

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

za pośrednictwem:

Rady Doskonałości Naukowej

pl. Defilad 1

00-901 Warszawa

(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Maciej Nastaj

(imię i nazwisko wnioskodawcy)

**Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego/
Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin**
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 31 sierpnia 2023 roku

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

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

**Wykorzystanie preparatów białek serwatkowych do otrzymywania wysokobiałkowej,
bezcukrowej (lub o obniżonej zawartości cukru) żywności funkcjonalnej**

Wnioskuje – 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***¹

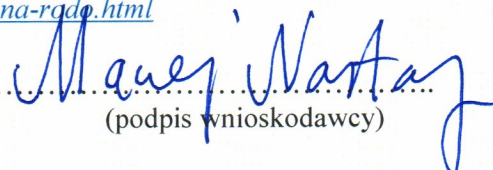
Zostałem poinformowany, że:

*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
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-rado.html*

.....

(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1) Dane wnioskodawcy

¹ * Niepotrzebne skreślić.

- 2) Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora wraz zawiadomieniem o nadaniu stopnia doktora
- 3) Autoreferat
- 4) Wykaz osiągnięć naukowych
- 5) Elektroniczne kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz z oświadczeniami współautorów
- 6) Kopie dokumentów potwierdzających wyjazdy służbowe dydaktyczne i szkoleniowe, odbyte staże, działalność organizacyjną, ukończenie kursów i udział w konferencjach
- 7) Zestawienie wybranych wskaźników bibliometrycznych dorobku publikacyjnego przygotowanego przez Bibliotekę Główną UP w Lublinie



PODPIS ZAUFANY

MACIEJ
NASTAJ

03.09.2023 21:52:46 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego
Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej

Załącznik 3

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

Autoreferat

**Wykorzystanie preparatów białek serwatkowych do
otrzymywania wysokobiałkowej, bezcukrowej (lub o obniżonej
zawartości cukru) żywności funkcjonalnej**

dr inż. Maciej Nastaj

Lublin, 31.08.2023

SPIS TREŚCI

1. Informacje ogólne.....	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Informacje o osiągnięciach naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny wynikającego z 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
4.1. Syntetyczne omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego.....	5
4.2. Wstęp.....	5
4.3. Cel naukowy osiągnięcia.....	7
4.4. Metody badawcze.....	8
4.5. Omówienie wyników badań w ramach założonych celów.....	9
4.5.1. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych wysokobiałkowych jogurtów stałych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i koncentratu białek serwatkowych (WPC 80).....	9
4.5.2. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bez wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) o obniżonej zawartości cukru.....	13
4.5.3. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bezcukrowych bez wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z dodatkiem erytrytolu.....	17
4.5.4. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych wysokobiałkowych, nietemperowanych, bezcukrowych czekolad deserowych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu.....	23
4.5.5. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bezcukrowych makaroników wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z dodatkiem erytrytolu.....	28
4.6. Wnioski końcowe.....	32
4.7 Bibliografia.....	33
4.8. Informacja o drugim osiągnięciu naukowym.....	42
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	42
5.1. Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych.....	55
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	56
6.1. Działalność dydaktyczna.....	56
6.2. Działalność organizacyjna.....	57
6.3. Recenzje publikacji w czasopismach krajowych i zagranicznych.....	58
6.4. Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki.....	58
6.5. Współpraca z przemysłem i otoczeniem społeczno-gospodarczym.....	59

1. Informacje ogólne

Imię i nazwisko: Maciej Nastaj

Miejsce pracy: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego

Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej

Ul. Skromna 8

20-704 Lublin

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

2008 r. Stopień naukowy: doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, specjalność: technologia mleczarstwa

Tytuł rozprawy doktorskiej: Właściwości pianotwórcze wybranych preparatów białek serwatkowych

Promotor: Prof. dr hab. Stanisław Mleko

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

2005 r. Studium Podyplomowe „Zarządzanie Jakością w Produkcji Żywności

Wydział Rolniczy

Akademia Rolnicza w Lublinie

2004 r. Tytuł zawodowy: magister inżynier, kierunek studiów: Technologia żywności i żywienie człowieka, specjalność: technologia mięsa

Tytuł pracy magisterskiej: Badania nad wykorzystaniem nasion owsa do produkcji wyrobów mięsnych

Promotor: Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski

Wydział Rolniczy

Akademia Rolnicza w Lublinie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.12.2008-31.12.2009 r.: asystent

01.01.2010 r.-teraz: adiunkt

Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego

Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

4. Informacje o osiągnięciach naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny wynikającego z 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.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z 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.) jest cykl publikacji naukowych pt.:

Wykorzystanie preparatów białek serwatkowych do otrzymywania wysokobiałkowej, bezcukrowej (lub o obniżonej zawartości cukru) żywności funkcjonalnej

b). Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego:

H1. Nastaj M., Sołowiej B.G., Gustaw W., Perez-Huertas S., Mleko S., Wesołowska-Trojanowska M. 2019. Physicochemical properties of High-Protein-Set Yoghurts obtained with the addition of whey protein preparations. *International Journal of Dairy Technology*, 72, 395–402; MEiN₂₀₁₉ = 40 pkt, IF₂₀₁₉ = 1,636

Liczba cytowań wg Scopus = 26 (z pominięciem autocytowań – 19)

Liczba cytowań wg Web of Science = 23 (z pominięciem autocytowań – 16)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny, koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, opracowanie receptur, wykonanie próbek, przeprowadzenie części badań, opracowanie wyników i sformułowanie wniosków, wiodąca rola w napisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzjach.

H2. Nastaj M., Mleko S., Terpiłowski, K., Tomczyńska-Mleko M. 2021. Effect of sucrose on physicochemical properties of high-protein meringues obtained from whey protein isolate. *Applied Sciences*, 11, 4764; MEiN₂₀₂₁ = 100 pkt, IF₂₀₂₁ = 2,838

Liczba cytowań wg Scopus = 14 (z pominięciem autocytowań – 12)

Liczba cytowań wg Web of Science = 11 (z pominięciem autocytowań – 9)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny, koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, opracowanie receptur, wykonanie próbek, przeprowadzenie części badań, opracowanie wyników i sformułowanie wniosków, wiodąca rola w napisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzjach.

H3. Nastaj M., Sołowiej B.G., Terpiłowski K., Mleko S. 2020. Effect of erythritol on physicochemical properties of reformulated high protein meringues obtained from whey protein isolate. *International Dairy Journal*, 105, 104672; MEiN₂₀₂₀ = 100 pkt, IF₂₀₂₀ = 3,032

Liczba cytowań wg Scopus = 20 (z pominięciem autocytowań – 17)

Liczba cytowań wg Web of Science = 17 (z pominięciem autocytowań – 14)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny, koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, opracowanie receptur, wykonanie próbek, przeprowadzenie części badań, opracowanie wyników i sformułowanie wniosków, wiodąca rola w napisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzjach.

H4. Nastaj M., Sołowiej B.G., Stasiak D.M., Mleko S., Terpiłowski K., Łyszczek R.J., Tomasevic I.B., Tomczyńska-Mleko M. 2022. Development and physicochemical properties of reformulated, high-protein, untempered sugar-free dark chocolates with addition of whey protein isolate and erythritol. *International Dairy Journal*, 134, 105450; MEiN₂₀₂₂ = 100 pkt, IF₂₀₂₂ = 3,100

Liczba cytowań wg Scopus = 3 (z pominięciem autocytowań – 2)

Liczba cytowań wg Web of Science = 2 (z pominięciem autocytowań – 1)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny, koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, opracowanie receptur, wykonanie próbek, przeprowadzenie części badań, opracowanie wyników i sformułowanie wniosków, wiodąca rola w napisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzjach.

H5. Nastaj M., Sołowiej B.G., Terpiłowski K., Kucia W., Tomasevic I.B., Perez-Huertas S. 2023. The Effect of Erythritol on the Physicochemical Properties of Reformulated, High-Protein, and Sugar-Free Macarons Produced from Whey Protein Isolate Intended for Diabetics, Athletes, and Physically Active People, *Foods*, 12, 1547; MEiN₂₀₂₃ = 140 pkt, IF₂₀₂₃ = 5,200

Liczba cytowań wg Scopus = 0 (z pominięciem autocytowań – 0)

Liczba cytowań wg Web of Science = 0 (z pominięciem autocytowań – 0)

Indywidualny wkład: autor korespondencyjny, koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, opracowanie receptur, wykonanie próbek, przeprowadzenie części badań, opracowanie wyników i sformułowanie wniosków, wiodąca rola w napisaniu manuskryptu i jego korekcie po recenzjach.

Sumaryczny IF wynosi **15,806**, liczba punktów według punktacji MEiN prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi 480.

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

4.2. Wstęp

W obecnych czasach, świat stoi przed poważnym wyzwaniem wzrostu niezakaźnych chorób cywilizacyjnych, a nadmierne spożycie sacharozy jest jednym z najczęstszych czynników pogłębiających ten problem. Według najnowszych danych WHO, 440 milionów ludzi na całym świecie, choruje na cukrzycę. Szczególnie dotyczy to państw o niskim i średnim dochodzie, gdzie rokrocznie około 1,66 miliona zgonów jest przypisywanych właśnie cukrzycy. Aktualnie w wielu krajach Unii Europejskiej, spożycie sacharozy waha się od 15 do 25 % dziennego zapotrzebowania na energię, a nadwaga i otyłość są powszechnymi problemami zdrowotnymi [Bordier i wsp., 2021; Renzetti i van der Sman, 2022]. Wprowadzenie podatku od słodkich produktów jest jednym z działań podejmowanych przez niektóre kraje UE, mających na celu ograniczenie ich spożycia. Dlatego, w trosce o zdrowie publiczne, przemysłowi spożywcemu zalecono zmniejszenie zawartości cukru w produktach o 20 % do końca 2020 roku [Mytton i wsp., 2014; Sahin i wsp., 2019]. Mając to na uwadze, zaleca się podjęcie odpowiednich działań, aby sprostać tym wyzwaniom i rozszerzyć na rynku gamę produktów bezcukrowych lub o obniżonej zawartości cukru. Wsparciem dla przemysłu powinny być instytucje naukowe, autorytety żywieniowe, popularyzatorzy zdrowego stylu życia. [Luo i wsp., 2019; Nastaj i wsp., 2020a; Nastaj i wsp., 2022; Krittawong i wsp., 2023].

Reformulacja może być bardzo skutecznym zabiegiem, ponieważ nie zmienia nawyków i tradycji żywieniowych konsumentów [Grieger i wsp., 2017], tylko modyfikuje oryginalną recepturę produktu poprzez dodanie lub usunięcie niektórych składników w celu poprawy jego wartości odżywczej [Doménech-Asensi i wsp., 2016; Di Monaco i wsp., 2018], przy jednoczesnym zachowaniu pożądanej jakości, tekstury i innych właściwości fizykochemicznych [Zhao i wsp., 2018]. W przypadku produktów tradycyjnych, zabieg ten może być skuteczną metodą obniżenia stosunkowo dużej zawartości sacharozy [Luo i wsp., 2019].

Nadmierne spożycie cukru i jego negatywny wpływ na zdrowie ludzi są przedmiotem badań od lat [Luo i wp., 2019]. Główny cel zastąpienia lub wyeliminowania sacharozy jest oczywisty. Jednak rola sacharozy w przemyśle spożywczym nie ogranicza się tylko do zapewnienia słodkości produktu. Odpowiada ona za ważne właściwości żywności, takie jak: tekstura, barwa i inne [Rice i wsp., 2019].

W ciągu ostatniej dekady analizowano możliwość zastosowania różnych substancji słodzących w produkcji żywności funkcjonalnej [Pallazo i wsp., 2011]. Poliole mogą zastępować sacharozę, ponieważ wykazują niską kaloryczność i odpowiedź glikemiczną [Kroger i wsp., 2006]. Mogą one również kształtować teksturę produktów [Martínez-Cervera i wsp., 2014]. Alkohole wielowodorotlenowe w przemyśle spożywczym są wykorzystywane od lat [Ronda i wsp., 2005; Psimouli i Oreopoulou, 2012; Hao i wsp., 2016], ponieważ dostarczają one mniej kalorii na porcję pożywienia w porównaniu z cukrami spożywanymi w takich samych ilościach [Rice i wsp., 2019].

Erytrytol jest jedną z badanych substancji, która ma zastąpić lub wyeliminować cukier w produkcji żywności. Wraz z pojawieniem się nowych technologii otrzymywania, koszt produkcji erytrytolu został znacznie obniżony, umożliwiając jego szersze zastosowanie [Rakicka i wsp., 2017; Rakicka-Pustułka i wsp., 2020]. Ostatnie lata przyniosły biotechnologiczną technologię produkcji polioli z tanich substratów odpadowych, co przełożyło się na znaczną redukcję kosztów produkcji w porównaniu z metodami syntetycznymi [Rzechonek i wsp., 2018; Bilal i wsp., 2021].

Duże organoleptyczne podobieństwo do sacharozy sprawia, że erytrytol jest powszechnie stosowany jako niskokaloryczna substancja słodząca [Aidoo i wsp., 2013]. Erytrytol jest stabilny temperaturowo zarówno w kwaśnym, jak i zasadowym pH [Grembecka, 2015]. Jego słodkość wynosi 60 % słodkości sacharozy, a odpowiedź glikemiczna i wartość energetyczna wynoszą odpowiednio 0 i 0,2 kcal/g, w porównaniu do 100 i 4 kcal/g w przypadku sacharozy. Niższa wartość kaloryczna erytrytolu wynika głównie z jego zmniejszonego wchłaniania w organizmie, a w szczególności w jelitach [Rice i wsp., 2019]. Należy podkreślić, że nadmierne spożycie erytrytolu może prowadzić do zaburzeń jelitowych, takich jak: nudności, wzdęcia i biegunki [Lenhart i Chey, 2017], ale Storey i wsp. [2007] potwierdzają, że spożywanie 35-40 g erytrytolu dziennie, przez zdrowych ochotników, nie powodowało żadnych negatywnych konsekwencji. Metabolizm erytrytolu w organizmie nie wymaga obecności insuliny [Manisha i wsp., 2012], jest on wydalany w zasadzie w stanie nienaruszonym [Madadlou i wsp., 2019].

Białka serwatkowe wykazują wyjątkowe właściwości odżywcze, które przewyższają wartość biologiczną albuminy jaja kurzego o 15 %. Są bogatym i naturalnym składnikiem mleka o wysokiej wartości odżywczej pod względem niezbędnych i siarkowych aminokwasów [Smithers, 2008]. Z tych powodów, a także unikalnych właściwości funkcjonalnych, białka serwatkowe są podstawowym składnikiem lub pożądanym i cenionym dodatkiem w tworzeniu wysokobiałkowej żywności funkcjonalnej przeznaczonej dla sportowców i osób aktywnych

fizycznie o zwiększonym zapotrzebowaniu na ten składnik żywności [Nastaj i wsp., 2019, Nastaj i wsp., 2020b; Szafrńska i Sołowiej, 2020; Nastaj i wsp., 2022; Małecki i wsp., 2022].

Białka serwatkowe charakteryzują się doskonałymi właściwościami funkcjonalnymi, takimi jak żelowanie, emulgowanie, a także zdolność wiązania wody i pienistość. Właściwości te sprawiają, że białka serwatkowe mają powszechne zastosowanie w przemyśle spożywczym i cukierniczym [Nastaj i Sołowiej, 2020c]. Ponadto, istotne znaczenie ma fakt, że nowe perspektywy otrzymywania wysokobiałkowych preparatów białkowych są bardzo obiecujące. Produkcja koncentratów oraz izolatów białek serwatkowych, z wykorzystaniem technik separacji, pozwoliła na znaczną redukcję ich ceny. Techniki membranowe wymagają mniejszego zużycia energii, dając większą wydajność produkcji [Smithers, 2015; Carter i wsp., 2021]. Dodatkowo, w odniesieniu do preparatów białek serwatkowych, na szczególną uwagę zasługują następujące ich właściwości aspekty prozdrowotne: właściwości przeciwutleniające [Ashaolu, 2020a], wspomaganie leczenia nowotworów [Bumrungpert i wsp., 2018] i pacjentów poddawanych chemioterapii [Cereda i wsp., 2019], chorób sercowo-naczyniowych [Zhao i wsp., 2022], wzmocnienie układu odpornościowego [Ashaolu, 2022b] oraz leczenie cukrzycy, ponieważ białka serwatkowe dodawane do niektórych pokarmów mogą obniżać indeks glikemiczny [Watson i wsp., 2015]. Według Boscaini i wsp. [2019], białka serwatkowe wykazują korzystny wpływ na metabolizm człowieka, makrobiotę jelitową i jego stan psychiczny. Oprócz przesłanek zdrowotnych, stosowanie preparatów białek serwatkowych ma uzasadnienie środowiskowe, ponieważ płynna serwatka, produkt uboczny produkcji sera, może być w pełni zagospodarowana.

