wojdyło A. 2020. Dynamics of changes in organic acids, sugars and phenolic compounds and antioxidant activity of sea buckthorn and sea buckthorn-apple juices during malolactic fermentation. *Food Chem*, 332, 127382
63. Valverde M. E., Hernández-Pérez, T., Paredes-López O. 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Int J Microbiol*, Article ID 376387
64. Westby A., Nuraida L., Owens J. D., Gibbs P. A. 1993. Inability of *Lactobacillus plantarum* and other lactic acid bacteria to grow on D-ribose as sole source of fermentable carbohydrate. *J Appl Bacteriol*, 75, 168-175
65. Wisselink H. W., Weusthuis R. A., Eggink G., Hugenholtz J., Grobben G. J. 2002. Mannitol production by lactic acid bacteria: A review. *Int Dairy J*, 12, 151-161
66. Yang X., Hu W., Jiang A., Xiu Z., Ji Y., Guan Y., Yang X. 2019. Effect of salt concentration on quality of Chinese northeast sauerkraut fermented by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Biosci*, 30, 100421
67. Yen G. C. 1992. Effects of heat treatment and storage temperature on the biogenic amine content of straw mushroom (*Volvariella volvacea*). *J Sci Food Agric*, 58, 59-61
68. Zalán Z., Hudáček J., Štětina J., Chumchalová J., Halász A. 2010. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *Eur Food Res Technol*, 230, 395-404
69. Zhang Y., Venkatasamy C., Pan Z., Wang W., 2013. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms – A review. *Trends Food Sci Tech*, 33(2), 78-92
70. Zhao Z., Moghadasian M. H. 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*, 109, 691-702
71. Zheng, H.-G., Chen J.-C., Ahmad I. 2018. Preservation of king oyster mushroom by the use of different fermentation processes. *J Food Process Preserv*, 42(1) e13396
72. Zhuk Y. T., Suslova E. D., Papilina V. A. 1982. Influence of storage-temperature on oxidation-reduction ferments of eatable mushrooms. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii Pishchevaya Tekhnologiya*, 1, 89-91
73. Zhuk-Yu T., Papilina V. A. 1983. Effect of blanching on physico-chemical properties of mushrooms. *Konservnaya i Ovoshchesushil'naya Promyshlennost*, 8, 33-34
74. Zivanovic S. 2006. Identification of opportunities for production of ingredients based on further processed fresh mushrooms, off-grade mushrooms, by-products, and waste material. Knoxville: Mushroom Council. University of Tennessee, Department of Food Science and Technology
75. Zivanovic S., Buescher R. 2004. Changes in mushroom texture and cell wall composition affected by thermal processing. *J Food Sci*, 69, SNQ44-SNQ49

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

5.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

Na początku pracy zawodowej głównym kierunkiem badawczym była ocena przydatności wybranych gatunków warzyw do przetwórstwa pod względem podstawowych parametrów fizykochemicznych oraz zawartości substancji biologicznie aktywnych. Badania skupiały się głównie na warzywach korzeniowych, takich jak pietruszka (*Petroselinum crispum*) oraz seler korzeniowy (*Apium graveolens* var. *rapaceum*). Są to surowce cenione szczególnie ze względu na walory aromatyczno-smakowe stąd istotna część badań poświęcona była analizie związków lotnych z zastosowaniem chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas. Badania koncentrowały się na określeniu zmian jakościowych i ilościowych związków należących do terpenów, ftalidów, fitosteroli, furanokumaryn i poliacetylenów, będących wynikiem prowadzenia różnych procesów technologicznych. Rezultatem prowadzonych w tym okresie badań były publikacje naukowe, z których dwie ukazały się przed uzyskaniem stopnia doktora (zał. 4, II, 4b, publikacje M1-M2) oraz szereg wystąpień na konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych (zał. 4, II, 7.1 i 7.2). Badania dotyczące wpływu wybranych procesów technologicznych na zawartość biologicznie aktywnych składników selera korzeniowego *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* były realizowane w ramach rozprawy doktorskiej.

Drugim kierunkiem badawczym było uzyskiwanie i ocena soków z warzyw korzeniowych, kapustnych oraz dyni o wysokiej wartości biologicznej oraz zmiana ich konsystencji w celu uzyskania galaretek warzywnych. Efektem badań było opracowanie technologii produktu spożywczego w postaci żelu, otrzymanego z soku warzywnego z dodatkiem hydrokoloidów roślinnych, o niskiej kaloryczności, wysokiej zawartości składników mineralnych i substancji biologicznie czynnych. Opisywany środek spożywczy był przedmiotem uzyskanego patentu (zał. 4, III, 3). Wyniki badań były także prezentowane na konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych (zał. 4, II, 7.1 i 7.2).

5.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam tematykę związaną z substancjami biologicznie czynnymi warzyw korzeniowych. Badaniom poddano 18 odmian selera korzeniowego. Wśród steroli roślinnych zidentyfikowano kampesterol, stigmasterol i β -sitosterol. Fitosterole wykazują działanie hipocholesterolemiczne poprzez hamowanie absorpcji cholesterolu zarówno endogennego