W kontekście napowietrzonych produktów cukierniczych, wykorzystanie albuminy jaja kurzego, jako najbardziej powszechnego środka spieniającego, może powodować problemy technologiczne [Mleko i wsp., 2007], ponieważ stanowi ona mieszaninę pojedynczych białek o różnych masach cząsteczkowych, ładunkach i punktach izoelektrycznych [Mine, 1995]. Piany wytwarzane z albuminy jaja wykazują negatywny efekt przebiccia. Oznacza to, że ich struktura, po uzyskaniu maksymalnej objętości, zmniejsza się w wyniku dalszego ubijania na skutek denaturacji białek. Istotne jest również to, że piany z albuminy jaj po opadnięciu nie da się ponownie ubić. Problem ten nie dotyczy preparatów białek serwatkowych [Foegeding i wsp., 2006]. Ponadto Peram i wsp. [2013] odnotowali mniejszą alergenicność β -laktoglobuliny, głównej frakcji białek serwatkowych, podczas obróbki termicznej, a owomukoid, jeden ze składników albuminy jaja nie zmniejsza swojej alergenicności przy zastosowaniu wyższych temperatur [Shin i wsp., 2015]. Ponadto, pasteryzacja białka jaja w celu usunięcia bakterii z rodzaju *Salmonella* może negatywnie wpływać na te białka (np. denaturacja), powodując ich żelowanie. Zmiany te wpływają na złą pienistość białek jaja kurzego, co ma duże znaczenie zwłaszcza w produkcji wyrobów cukierniczych [Singh i wsp., 2020].

4.3. Cel naukowy osiągnięcia

Nadrzędnym celem badań i analizy piśmiennictwa, opisanych w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe było, wykorzystanie preparatów białek serwatkowych, erytritolu i sacharozy do opracowania nowatorskich receptur wysokobiałkowej, bezcukrowej (lub obniżonej zawartości cukru) żywności, która nie występuje w przemyśle spożywczym. Wytworzono i zbadano właściwości fizykochemiczne produktów funkcjonalnych, w której skład wchodzi jogurty oraz produkty cukiernicze (bezy, czekolady i makaroniki). Wyżej wymienione produkty, będące przedmiotem osiągnięcia naukowego, mogą stanowić skuteczne oręż do walki z następstwami chorób cywilizacyjnych we współczesnym świecie. Jak również, będą atrakcyjnym uzupełnieniem dla najbardziej popularnej formy suplementacji białkami serwatkowymi, tj. koktajli białkowych. Pomimo, bardzo szybkiego przygotowania, koktajle białkowe mają bardzo krótką trwałość do spożycia,

zarówno w temperaturze pokojowej, jak i chłodniczej. **W przypadku produktów stanowiących osiągnięcie naukowe (bezy, czekolady i makaroniki), okres ich przydatności do spożycia ulegnie znacznemu wydłużeniu. Ponadto, produkty te będą stanowić bardzo ciekawe rozszerzenie katalogu pełnowartościowych produktów wysokobiałkowych, które na rynku żywności funkcjonalnej występują w bardzo ograniczonej ilości.**

Biorąc pod uwagę bardzo niewielką ilość badań dotyczących pełnowartościowych produktów wysokobiałkowych, bezcukrowych (lub o obniżonej zawartości cukru), niezwykle ważne jest określenie wpływu różnych stężeń preparatów białek serwatkowych, erytrytolu oraz sacharozy na właściwości fizykochemiczne produktów końcowych. Celem technologicznym osiągnięcia było uzyskanie produktów o akceptowalnych właściwościach organoleptycznych, dla sportowców i osób aktywnych fizycznie, o wyższym zapotrzebowaniu na białko, i jednocześnie niższej wartości kalorycznej. Adresatami mogą być również diabetycy, seniorzy, pacjenci szpitalni, rekonwalescenci, czy osoby będące na dietach redukcyjnych. Oprócz poprawy właściwości odżywczych, produkty zyskują na atrakcyjności ze względu na ciekawe cechy wizualne i nowe wrażenia podczas konsumpcji.

4.4. Metody badawcze

Wykorzystane w przedstawionym osiągnięciu naukowym metody analiz fizykochemicznych obejmowały:

- badania zawartości białek w stosowanych preparatach białek serwatkowych (metoda Kjeldahla)
- badania napięcia powierzchniowego roztworów białek przed spienieniem
- oznaczenie wydajności pienienia i fazy frakcji powietrznej otrzymanych pian
- oznaczenie potencjału zeta
- techniki reologiczne (lepkość, granica płynięcia, właściwości lepkosprężyste, moduły zachowawczy i stratności, kąt fazowy)
- oznaczenie tekstury (twardość, kruchość, siła łamania, test penetracji)
- oznaczenie aktywności wody
- techniki powierzchniowe (szorstkość, kąty zwilżania, kinetyka zwilżania, mikroskopia optyczna, mikroskopia konfokalna)
- oznaczenie czasu fermentacji/stabilności/topliwości otrzymanych produktów przy pomocy aparatu Turbiscan
- badania fizycznych parametrów barwy otrzymanych produktów wg standardu CIE Lab (z wykorzystaniem kolorymetru i Computer Vision System)

W badaniach fizykochemicznych otrzymanych produktów wysokobiałkowych, bezcukrowych (lub obniżonej zawartości cukru), szczególny nacisk został położony na właściwości powierzchniowe (szorstkość, barwa, kąty zwilżania, pozorna swobodna energia powierzchni, kinetyka zwilżania, mikroskopia optyczna, mikroskopia konfokalna). Ich niewątpliwą zaletą jest fakt, że nie wymagają one niszczenia badanych próbek [Lei i Sun, 2019]. Dodatkowo, rozliczne badania pokazują, że wyżej wymienione parametry determinują decyzję konsumenta o zakupie produktu. W kontekście wyrobów cukierniczych, na szczególną uwagę zasługuje szorstkość powierzchni, która pozwala poprawić smakowość [Inoue i wsp., 2019], kontrolować gładkość, poprawić wygląd i ograniczyć wady (pęknięcia), otrzymanych produktów [Nastaj i wsp., 2021], zapewniając ich lepsze odrywanie od powierzchni wypiekowych [Magens i wsp., 2017]. Zostaną również opisane właściwości reologiczne i stabilność otrzymanych produktów, a także tekstura, mikrostruktura i aktywność wody. Wyżej wymienione badania dostarczą kompleksowych informacji do zastosowań laboratoryjnych i przemysłowych.

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

Etap 1.

Dotyczył otrzymania wysokobiałkowych jogurtów stałych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i koncentratu białek serwatkowych (WPC 80) oraz wysokobiałkowych bezbiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych o obniżonej zawartości cukru. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach etapu 1 opublikowałem w następujących dwóch manuskryptach:

H1. Nastaj M., Sołowiej B.G., Gustaw W., Perez-Huertas S., Mleko S., Wesołowska-Trojanowska M. 2019. Physicochemical properties of High-Protein-Set Yoghurts obtained with the addition of whey protein preparations. *International Journal of Dairy Technology*, 72, 395–402; MEiN₂₀₁₉ = 40 pkt, IF₂₀₁₉ = 1,636

H2. Nastaj M., Mleko S., Terpiłowski, K., Tomczyńska-Mleko M. 2021. Effect of sucrose on physicochemical properties of high-protein meringues obtained from whey protein isolate. *Applied Sciences*, 11, 4764; MEiN₂₀₂₁ = 100 pkt, IF₂₀₂₁ = 2,838

Etap 2.

Obejmował otrzymanie wysokobiałkowych, bezcukrowych produktów cukierniczych (bezy, czekolady deserowe i makaroniki) z wykorzystaniem izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach etapu 2 opublikowałem w następujących trzech manuskryptach:

H3. Nastaj M., Sołowiej B.G., Terpiłowski K., Mleko S. 2020. Effect of erythritol on physicochemical properties of reformulated high protein meringues obtained from whey protein isolate. *International Dairy Journal*, 105, 104672; MEiN₂₀₂₀ = 100 pkt, IF₂₀₂₀ = 3,032

H4. Nastaj M., Sołowiej B.G., Stasiak D.M., Mleko S., Terpiłowski K., Łyszczek R.J., Tomasevic I.B., Tomczyńska-Mleko M. 2022. Development and physicochemical properties of reformulated, high-protein, untempered sugar-free dark chocolates with addition of whey protein isolate and erythritol. *International Dairy Journal*, 134, 105450; MEiN₂₀₂₂ = 100 pkt, IF₂₀₂₂ = 3,100

H5. Nastaj M., Sołowiej B.G., Terpiłowski K., Kucia W., Tomasevic I.B., Perez-Huertas S. 2023. The Effect of Erythritol on the Physicochemical Properties of Reformulated, High-Protein, and Sugar-Free Macarons Produced from Whey Protein Isolate Intended for Diabetics, Athletes, and Physically Active People, *Foods*, 12, 1547; MEiN₂₀₂₃ = 140 pkt, IF₂₀₂₃ = 5,200

4.5. Omówienie wyników badań w ramach założonych celów

4.5.1. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych wysokobiałkowych jogurtów stałych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i koncentratu białek serwatkowych (WPC 80)

W badaniach opracowano metodę otrzymywania wysokobiałkowych jogurtów stałych z dodatkiem WPI i WPC 80 (publikacja H1). Wpływ dodatku preparatów białek serwatkowych do jogurtów został już opisany w literaturze. Jednakże, we wcześniejszych artykułach nie stosowano tak wysokich koncentracji białek serwatkowych, dlatego ilość

dodanego białka została celowo zwiększona ze względu na wyższe dzienne zapotrzebowanie na białko u sportowców i osób aktywnych fizycznie.

Na podstawie otrzymanych wyników badań reologicznych jogurtów, stwierdzono wyższe wartości modułu zachowawczego (G') oraz stratności (G''), próbek otrzymanych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI), w porównaniu do próbek otrzymanych z koncentratem białek serwatkowych (WPC 80). Wszystkie próbki jogurtów wykazywały właściwości podobne do żeli ($G' > G''$). Tym samym, jogurty otrzymane z dodatkiem WPI w porównaniu z produktami otrzymanymi z WPC, cechowały się mocniejszą strukturą skrzepu jogurtowego. **W badaniach zaobserwowano, że rodzaj zastosowanego preparatu białkowego nie miał zbyt istotnego wpływu na właściwości lepkością jogurtów. Bardzo istotną obserwacją wynikającą z badań był fakt, że dodatek WPI spowodował zasadniczą zmianę w czasie inicjacji powstawania skrzepu jogurtowego w porównaniu z WPC 80. W przypadku jogurtów z dodatkiem WPI, spadek kąta fazowego poniżej 45° odnotowano już po 10, a dla WPC 80 dopiero po 144 min inkubacji.** Może to wynikać z faktu, że WPI w swoim składzie zawiera mniej związków towarzyszących takich jak: laktoza, tłuszcz, minerały, które mogą wpływać na tworzenie żelu. Tym można tłumaczyć późniejsze tworzenie żelowej struktury jogurtu zachodzące w przypadku próbki jogurtu z dodatkiem WPC 80. Podobnych obserwacji dokonali również Skrzypczak i Gustaw [2012], którzy stwierdzili podobny wpływ dodatku białek serwatkowych na czas fermentacji jogurtów. Jogurty otrzymane z białkami serwatkowymi żelowały szybciej niż próbki z dodatkiem odtłuszczonego mleka w proszku. Vasbinder i wsp. [2001] potwierdzają, że obecność białek serwatkowych, w szczególności β -laktoglobuliny, powodowała przyspieszenie powstawania skrzepu jogurtowego. Zjawisko to również można wyjaśnić występowaniem interakcji między białkami serwatkowymi i micelami kazeiny w niskim pH, bliskim ich punktem izoelektrycznym. Jørgensen i wsp. [2015] i Meletharayil [2015] twierdzą, że taka wartość pH zwiększa potencjał oddziaływań pomiędzy białkami serwatkowymi a kazeiną, co skutkuje powstawaniem kompleksów, wpływając na zwiększenie właściwości sprężystych jogurtów (większe wartości G'). Badacze podkreślają również, że jogurty z wyższym dodatkiem białek serwatkowych tworzyły skrzep szybciej niż te ze zwiększoną zawartością kazeiny.

W przypadku oceny tekstury jogurtów wysokobiałkowych stwierdzono, że próbki z dodatkiem WPI wykazywały większą twardość niż próbki z WPC 80. **Najwyższą wartość twardości zaobserwowano dla próbki z największym dodatkiem WPI (8 %).** Dla wszystkich analizowanych jogurtów twardość wzrastała wraz ze wzrostem dodatku białek serwatkowych, niezależnie od rodzaju zastosowanego preparatu. **Próbka kontrolna bez dodatku białek serwatkowych wykazała najmniejszą twardość.** Z przeprowadzonych badań tekstury można zauważyć, że oba preparaty w całym zakresie zastosowanych stężeń w pełni wbudowały się w strukturę jogurtów, zwiększając gęstość matrycy skrzepu jogurtowego, co widać wyraźnie po proporcjonalnie zwiększających się wartościach twardości badanych jogurtów. Bhullar i wsp. [2002] zaobserwowali, że jogurty z dodatkiem białek serwatkowych są twardsze niż te uzyskane wyłącznie z odtłuszczonego mleka w proszku. Yıldız-Akgül [2018] twierdzi, że dodatek izolatu białek serwatkowych zwiększał twardość i zmniejszał poziom synerozy jogurtów. Według Mahomuda i wsp. [2017a], twardość jogurtów jest w dużej mierze związana z tworzeniem się kompleksów białkowo-kazeinowych, które poprawiają ich strukturę poprzez tworzenie sieci białkowych. Anema [2007] nadmienia, że kompleksowanie β -laktoglobuliny z κ -kazeiną zachodzi zarówno w micelach, jak i w fazie ciągłej jogurtów i proces ten jest zależny od dodatku białek serwatkowych. Matumoto-Pintro i wsp. [2011], którzy analizowali jogurty otrzymane z dodatkiem WPI, twierdzą, że mocniejsza struktura skrzepu jest związana z większą zawartością β -laktoglobuliny, która zawiera wolne grupy tiolowe. Tsevdou i wsp. [2013] udowodnili, że wiązania dwusiarczkowe powstałe podczas produkcji

jogurtu wpływają na końcową strukturę skrzepu. Według Oldfielda i wsp. (1998), stopień interakcji zależy od czasu ogrzewania, temperatury, dodatku białka i pH.

Jogurty z WPI wykazywały wyższe wartości spójności w porównaniu z próbkami zawierającymi WPC 80. Najwyższą wartość spójności zaobserwowano dla próbki z największym dodatkiem WPI (8 %). Najmniej spójna była próbka referencyjna bez dodatku białek serwatkowych. W przypadku wszystkich analizowanych próbek jogurtów, spójność wzrastała wraz ze wzrostem dodatku białek serwatkowych. Sandoval-Castilla i wsp. [2004] otrzymali jogurty z koncentratem białek serwatkowych jako zamiennikiem tłuszczu i odnotowali wyższe wartości spójności w porównaniu do jogurtu beztłuszczowego.

Zaobserwowane różnice między parametrami tekstury dla jogurtów z dodatkiem WPI i WPC mogą wynikać z różnej zawartości laktozy w obu badanych preparatach białek serwatkowych, która istotnie wpływa na stopień denaturacji β -laktoglobuliny [Spiegel, 1999]. Wyższe stężenie laktozy powoduje niższy stopień denaturacji białek. Można to wyjaśnić efektem hydratacji laktozy na cząsteczce białka. Według Anema i wsp. [2006], wyższe stężenie laktozy zwiększa orientację wody wokół cząsteczek β -laktoglobuliny, co sprzyja związanym i niezdenaturowanym formom β -laktoglobuliny.

W przypadku analizy lepkości, jogurty otrzymane z dodatkiem WPI i WPC 80 wykazały różne przebiegi krzywych płynięcia. Wszystkie analizowane próbki jogurtów wykazywały charakter pseudoplastyczny. Przy szybkości ścinania 150 s^{-1} , najwyższe wartości naprężenia ścinającego stwierdzono dla próbek otrzymanych z największym dodatkiem WPI (8 %). WPI był bardziej efektywny w zwiększaniu naprężenia ścinającego w uzyskanych jogurtach niż WPC 80. Najniższe naprężenie ścinające odnotowano dla próbki referencyjnej bez dodatku białek serwatkowych. Dla wszystkich analizowanych próbek jogurtów, wartości naprężenia ścinającego zmniejszały się, gdy dodatek preparatu białek serwatkowych był niższy. Dla obu preparatów najwyższe wartości naprężenia ścinającego odpowiadały najwyższym wartościom współczynnika lepkości k .