(wątrobowego) jak i egzogenne (pokarmowe), przy czym nie wywierają wpływu na poziom frakcji HDL w surowicy krwi. Badania wykazały że odmiany ‘Jabłkowy’ oraz ‘Gol’ zawierające najwięcej fitosteroli (około 20 mg/100g) mogą być wartościowym źródłem tych związków w diecie. Spośród poliacetylenów w selerze korzeniowym zidentyfikowano falkarinol i falkarindiol. Są to związki o silnym działaniu przeciwnowotworowym. Występują głównie w korzeniach roślin z rodzin *Araliaceae* i *Apiaceae*. Wykazano, że niektóre odmiany selera korzeniowego mogą być bardzo dobrym źródłem tych związków, porównywalnym do korzenia żeń-szenia, rośliny uznanej za ich najbogatsze źródło. Największą zawartość falkarinolu (powyżej 3 mg/100g) stwierdzono w zgrubieniach korzeniowych odmian ‘Makar’ oraz ‘Jabłkowy’, a falkarindiolu (około 1,5 mg/100g) w odmianach ‘Odrzański’ i ‘Luna’. W selerze korzeniowym zidentyfikowano także 6 związków należących do ftalidów – 3-n-butylftalid, sedanenolid, cis-sedanolid, trans-sedanolid, cis-ligustylid oraz trans-ligustylid. Spośród nich za najistotniejsze ze względu na właściwości przeciwnowotworowe, hipocholesterolemiczne i hipotensyjne uważa się 3-n-butylftalid i sedanolid. Najwyższą zawartość ftalidów, powyżej 2 mg/100g stwierdzono w odmianach ‘Cascade’ oraz ‘Jabłkowy’. Wyniki prowadzonych badań ukazały się w 5 artykułach naukowych (zał. 4, II, 4b, publikacje D24-D28), monografii (zał. 4, II, 1, monografia D3), były także prezentowane na konferencjach krajowych (zał. 4, II, 7.2).

W latach 2007-2008 w ramach pracy badawczo-wdrożeniowej (zał. 4, II, 9) wykonywałam badania dotyczące oceny krajowych materiałów hodowlanych linii samokończących pomidora gruntowego pod względem przydatności do jednokrotnego mechanicznego zbioru owoców oraz oceny własności fizycznych i chemicznych zebranych owoców. W 16 nowych liniach hodowlanych i trzech odmianach wzorcowych określano wielkość i strukturę plonu, średnią masę i indeks kształtu owocu handlowego, twardość i barwę, kwasowość ogółem metodą miareczkowania, pH, suchą masę, ekstrakt oraz zawartość likopenu i β -karotenu metodą HPLC. Badania dotyczące plonowania pozwoliły na wskazanie najlepszych linii hodowlanych charakteryzujące się wysokim plonem ogólnym z jednoczesnym dużym udziałem plonu handlowego. Twardość pomidorów oznaczano w dwóch płaszczyznach – poziomej i pionowej. Wysoka twardość owoców jest cechą pożądaną ze względu na większe możliwości zachowania dobrej jakości pomidorów na etapie od zbioru do momentu przetworzenia. Analiza statystyczna pozwoliła podzielić owoce badanych linii hodowlanych na trzy istotnie różniące się pod kątem twardości grupy: owoce miękkie (jedna odmiana wzorcowa, dwie linie hodowlane), owoce o średniej twardości (7 linii hodowlanych) oraz owoce twarde (dwie odmiany wzorcowe i 7 linii hodowlanych). Po dokonaniu instrumentalnej analizy barwy wskazano linie hodowlane o najkorzystniejszym wybarwieniu owoców. W przypadku pomidorów istotna jest wysoka wartość parametru a^* (wysoki udział barwy czerwonej w strukturze barw), niska wartość parametru

L* (jasność) przy jednocześnie wysokiej intensywności i nasyceniu barwy. Istotnymi parametrami dla przetwórstwa pomidorów, szczególnie w produkcji przecierów, są zawartość suchej masy i ekstraktu ogółem. Natomiast o wartości biologicznej decyduje wysoka zawartość likopenu i β -karotenu. Na podstawie przeprowadzonych badań wytypowano linie hodowlane, które w największym stopniu spełniają kryteria korzystne dla producenta (wysokie plonowanie), przetwórcy (wysokie sucha masa i ekstrakt ogółem) oraz konsumenta (wysoka wartość biologiczna - zawartość likopenu i β -karotenu). Uzyskane wyniki opisano w 8 publikacjach naukowych (zał. 4, II, 4a, publikacja D16 oraz 4b, publikacje D6, D15, D16, D19-D22), oraz prezentowano na konferencjach krajowych i międzynarodowych (zał. 4, II, 7.1 i 7.2).

Znacząca część aktywności naukowej związana była z badaniami w zakresie zawartości substancji aktywnych biologicznie owocników grzybów jadalnych. Dokonana w tym zakresie dogłębna analiza dostępnych danych literaturowych zaowocowała ukazaniem się dwóch obszernych prac przeglądowych (zał. 4, II, 1, monografia D2 oraz 2, rozdział w monografii D1). Przeprowadzane badania naukowe dotyczyły w szczególności oceny właściwości przeciwutleniających oraz zawartości polisacharydów i witaminy D₂. Grzyby zawierają szereg składników, decydujących o właściwościach przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych. Za właściwości przeciwutleniające odpowiedzialne są przede wszystkim związki fenolowe. Na zawartość tych związków, a w konsekwencji na właściwości przeciwutleniające grzybów wpływać może wiele czynników. W badaniach oceniano wpływ części morfologicznej (trzony, kapelusze) oraz różnych metod przetwarzania i utrwalania (blanszowanie, gotowanie, suszenie konwekcyjne i liofilizacja, kiszenie i marynowanie) a także promieniowania UV. Wykazano, że nie zależnie od gatunku grzybów, kapelusze zawierają więcej związków fenolowych oraz wykazują wyższą aktywność przeciwutleniającą niż trzony. Przetwarzanie owocników wywiera zazwyczaj negatywny wpływ na ich właściwości, choć w niektórych przypadkach może prowadzić do wzrostu aktywności przeciwutleniającej (zał. 4, II, 2, rozdział w monografii D8, 4a, publikacja D14, 4c, publikacja D1 oraz 7.2 - cztery doniesienia na konferencjach krajowych).

Stres abiotyczny, taki jak promieniowanie UV, powoduje uruchomienie szlaków biochemicznych związanych z biosyntezą związków o charakterze metabolitów wtórnych, w tym również związków fenolowych. W badaniach określano wpływ promieniowania UV o różnej długości fali na właściwości przeciwutleniające oraz zawartość polifenoli ogółem w świeżych owocnikach pieczarki dwuzarodnikowej. Najwyższą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono w ekstraktach z owocników przechowywanych przez 24 godziny w warunkach chłodniczych, które naświetlano promieniowaniem UVC. We wszystkich próbach niezależnie od zastosowanej długości fali UV, stwierdzono spadek związków fenolowych w trakcie ich przechowywania w warunkach chłodniczych.

W owocnikach naświetlanych promieniowaniem UVA zaobserwowano najmniejszy spadek właściwości przeciwutleniających mierzonych metodą DPPH, z kolei zastosowanie promieniowania UVB powodowało najmniejsze straty właściwości przeciwutleniających mierzonych metodą FRAP. Wyniki prowadzonych badań opublikowano jako rozdział w monografii (zał. 4, II, 2, rozdział w monografii D11) oraz prezentowano na konferencji (zał. 4, II, 7.2).

Grzyby jadalne poddane działaniu światła słonecznego lub sztucznego w zakresie UV przekształcają znajdujący się w nich ergosterol w ergokalcyferol – witaminę D₂. Określono wpływ promieniowania UVB na syntezę witaminy D₂ i jej stabilność podczas przechowywania w warunkach chłodniczych owocników różnych gatunków grzybów uprawnych. Wykazano, że grzyby uprawne nie zawierają witaminy D₂. Efektem naświetlania jest uzyskanie owocników z dużą ilością ergokalcyferolu. Najniższą zawartość witaminy D₂ stwierdzono w owocnikach *A. bisporus*, najwyższą *P. ostreatus*. Podczas przechowywania w temperaturze 4°C ilość witaminy D₂ stopniowo zmniejszała się u *P. ostreatus* i *L. edodes*, natomiast u *A. bisporus* zawartość tego związku stopniowo wzrastała do szóstego dnia, a następnie podlegała spadkowi (zał. 4, II, 4a, publikacja D12).

Grzyby są także źródłem biologicznie aktywnych polisacharydów. W ramach prowadzonych w tym zakresie badań izolowano rozpuszczalne w wodzie polisacharydy ze świeżych oraz poddanych przetworzeniu owocników *A. bisporus* oraz *L. edodes*. Wykazano, że zarówno procesy hydrotermiczne jak i proces fermentacji mlekowej przyczyniają się do niewielkich strat polisacharydów. Wyizolowane polisacharydy wykazywały działanie przeciwutleniające i antyproliferacyjne wobec linii komórek nowotworowych MCF-7 i T-47D. Obie aktywności uległy nieznacznemu obniżeniu w wyniku procesów przetwarzania. Uzyskane wyniki opisano w dwóch publikacjach naukowych (zał. 4, II, 4a, publikacje D6 oraz D7), oraz prezentowano na konferencji międzynarodowej (zał. 4, II, 7.1).

Grzyby i przetwory grzybowe mogą stanowić potencjalne źródło amin biogennych w żywności. Zawartość tych związków badano w świeżych i przetworzonych owocnikach różnych gatunków grzybów uprawnych i dziko rosnących. Przetwory grzybowe nie były jak dotąd badane w kontekście zawartości BA. Badania wykazały, że najpowszechniej występującą w grzybach aminą jest spermidyna, której obecność stwierdzono w 41 z 47 analizowanych przetworów grzybowych i we wszystkich nieprzetworzonych próbkach grzybów. Putrescynę wykryto w 38 próbkach grzybów przetworzonych oraz w jednej próbce surowca. Tyraminę i kadawerynę znaleziono w 15 próbkach przetworzonych grzybów. Obecność histaminy stwierdzono jedynie w próbkach grzybów suszonych, jednak w ilościach stanowiących potencjalnie zagrożenie dla zdrowia konsumentów. Na syntezę BA duży wpływ wywierają warunki przetwarzania. W celu zachowania aromatu grzyby zazwyczaj suszy się w niskiej temperaturze, która w początkowej fazie tego procesu wynosi około 40 °C, są to warunki

bliskie do optymalnych dla syntezy histaminy przy udziale mikroflory (37,8 °C). Wyniki ukazały się w publikacji naukowej (zał. 4, II, 4a, publikacja D3).