Wraz ze zwiększeniem dodatku białek serwatkowych, lepkość jogurtów zmieniała się w taki sam sposób jak twardość. Przy szybkości ścinania 150 s^{-1} , najwyższe wartości lepkości określono dla próbek jogurtów otrzymanych z największym dodatkiem WPI (8 %). Próbka referencyjna okazała się najmniej lepka. Dla wszystkich analizowanych próbek, wartości lepkości wzrastały wraz z dodatkiem białek serwatkowych, niezależnie od rodzaju preparatu. Matumoto-Pintro i wsp. [2011] badali wpływ białek serwatkowych na lepkość jogurtu. Jogurty otrzymane z dodatkiem WPI były bardziej lepkie i wykazywały bardziej elastyczny charakter. Akalin i wsp. [2011] stwierdzili wyższe wartości lepkości jogurtów z dodatkiem WPC niż te wzbogacone odtłuszczonym mlekiem w proszku. Ich wyniki jednakże nie korespondują z tymi przedstawionymi przez Guzman-Gonzalez i wsp. [1999], którzy otrzymali jogurty z dodatkiem białek serwatkowych o mniejszej lepkości. Zostało to później wyjaśnione przez Li i Guo [2006], według autorów wstępnie zdenaturowane białka serwatkowe dodane do mleka sprzyjają tworzeniu mostków między nimi, prowadząc do powstania mieszanej sieci kazeiny/białek serwatkowych o mniejszych rozmiarach, co skutkowało zmianą lepkości.

Można zaobserwować, że zwiększenie stężenia obu preparatów białkowych we wszystkich próbkach jogurtów powodował spadek wartości współczynnika płynięcia n . Gdy parametr ten zbliża się do zera, oznacza to, że próbki jogurtów stają się bardziej stałe, co odzwierciedla wzrost wartości twardości otrzymanych jogurtów.

Za niezwykle nowatorskie i ważne, uważam badania procesu powstawania skrzepu jogurtowego w aparacie Turbiscan. Wykazano na podstawie analizy skanów i wzrostu

rozpraszania wstecznego, że próbka jogurtu z dodatkiem WPI koagulowała szybciej (25 min) niż próbka z dodatkiem WPC 80 (między 25 a 85 min). W przypadku próbki referencyjnej, bez dodatku białek serwatkowych, czas ten wyniósł około 85 min. Pomiary w aparacie Turbiscan potwierdziły wcześniejsze obserwacje, gdy fermentacja jogurtów była przeprowadzana w reometrze oscylacyjnym. Zgodnie z najlepszą wiedzą, podobne analizy nie zostały wcześniej przeprowadzone, ani opublikowane w literaturze tematu, co świadczy o innowacyjności tego eksperymentu.

W przypadku przeprowadzonych badań powierzchni jogurtów, można zaobserwować, że dodatek WPC 80 do jogurtu spowodował wzrost szorstkości powierzchni w porównaniu do WPI i próbki referencyjnej. Wartości szorstkości powierzchni tych ostatnich były porównywalne. Inną tendencję zaobserwowali Mahomud i wsp. [2017b], którzy uzyskali jogurty z dodatkiem WPC o mniejszej szorstkości niż próbki przygotowane z samego mleka odtłuszczonego. Jørgensen i wsp. [2015] wskazują, że większa zawartość białka w jogurcie wzmacnia ich interakcje podczas fermentacji, co skutkuje mocniejszą strukturą żelu i bardziej szorstką strukturą jogurtu. Z kolei, Ozcan i wsp. [2015] nie zaobserwowali znaczącego wpływu kompleksów między białkami serwatkowymi i κ -kazeiną na strukturę jogurtu. Sprzeczne wyniki tych badań mogą wynikać z zastosowania różnych preparatów białkowych oraz metod produkcji jogurtu. Jørgensen i wsp. [2015] podkreślają jednocześnie znaczenie obróbki cieplnej jogurtu uzyskanego z dodatkiem natywnych białek serwatkowych. Wyższa temperatura obróbki cieplnej zapewniała bardziej szorstkie jogurty w porównaniu do tych otrzymanych w niższych temperaturach.

Pomiar kątów zwilżania był możliwy tylko w przypadku jogurtów z dodatkiem WPI, uzyskane wartości dowodzą, że próbka ta była bardziej niejednorodna pod względem topografii, oddziaływań polarnych i dyspersyjnych. Wysoka wartość pozornej swobodnej energii powierzchniowej obliczonej na podstawie histerezy potwierdza hydrofilowy charakter badanej powierzchni. W przypadku jogurtu otrzymanego z WPC 80 i próbki referencyjnej, pomiar kąta zwilżania był niemożliwy do wykonania, kropla wody rozpylała się po powierzchni próbki. Zakłada się, że działo się tak z uwagi na wzrost oddziaływań polarnych badanej powierzchni, ponieważ WPC 80 zawiera więcej laktozy niż WPI. Mierzalny kąt zwilżania dla jogurtu z dodatkiem WPI dowodzi, że jego powierzchnia jest bardziej hydrofobowa niż próbka otrzymana z WPC 80. Laktoza jest hydrofilowym składnikiem jogurtu i zmniejsza kąt zwilżania, kropla wody łatwiej rozprzestrzenia się na powierzchni jogurtu. Dodatkowo, tekstura próbki referencyjnej była zbyt słaba, aby utrzymać kroplę wody na swojej półpłynnej powierzchni. Ponadto, laktoza może być rozpuszczona w kropli wody, co zmniejsza napięcie powierzchniowe między kroplą wody a powierzchnią jogurtu, co z kolei sprawia, że kropla wody rozpyla się łatwiej po jego powierzchni [Coupland 2014].

Otrzymane w pracy wyniki potwierdzają, że wysokobiałkowe jogurty stale otrzymane z dodatkiem WPI wykazywały bardziej spójną i gęstszą strukturę w porównaniu do próbek z WPC 80, co wyraźnie odzwierciedlają parametry tekstury. Jak wynika z wartości parametrów reologicznych, różnice we właściwościach otrzymanych jogurtów były znaczące. Dodatek WPI spowodował przyspieszone tworzenie się sieci jogurtowej w porównaniu do jogurtów wyprodukowanych z WPC 80. Ponadto, zastosowanie obu preparatów pozwala na zmianę właściwości odżywczych i powierzchniowych (szorstkość, gładkość) otrzymanych jogurtów. Badania jogurtów w aparacie Turbiscan pozwoliły na precyzyjne określenie dynamiki tworzenia się sieci jogurtowej, co może być bardzo przydatne w przygotowywaniu jogurtów o lepszej stabilności poprzez ograniczenie separacji faz i synerezy.

4.5.2. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bez wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) o obniżonej zawartości cukru

W badaniach opracowano metodę otrzymywania wysokobiałkowych bez na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) o obniżonej zawartości sacharozy (publikacja H2). Stężenie sacharozy w tradycyjnych bezach komercyjnych z albuminy jaja kurzego, zawierającej około 8 % białka, jest bardzo wysokie. Do ich otrzymania, w cukiernictwie tradycyjnym, wykorzystuje się stosunek albuminy do sacharozy 1:2, chociaż najczęściej 1:3. W celu obniżenia zawartości sacharozy zastosowano 5, 10 i 15 % dodatek sacharozy, a zawartość białka z izolatu białek serwatkowych wynosiła 20 %.

Na wstępnym etapie badań zbadano roztwory przed spienieniem, ponieważ właściwości roztworów białek z sacharozą (napięcie powierzchniowe i lepkość) wpływają na ich pienistość i właściwości reologiczne powstałych pian [Lau i Dickinson, 2005; Nastaj i Sołowiej, 2020c]. Dla wszystkich analizowanych roztworów, w zakresie $0,1-250 \text{ s}^{-1}$, lepkość zmniejszała się wraz ze wzrostem szybkości ścinania i wzrastała wraz ze wzrostem stężenia sacharozy. Na przykład, przy szybkości ścinania 100 s^{-1} , najwyższą lepkość zaobserwowano dla roztworu białka o największej zawartości sacharozy (15 %), a próbka roztworu bez sacharozy okazała się najmniej lepka. Yang i Foegeding [2011] również zaobserwowali, że lepkość roztworów WPI wzrasta stopniowo wraz ze wzrostem stężenia sacharozy.

W przypadku napięcia powierzchniowego (γ), najmniejsze wartości odnotowano dla próbki roztworu WPI bez dodatku sacharozy. Wyższe stężenia sacharozy (do 10 %) spowodowały wzrost napięcia powierzchniowego. Z badań wynika, że istnieje pewne stężenie sacharozy pomiędzy (10-15 %), dla którego napięcie powierzchniowe osiąga wartość maksymalną, a dalszy dodatek cukru nie zmienia wartości tego parametru. Davis i Foegeding [2007] stwierdzili, że większe dodatki sacharozy powodują wzrost napięcia powierzchniowego roztworów WPI, ponieważ zmniejsza ona aktywność powierzchniową białek globularnych ze względu na ich niższą hydrofobowość. Belyakova i wsp. [2003] podkreślają, że dodatek sacharozy może zmniejszać interakcje między białkami, ponieważ sacharoza jest uznawana za czynnik hamujący rozfałdowywanie się białek. Raikos i wsp. [2007a] zwracają uwagę na związek lepkości roztworu białka z wartościami jego napięcia powierzchniowego. Sacharoza zwiększa lepkość roztworu, tym samym napięcie powierzchniowe roztworów białka z cukrem będzie większe. Dlatego cząsteczki białka mają tendencję do pozostawania w fazie ciągłej i nie adsorbują się na granicy faz powietrze-woda, co istotnie wpływa na zdolność roztworu białka do pienienia. Potwierdziły to dodatkowo wartości potencjału zeta (ζ) zarejestrowane dla badanych roztworów. Potencjał zeta jest jednym z najbardziej obiektywnych parametrów do oceny oddziaływań elektrostatycznych rozproszonych cząstek. Jego wartość znacząco wpływa na cechy żywności, takie jak stabilność, hydrofobowość powierzchni i właściwości reologiczne [Cano-Sarmiento i wsp., 2018]. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że potencjał zeta roztworów WPI wzrastał wraz z dodatkiem sacharozy, co wskazuje, że sacharoza zmniejszała ładunek cząsteczek i odpychanie elektrostatyczne między białkami serwatkowymi. Bhattacharjee [2016] sklasyfikował roztwory o wartościach potencjału zeta $\pm 0-10 \text{ mV}$ jako bardzo niestabilne. Można jednak stwierdzić, że wyższe stężenia cukru spowodowały spadek stabilności cząstek analizowanych roztworów. Wyniki dodatkowo wskazują, że sacharoza była rozpuszczalna w roztworach białek w całym zakresie badanych stężeń.

Na podstawie badań wydajności pienienia (OR) i frakcji fazy powietrznej (Φ) można stwierdzić, że wartości obu parametrów wzrastały wraz ze wzrostem stężenia cukru do 10 %. Najwyższe OR zaobserwowano dla roztworu WPI z 10 % dodatkiem sacharozy. Dla próbki zawierającej 15 % cukru odnotowano znaczące spadki wartości

OR i Φ . Podobny wpływ sacharozy na pienienie białek zaobserwowali Raikos i wsp. [2007a] oraz Yang i Foegeding [2010]. Według Davisa i Foegedinga [2007] właściwości reologiczne pian WPI zależą od wartości Φ .

Do określenia właściwości reologicznych otrzymanych pian wykorzystano reologię małych odkształceń. Dla otrzymanych próbek pian zmierzono wartości G' (moduł zachowawczy), G'' (moduł stratności) i $\tan(\delta)$. Wartość $\tan(\delta)$ określa sprężysty lub lepki charakter próbki ($\tan \delta = G''/G'$). Gdy $\tan(\delta)$ jest mniejszy niż 1, badana struktura jest elastyczna, a wartość G' jest większa niż G'' . Wartości G' przeważały nad wartościami G'' we wszystkich zakresach częstotliwości, co wskazuje na względne podobieństwo analizowanych próbek pian do ciał stałych. Dla wszystkich próbek pian, wartości G' były około 4 razy większe niż G'' , co jest charakterystyczne dla słabych żeli. Według Tabilo-Munizaga i Barbosa-Canovas [2005], mocniejsze żele wykazują wartość $\tan(\delta)$ bliższą 0,1. Otrzymane wartości G' i G'' wskazują, że częstotliwość miała znaczący wpływ na strukturę analizowanych pian. Początkowo wartości G' zmniejszały się, co wskazuje na zmiany w strukturze piany, najprawdopodobniej poprzez przerwanie niestabilnych warstw laminarnych w pęcherzykach powietrza. Następnie, zaobserwowano wzrost elastyczności, najprawdopodobniej z powodu łączenia się pęcherzyków, co jednocześnie świadczy o większej stabilności i wyższej wartości G' . Wzrost sprężystości wraz ze wzrostem częstotliwości wynika bezpośrednio z liczby Debory. Materiały o niskiej liczbie Debory są substancjami elastycznymi, charakteryzującymi się również wysoką wartością G' w stosunku do G'' [Poole, 2012]. **Wzrost zawartości sacharozy do 10 % zwiększał właściwości reologiczne pian, próbka o zawartości 10 % sacharozy wykazała najszywniejszą strukturę, co odzwierciedlały wartości G' i G'' .** Najniższe wartości G' i G'' zaobserwowano dla próbki piany o zawartości 15 % sacharozy, co potwierdza spadek jej właściwości reologicznych. Najniższą wartość $\tan(\delta)$ odnotowano dla próbki o zawartości 10 % cukru. Niewielkie różnice między próbkami zawierającymi 5 % 10 % i wskazują, że piany te były bardziej elastyczne w porównaniu z najwyższym $\tan(\delta)$ dla próbki zawierającej 15 % sacharozy (najbardziej lepka). Taką charakterystykę można powiązać z wartością wydajności pienienia (OR), wyższa wartość OR jest konsekwencją powstania większych pęcherzyków powietrza i tworzenia elastycznych międzyfazowych filmów białkowych wpływających na właściwości reologiczne pian. Wzrost wartości G' i G'' wraz ze wzrostem wydajności pienienia odzwierciedla ciaśniejsze upakowanie pęcherzyków powietrza w strukturze pian [Luck i wsp., 2006]. Powstawanie większych pęcherzyków skutkowało bardziej elastycznym charakterem próbek, niższym $\tan(\delta)$, co stwierdzono dla próbek pian zawierających 10 % sacharozy. **Dla próbek zawierających 15 % sacharozy zaobserwowano znaczny spadek OR i Φ , co potwierdza bardziej lepki charakter próbek.** Zaobserwowany wzrost elastyczności badanych pian wraz ze wzrostem zawartości powietrza w ich strukturze jest zgodny z wcześniejszymi badaniami właściwości reologicznych żywności napowietrzanej [Thakur i wsp., 2008; Yang i Foegeding, 2011; Sadahira i wsp., 2014].

W aparacie Turbiscan oceniono stabilność pian przed utrwaleniem termicznym poprzez analizę widm transmisji i rozpraszania wstecznego, a także wartości współczynnika stabilności Turbiscan (TSI). W pianach można zidentyfikować następujące zjawiska: proces odcieku odpowiadający profilowi rozpraszania wstecznego i opadanie jako profil transmisji. Wzrost transmisji wskazuje, że próbki stawały się przezroczyste, potwierdzając wystąpienie procesów destabilizacji. Ociek i koalescencja powodują wzrost fazy ciekłej, dlatego w próbkach następował wzrost transmisji i spadek rozpraszania wstecznego. Dysproporcjonowanie związane z mniejszą liczbą większych pęcherzyków powodowało wzrost transmisji [Martínez-Padilla i wsp., 2014]. **Najbardziej stabilną była próbka piany z 10 % dodatkiem sacharozy, co znalazło odzwierciedlenie w rozkładzie skanów. Stwierdzono, że opadanie piany znacznie zmniejszyło się dla tej próbki. Próbka bez dodatku i ta z dodatkiem 15 % sacharozy**

wykazały zupełnie inną dynamikę rozmieszczenia skanów, potwierdzając tym samym najmniejszą stabilność otrzymanych pian. Jednym z mechanizmów obniżających stabilność pian jest dysproporcjonowanie, tj. wzrost średnicy pęcherzyków powietrza. Według Martínez-Padilla i wsp. [2014], wzrost średnicy pęcherzyków powietrza w czasie może wynikać z dyfuzji powietrza przez powłokę białkową spowodowaną różnicą ciśnień pomiędzy sąsiadującymi pęcherzykami powietrza (dojrzewanie Oswalda). Rozmieszczenie skanów dla próbki piany z 10 % dodatkiem sacharozy dowiodło, że zjawisko to może być znacznie ograniczone na tym poziomie dodatku cukru. Yang i Foegeding [2011] przeanalizowali wpływ dodatku cukru na mikrostrukturę pian WPI. Ich obserwacje potwierdziły, że sacharoza poprawiała stabilność pian ze względu na opóźnione tempo odcieku grawitacyjnego. Rodríguez Patino i wsp. [1995] stwierdzili, że mniejsze wartości napięcia powierzchniowego roztworów białek sprzyjały tworzeniu się mniejszych pęcherzyków w pianie, co odpowiadało ich lepszej stabilności. Co więcej, lepkość roztworów białka przed ubiciem jest związana ze zwiększoną stabilnością pian, co zaobserwowali również Yankov i Panchev [1996].

TSI jest parametrem mieszczącym się w zakresie od 0 do 100 i jest on bardzo cenny do oceny kinetyki niestabilności pian. Należy zaznaczyć, że zgodnie ze skalą, wartości TSI powyżej 10 są zarezerwowane dla niestabilnych układów, takich jak piany. Im bliżej 100, tym bardziej niestabilna jest analizowana piana. **Próbka piany bez dodatku sacharozy była najmniej stabilna. Wzrost zawartości sacharozy do 10 % powodował spadek wartości TSI. Piana uzyskana z 10 % dodatkiem sacharozy była najbardziej stabilna, co potwierdzała najmniejsza wartość TSI.** Pomiar aparatem Turbiscan potwierdził wcześniejsze obserwacje, gdy określano właściwości reologiczne pian, jak również ich związek z wydajnością pienienia i frakcją fazy powietrznej.

Po termicznym utrwaleniu pian ciekłych w piany stałe (bezy wysokobiałkowe) należy podkreślić, że otrzymanie bez wysokobiałkowych bez dodatku sacharozy było niemożliwe. W otrzymanych próbkach nie stwierdzono wad jakościowych, takich jak pęknięcia, co jest charakterystyczne dla wyrobów cukierniczych. Już najmniejszy dodatek sacharozy (5 %) umożliwił zachowanie napowietrzonych struktury podczas utrwalenia termicznego.

Na podstawie przeprowadzonych badań powierzchniowych, t.j. zdjęć z profilometru, profili bocznych i parametrów szorstkości otrzymanych bez wysokobiałkowych, można stwierdzić, że zwiększenie dodatku sacharozy spowodowało efekt wygładzenia i próbki wykazały mniejszą szorstkość powierzchni. **Próbka z 15 % dodatkiem sacharozy była najbardziej gładka.** Arunepanlop i wsp. [1996] stwierdzili, że bezy mogą wykazywać rozmaite struktury powierzchni przy różnym dodatku sacharozy. Mogą one stawać się drobniejsze wraz ze wzrostem stężenia cukru. Mensink i wsp. [2017] opisali zjawisko witrifikacji (zeszklenia), kiedy to cukry na powierzchni dookoła białek tworzą amorficzną, szklistą matrycę, wpływającą zarówno na szorstkość powierzchni, jak i strukturę bez i produktów napowietrzonych. Berry i wsp. [2009] podkreślają znaczenie ciągłego wzrostu pęcherzyków powietrza w pianach, który może sprzyjać powstaniu ziarnistej i szorstkiej struktury bez po utrwaleniu termicznym. Obserwowane zmniejszenie szorstkości może być związane ze zwiększoną lepkością roztworów białek, ponieważ bardziej lepkie dyspersje mogą opóźnić migrację pęcherzyków w kierunku powierzchni bezy podczas wypieku.

Na podstawie otrzymanych wartości kątów zwilżania badanych bez wysokobiałkowych można określić hydrofobowy lub hydrofilowy charakter powierzchni. Im mniejszy kąt zwilżania, tym bardziej hydrofobowa powierzchnia. Z kolei wartość wyliczonej pozornej swobodnej energii powierzchniowej (γ_s) jest wynikiem topografii i chemii powierzchni [Terpiłowski i wsp., 2015]. Wartości kątów zwilżania, wody i diiodometanu oraz wartości

pozornej swobodnej energii powierzchniowej (γ_s) obliczono na podstawie metody histerezy kąta zwilżania (CAH). Dla wszystkich analizowanych próbek, wartości kątów zwilżania, postępującego (Θ_a) i cofającego (Θ_r) zmniejszały się wraz ze wzrostem dodatku sacharozy, a powierzchnia bezy stawała się bardziej hydrofilowa. **Dla obu cieczy największe wartości Θ_a i Θ_r zmierzono dla próbki z 5 % dodatkiem sacharozy, a najmniejsze dla próbki z dodatkiem 15 % sacharozy. Znaczący spadek wartości kąta zwilżania dowodzi, że wyższe stężenia cukru modyfikują właściwości badanych powierzchni.** Dzieje się tak, dlatego że sacharoza jest składnikiem silnie hydrofilowym, co zmniejsza kąt zwilżania analizowanych próbek, krople wody i diiodometanu łatwiej się rozplývają na powierzchni badanych bez wysokobiałkowych.

Histereza kąta zwilżania CAH (woda) reprezentuje wszystkie oddziaływania, w tym elektrostatyczne i jonowe. Histereza kąta zwilżania DM (diiodometan) reprezentuje składnik dyspersyjny związany z ładunkami i są to słabe oddziaływania. Wartości γ_s wzrastały wraz ze wzrostem stężenia cukru, co jest zgodne ze wzrostem hydrofilowego charakteru powierzchni, co sugeruje, że próbki były bardziej niejednorodne pod względem topografii, oddziaływań polarnych i dyspersyjnych. Oddziaływania dyspersyjne mają duży wpływ na całkowitą wartość swobodnej energii powierzchniowej, co można zaobserwować na podstawie diiodometanu, który oddziałuje z powierzchnią tylko w sposób dyspersyjny [Drelich i wsp., 2020]. Wyższe stężenia sacharozy powodują powstawanie większej liczby grup polarnych na powierzchni analizowanych bez, co uzasadnia wzrost wartości γ_s . **Wzrost wartości kąta zwilżania jest wypadkową szorstkości i właściwości powierzchni. Wyższe dodatki sacharozy spowodowały, że badane bezy wysokobiałkowe były mniej szorstkie (gładsze) i bardziej hydrofilowe (zwilżalne).**

Zdjęcia z mikroskopu optycznego i przekroje boczne analizowanych bez wysokobiałkowych potwierdziły wcześniejsze obserwacje z profilometru, że szorstkość powierzchni bez zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia sacharozy. Można również zauważyć, że wzrost stężenia cukru do 10 % powodował zwiększenie wielkości pęcherzyków powietrza. Próbka z 15 % dodatkiem sacharozy charakteryzowała się mniejszą liczbą większych pęcherzyków, które najprawdopodobniej zostały rozerwane podczas utrwalania termicznego. **Analiza zdjęć mikroskopowych wskazuje, że 10 % stężenie cukru było optymalne dla utrzymania jednorodnych pęcherzyków powietrza, co dodatkowo potwierdzają właściwości reologiczne piany przed utrwaleniem termicznym, jej wydajność pienienia i stabilność.** W tym przypadku szczególne znaczenie ma również mniejsza lepkość roztworu przed ubiciem w porównaniu do roztworu zawierającego 15 % sacharozy. Większa lepkość roztworu przed ubiciem może tworzyć barierę dla adsorpcji białek, a tym samym wpływać na napowietrzoną strukturę bezy wysokobiałkowej. Raikos i wsp. [2007a] wskazują, że zwiększona lepkość może wpływać na końcową objętość produktu poprzez stabilizację piany ciekłej przed przekształceniem w stałą. Również Yang i Foegeding [2011] potwierdzają, że dodatek sacharozy na poziomie 10 % skuteczniej stabilizuje matrycę produktów napowietrzonych.

Zwiększenie stężenia sacharozy powodowało wzrost końcowej objętości wypiekowej bez wysokobiałkowych. Najmniejsza objętość dla próbki zawierającej 5 % cukru mogła być spowodowana zapadnięciem się matrycy podczas utrwalania termicznego, co sugeruje, że efekt spęczniający i stabilizujący sacharozy na pianę z izolatu białek serwatkowych był niewystarczający. Beza z 15 % zawartością sacharozy wykazała największą objętość, nie koresponduje to jednak z mniejszą wydajnością pienienia i stabilnością piany. Zależność ta jest raczej trudna do ustalenia, ponieważ według Raikos i wsp. [2007a] pęcherzyki powietrza rozszerzają się i/lub ulegają koalescencji podczas pieczenia. Autorzy podkreślają, że dodatek sacharozy może zmienić rozmiar pęcherzyków i grubość warstwy lamelarnej, powodując

zwiększenie objętości bez ze względu na efekt spęczniania. Przy większych dodatkach sacharozy struktura bezy może zmienić się z szorstkiej na zapadniętą z powodu pęknięcia błony białkowej i opadnięcia pęcherzyków. Podczas utrwalenia termicznego pęcherzyki powietrza w bezach rozszerzają się wraz ze wzrostem temperatury i zapadają się z powodu rozrywania błon pęcherzyków powietrza. Ostateczna objętość wypiekowa bez i ich struktura jest wypadkową obu procesów. Yang i Foegeding [2010] stwierdzili, że dodatek sacharozy zwiększa temperaturę denaturacji białek. Wilderjans i wsp. [2013] twierdzą, że dodatek cukru do 10 % może zwiększać temperaturę denaturacji białka o około 2 °C. Díaz-Ramírez i wsp. [2016] wykazują, że białka konkurują z sacharozą o dostępną wodę, dlatego wraz ze wzrostem stężenia białka, stabilność sacharozy spada, powodując jej krystalizację pod wpływem ciepła. Rodríguez Patino i wsp. [2001] podkreślili, że białka mają tendencję do wzajemnego oddziaływania (żelowania) na granicy faz powietrze-woda podczas ogrzewania.

Z przeprowadzonych badań wynika, że możliwe jest uzyskanie bez wysokobiałkowych z izolatu białek serwatkowych przy najmniejszym stężeniu cukru (5 %), które nie jest stosowane w przemyśle. Zaobserwowano różny wpływ dodanej sacharozy w przypadku pian ciekłych przed utrwaleniem i stałych, po utrwaleniu. W przypadku roztworów białek przed ubiciem i pian ciekłych, napięcie powierzchniowe, wartości modułów zachowawczego (G') i stratności (G''), wydajność pienienia i stabilność piany wzrosły do 10 % dodanej sacharozy, a następnie spadały przy 15 % dodatku. Jedynymi parametrami odbiegającymi od tego schematu były lepkość roztworu i potencjał zeta, które wzrosły w całym zakresie stężeń cukru. W przypadku pian stałych, wzrost stężenia cukru skutkował gładszą powierzchnią i zwiększoną hydrofilowością powierzchni związaną z niższą energią powierzchniową. Z badań wynika, że właściwości powierzchniowe pian stałych są bardziej zależne od lepkości roztworu przed ubiciem. W przypadku pian stałych właściwości powierzchniowe są bardziej zależne od samego stężenia cukru niż od interakcji białko-sacharoza. Wzrost stężenia sacharozy powodował wzrost lepkości roztworu, co skutkowało wzrostem końcowej objętości wypiekowej i zmniejszeniem szorstkości powierzchni (wolniejsza migracja pęcherzyków w kierunku powierzchni). Zwiększenie stężenia sacharozy zwiększało również hydrofilowość badanych powierzchni bez wysokobiałkowych, ponieważ sacharoza jest składnikiem silnie hydrofilowym. Uzyskana w wyniku przeprowadzonych badań wiedza na temat struktury otrzymanych bez wysokobiałkowych pozwoli kontrolować podstawowe parametry, które określają właściwości produktu końcowego.

4.5.3. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bezcukrowych bez wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z dodatkiem erytrytolu

W następnym etapie badań opracowano metodę otrzymywania bezcukrowych bez wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu (publikacja H3). Stężenie sacharozy w tradycyjnych bezach komercyjnych z albuminy jaja kurzego, zawierającej około 8 % białka, jest bardzo wysokie. Do otrzymania bez tradycyjnych w cukiernictwie stosuje się stosunek albuminy do sacharozy 1:2, chociaż najczęściej 1:3. W celu sprawdzenia erytrytolu jako potencjalnego zamiennika sacharozy, w pracy zastosowano stosunek białka do erytrytolu na poziomie 1:0, 1:1 i 1:2. Zawartość białka z izolatu białek serwatkowych wynosiła odpowiednio 15, 20 i 25 %.

W pierwszym etapie badań zbadano wartości napięcia powierzchniowego (γ) roztworów WPI z erytrytolem, ponieważ istotnie wpływają one na ich pienistość i właściwości reologiczne powstałych pian. **Najniższe wartości napięcia powierzchniowego odnotowano dla roztworów WPI bez dodatku erytrytolu, najniższą cechował się 25 % roztwór WPI. Dodatek erytrytolu prowadził do systematycznego wzrostu γ roztworów WPI w stosunku**

1:1 i 1:2, choć różnice pomiędzy tymi próbkami były nieznaczne. Na podstawie badań można stwierdzić, że w tym przypadku spadek napięcia powierzchniowego roztworów jest funkcją zależną od stężenia białka, a nie od dodatku erytrytolu. Według Romero i Albis [2010], poliole mogą wpływać na napięcie powierzchniowe roztworów białek. Hao i wsp. [2016] stwierdzają, że gdy erytrytol jest dodany do roztworów WPI, mechanizm preferencyjnego wykluczania odsuwa go od białek serwatkowych. Podobnych obserwacji dokonali Chanasattru i wsp. [2008], którzy stwierdzają, że białka serwatkowe są bardziej aktywne powierzchniowo niż erytrytol i mają większą tendencję do absorbowania na granicy faz powietrze-woda, jak również wypierania cząsteczek erytrytolu. Campbell i wsp. [2003] podkreśli znaczenie stosunkowo małego rozmiaru cząsteczek erytrytolu, co zwiększa jego wykluczanie z powierzchni białek serwatkowych. Timesheff [2002] wyjaśnia, że substancje jak poliole, wykazują większe powinowactwo do wody i są preferencyjnie wykluczane z powierzchni białka. Hassan i Steinbach [2011] stwierdzają, że wysokie stężenia substancji rozpuszczonych zmieniają interakcje białko-białko w wyniku wykluczania wody. Można postawić hipotezę, że dodanie erytrytolu w wysokich stężeniach do roztworów białek serwatkowych może powodować międzycząsteczkowe stłoczenie białek pomiędzy cząsteczkami WPI poprzez ich grupy acetylowe. Uzyskane przez nas wyniki nie korespondują z tymi uzyskanymi przez Madadlou i wsp. [2019], którzy stwierdzają, że erytrytol zmniejsza napięcie powierzchniowe roztworów WPI. Należy jednak podkreślić, że u wspomnianych autorów stosowano mniej stężone i bardziej rozcieńczone roztwory WPI [Tomczyńska-Mleko i wsp., 2014].

Zdolność do pienienia roztworów WPI z erytrytolem wyraża się jako wydajność pienienia (OR). **W roztworach WPI bez erytrytolu, wartości OR wzrastały proporcjonalnie do wzrostu stężenia białka, najwyższy OR zaobserwowano dla próbki zawierającej 25 % WPI. W przypadku próbek zawierających 15 % i 20 % WPI, stosunek białka do erytrytolu 1:1, spowodował znaczny wzrost wartości wydajności pienienia, najwyższy OR odnotowano dla próbki zawierającej 20 % WPI. Stosunek białka do erytrytolu 1:2 spowodował drastyczny spadek OR, najniższa wartość była reprezentowana przez 25 % WPI w stosunku 1:2.** Podobny wpływ innych substancji słodzących na wartość wydajności pienienia został zaobserwowany przez Lau i Dickinson [2005], Raikos i wsp. [2007b] oraz Yang i Foegeding [2010]. Na tej podstawie można postulować dwa mechanizmy odpowiedzialne za zmniejszenie wydajności pienienia roztworów WPI z erytrytolem. Pierwszy z nich jest spowodowany zwiększoną lepkością napowietrzanego roztworu, a drugi zmianą właściwości międzyfazowych białek serwatkowych przez erytrytol. Wyższa lepkość roztworu pozwala na zaangażowanie mniejszej ilości powietrza w międzyfazową ciekłą warstwę lamelarną piany. Erytrytol może również powodować preferencyjną hydratację cząsteczek białka w roztworze, a tym samym tworzyć mniej korzystne warunki do rozfałdowania się białek serwatkowych poprzez zmniejszenie interakcji białko-białko na granicy faz woda-powietrze. Antipova i wsp. [1999] wspominają o niższej adsorpcji białka w obecności sacharozy z powodu tworzenia wiązań wodorowych między cukrem a białkiem. Erytrytol zawiera również dostępne grupy hydroksylowe, które mogą angażować się w tworzenie wiązań wodorowych, ale w mniejszej liczbie niż sacharoza. Z drugiej strony, Hao i wsp. [2016] podkreślają, że w przypadku innego poliolu, maltitolu, wydajność pienienia roztworu białka jest funkcją jego struktury molekularnej i masy cząsteczkowej, a nie wiązań wodorowych. Sahi i Alava [2003] stwierdzają, że inkorporacja powietrza zależy również od mechaniki spieniania (prędkość i geometria mieszadła), jak i właściwości fizykochemicznych roztworu (napięcie powierzchniowe i lepkość).