Prowadzono także badania w zakresie możliwości fortyfikacji produktów spożywczych w proszki grzybowe w celu zwiększenia ich wartości biologicznej. Materiał badawczy stanowił napój z ciecierzycy, poddany fermentacji z udziałem probiotycznego szczepu *L. plantarum* 299v, z dodatkiem liofilizowanego i sproszkowanego boczniaka ostrygowatego lub pieczarki dwuzarodnikowej oraz chleb z mąki pszennej, gdzie 2,5% oraz 5% mąki zastąpiono liofilizowanymi i zmielonymi owocnikami pieczarki białej i brązowej. Badania wykazały, że dodatek grzybów ma wpływ na przebieg fermentacji napojów roślinnych. Próby z większym udziałem procentowym suszonych grzybów charakteryzowały się niższymi wartościami pH w stosunku do kontroli bezpośrednio po procesie fermentacji oraz w trakcie przechowywania produktów w warunkach chłodniczych. Wraz ze wzrostem udziału procentowanego liofilizowanego boczniaka i pieczarki w badanych napojach na bazie ciecierzycy zwiększały się właściwości przeciwutleniające napojów i były stabilne w czasie całego okresu przechowywania w warunkach chłodniczych. Wykazano, że dodatek suszonych grzybów istotnie podnosił zawartość związków bioaktywnych (polifenoli ogółem i witaminy D₂) oraz właściwości przeciwutleniające chleba. Na szczególną uwagę zasługują liofilizaty z pieczarki brązowej, które charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością witaminy D₂, co przekładało się na zwiększoną ilość tego związku we wzbogacanym pieczywie. Wyniki badań były prezentowane na dwóch konferencjach krajowych (zał. 4, II, 7.2).

W latach 2014-2015 brałam udział w badaniach w ramach dwóch projektów finansowanych przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi na rzecz rolnictwa ekologicznego (zał. 4, II, 9). Badania obejmowały określenie wpływu dodatku ziół i otrzymanych z nich ekstraktów oraz wybranych gatunków warzyw na właściwości fizykochemiczne i organoleptyczne serów dojrzewających otrzymanych z mleka ekologicznego. W ramach badań opracowano prostą technologię otrzymywania serów z ekologicznego mleka koziego i krowiego. Dodatek wybranych ziół w postaci suszonej jak i ekstraktów wodnych spowodował ograniczenie niekorzystnych zmian w serach podczas ich dojrzewania, związanych z procesem jełczenia i tym samym przyczyniał się do zwiększenia trwałości serów. W ekstraktach majeranku i bazylii stwierdzono najwyższą zawartość związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą. Otrzymane z dodatkiem tych ziół sery charakteryzowały się najlepszym profilem kwasów tłuszczowych po zakończonym procesie dojrzewania, co przełożyło się na lepsze wyniki ich oceny organoleptycznej. Stosowanie dodatków w istotny sposób wpłynęło na uzyskanie wyższych not za smak i zapach w ocenie organoleptycznej serów z mleka krowiego. Uzyskane produkty finalne były istotnie zróżnicowane pod względem zabarwienia gęstwy serowej. Produkty z dodatkiem ekstraktów ziół posiadały zdecydowanie

odmienny wygląd i charakteryzowały się marmurkowatym rozłożeniem barwy w mięszu sera. Suszone warzywa dodane do gęstwy serowej podwyższały wartości kwasowości ogólnej produktu po dojrzewaniu, szczególnie w przypadku suszonych pomidorów. Dodatek warzyw spowodował wzbogacenie serów w karotenoidy ogółem. Największy wzrost tych związków zaobserwowano w serach z dodatkiem pomidora i marchwi. Najlepiej do gęstwy serowej dyfundowały barwniki betalainowe, zawarte w buraku ćwikłowym. Dodatek brokułów i pomidorów w największym stopniu zwiększał potencjał przeciwutleniający serów. Przemiany zachodzące podczas przechowywania chłodniczego serów z dodatkiem warzyw korzystnie wpływały na skład kwasów tłuszczowych. Ser z dodatkiem suszonej cebuli charakteryzował się największym udziałem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i omega 6. Wariant sera z dodatkiem cebuli został również bardzo dobrze oceniony w ocenie organoleptycznej. Uzyskane wyniki opublikowano w postaci artykułu (zał. 4, II, 4b, publikacja D3) oraz rozdziału monografii (zał. 4, II, 2, D4) a także prezentowano na konferencjach krajowych i międzynarodowych (zał. 4, II, 7.1 i 7.2).

Istotną częścią aktywności naukowej był także udział w badaniach dotyczących fermentowanych napojów mlecznych i roślinnych ze szczególnym uwzględnieniem wpływu procesu fermentacji mlekowej na zmiany frakcji białkowo-peptydowej. Badano właściwości przeciwutleniające preparatów białek mleka fermentowanych przez polskie szczepy *L. helveticus*. Badania wykazały, że szczepy *L. helveticus* DSMZ 20075 i *L. helveticus* T80 są pożądane pod względem możliwości uzyskania fermentowanych preparatów białkowych o najlepszych właściwościach antyoksydacyjnych. Badano także możliwości wytwarzania biopeptydów z preparatów białek mleka przez szczepy *L. helveticus*. Zastosowanie określonych preparatów białkowych może przyczynić się do zwiększenia potencjału prozdrowotnego produktów fermentowanych. Wykazano, że kazeinoglikomakropeptyd (CGMP) jest korzystnym źródłem do wytwarzania biologicznie aktywnych peptydów przez stosowane w badaniach szczepy. Działanie hipotensyjne i przeciwzakrzepowe były najbardziej rozpowszechnionymi aktywnościami biologicznymi biopeptydów. Dodatek preparatów białek serwatkowych wywiera również pozytywny wpływ na właściwości reologiczne fermentowanych produktów mlecznych, zwiększając twardość skrzepu. Zwiększenie ilości preparatów białek serwatkowych skutkowało stopniowym spadkiem wydzielanej serwatki. Badania wykazały także, że dodatek WPC może przyczyniać się do zwiększenia przeżywalności probiotycznego szczepu *L. acidophilus* LA-5. Analizowane polskie szczepy mogą znaleźć zastosowanie w produktach mleczarskich, a także w opracowywaniu produktów żywności funkcjonalnej.