Właściwości reologiczne pian przed utrwaleniem termicznym zależały od stężenia białka i stosunku białka do erytrytolu. **Dla próbek pian bez dodatku erytrytolu, wyższe stężenia WPI powodowały systematyczny wzrost granicy płynięcia (τ). Piana z 25 %**

roztworu WPI bez erytrytolu wykazywała najwyższą wartość τ . W przypadku próbek zawierających 15 % i 20 % WPI, stosunek białka do erytrytolu 1:1, był najbardziej efektywny w zwiększaniu granicy płynięcia. Najwyższą wartość wykazywała próbka zawierająca 20 % białka w stosunku 1:1. Stosunek ten był jednak niekorzystny dla próbki zawierającej 25 % białka. W całym analizowanym zakresie stężeń białka stosunek 1:2 prowadził do drastycznego spadku τ , przy czym najbardziej spektakularny spadek τ zaobserwowano dla próbki zawierającej 25 % WPI w stosunku 1:2. Pernell i wsp. [2002] zaobserwowali, że wyższe stężenie białka powodowało spadek napięcia powierzchniowego roztworów i w konsekwencji prowadziło do wzrostu granicy płynięcia uzyskanych z nich pian ze względu na wyższe stężenie środka powierzchniowo czynnego i większą liczbę międzyfazowych powłok białkowych. Davis i Foegeding [2004] oraz Nastaj i Sołowiej [2020c] opisali korelację pomiędzy wartościami napięcia powierzchniowego roztworów a granicami płynięcia pian. Stwierdzili, że przy niższych stężeniach erytrytol może zmieniać lepkość fazy ciągłej, powodując grubszą warstwę lamelarną i specyficzny dla białka wpływ na elastyczność międzyfazową powstałych pian. W przypadku wyższych stężeń erytrytolu, zwiększona lepkość roztworu sprawia, że białka nie mogą być zaangażowane w tworzenie filmu międzyfazowego. Podobny efekt występuje w przypadku sacharozy. Luck i wsp. [2006] zaobserwowali, że wyższe stężenia cukrów w roztworach WPI prowadzą do obniżenia τ pian. Właściwości reologiczne pian są zależne od następujących czynników: gęstość piany, zdolność do zatrzymywania powietrza, mikrostruktura, interakcje chemiczne, objętość fazy powietrznej, granica płynięcia, lepkość i elastyczność międzyfazowej fazy ciekłej, które determinują zdolność roztworów białkowych do pienienia [Lau i Dickinson, 2005; Raikos i wsp., 2007a; Yang i Foegeding, 2010].

Podobnie jak w przypadku analizy granicy płynięcia, piany, z wyjątkiem próbki zawierającej 25 % WPI, o stosunku 1:1 białka do erytrytolu, wykazały najlepsze właściwości reologiczne, co znajduje odzwierciedlenie w wartościach modułów: zachowawczego (G') i stratności (G''). Dla wszystkich próbek stosunek 1:2 białka do erytrytolu prowadził do pogorszenia ich parametrów reologicznych. Różnica między wartościami G' i G'' wszystkich próbek była niewielka, co wskazuje, że piany były raczej słabe. Wartości G' i G'' dla wszystkich próbek wzrastały wraz ze wzrostem częstotliwości, a G' było większe niż G'' , co sugeruje znaczące interakcje między białkami w powstałych pianach. Dominację składowej elastycznej nad lepłą można również zaobserwować w słabych żelach. W przypadku pian lub słabych żeli wykazujących ogólnie niskie wartości τ , wyższy wkład energii może spowodować uszkodzenie próbki, co doprowadzi do spadku G'' . W przypadku bardziej elastycznych materiałów, takich jak silne żele i inne układy o wysokich wartościach τ , wzrost częstotliwości staje się obojętny dla ich struktury. Madadlou i wsp. [2020] odnotowali niższe wartości G' i G'' żeli WPI z dodatkiem erytrytolu. Według Cai i wsp. [2017] erytrytol może hamować rozwój tworzenia sieci żelowej. Madadlou i wsp. [2020] postawili hipotezę, że erytrytol może zwiększać uwodnienie cząsteczek białka, zmniejszając rozwój niekowalencyjnych wiązań między cząsteczkami, co pogarsza właściwości tworzonego żelu.

Obserwowana poprawa właściwości reologicznych dla próbek zawierających 15 i 20 % WPI w stosunku 1:1 białka do erytrytolu jest dodatkowo potwierdzona przez wartość kąta fazowego (δ). Tabilo-Munizaga i Barbosa-Cánovas (2005) potwierdzają, że spadek δ jest związany z bardziej elastycznym charakterem pian. Warto zauważyć, że w przypadku próbek o lepszych właściwościach reologicznych, wartości δ odpowiadają wartościom granicy płynięcia. Im niższy był kąt fazowy, tym bardziej elastyczny był układ, a więc piana była bardziej podatna na odkształcenia sprężyste. Ta zależność została już wcześniej opisana wcześniej przez Nastaj i Sołowiej [2020c].

W aparacie Turbiscan oceniono stabilność pian przed utrwaleniem termicznym poprzez analizę widm transmisji i rozpraszania wstecznego, a także wartości współczynnika stabilności Turbiscan [TSI]. **Najmniej stabilne były piany otrzymane bez dodatku erytrytolu, co znajduje odzwierciedlenie w rozstrzelonym rozkładzie skanów. Piany zawierające białko i erytrytol w stosunku 1:1 oraz 1:2 wykazywały odpowiednio węższy i najwęższy rozkład skanów, potwierdzając, że zachodzące procesy destabilizacji przebiegały znacznie wolniej. Stosunek białka do erytrytolu 1:2 był najbardziej efektywny w utrzymaniu stabilności piany.**

Turbiscan Stability Index (TSI) jest wskaźnikiem mieszczącym się w zakresie od 0 do 100 i jest bardzo cennym parametrem wykorzystywanym do oceny stabilności pian. Im bliżej 100, tym bardziej niestabilna była analizowana piana. **Zgodnie z metodologią TSI, próbka zawierająca 15 % WPI w stosunku białka do erytrytolu 1:0 była najmniej stabilna, a próbka 25 % białka w stosunku 1:2 była najbardziej stabilna. W przypadku próbek bez dodatku erytrytolu, TSI zmniejszało się stopniowo wraz ze wzrostem stężenia białka.** Wyższe stężenie erytrytolu powoduje wzrost lepkości roztworu. Badania przeprowadzone przez Berry i wsp. [2009] oraz Yang i Foegeding (2010) wskazywały, że lepkość jest istotnym czynnikiem zapobiegającym koalescencji pęcherzyków powietrza. Hao i wsp. [2016] zaobserwowali zwiększony odciek z piany w przypadku płynnego roztworu całych jaj z erytrytolem. Według Martínez-Padilla i wsp. [2014], wzrost średnicy pęcherzyków powietrza w czasie może nastąpić z powodu dyfuzji powietrza przez warstwę białkową, która jest spowodowana różnicą ciśnień pomiędzy pęcherzykami powietrza (dojrzewanie Oswalda). Rozkład skanów dla próbek o stosunku białka do erytrytolu 1:1 i 1:2 wskazuje, że zjawisko to może być ograniczone przez dodatek erytrytolu. Yang i Foegeding [2011] przeanalizowali wpływ dodatku cukru na mikrostrukturę pian WPI. Ich obserwacje potwierdzają, że sacharoza poprawia stabilność pian ze względu na opóźnione tempo odcieku. Można postawić hipotezę, że podobny mechanizm działa również w przypadku erytrytolu.

W pracy oceniono wpływ stężenia białka i stosunku białka do erytrytolu na parametry tekstury (twardość, kruchość) pian po utrwaleniu termicznym (bezy wysokobiałkowe). **Próbki bez dodatku erytrytolu wykazywały najmniejszą twardość, a parametr ten wzrastał wraz ze wzrostem stężenia białka. Stosunek białka do erytrytolu 1:1 sprzyjał powstaniu twardszych, a 1:2 najtwardszych bez. Najwyższą wartość twardości odnotowano dla próbki zawierającej 25 % WPI przy stosunku erytrytolu do białka 1:2. W konsekwencji, niższe dodatki erytrytolu powodowały, że otrzymane bezy wysokobiałkowe były mniej twarde.** Można przypuszczać, że próbki o większej twardości były mniej sprężyste, a siła ściskająca powodowała, że przy mniejszych wartościach pewne niewielkie fragmenty ich struktury ulegały zniszczeniu. W przypadku otrzymanych próbek, podczas ściskania naprężenia rozluźniają się szybciej nie powodując zniszczenia małych fragmentów struktury. Podsumowując, im wyższa twardość, tym większa odporność na kruszenie (mniejsza łamliwość). Hao i wsp. [2016] również odnotowali wyższe wartości twardości, gdy sacharoza została zastąpiona erytrytolem w produkcji biszkoptów. Autorzy wskazują również, że różne wartości twardości analizowanych próbek były częściowo związane z objętościami końcowych ciast. Jest to najprawdopodobniej spowodowane wzmocnieniem interakcji między białkami. Dodatkowo, w naszym badaniu temperatura wypieku (130 °C) umożliwiła całkowitą nieodwracalną denaturację białek. Autorzy podkreślają również znaczenie właściwości żelujących WPI po obróbce termicznej, tworzenie sieci białkowej, różny skład produktu, który może wpływać na teksturę otrzymanych bez wysokobiałkowych. Psimouli i Oreopoulou [2012] stwierdzają, że erytrytol zapewnia podobne do sacharozy parametry twardości ciastek. Z drugiej strony, Ronda i wsp. [2005] informują o negatywnym wpływie na jakość bezcukrowych biszkoptów, gdy sacharoza została zastąpiona poliolami. Postuluje się, że różnice te można

wyjaśnić różnicami między alkoholami cukrowymi a sacharozą, które obejmują: rozpuszczalność w wodzie, masy cząsteczkowe, higroskopijność [Ghosh i Sudha, 2012]. Raikos i wsp. [2007b] wspominają, że wywoływane temperaturą żelowanie białek jest niezbędne do produkcji bez, a zjawisko to wpływa na właściwości teksturalne produktów końcowych. Kulmyrzaev i wsp. [2000] oraz Raikos i wsp. [2007b] stwierdzają, że białka jako pierwsze ulegają denaturacji podczas pieczenia. Następnie rozłożone cząsteczki białka oddziałują z innymi cząsteczkami, tworząc agregaty, które w konsekwencji tworzą sieć żelową.

Stwierdzono, że szorstkość powierzchni otrzymanych bez wysokobiałkowych była zależna od zawartości białka i erytrytolu. Wyniki wskazują, że wyższe stężenia erytrytolu powodowały zmniejszenie szorstkości powierzchni. **Najwyższe parametry szorstkości odnotowano dla bez otrzymanych bez dodatku erytrytolu. Można zauważyć, że wzrastały one wraz ze wzrostem stężenia białka. Najbardziej szorstką strukturę reprezentowała próbka zawierająca 25 % WPI bez dodatku erytrytolu. W przypadku próbek bez otrzymanych w stosunku 1:1 i 1:2 białka do erytrytolu, zwiększony dodatek erytrytolu spowodował stopniowe wygładzanie powierzchni, a otrzymane bezy wykazywały mniejszą szorstkość powierzchni, co wykazały zdjęcia z profilometru optycznego. Powierzchnia bezy otrzymanej z 25 % WPI o stosunku białka do erytrytolu wynoszącym 1:2 okazała się najgładsza.** Yang i Foegeding [2010] stwierdzają, że większa ilość sacharozy może powodować gruboziarnistą lub nawet zapadniętą strukturę podobnych układów z powodu pęknięcia i zapadania się pęcherzyków. Podczas utrwalania termicznego pęcherzyki powietrza rozszerzają się wraz ze wzrostem temperatury i zapadają się z powodu pęknięcia błon białkowych. Efekt ten nie został jednak zaobserwowany w naszych badaniach. Madadlou i wsp. [2020] donoszą, że siły przyciągania i odpychania międzycząsteczkowego, takie jak: oddziaływania elektrostatyczne i hydrofobowe, wpływają na właściwości powierzchni. Díaz-Ramírez i wsp. [2016] podkreślają, że białka serwatkowe konkurują z sacharozą o dostępną wodę, zatem wraz ze wzrostem stężenia białka, stabilność sacharozy spada, powodując jej krystalizację pod wpływem ciepła. Na podstawie naszych obserwacji można założyć, że podobne mechanizmy dotyczą również erytrytolu.

Ze względu na wysoką hydrofilowość powierzchni badanych bez, pomiary kąta zwilżania cieczy polarnych były niemożliwe do wykonania. Wykonano za to badania kinetyki zwilżania. Analizowane bezy wysokobiałkowe wykazały bardzo zróżnicowaną kinetykę rozplływania się wody na ich powierzchniach. Kinetyka zwilżania korespondowała z szorstkością analizowanych bez. **Próbki bez wysokobiałkowych bez dodatku erytrytolu wykazały największą kinetykę zwilżania, czas rozplływania wzrastał wraz ze wzrostem stężenia białka. Najwyższą wartość (67,5 s) odnotowano dla bez zawierających 25 % WPI. Spośród wszystkich próbek, kinetyka zwilżania drastycznie spadała, gdy zastosowano większe dodatki erytrytolu. Próbka zawierająca 25 % WPI ze stosunkiem białka do erytrytolu 1:2 charakteryzowała się najmniejszą wartością tego parametru, rozplywanie się kropli wody na jej powierzchni trwało najkrócej (0,75 s).** Erytrytol jest zdecydowanie bardzo silnym składnikiem hydrofilowym i może zmniejszać oddziaływania hydrofobowe między białkami oraz kąt zwilżania badanych powierzchni, dzięki czemu woda łatwiej rozplwiała się na powierzchni badanych bez wysokobiałkowych. Wzrost kinetyki zwilżania może być wypadkową szorstkości. Większy dodatek erytrytolu spowodował uzyskanie mniej szorstkich (gładszych) i bardziej hydrofilowych (zwilżalnych) powierzchni bez wysokobiałkowych. Można założyć, że w przypadku próbek o większej zawartości erytrytolu (proporcje 1:1 i 1:2), pomimo ich znacznej twardości, będzie je łatwiej spożywać w wyniku niskiej kinetyki zwilżania się, bezpośrednio w jamie ustnej poprzez szybsze uwolnienie śliny, lub przygotowane w misce z mlekiem w formie przekąski śniadaniowej.

Uzyskane zdjęcia mikroskopowe powierzchni bez wysokobiałkowych stanowią pomocny model do analizy przekształcenia pian ciekłych w piany stałe. Różne dodatki erytrytolu spowodowały uzyskanie zróżnicowanych mikrostruktur. Stosunek białka do erytrytolu 1:1 skutkowało zwiększeniem rozmiaru pęcherzyków. Ich zwarta mikrostruktura wykazywała równomierne rozproszenie małych i średnich pęcherzyków powietrza rozmieszczonych równomiernie oraz grubsze błony lamelarne, w porównaniu do próbek bez dodatku erytrytolu. Można wyraźnie zauważyć, że próbki o stosunku białka do erytrytolu 1:2 charakteryzują się amorficznymi obszarami, pustymi przestrzeniami z niewielką ilością pęcherzyków powietrza, które częściowo uległy koalescencji lub pękły podczas utrwalania termicznego. Ze względu na większą lepkość roztworu przed spienianiem, najgrubsze błony lamelarne były skuteczną barierą dla adsorpcji białek i zatrzymania powietrza na granicy faz. **Wyniki wskazują, że stosunek białka do erytrytolu 1:1 jest optymalny dla utrzymania pęcherzyków powietrza, które determinują jednolitą napowietrzoną strukturę bez.**

Zwiększenie stężenia WPI i erytrytolu skutkowało zwiększoną objętością wypiekową (stosunek wysokości do średnicy) próbek bez wysokobiałkowych. Warto zauważyć, że nie powstały żadne pęknięcia ani wady jakościowe, które powszechnie występują w produktach cukierniczych. Manisha i wsp. [2012] twierdzą, że pęcherzyki powietrza mogą rozszerzać się pod wpływem pary wodnej, zanim struktura ciasta się utwali. W ten sposób struktura wypiekowa ciasta ma zwiększoną objętość. Co więcej, pseudoplastyczne właściwości ciasta pozwalają na jego większą ekspansję, a zwiększona lepkość zapobiega zapadaniu się pian przed i w trakcie wypieku. Badania przeprowadzone przez Berry i wsp. [2009] udowadniają, że sacharoza wpływa na końcową objętość ciast biszkoptowych uzyskanych z WPI. Według Yang i Foegeding [2010], sacharoza tutaj działa zarówno jako substancja słodząca, jak i wypełniająca. Na podstawie przeprowadzonych analiz można przypuszczać, że podobne mechanizmy obserwuje się w przypadku erytrytolu.