Podobną tematykę podejmowano również w odniesieniu do fermentowanych napojów roślinnych. Badania wykazały, że proces fermentacji z zastosowaniem szczepu probiotycznego *L.*

plantarum 299v istotnie przyczynia się do zwiększenia właściwości przeciwutleniających napojów z ciecierzycy. Wykazano także, że fermentacja probiotyczna przyczyniła się do silnej hydrolizy β -konglicyny i glicyniny, białek o silnych właściwościach alergicznych, co może przyczynić się do zwiększenia spożycia produktów z nasion roślin strączkowych przez szersze grono konsumentów. Analizowano także możliwości redukcji alergenów w fermentowanych spontanicznie napojach z soczewicy. Również w tym przypadku proces fermentacji wywierał istotny wpływ na profil białkowo-peptydowy fermentowanego napoju. Wykazano, że zachodzące modyfikacje struktury składników alergizujących zależą od rodzimych mikroorganizmów, biorących udział w procesie fermentacji. W materiale fermentowanym zidentyfikowano 16 gatunków LAB, z czego najliczniej występujące to *Lactococcus taiwanensis* and *Pediococcus pentosaceus*. Celowe jest prowadzenie dalszych badań nad właściwościami funkcjonalnymi i technologicznymi wyizolowanych mikroorganizmów oraz możliwością usunięcia związków alergicznych z nasion roślin strączkowych poprzez zastosowanie fermentacji mlekowej. Efektem dotychczas prowadzonych w tym zakresie badań były opublikowane artykuły naukowe (zał. 4, II, 4a, publikacja D1 oraz 4b, publikacje D2, D4, D5, D8), rozdziały w monografii (zał. 4, II, 2, D5 i D10), oraz doniesienia na konferencjach krajowych i międzynarodowych (zał. 4, II, 7.1 i 7.2).

5.3. Działalność naukowo-badawcza realizowana w więcej niż jednej uczelni

- Współpraca z dr Anną Stachniuk z Zakładu Bioanalitiky, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w zakresie badań dotyczących analizy amin biogennych w owocnikach grzybów jadalnych oraz ich przetworach. Efektem współpracy jest publikacja:
 - Determination of biogenic amines in processed and unprocessed mushrooms from the Polish market. Ewa Jabłońska-Ryś, Aneta Sławińska, Anna Stachniuk, Joanna Stadnik. J. Food Compos. Anal. 2020 Vol. 92 Article 103492, DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103492;
- Współpraca z dr Martą Ziają-Sołtys z Katedry i Zakładu Biologii z Genetyką Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w zakresie badań dotyczących analizy polisacharydów w owocnikach grzybów jadalnych. Efektem współpracy są publikacje:
 - Processed fruiting bodies of *Lentinus edodes* as a source of biologically active polysaccharides. Marta Ziaja-Sołtys, Wojciech Radzki, Jakub Nowak, Jolanta Topolska, Ewa Jabłońska-Ryś, Aneta Sławińska, Katarzyna Skrzypczak, Andrzej Kuczumow, Anna Bogucka-Kocka. Appl. Sci.-Basel 2020 Vol. 10 Iss. 2 Article number 470, DOI: 10.3390/app10020470

- Impact of processing on polysaccharides obtained from button mushroom (*Agaricus bisporus*). Wojciech Radzki, Marta Ziaja-Sołtys, Jakub Nowak, Jolanta Topolska, Anna Bogucka-Kocka, Aneta Sławińska, Monika Michalak-Majewska, Ewa Jabłońska-Ryś, Andrzej Kuczumow. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2019 Vol. 54 Issue 4 s. 1405-1412, DOI: 10.1111/ijfs.14084
- Współpraca z prof. dr hab. Krystyną Skalicką-Woźniak z Zakładu Chemii Produktów Pochodzenia Naturalnego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w zakresie badań dotyczących analizy składników funkcjonalnych w chrupkach kukurydzianych z dodatkiem pomidorów. Wyniki badań były prezentowane w ramach konferencji międzynarodowej: 11th International Conference on Agrophysics: Soil, Plant & Climate. Lublin, 2016, 26th-28th September. Efektem współpracy jest również publikacja:
 - Chemical characteristics and physical properties of functional snacks enriched with powdered tomato. Agnieszka Wójtowicz, Marta Zalewska-Korona, Ewa Jabłońska-Ryś, Krystyna Skalicka-Woźniak, Anna Oniszczuk. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2018 Vol. 68 nr 3 s. 251-261, DOI: 10.1515/pjfn-2017-0028
- Współpraca z prof. dr hab. Emilią Fornal z Zakładu Bioanalitiky Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (wcześniej - Pracownia Zastosowań Metod Separacji i Spektroskopii, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II) w zakresie badań dotyczących stabilności witaminy D2 w produktach grzybowych oraz możliwości zastosowania biopeptydów jako składników funkcjonalnych w mlecznych napojach fermentowanych. Wyniki badań były prezentowane w ramach XII Konferencji Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw. Warzywa, owoce, grzyby – znaczenie w naszej epoce, Łódź, 30-31 maja 2019. Efektem współpracy są także publikacje:
 - Vitamin D2 stability during the refrigerated storage of ultraviolet B-treated cultivated culinary-medicinal mushrooms. Aneta Sławińska, Emilia Fornal, Wojciech Radzki, Ewa Jabłońska-Ryś, Ewa Parfieniuk. *Int. J. Med. Mushrooms* 2017 Vol. 19 Issue 3 249-255, DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i3.70
 - Use of α -lactalbumin and caseinoglycomacropeptide as biopeptide precursors and as functional additives in milk beverages fermented by *L. helveticus*. Katarzyna Skrzypczak, Emilia Fornal, Dorota Domagała, Waldemar Gustaw, Ewa Jabłońska-Ryś, Aneta Sławińska, Wojciech Radzki, Anna Kononiuk, Adam Waśko. *Int. J. Food Sci.* 2021 Vol. 2021 Article ID 8822161, DOI: 10.1155/2021/8822161