Na podstawie badań można wnioskować, że erytrytol dodany w proponowanych ilościach może całkowicie zastąpić sacharozę w produkcji wysokobiałkowych bez otrzymanych z WPI. Stosunek białek do erytrytolu 1:2 był niekorzystny dla wydajności pienienia i właściwości reologicznych pian ciekłych przed utrwaleniem termicznym, jednak spowodował poprawę stabilności i końcowych objętości wypiekowych otrzymanych bez. Wyższe stężenia erytrytolu powodowały efekt wygładzenia, a uzyskane powierzchnie bez były mniej szorstkie. Parametry tekstury, takie jak: twardość i kruchość wzrastały wraz ze wzrostem stężenia białka i erytrytolu. Próbki bez erytrytolu charakteryzowały się największą kinetyką zwilżania, czas rozprzestrzeniania się kropli wody na powierzchni otrzymanych bez drastycznie zmniejszał się wraz ze wzrostem stężenia ze względu na rosnący hydrofilowy charakter badanej powierzchni. Stosunek białka do erytrytolu 1:1 był najbardziej efektywny w utrzymaniu jednolitej napowietrzonej struktury i pęcherzyków powietrza, jednak stosunek 1:2 skutkowało zwiększeniem objętości wypiekowej bez. Jak wykazano w skali laboratoryjnej, erytrytol wykazuje podobną wydajność jako środek wypełniający i kształtujący teksturę, gdy zastępuje sacharozę w przemyśle cukierniczym. Ponadto jego zastosowanie znacząco przyczynia się do powstania pożądanego składu odżywczego i niższej wartości energetycznej. Warto zauważyć, że możliwe jest opracowanie receptur o jeszcze niższej zawartości erytrytolu niż zaproponowana w tym badaniu.

4.5.4. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych wysokobiałkowych, nietemperowanych, bezcukrowych czekolad deserowych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu

W badaniach opracowano metodę otrzymywania wysokobiałkowych, nietemperowanych, bezcukrowych czekolad deserowych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu (publikacja H4).

Czekolada deserowa jest spożywana głównie ze względu na swoje właściwości sensoryczne, a nie odżywcze [Toker i wsp., 2019]. Jest uważana za nośnik przeciwutleniaczy ze względu na obecność katechin skutecznych w wychwytywaniu wolnych rodników [Todorovic i wsp., 2015]. W swoim składzie zawiera też sacharozę (około 30 % lub więcej), która ma ogromne znaczenie w produkcji czekolady, ponieważ zapewnia słodycz, jest środkiem wypełniającym, kształtuje teksturę, wzmacnia aromat i odpowiada za odczucie w ustach [Aidoo i wsp., 2013].

Zjawisko wykwitania występuje w produkcji tradycyjnych czekolad zawierających sacharozę. Wykwitanie jest zdefiniowane jako występowanie szaro-białych plam na powierzchni czekolady [Kim, 2013]. Jest ono spowodowane stosunkowo dużymi ilościami tłuszczu i cukru obecnymi w czekoladzie, a także niewłaściwym przechowywaniem produktu. Chociaż to zjawisko jest całkowicie nieszkodliwe dla konsumentów, w cukiernictwie jest uważane za poważną wadę czekolady [Afoakwa i wsp., 2009a]. Wykwitania można uniknąć poprzez temperowanie. Operacja ta ma na celu zapewnienie pożądanej krystalizacji masła kakaowego i ukształtowanie odpowiednich właściwości sensorycznych [Son i wsp., 2018]. Temperowanie jest kosztownym etapem ze względu na duże zużycie energii i długi czas prowadzenia operacji [Saputro i wsp., 2019].

Oryginalne badania zawarte w pracy dostarczają informacji na temat wpływu składu wysokobiałkowych, nietemperowanych deserowych czekolad bezcukrowych z dodatkiem izolatu białek serwatkowych (WPI) i erytrytolu. Praca miała na celu ocenę wpływu obu związków na teksturę, właściwości powierzchniowe pod względem zjawiska wykwitania i topliwości czekolad deserowych.

Na wstępnym etapie opracowywania receptur, świadomie pominięto zabieg temperowania, ponieważ uzyskane wyniki były bardzo zadowalające. Przebadano pięć nietemperowanych receptur czekolad deserowych. Zawartość białek serwatkowych i erytrytolu zostały określone eksperymentalnie w badaniach wstępnych. W przypadku zawartości WPI, kierowano się głównie ilością pełnowartościowego białka, które może być przyswojone przez organizm ludzki w jednej porcji (~30 g). Planowano również produkcję czekolady o jeszcze większej zawartości białka (>30%), ale spowodowało to kilka problemów technologicznych. Ze względu na bardzo wysoką lepkość i bardzo słabą płynność, trudno było ją prawidłowo wlać do formy, odpowiednio wypoziomować i uformować w tabliczkę. Również wyjmowanie z formy było bardzo problematyczne. W czasie spożywania czekolada przyklejała się do podniebienia i zębów. Z tych powodów zdecydowano o utrzymaniu maksymalnej ilości białka na poziomie 24 %. Jeśli chodzi o ilość erytrytolu, zdecydowano nie przekraczać dziennej bezpiecznej dawki (35-40 g) w żadnej próbce wyprodukowanej czekolady. **Dla porównania wyprodukowano dwie próbki kontrolne czekolady bez dodatku białek serwatkowych, jedną z sacharozą (D), a drugą z erytrytolem (D0) w oparciu o tradycyjną recepturę. Czekolady deserowe z największym, średnim i najmniejszym dodatkiem WPI zawierały odpowiednio: 24 (D3), 20 (D2) i 16 % (D1) białka.**

Podczas przeprowadzania analizy lepkości płynnych czekolad deserowych w reometrze (przed wlaniem do form), dla wszystkich analizowanych próbek stwierdzono, że lepkość

zmniejszała się wraz ze wzrostem szybkości ścinania i wzrastała wraz ze wzrostem dodatku WPI. **Najwyższą lepkość zaobserwowano dla próbki z maksymalną zawartością WPI (D3), a wartości lepkości próbek referencyjnych, z sacharozą (D) i erytrytolem (D0), okazały się najmniej lepkie, ich wartości były porównywalne.** Lepkość czekolady płynnej istotnie wpływa na końcową jakość czekolady ze względu na kształtowanie takich cech jak: tekstura i odczucie w ustach [Glicerina i Romani, 2016]. Można przypuszczać, że wyższe dodatki WPI powodują wzrost poziomu pokrycia cząstek erytrytoli i masy kakaowej, co przyczynia się do zwiększenia oddziaływań międzycząsteczkowych i zwiększenia lepkości otrzymanych czekolad. Białka serwatkowe mogą również działać jako immobilizator tłuszczów w fazie ciągłej. Wpływ białek serwatkowych na lepkość czekolady jest proporcjonalnie znacznie większy niż erytrytoli. Sokmen i Gunes [2006] zaobserwowali, że czekolady wykonane z ksylitolu i maltitolu miały podobną lepkość niż czekolada referencyjna z sacharozą. Można założyć, że erytrytol może wykazywać podobny efekt ze względu na powinowactwo do tych polioli. Afoakwa i wsp. [2009a] i Afoakwa i wsp. [2009b] stwierdzili, że właściwości reologiczne czekolad deserowych były w dużej mierze związane z rozkładem wielkości cząstek i zawartością tłuszczu. Tłuszcz może wykazywać efekt lubrykantu, więc przez to lepkość czekolad może się znacznie zmniejszać [Ziegler i wsp., 2001]. Efekt ten można zaobserwować w przypadku próbek referencyjnych z sacharozą (D) i erytrytolem (D0), które zawierają najwięcej tłuszczu pochodzącego z masła kakaowego. W przypadku otrzymanych czekolad wysokobiałkowych istotne było również pominięcie procesu temperowania. Według Vivar-Vera i wsp. [2014], operacja ta prowadzi do degradacji agregatów i wielkości cząstek, co w konsekwencji zmniejsza lepkość czekolady.

Zbadano wpływ składu otrzymanych czekolad deserowych na właściwości powierzchniowe, wartości kątów zwilżania: postępującego (Θ_a), cofającego (Θ_r), pozornej swobodnej energii powierzchniowej (γ_s) i szorstkość powierzchni. **Próbki referencyjne czekolad deserowych bez WPI, z sacharozą (D) i erytrytolem (D0) wykazały najwyższe wartości kątów zwilżania, ich wartości były porównywalne. W przypadku próbek z dodatkiem białek serwatkowych, wartości Θ_a i Θ_r wzrastały wraz ze wzrostem dodatku białek serwatkowych. Zmiany wartości kątów zwilżania wykazały, że wyższe stężenia białek serwatkowych modyfikowały właściwości badanych powierzchni czekolad. Wyższe stężenia WPI spowodowały powstanie bardziej hydrofobowych (mniej zwilżalnych) powierzchni czekolad, co zostało dodatkowo potwierdzone przez odpowiadające malejące wartości pozornej swobodnej energii powierzchniowej.** Na właściwości powierzchniowe czekolad wpływają oddziaływania między składnikami czekolady, jak również tworzenie wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami polarnymi. Narine i Marangoni [1999] podkreślają rolę sił van der Waalsa w tworzeniu interakcji tłuszcz-tłuszcz w maśle kakaowym. Z kolei, erytrytol wykazuje zdecydowanie bardzo silne właściwości hydrofilowe, które mogą zmniejszać oddziaływania hydrofobowe pomiędzy białkami oraz kąt zwilżania, dzięki czemu kropla woda łatwiej rozplywa się na powierzchni badanych czekolad. Można wywnioskować, że zwiększone stężenia WPI zmniejsza oddziaływania polarne, przyczyniając się tym samym do zwiększenia oddziaływań hydrofobowych na powierzchni czekolady, co z kolei spowodowało wzrost wartości kątów zwilżania. Madadlou i wsp. [2020] postulują, że erytrytol może zmniejszać tworzenie niekowalencyjnych wiązań między białkami serwatkowymi. Autorzy podkreślają również rolę sił międzycząsteczkowych, takich jak: oddziaływania elektrostatyczne i hydrofobowe, które wpływają na właściwości powierzchni. Frazier i Hartel [2012] stwierdzają, że kryształy tłuszczu o niskiej temperaturze topnienia mogą migrować na powierzchnię czekolady i rekrystalizować, a tym samym modyfikować hydrofobowość powierzchni.

Zdjęcia z profilometru optycznego wykazywały wyraźne różnice w szorstkości uzyskanych czekolad deserowych. **Próbka kontrolna czekolady deserowej z sacharozą (D) była najbardziej szorstka, wyniki z profilometru optycznego wyraźnie wskazują na występowanie wykwitów i sugerują, że ta czekolada powinna być temperowana. W przypadku próbki kontrolnej z erytrytolem (D0) i czekolad z dodatkiem WPI (D1, D2 i D3), dla których wykwitanie, pomimo braku temperowania nie nastąpiło, topografia powierzchni różniła się nieznacznie od gładziej do bardziej szorstkiej, gdy stężenie WPI wzrastało. Próbka z największą zawartością białka (D3) była najbardziej szorstka, podczas gdy próbka referencyjna z erytrytolem (D0) okazała się najbardziej gładka.** Wzrost szorstkości czekolad z dodatkiem WPI może być związany z wartościami kąta zwilżania (próbki o większej zawartości białka są bardziej hydrofobowe). Najprawdopodobniej wpływ na to ma obecność wiązań dwusiarczkowych w strukturze białek serwatkowych, które mogą koncentrować się na powierzchni i powodować wzrost oddziaływań hydrofobowych czekolad. **W przypadku tych próbek, topografia powierzchni i niskie parametry szorstkości wskazują, że wykwit nie wystąpił.** Można to wytłumaczyć faktem, że w otrzymanych wysokobiałkowych czekoladkach deserowych znaczna część masła kakaowego została zastąpiona WPI, co mogło naturalnie ograniczać ten proces. Ponadto można stwierdzić, że białka serwatkowe mogą wiązać nadmiar wody, a usuwanie wody jest jednym z głównych celów temperowania. W tradycyjnych czekoladach wykwit jest związany z krystalizacją cukru lub migracją tłuszczu. W przypadku erytrytolu można założyć, że wysoka higroskopijność i niska aktywność wody ograniczają jego zdolność do krystalizacji powierzchniowej i jednoczesnego kwitnienia. Może on również pochłaniać więcej wilgoci, co potwierdzają wartości kąta zwilżania. Według Flambeau i wsp. [2012], syrop maltitolowy może skutecznie hamować tworzenie się kryształów, a Kim [2013] stwierdził, że czekolady z dodatkiem maltitolu wykazywały mniej kryształów tłuszczu na powierzchni czekolady niż czekolady z dodatkiem sacharozy. Można zatem postawić hipotezę, że podobny mechanizm dotyczy również erytrytolu, co można założyć na podstawie podobieństwa chemicznego obu polioli. Son i wsp. [2018] stwierdzają, że maltitol ma działanie zapobiegające kwitnieniu, a jego lepsza stabilność podczas krystalizacji, w porównaniu do sacharozy, może wpływać na ograniczenie kwitnienia w czekoladach. Według Becketta [2008] cechy wizualne czekolady, takie jak: szorstkość, połysk i kolor wpływają na decyzję konsumentów o zakupie produktu.

Ocena tekstury badanych czekolad deserowych wykazała, że próbki referencyjne z sacharozą (D) i erytrytolem (D0) okazały się najmniej twarde. Zwiększenie dodatku WPI wpłynęło na twardość i siłę łamania otrzymanych czekolad, oba parametry wzrastały wraz ze wzrostem dodatku białek serwatkowych. Próbka o najwyższej zawartości białka (D3) wyróżniała się najwyższą twardością, wykazując najbardziej spójną strukturę podczas testu penetracji i łamania. Próbki z najniższą (D1) i średnią zawartością (D2) WPI wykazywały odpowiednio niższe poziomy twardości. Właściwości mechaniczne czekolad przypisuje się kombinacji różnych mechanizmów chemicznych, termodynamicznych i fizycznych. Mogą one obejmować agregację białek w wyniku tworzenia wiązań dwusiarczkowych i interakcji niekowalencyjnych [Zhou i wsp., 2013], jak również zawartość wody i zjawisko separacji faz [Hogan i wsp., 2012]. Co więcej, właściwości czekolad są skorelowane z cechami tekstury, siłą łamania czekolad w rękach, te atrybuty bezpośrednio determinują wybór konsumentów [Kim i wsp., 2012]. Według Tan i Balasubramanian [2017], parametry te są związane z rodzajem i stężeniem tłuszczu, rodzajem substancji słodzącej i rozkładem wielkości cząstek. Można stwierdzić, że wyższe stężenia białek serwatkowych poprawiły twardość czekolad poprzez tworzenie sieci białkowej i zwiększenie wielkości cząstek, ponieważ WPI może zapewnić więcej możliwości interakcji między składnikami czekolady. Zhao i wsp. [2018] stwierdzili, że czekolady o większych rozmiarach cząstek wykazują zwiększoną twardość, co może być związane ze zwiększonym stężeniem związków

beztłuszczowych, takich jak WPI. Afoakwa i wsp. [2009a] stwierdzili, że twardość czekolady deserowej wzrasta wraz ze spadkiem stężenia tłuszczu i wzrostem interakcji między składnikami, które są silniejsze niż interakcje tłuszcz-tłuszcz. Reinke i wsp. [2016] podkreślili rolę pęcherzyków powietrza, które mogą powstawać podczas mieszania czekolady, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia gęstości i powstania naprężeń pękających. Można założyć, że WPI może działać jako aktywny składnik wypełniający te luki, a tym samym wzmacniający strukturę analizowanych czekolad. Wreszcie, wyższe stężenia białek serwatkowych mogą zmniejszać smarujący efekt tłuszczu, a w konsekwencji powodować, że otrzymane tabliczki czekolady są bardziej odporne na odkształcenia mechaniczne, co zostało potwierdzone w badaniach lepkości. Son i wsp. [2018] twierdzą, że czekolady z wykwitami wykazują niższą twardość z powodu zjawiska migracji tłuszczu. Ma to miejsce, gdy wewnętrzny tłuszcz migruje na powierzchnię czekolady, sprzyjając zapadaniu się wewnętrznej matrycy czekolady, co może odnosić się również do referencyjnej próbki czekolady z sacharozą (D).