- Współpraca z dr Dorotą Nowak z Katedry Inżynierii żywności i Organizacji Produkcji SGGW w zakresie badań dotyczących wpływu zróżnicowanych metod suszenia (suszenie konwekcyjne, promiennikowe i liofilizacja) na zawartość ftalidów w wybranych odmianach selera korzeniowego. Wyniki badań były prezentowane w ramach V Jubileuszowej Konferencji Naukowej z cyklu: Jakość i bezpieczeństwo żywności. Biało-brzezi, 2005, 17-18 listopada.
- Trzymiesięczny staż naukowy, którego celem było zapoznanie z możliwościami praktycznego zastosowania chromatografii cieczowej i spektrometrii mas w analizie żywności, zrealizowany w Katedrze i Zakładzie Patofizjologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, 2018-2019. Efektem współpracy nawiązanej w ramach stażu są publikacje:
 - LC-QTOF/MS determination of tryptophan and kynurenine in infant formulas. Anna Stachniuk, Agata Sumara, Paweł Milart, Waldemar A. Turski, Ewa Jabłońska-Ryś, Emilia Fornal. J. Pharm. Biomed. Anal. 2020 Vol. 191 Article number: 113619, DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113619;
 - oraz wykazana w cyklu powiązanych tematycznie prac tworzących osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego publikacja **H5**.

5.4. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Publikacje naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora

Monografie i artykuły naukowe	N	Punkty MNiSW/MEiN	IF
Monografie	-	-	-
Rozdziały w monografiach	-	-	-
Publikacje w czasopiśmie naukowym posiadającym Impact Factor IF	-	-	-
Publikacje w czasopiśmie naukowym nieposiadającym IF	2	10	-
Recenzowana publikacja naukowa w języku innym niż polski w zagranicznym czasopiśmie naukowym spoza list MNiSW o objętości co najmniej 0,5 arkusza	-	-	-
Inne publikacje	6	-	-
Patenty			
Produkt spożywczy/Nr zgł.324061	1	12	-
Razem	9	22	-

Publikacje naukowe po uzyskaniu stopnia doktora (z wyłączeniem prac wchodzących w skład osiągnięcia)

Monografie i artykuły naukowe	N	Punkty MNiSW/MEiN	IF
Monografie	3	65	-
Rozdziały w monografiach	12	70	-
Publikacje w czasopiśmie naukowym posiadającym Impact Factor IF	17	980	36,443
Publikacje w czasopiśmie naukowym nieposiadającym IF	28	324	-
Recenzowana publikacja naukowa w języku innym niż polski w zagranicznym czasopiśmie naukowym spoza list MNiSW o objętości co najmniej 0,5 arkusza	1	-	-
Razem	61	1439	36,443

Po włączeniu 7 prac, stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe (wartość punktowa MNiSW/MEiN = 605, IF = 26,858) sumaryczna wartość mojego dorobku naukowego stanowi 2066 pkt, a sumaryczny IF wynosi 63,301.

Zestawienie artykułów naukowych według czasopism

L.p.	Nazwa czasopisma	Liczba publikacji		
		przed doktoratem	po doktoracie	razem
1.	Acta Agrophysica		1	1
2.	Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria		3	3
3.	Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Agricultura	1		1
4.	Applied Sciences		3	3
5.	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna		6	6
6.	Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety		1	1
7.	Electronic Journal of Polish Agricultural Universities	1		1
8.	Folia Horticulturae	2		2
9.	Food Analytical Methods		1	1
10.	Food Science and Biotechnology		1	1
11.	Foods		2	2
12.	International Food Research Journal		1	1

13.	International Journal of Food Science		1	1
14.	International Journal of Food Science & Technology		1	1
15.	International Journal of Medicinal Mushrooms		2	2
16.	Journal of Food Composition and Analysis		1	1
17.	Journal of Food Science and Technology		1	1
18.	Journal of Fruit and Ornamental Plant Research		1	1
19.	Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis		1	1
20.	Journal of Pure and Applied Microbiology		1	1
21.	Molecules		1	1
22.	Nauka Przyroda Technologie		1	1
23.	Nowości Warzywnicze		3	3
24.	Nutrients		1	1
25.	Plant Breeding		2	2
26.	Polish Journal of Food and Nutrition Sciences		1	1
27.	Polish Journal of Natural Sciences		2	2
28.	Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny	4	1	5
29.	Przemysł Spożywczy		1	1
30.	Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. Ogrodnictwo		1	1
31.	Towaroznawcze Problemy Jakości		2	2
32.	Ukrainian Food Journal		2	2
33.	Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych		1	1
34.	Żywność Nauka Technologia Jakość		6	6
Razem		8	53	61

Udział w konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych przed uzyskaniem stopnia doktora

Kategoria	Konferencje krajowe	Konferencje międzynarodowe	Razem
Postery	8	6	14
Wystąpienia ustne	1	-	1
Razem	9	6	15

Udział w konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych po uzyskaniu stopnia doktora

Kategoria	Konferencje krajowe	Konferencje międzynarodowe	Razem
Postery	30	10	40
Wystąpienia ustne	6	-	6
Razem	36	10	46

Łącznie w całym okresie zatrudnienia brałam udział w 10 konferencjach międzynarodowych, gdzie prezentowałam 16 posterów oraz 29 konferencjach krajowych, w czasie których prezentowałam 38 posterów i głosiłam 7 referatów.