Wyniki aktywności wody (a_w) dla otrzymanych czekolad deserowych wskazują, że nie nastąpi wzrost drobnoustrojów, a produkty są całkowicie bezpieczne, ponieważ wartość a_w wyniosła poniżej 0,5. Według Nascimento i wsp. [2012] wartości aktywności wody pomiędzy 0,25-0,50 określają czekolady jako produkt stabilny mikrobiologicznie. **Dla wszystkich analizowanych czekolad, aktywność wody wykazywała spadek wraz ze wzrostem dodatku WPI. Najwyższą wartość a_w odnotowano dla próbki referencyjnej z sacharozą (D), a najniższą dla próbki z największym dodatkiem WPI (D3).** Niewątpliwie wpływ na ten stan ma wartość aktywności wody samego WPI, która wynosi 0,241. Na tak niskie wartości a_w może mieć również wpływ dodatek erytrytolu, jego higroskopijność i dostępne grupy hydroksylowe. Grupy te wiążą wolną wodę, w tym tę pochodzącą z masy kakaowej. Jang i wsp. [2015] również podkreślają znaczenie mas cząsteczkowych polioli i ich wpływ na zmniejszenie aktywności wody. Ponieważ masa cząsteczkowa erytrytolu jest wyższa niż sacharozy, jego roztwór ma większe ciśnienie osmotyczne niż identyczny roztwór sacharozy. Warto podkreślić, że niskie wartości aktywności wody mogą wiązać się z mniejszą zdolnością erytrytolu do krystalizacji, co tym samym potwierdza możliwość pominięcia zabiegu temperowania czekolad w celu eliminacji zjawiska wykwitania w otrzymanych próbkach czekolady.

Na podstawie analizy koloru badanych czekolad, można zauważyć, że ich skład miał niewielki wpływ na parametry barwy. **Współrzędne a^* i b^* nie zmieniały się znacząco, jednak zaobserwowano nieznaczne spadki wraz z większym dodatkiem WPI. W praktyce oznacza to, że otrzymane czekolady były bardziej zielone (lub mniej czerwone) i bardziej niebieskie (mniej żółte).** Warto wspomnieć, że pomimo braku operacji temperowania, uzyskane powierzchnie czekolady były błyszczące, a w przypadku luminescencji (L^*), **większe dodatki WPI promowały powierzchnie o mniejszej wartości L^* , jednak różnice nie były wyraźne między badanymi czekoladami.** Spadek L^* jest spowodowany wzrostem ilości cząstek rozpraszających światło, głównie białek serwatkowych. Otrzymane wyniki są zgodne z badaniami Briones i wsp., [2006], którzy zaobserwowali odwrotną zależność między szorstkością powierzchni a luminescencją, wraz ze wzrostem szorstkości, połysk czekolady zmniejszał się. Przyczyną spadku połysku przy wyższych wartościach szorstkości było prawdopodobnie większe rozpraszanie światła przez coraz bardziej nieregularne i szorstkie powierzchnie [Keyf i Etikan, 2004]. W przypadku próbek referencyjnych z sacharozą (D) i erytrytolem (D0), im wyższa była zawartość masy kakaowej, tym niższą wartość luminescencji można było zaobserwować. Podobnie zaobserwowali również Chire Fajardo i wsp. [2017]. Ponadto, Pastor i wsp. [2007], którzy badali tradycyjne receptury czekolady deserowej,

stwierdzili, że większa zawartość kakao w produkcji sprawia, że barwa jest bardziej stabilna podczas przechowywania.

Badanie topliwości czekolad przeprowadzono w aparacie Turbiscan poprzez ocenę rozpraszania wstecznego i odpowiadających im wartości współczynnika stabilności Turbiscan (TSI). **Próbka czekolady z najwyższą zawartością WPI (D3) wykazała najwyższą odporność na topnienie, co znajduje odzwierciedlenie w rozkładzie skanów. Próbki czekolady z najmniejszą (D1) i średnią (D2) zawartością WPI upłynniały się łatwiej i wykazywały zupełnie inną dynamikę rozpraszania wstecznego. Próbki referencyjne z sacharozą (D) i erytrytolem (D0) były najbardziej podatne na topnienie.** Topliwość czekolady jest ważna dla jej właściwości sensorycznych: smaku i uwalniania aromatu [Aidoo i wsp., 2015]. Smith [2011] podkreśla, że topliwość czekolady jest związana ze składem kwasów tłuszczowych masła kakaowego. Kwasy jednonienasycone (MUFA) lub wielonienasycone (PUFA) są łatwiejsze do stopienia, a długołańcuchowe lub nasycone kwasy tłuszczowe wolniej ulegają stopieniu, te różnice mają również bezpośredni wpływ na teksturę końcowej czekolady. Największy dodatek WPI (D3) był najbardziej efektywny w stabilizowaniu matrycy czekolady przed topnieniem. Może to wynikać z faktu, że białka serwatkowe mogą unieruchamiać migrację tłuszczu, który jest fazą ciągłą i zmniejszać jego pozorną lepkość oraz zwiększać barierę energetyczną do pokonania [Sierra Muñeton i Katime, 2006]. Należy również wspomnieć, że obecność erytrytolu może również zwiększać stabilność termiczną białek serwatkowych.

Zwiększone stężenie WPI miało znaczący wpływ na stabilność otrzymanych czekolad deserowych przed topnieniem, co dodatkowo potwierdzają odpowiednie malejące wartości TSI. Współczynnik stabilności Turbiscan zawiera się w zakresie od 0 do 100 i jest użytecznym parametrem do określenia stabilności czekolady. Im bliżej 100, tym analizowana czekolada jest bardziej niestabilna. Warto zauważyć, że zgodnie ze skalą TSI, wartości TSI powyżej 10 są zarezerwowane dla stabilnych systemów, takich jak czekolady deserowe. **Zgodnie z metodologią TSI, próbka z największą zawartością WPI (D3) była najbardziej stabilna, dla próbek o średniej (D2) i najniższej zawartości WPI (D1), wartość TSI stopniowo wzrastała wraz ze spadkiem stężenia WPI. Najwyższe wartości TSI odnotowano dla próbek kontrolnych z sacharozą (D) i erytrytolem (D0), co tylko potwierdza najniższą stabilność tych próbek.** Niedawno, Nastaj i in. [2020b] przeanalizowali topliwość wysokobiałkowych serów topionych z dodatkiem WPI i również stwierdzili spadek wartości TSI wraz ze wzrostem dodatku białka w próbkach.

Zdjęcia z mikroskopu konfokalnego wykazały różnice w strukturach analizowanych wysokobiałkowych czekoladach deserowych. Białe obszary były reprezentowane przez erytrytol, a granatowe ilustrują fazę białek serwatkowych. Wszystkie składniki były równomiernie rozmieszczone w matrycy czekolady. **Można zauważyć, że białka serwatkowe są w pełni włączone w tworzenie sieci strukturalnej czekolady, zapewniając lepszą aglomerację i unieruchomienie tłuszczu w szczelinach między cząstkami stałymi.** Najwyższe stężenie WPI wpłynęło na bardziej upakowaną i gęstszą strukturę czekolady (D3). **Próbka ta cechowała się również najbardziej zaglomerowanymi cząstkami i mniejszą ilością luk, najprawdopodobniej wypełnionych białkami serwatkowymi.** Zdjęcia z mikroskopu konfokalnego pomogły wyjaśnić różnice odnotowane dla próbek czekolady podczas analiz lepkości, tekstury i topliwości. Według Afoakwa i wsp. [2009a] czekolada deserowa wykazuje najprostszą mikrostrukturę ze wszystkich odmian czekolady. Jest ona definiowana przez słabo zagregowaną sieć składającą się z masła kakaowego i innych substancji stałych, takich jak: cukier i kakao. Braipson-Danthine i Deroanne [2004] podkreślili, że właściwości mikrostrukturalne czekolady determinują jej atrybuty w skali makro, czyli twardość i rozpuszczanie się w ustach.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że izolat białek serwatkowych i erytrytol odegrały istotną rolę w kształtowaniu właściwości teksturalnych otrzymanych czekolad deserowych. Zastosowanie obu dodatków pozwoliło wyeliminować zabieg temperowania badanych czekolad, co wyraźnie udowodniły uzyskane wartości szorstkości powierzchni dla próbek D0, D1, D2 i D3. Większa zawartość białka prowadziła do zwiększonej lepkości czekolad (mniejsza płynność) i zwiększonych wartości aktywności wody czekolad, wskazując na ochronne działanie białek serwatkowych i erytrytolu przed zepsuciem mikrobiologicznym. Próbkę czekolady o większej zawartości białka były bardziej odporne na odkształcenia i wymagały większych sił do złamania. Największy dodatek WPI zapewniał większą stabilność matrycy czekoladowej przed stopieniem, co potwierdziły analizy w Turbiscan i odpowiadające im wartości TSI. Wyższe stężenie WPI skutkowało nieznacznie zwiększoną szorstkością powierzchni i promowało bardziej hydrofobowy charakter czekolad, ale wykazało niewielki wpływ na ich parametry koloru. W analizowanych próbkach czekolad mikroskopia konfokalna potwierdziła różnice w lepkości i teksturze, tj. odporność na łamanie i zmiany w ich topliwości.

4.5.5. Otrzymywanie i ocena właściwości fizykochemicznych bezcukrowych makaroników wysokobiałkowych na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z dodatkiem erytrytolu

W oryginalnych badaniach opracowano nowatorską metodę otrzymywania wysokobiałkowych, bezcukrowych makaroników na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) z dodatkiem erytrytolu (publikacja H5).

Francuskie makaroniki to produkty cieszące się dużym zainteresowaniem konsumentów. Jest to bardzo słodki wyrób cukierniczy na bazie bezy, składający się z ubitych białek jaj, cukru, cukru pudru i mąki migdałowej. Makaroniki nie zawierają proszku do pieczenia, a ich napowietrzona struktura kształtuje się podczas pieczenia poprzez uwalnianie pary z ubitych białek jaj.

Sacharoza jest składnikiem zapewniającym formę makaronikom, a także przyczynia się nie tylko do smaku, słodczy, ale także zapewnia im unikalną strukturę i lekkość [Wilderjans i wsp., 2013]. Cukier stabilizuje masę makaronową poprzez zwiększenie lepkości, dzięki czemu jest ona gęstsza i mniej podatna na zapadanie się po uformowaniu właściwych makaroników [Potter, 2010]. Jest wiele przepisów na makaroniki, różniących się między sobą proporcjami sacharozy, jednakże wszystkie można uznać za bardzo bogate w cukier [McGee, 1984].

Oprócz wad albuminy jaja kurzego przedstawionych wcześniej w opisie celu osiągnięcia naukowego, przy otrzymywaniu makaroników, należy dodatkowo wspomnieć o kwestii przygotowania (odwodnienia) białek jaj do produkcji piany na masę makaronikową. Jest to dość energio- i czasochłonny proces, ponieważ odparowanie wody z białek jaj może trwać od 24 godzin do 5 dni w temperaturach chłodniczych. Nie ma to miejsca w przypadku odtworzonych roztworów izolatu białek serwatkowych, ponieważ sporządzając mianowany roztwór WPI, sami decydujemy o finalnym stężeniu białka.

W celu sprawdzenia erytrytolu jako potencjalnego zamiennika sacharozy w produkcji makaroników, w pracy zastosowano dodatki erytrytolu na poziomie 20, 40 i 60 g. W opracowanej recepturze, podstawę do wyprodukowania masy makaronikowej stanowił 20 % roztwór WPI oraz mąka migdałowa w ilości 125 g. Dla porównania recepturę wyprodukowano próbkę kontrolną makaroników bez dodatku erytrytolu (E0). Zatem, łącznie otrzymano i przebadano cztery partie wysokobiałkowych, bezcukrowych makaroników, przypisując im następujące kody: E0, E20, E,40, E60.

W badaniach reologicznych oceniono wpływ erytrytolu na wartość granicy płynięcia (τ), modułu sprężystości (G'), modułu stratności (G'') i kąta fazowego (δ) otrzymanych mas makaronikowych przed utrwaleniem termicznym. **Zwiększenie zawartości erytrytolu do 40 g poprawiało parametry reologiczne masy makaronikowej, próbka ta była najbardziej sztywna, co znajdowało odzwierciedlenie w wartościach τ , G' i G'' . Próbka masy makaronikowej z zawartością erytrytolu 40 g wykazała najwyższą wartość τ .** Można postulować, że niższe stężenia erytrytolu (20 g i 40 g) modyfikowały lepkość masy makaronikowej. Według Lau i Dickinson [2005], mniejsza lepkość pozwala na wprowadzenie większej ilości powietrza do masy, co skutkuje większym średnim rozmiarem pęcherzyków powietrza. Mechanizm ten został wcześniej opisany przez Nastaj i wsp. [2021], którzy badali właściwości reologiczne podobnych układów, pian WPI z erytrytolem przeznaczonych do produkcji wysokobiałkowych bez. **W całym badanym zakresie erytrytolu najbardziej drastyczny spadek τ zaobserwowano dla próbki zawierającej 60 g erytrytolu.** Spadek τ przy najwyższym stężeniu erytrytolu może być związany ze zwiększoną lepkością masy, która uniemożliwiała białkom zaangażowanie się w tworzenie filmu międzyfazowego. Luck i wsp. [2006] oraz Nastaj i wsp. [2021] wyjaśnili, że wyższe stężenia sacharozy wpłynęły na spadek wartości parametrów reologicznych pian na bazie WPI. Sacharoza stwarza mniej korzystne warunki termodynamiczne do rozładowywania się białek serwatkowych i interakcji białko-białko. W ten sposób więcej białka może być zaangażowane w tworzenie i stabilizację filmu ze względu na zmniejszoną agregację białka w obecności cukru [Dickinson i Matia-Merino, 2002; Belyakova i wsp., 2003]. Na podstawie podobieństw w strukturze chemicznej erytrytolu do sacharozy można założyć, że ten sam mechanizm występuje również w tym przypadku. **Najniższe wartości G' i G'' zaobserwowano dla próbki masy makaronikowej zawierającej 60 g erytrytolu, co potwierdziło spadek jej właściwości reologicznych. Poprawa właściwości reologicznych dla próbek mas zawierających 20 i 40 g erytrytolu jest dodatkowo potwierdzona przez wartości kąta fazowego.** Różnice w G' i G'' oraz dominacja komponentu elastycznego (G') nad lepkiem (G''), obserwowane dla wszystkich, próbek wskazują na interakcje między białkami serwatkowymi i erytrytolem w otrzymanych masach. Takie zachowanie jest również charakterystyczne dla słabych żeli fizycznych [Tabilo-Munizaga i Barbosa-Canovas, 2005; Madadlou i wsp., 2020]. Również Cai i wsp. [2017] stwierdzili, że cząsteczki erytrytolu mogą zakłócać tworzenie się białkowej sieci żelowej. W przypadku układów napowietrzonych jak masa makaronikowa, spadek δ jest związany z bardziej elastycznym charakterem masy próbki. Należy również zauważyć, że w przypadku mas o stężeniu erytrytolu do 40 g, o lepszych właściwościach reologicznych, ich wartości kąta fazowego odpowiadały wartościom granicy płynięcia. Im niższy był δ , tym bardziej elastyczna była masa makaronowa, a więc była bardziej podatna na odkształcenia sprężyste.

W aparacie Turbiscan oceniono stabilność mas makaronikowych przed utrwaleniem termicznym poprzez analizę widm transmisji i rozpraszania wstecznego a także wartości współczynnika stabilności Turbiscan [TSI]. **Najbardziej stabilna była próbka masy makaronikowej zawierająca 40 g erytrytolu, co odzwierciedlał rozkład skanów. Warto zauważyć, że opadanie masy makaronikowej było zmniejszone. Próbki masy makaronikowej nie zawierające i te z dodatkiem 60 g erytrytolu wykazywały zupełnie inne rozmieszczenie skanów, które potwierdzały najmniejszą stabilność otrzymanych mas makaronikowych. Rozkład skanów dla próbek mas zawierających 20 i 40 g erytrytolu wykazał, że ich stabilność można zwiększać przez dodatek erytrytolu.**

Warto podkreślić, że termiczne utrwalenie mas makaronikowych było możliwe nawet bez dodatku erytrytolu, co jest bardzo obiecującą perspektywą dla niektórych konsumentów, zwłaszcza ze względu na niską tolerancję na erytrytol. Makaroniki otrzymane w całym zakresie zastosowanego erytrytolu nie wykazywały wad

jakościowych, takich jak rozerwania lub pęknięcia, które są bardzo powszechne w przypadku napowietrzonych wyrobów cukierniczych tego typu.