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

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

- Szkolenie pedagogiczne
- Przygotowanie i prowadzenie zajęć dydaktycznych z przedmiotów:
 - *Ogólna technologia żywności i podstawy technologii gastronomicznej*
 - *Technologia potraw i napojów*
 - *Obsługa konsumenta*
 - *Technologia owoców, warzyw i grzybów*
 - *Przetwory owocowo-warzywne w żywieniu*
 - *Technologia gastronomiczna*
 - *Gastronomia*
 - *Gastronomia w żywieniu zbiorowym*
 - *Technologia specjalizacyjna 2 - Technologia gastronomiczna 2*
 - *Seminaria dyplomowe na kierunkach Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Gastronomia i Sztuka Kulinarna.*
- Prowadzenie zajęć w ramach wymiany międzynarodowej ERASMUS+ z przedmiotu *Bases of gastronomic technologies*
- Prowadzenie zajęć z przedmiotu *Wybrane technologie produkcji żywności* dla uczestników studiów podyplomowych Żywnienie człowieka i dietetyka
- Promotor 45 prac magisterskich oraz 72 inżynierskich i licencjackich realizowanych na kierunkach Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Gastronomia i Sztuka Kulinarna, Dietetyka
- Recenzent 28 prac magisterskich oraz 25 inżynierskich i licencjackich realizowanych na kierunkach Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Gastronomia i Sztuka Kulinarna, Dietetyka, Biotechnologia

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

- Opiekun studentów studiów stacjonarnych pierwszego stopnia na kierunku Technologia żywności i żywienie człowieka na okres 2006/2007 – 2009/2010
- Opiekun studentów studiów stacjonarnych pierwszego stopnia na kierunku Gastronomia i sztuka kulinarna na okres 2015/2016 – 2018/2019

- Członek Rady Programowej kierunku Technologia żywności i żywienie człowieka 2012/2013 - 2015/2016
- Członek Rady Programowej kierunku Gastronomia i sztuka kulinarna 2016/2017 - 2019/2020
- Członek Wydziałowej Komisji ds. Promocji Wydziału na lata 2011 - 2015
- Członek Senackiej Komisji Budżetowej na kadencję 2005 - 2008
- Członek Wydziałowej Komisji ds. Kadr Naukowych i Oceny Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii na lata 2016 - 2020
- Członek Wydziałowej Komisji ds. Kadr Naukowych na lata 2020 - obecnie
- Członek Kolegium Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii na okres 1.10.2021 - obecnie

6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

- Wykonawca i kierownik projektów ogłoszonych w ramach wielu edycji Lubelskiego Festiwalu Nauki:
 - Wykonawca projektu – „Zastosowanie kultur starterowych bakterii mlekowych i propionowych do otrzymania produktów fermentowanych o właściwościach probiotycznych”, Lubelski Festiwal Nauki, 18-24 września 2004
 - Kierownik projektu – „Tajemnice szampana” w ramach V Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Wiedza lekarstwem duszy, 20-26 września 2008
 - Kierownik projektu - „Czekolada dobra na wszystko” w ramach VI Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka techniką życia”, 19-25 września 2009.
 - Kierownik projektu - „Kiszone grzyby - smaczne i zdrowe” w ramach VII Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka przygodą życia”, 18-24 września 2010.
 - Wykonawca projektu - „Stół pięknie nakryty” w ramach VII Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka przygodą życia”, 18-24 września 2010.
 - Kierownik projektu - „Orzechy znane i nieznanne” w ramach VIII Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka w służbie przyrody”, 17-23 września 2011.
 - Wykonawca projektu - „Kawa jakiej nie znacie” w ramach VIII Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka w służbie przyrody”, 17-23 września 2011.
 - Kierownik projektu - „Słów kilka o czekoladzie” w ramach IX Lubelskiego Festiwalu Nauki „Nauka. Wiedza. Mądrość”, 15-21 września 2012.
 - Wykonawca projektu - „Kawa dla smakoszy” w ramach IX Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka, wiedza, mądrość”, 15-21 września 2012.

- Kierownik projektu - „Czekolada – kusząca tabliczka” w ramach X Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Człowiek, nauka, pasja”, 14-20.09.2013
- Wykonawca projektu - „Dlaczego warto jeść owoce i warzywa?” w ramach X Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Człowiek, nauka, pasja”, 14-20.09.2013
- Wykonawca projektu - „Warzywa źródłem inspiracji” w ramach XIII Lubelskiego Festiwalu Nauki „Nauka źródłem inspiracji”, 17-23 września 2016
- Wykonawca projektu - „Owocowo-warzywny POWER, czyli jak z owoców i warzyw zbudować baterię” w ramach XIV Lubelskiego Festiwalu Nauki, „Nauka – między tradycją a współczesnością”, 24-30 września 2017
- Głoszone wykłady:
 - Wygłoszenie cyklu wykładów z zakresu przetwórstwa owocowo-warzywnego w ramach realizowanego przez ŚODR projektu „Świętokrzyska Kuźnia Smaków”. Wykłady prowadzone w powiatach: sandomierskim, opatowskim, ostrowieckim oraz kieleckim, 23-26. 09. 2013.
 - Wygłoszenie wykładu na temat zagadnień związanych z uzyskaniem i utrzymaniem jakości owoców miękkich, w szczególności truskawki i maliny. Dzień Truskawki na Praskiej Giełdzie Spożywczej, 5 czerwca 2014.
 - Prowadzenie wykładów dla słuchaczy Zespołu Ogrodniczego Lubelskiego Uniwersytetu Trzeciego Wieku w latach akademickich 2015/16 – Przetwórstwo owoców i warzyw oraz 2016/17 – Marynaty warzywne i owocowe; Owocowe dekoracje – carving.
 - Wygłoszenie wykładu pt. „Tradycyjne sposoby utrwalania żywności - Kiszenie owoców i warzyw” na regionalnej konferencji Lokalne strategię i działania zabezpieczenia się przed globalnym kryzysem żywnościowym, 11.06.2022.
 - Wygłoszenie wykładu pt. „Kiszenie jako tradycyjna metoda utrwalania warzyw, owoców i grzybów” na konferencji „Identyfikacja i promocja żywności wysokiej jakości szansą dla lokalnych producentów” 26 października 2022.
- Udział w audycjach radiowych:
 - Noc z nauką - Polskie Radio Lublin, 20.04.2005
 - Cytrusy a nasze polskie owoce - Radio eR, 18 .01.2013
 - Kiszonki. Co możemy kisić? – Polskie Radio Lublin, 30.09.2019
 - Kiszonki i kwaszonki. Jak je przygotować? – Polskie Radio Lublin, 7.10.2019
 - Kiszonki – dlaczego warto je spożywać? – Polskie Radio Lublin, 22.02.2020

- Udział w zespołach konkursowych:
 - Członek jury eliminacji okręgowych Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych, blok tematyczny: żywienie człowieka i gospodarstwo domowe - od XXXII edycji (łącznie 5 edycji)
 - Kierownik bloku tematycznego: gastronomia w eliminacjach okręgowych Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych - od XLI edycji (łącznie 5 edycji)
 - Kierownik bloku tematycznego: gastronomia w eliminacjach centralnych Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych - XLI edycja

7. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej

- Promotor pomocniczy we wszczętym przewodzie doktorskim mgr inż. Joanny Stasiak, Doktorantki przyjętej do Szkoły Doktorskiej w roku akademickim 2021/2022, która przygotowuje rozprawę doktorską w dyscyplinie Technologia żywności i żywienia. Tytuł rozprawy: „Kształtowanie jakości przekąsek mięsnych przy wykorzystaniu aquafaby”
- Podnoszenie kwalifikacji w ramach odbytych kursów i szkoleń
 - 2004 - Kurs analizy chromatograficznej „Metody przygotowania próbek do analizy chromatograficznej” organizowany przez Zakład Metod Chromatograficznych Wydziału Chemii UMCS w Lublinie
 - 2005 – Kurs analizy chromatograficznej „Podstawy wysokosprawnej chromatografii cieczowej” organizowany przez Zakład Metod Chromatograficznych Wydziału Chemii UMCS w Lublinie
 - 2006 – Kurs analizy chromatograficznej „Chromatografia gazowa i cieczowa sprzężona ze spektrometrem masowym” organizowany przez Zakład Metod Chromatograficznych Wydziału Chemii UMCS w Lublinie
 - 2006 - Szkolenie „Metody statystyczne i wykorzystywanie programów komputerowych” organizowane przez Centrum Kształcenia Ustawicznego przy Akademii Rolniczej w Lublinie
 - 2016 - Szkolenie „Obsługa klienta w gastronomii”
 - 2017 - Szkolenie „Desery na talerzu”
 - 2017 – Szkolenie z zakresu kuchni molekularnej
 - 2018 - Szkolenie „Barista I stopień”
 - 2018 - Warsztaty kulinarne kuchni włoskiej w zakresie sporządzania i podawania potraw z ryb i owoców morza

- 2018 - Warsztaty w zakresie promowania tradycji kulinarnych, produktów regionalnych, tradycyjnych i lokalnych
- 2019 – Teoretyczne i praktyczne szkolenie z zakresu podstawowego kursu pierwszej pomocy dorosłych i dzieci
- 2021 - Specjalistyczny kurs barmański
- 2021 - Szkolenie z zakresu polskiej kultury organizacyjnej
- 2023 - Warsztaty doskonalenia dydaktycznego
- Staże:
 - Staż naukowy, opisany w pkt 5.3.
 - Staż w przedsiębiorstwie SMF Technology Poland Sp. z o.o., w ramach projektu „Lubelski Transfer Innowacji”, realizowanym w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytetu VIII. Regionalne kadry gospodarki, Działanie 8.2. Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw. Efektem stażu było opracowanie koncepcji rozwiązania innowacyjnego – Zastosowanie kultur starterowych bakterii mlekowych w procesie kiszenia owocników grzybów jadalnych w opakowaniach PET.
- Nagrody i wyróżnienia:
 - Dyplom wyróżniającego się absolwenta Akademii Rolniczej w Lublinie za wybitne osiągnięcia w nauce, nr 15, 10 marca 1997.
 - Odznaka Honorowa Akademii Rolniczej w Lublinie, nr 32/97, 12 kwietnia 1997.
 - Odznaka Honorowa Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, nr 15/2016, 11 maja 2016.
 - Medal Srebrny za długoletnią służbę, nr 282-2018-45, 11 września 2018.
 - Nagroda za pracę naukową opublikowaną w czasopiśmie o najwyższym współczynniku wpływu Impact Factor: „Lactic acid fermentation of edible mushrooms: tradition, technology, current state of research: A review”, czasopismo: Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 8 lipca, 2020 (praca wchodzi w cykl osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego).

.....
(podpis wnioskodawcy)