Szorstkość powierzchni otrzymanych makaroników wysokobiałkowych była zależna od zawartości erytrytoli. **Parametry szorstkości pokazały, że zwiększenie dodatku erytrytoli wywoływało efekt stopniowego wygładzania powierzchni, a uzyskane makaroniki wykazywały mniejszą szorstkość, co można było wyraźnie zobaczyć na obrazach profilometru. Próbka makaroników zawierających 60 g erytrytoli była najbardziej gładka, a najbardziej szorstką strukturę reprezentowała próbka kontrolna bez erytrytoli.** Analogiczny efekt wygładzenia został opisany przez Nastaj i wsp. [2020a] oraz Nastaj i wsp. [2021], którzy otrzymali i przeanalizowali wysokobiałkowe bezy z WPI i erytrytoli oraz WPI i sacharozy.

Z analizy barwy badanych makaroników wysokobiałkowych wynika, że zwiększenie stężenia erytrytoli miało istotny wpływ na parametry ich barwy. **Większe dodatki erytrytoli powodowały powstawanie powierzchni o większej luminescencji (L^*) i malejących współrzędnych a^* i b^* . W praktyce oznacza to, że otrzymane makaroniki charakteryzowały się bardziej czerwoną (lub mniej zieloną) i bardziej żółtą (mniej niebieską) barwą.** Według Psimouli i Oreopoulou [2012] barwa tradycyjnych wyrobów cukierniczych jest wynikiem nieenzymatycznego brązowienia (reakcji Maillarda) i karmelizacji sacharozy. Jednak erytrytol nie ma dostępnej grupy aldehydowej i nie może uczestniczyć w reakcji Maillarda [Ronda i wsp., 2005; Grembecka, 2015]. Wyjaśnia to często, dlaczego wyroby cukiernicze z erytrytolem są jaśniejsze i wykazują mniejszą akceptację konsumentów. **Jednak w przypadku otrzymanych makaroników nie należy tego uważać za wadę, ponieważ otwiera to szerszą możliwość do stosowania barwników spożywczych. Barwienie makaroników jest bardzo powszechną praktyką cukierniczą, a wyższe wartości L^* wraz ze wzrostem stężenia erytrytoli sprawią, że masa makaronikowa łatwiej wchłonie barwnik.**

Warto tutaj zauważyć, że pomiar barwy makaroników dokonano przy użyciu nowatorskiej techniki Computer Vision System (CVS). Tomasevic i wsp. [2019], którzy porównali CVS z tradycyjnymi kolorymetrami, wykazali, że wyniki z tych ostatnich są często mało reprezentatywne i nie są skuteczne do rzeczywistego pomiaru barwy produktów spożywczych.

Przy ocenie tekstury, makaroniki wysokobiałkowe bez dodatku erytrytoli wykazały największą twardość, a parametr ten zmniejszał się wraz ze wzrostem stężenia erytrytoli. **Największy dodatek erytrytoli (60 g) spowodował powstanie najmniej twardych makaroników.** Można zauważyć, że wartości twardości i kruchości były stosunkowo podobne. W przypadku wszystkich próbek makaroników zmniejszenie się twardości było związane ze spadkiem kruchości. Mechanizm ten został zaobserwowany i wyjaśniony wcześniej przez Nastaj i wsp. [2020a], którzy uzyskali i przeanalizowali właściwości mechaniczne wysokobiałkowych bez na bazie WPI i erytrytoli. Raikos i wsp. [2007a] postulują, że żelowanie białek podczas ogrzewania jest kluczowe w cukiernictwie i determinuje finalną teksturę produktów. Wijayanti i wsp. [2014] stwierdzają, że dodatek polioli do natywnych roztworów białek opóźnia indukowaną ciepłem agregację białek i tworzenie żelu. Poliole mogą powodować opóźnienie powstania sieci białkowej i jej słabszą strukturę, ze względu na mniejszą ilość swobodnie dostępnej wody, co skutkuje miękką teksturą, typową dla słodkich wypieków, takich jak makaroniki [Sahin i wsp., 2019]. Można również stwierdzić, że zmiany twardości mogą być związane z konkurencją między erytrytolem a białkami serwatkowymi. Ze względu na wysoką rozpuszczalność białek serwatkowych, zmniejszyła się ilość wody dostępnej do rozpuszczenia erytrytoli, dlatego uległ on krystalizacji, gdy był

poddany na działanie ciepła [Díaz-Ramírez i wsp., 2016]. Jang i wsp. [2015] również podkreślają masę cząsteczkową erytrytolu i jej wpływ na zmniejszenie aktywności wody w porównaniu do sacharozy. Ponieważ jest ona wyższa, wytwarza większe ciśnienie osmotyczne niż identyczny roztwór sacharozy. Dodatkowo, malejące wartości aktywności wody i twardości obserwowane dla makaroników mogą być związane z mniejszą zdolnością erytrytolu do krystalizacji i jego większą higroskopijnością. Warto również zauważyć, że mąka migdałowa jako typowo hydrofobowy składnik składający się głównie z tłuszczu, może osłabiać interakcje między białkami serwatkowymi i tworzenie przez nie sieci żelowej podczas utrwalania termicznego. Co więcej, mąka migdałowa może promować efekt smarujący, co w konsekwencji powoduje, że makaroniki są bardziej podatne na odkształcenia mechaniczne i kruszenie.

Na podstawie objętości wypiekowej makaroników i ich mikrostruktury można stwierdzić, że wraz z dodatkiem erytrytolu zwiększyła się ilość pęcherzyków powietrza, co spowodowało wzrost gęstości, wpływając na zmniejszenie twardości otrzymanych makaroników [Ronda i wsp., 2005], co można skorelować z właściwościami reologicznymi masy makaronikowej przed utrwaleniem termicznym. Ze względu na podobieństwa sacharozy i erytrytolu można stwierdzić, że struktura i tekstura makaroników są kontrolowane przez erytrytol i jego stężenie poprzez wpływ na reologię masy podczas utrwalenia termicznego, przejście fazowe, termoutwardzanie białek serwatkowych, a także dystrybucję wilgoci [Kweon i wsp. 2016; Slade i wsp., 2020]. Erytrytol może również działać jako plastyfikator i środek utrzymujący wilgoć w odniesieniu do ostatecznej struktury makaroników. **Nasze wyniki wyraźnie pokazują zasadność zastąpienia sacharozy polioliami o porównywalnej masie cząsteczkowej**

Wartości aktywności wody (a_w) pokazują, że w otrzymanych makaronikach nie nastąpi wzrost drobnoustrojów i one są całkowicie bezpieczne, ponieważ a_w dla wszystkich próbek jest znacznie poniżej 0,5. Nascimento i wsp. [2012] stwierdzili, że wartości a_w między 0,25 a 0,50 dla produktów cukierniczych są uznawane za produkt stabilny mikrobiologicznie. **Dla wszystkich analizowanych makaroników, w całym zakresie badanego erytrytolu, a_w wykazywał spadek wraz ze wzrostem stężenia erytrytolu. Najwyższą wartość a_w odnotowano dla próbki referencyjnej bez erytrytolu, a najniższą dla próbki makaroników z największym dodatkiem erytrytolu 60 g.** Erytrytol, podobnie jak sacharoza, ma duże powinowactwo do wody. W rezultacie erytrytol wiąże wodę poprzez wiązania wodorowe. Te interakcje najprawdopodobniej spowodowały zmniejszenie aktywności wody w otrzymanych makaronikach. Zmniejszona a_w przyczynia się do wydłużenia okresu przydatności do spożycia, ponieważ związana woda jest niedostępna dla rozwoju bakterii [Clemens i wsp., 2016].

Obrazy z mikroskopu optycznego pokazują, że różne stężenia erytrytolu prowadziły do powstania zróżnicowanych mikrostruktur próbek makaroników. Badanie potwierdziło wcześniejsze ustalenia z analizy profilometrycznej, że szorstkość powierzchni makaroników zmniejszała się wraz ze wzrostem dodatku erytrytolu. Można było zaobserwować, że próbka z największym dodatkiem erytrytolu charakteryzowała się obszarami amorficznymi, dużymi otworami i mniejszą liczbą dużych pęcherzyków powietrznych, najprawdopodobniej pękniętych podczas procesu utrwalania termicznego. **Dodatek erytrytolu na poziomie 40 g był optymalny dla utrzymania pęcherzyków powietrza w uzyskanych makaronikach, co dodatkowo potwierdzały lepsze właściwości reologiczne i stabilność mas makaronikowych. Ich mikrostruktura wykazywała równomierny rozkład małych i średnich pęcherzyków powietrza w matrycy oraz grubsze błony lamelarne w porównaniu do próbek makaroników bez dodatku erytrytolu.** Można stwierdzić, że największa zawartość erytrytolu spowodowała wzrost lepkości ciasta, a więc zapewniła najgrubsze błony lamelarne, które stanowiły skuteczną barierę dla adsorpcji białek i tworzenia pęcherzyków na granicy faz.

Na podstawie zdjęć otrzymanych makaroników i ich profili bocznych można zauważyć, że można je powiązać z właściwościami reologicznymi mas makaronikowych. Widoki z góry potwierdziły poczynione wcześniej obserwacje, że szorstkość powierzchni makaroników zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia erytrytoli. Efekt wygładzenia był bardzo dobrze widoczny, nawet gołym okiem. Zwiększenie dodatku erytrytoli doprowadziło do zwiększenia objętości wypiekowej makaroników. Najmniejszą objętość makaroników dla próbki kontrolnej (E0) można przypisać zapadnięciu się matrycy podczas pieczenia, co bardzo wyraźnie wskazywało, że spęcznienie ciasta zawierającego tylko WPI było niewystarczające. Próbka makaroniku zawierająca najwyższe stężenie erytrytoli (E60) wykazywała największą objętość wypiekową, pomimo faktu, że dla odpowiadającego jej ciasta stwierdzono spadek właściwości reologicznych i stabilności. Według Raikos i wsp. [2007b] zależności te są bardzo trudne do skorelowania, ponieważ pęcherzyki powietrza w podobnych układach mogą się rozszerzać i/lub łączyć podczas krzepnięcia. Manisha i wsp. [2012] podkreślili, że znaczenie efektu parowania wody jest związane z zastyganiem ciasta makaronowego, więc ich objętości mogą się różnić. Jeśli chodzi o objętość wypiekową, właściwości makaroników były one zgodne z trendem obserwowanym w innych badaniach [de la Hera i wsp., 2012], w których im mniejsza objętość wypiekowa, tym większa twardość makaroników.

Na podstawie przeprowadzonych analiz można stwierdzić, że w przypadku mas makaronikowych, granica płynięcia, moduł zachowawczy i stratności wzrastały aż do zawartości 40 g erytrytoli, a następnie spadały przy 60 g. Dodatek erytrytoli 40 g zapewniał największą stabilność masy makaronikowej, co potwierdziły analizy w Turbiscanie i odpowiadające im wartości TSI. Największa zawartość erytrytoli (60 g) była niekorzystna dla właściwości reologicznych mas i ich stabilności przed utrwaleniem, jednak prowadziła do poprawy objętości wypiekowej makaroników. Zwiększone stężenie erytrytoli skutkowało gładszą powierzchnią otrzymanych makaroników i wykazało istotny wpływ na parametry ich barwy. Wraz ze wzrostem stężenia erytrytoli zmniejszały się właściwości tekstury, takie jak twardość i kruchość. Mikroskopia optyczna pozwoliła wyjaśnić różnice we właściwościach teksturalnych i reologicznych oraz stabilności mas makaronikowych. Większa zawartość erytrytoli prowadziła do zmniejszenia wartości aktywności wody i wydłużenia okresu przydatności do spożycia testowanych makaroników, co wskazuje na ochronne działanie izolatu białek serwatkowych i erytrytoli przed zepsuciem.

4.6. Wnioski końcowe

Badania prezentowane w powyższym osiągnięciu naukowym (publikacje H1-H5) zwiększają stan aktualnej wiedzy nad formułowaniem nowej żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego i stanowią oryginalne opracowanie nad możliwością wykorzystania preparatów białek serwatkowych jako surowca do otrzymywania wysokobiałkowej żywności funkcjonalnej, bezcukrowej lub o obniżonej zawartości cukru. Izolat białek serwatkowych, koncentrat białek serwatkowych, erytrytol w znacznym stopniu przyczyniają się do poprawy właściwości fizykochemicznych i odżywczych otrzymanych produktów. W dobie coraz większej świadomości żywieniowej konsumentów, otrzymanie i wdrożenie takich produktów na rynek jest celem ambitnym, ale jak wykazano w toku wyżej wymienionych prac badawczych, możliwym do zrealizowania. Udowodniono, że preparaty białek serwatkowych można wykorzystać do otrzymywania wysokobiałkowych jogurtów, bez, czekolad i makaroników. Erytrytol dodany w proponowanych ilościach pozwala na całkowite wyeliminowanie sacharozy w otrzymywaniu produktów cukierniczych i umożliwia uzyskanie produktów wolnych od wad jakościowych. W przypadku produktów napowietrzonych (bezach), jest to ograniczenie pęknięć poprzez kontrolę szorstkości

powierzchni, a w czekoladach deserowych, jest to brak zjawiska wykwitania, pomimo pominięcia procesu temperowania. Otrzymane innowacyjne produkty mają charakterystyczne cechy tych tradycyjnych, przy jednocześnie znacznie zwiększonej zawartości białek pełnowartościowych i niższej wartości kalorycznej. Warto jednak wspomnieć, że koszty produkcji wyżej wymienionych produktów będą wyższe w porównaniu z tymi tradycyjnymi, jednak w tym przypadku, kwestie zdrowotne konsumentów związane z nadmiernym spożyciem cukru powinny mieć najwyższy priorytet. Wreszcie, ta nowatorska technologia otrzymywania wysokobiałkowych, bezcukrowych (lub o obniżonej zawartości cukru) produktów, która nie jest stosowana w przemyśle, jest skierowana głównie do konkretnych konsumentów, sportowców i osób aktywnych fizycznie, aby zaspokoić zwiększone dzienne zapotrzebowanie na pełnowartościowe białko, a także do diabetyków lub osób na diecie ketogenicznej, czy uczestników programów kontroli prawidłowej masy ciała. wagi. Z reguły są to świadomi konsumenci, którzy są skłonni ponieść większe koszty za produkty najwyższej jakości. Proponowane produkty będą mogły uzupełnić dość ograniczony katalog wysokobiałkowej żywności funkcjonalnej na rynku. Niezwykle ważne jest to, że będąca przedmiotem powyższego osiągnięcia naukowego technologia, jest również bardzo łatwa do odtworzenia, zapewniając powtarzalne wyniki, nie tylko w warunkach przemysłowych, ale i w gospodarstwach domowych, przy użyciu łatwo dostępnych składników i bardzo powszechnego sprzętu.

Podjęta tematyka osiągnięcia naukowego porusza również zagadnienia z zakresu zdrowia publicznego poprzez promocję zdrowego stylu życia i kształtowanie prawidłowych postaw konsumenckich, a także ekologii, ponieważ wskazuje wyraźny kierunek zagospodarowania produktu ubocznego przemysłu mleczarskiego, jakim jest serwatka. Badania te, ponadto, wpisują się w najnowsze trendy żywieniowe, idee „Zero waste” oraz założenia Zielonego Ładu. Przedstawione wyniki badań mogą być i będą podstawą do dalszych badań kierunkowych, dotyczących między innymi określenia mechanizmów zachodzących w produktach podczas przechowywania.

Wyniki badań stanowiące wyżej wymienione osiągnięcie były prezentowane na pięciu konferencjach zagranicznych: **II.7.B.16., II.7.B.19., II.7.B.22., II.7.B.24.** oraz **II.7.b.6.**

4.7. Bibliografia

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M. & Vieira, J. (2009a). Microstructure and mechanical properties related to particle size distribution and composition in dark chocolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 111–119.

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M. & Vieira, J. (2009b). Comparison of rheological models for determining dark chocolate viscosity. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 162–167.

Aidoo, R. P., Depypere F., Afoakwa, E. O., & Dewettinck, K. (2013). Industrial manufacture of sugarfree chocolates - Applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product Development. *Trends in Food Science & Technology*, 32, 84-96.

Aidoo, R. P., Afoakwa, E. O. & Dewettinck, K. (2015). Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts. *LWT – Food Science and Technology*, 62, 592–597.

Akalın, A.S., Unal, G., Dinkci, N. & Hayaloglu, A.A. (2011). Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 95, 3617–3628.

Arunepanlop, B., Morr, C.V., Karleskind, D. & Laye, I. (1996). Partial replacement of egg white proteins with whey proteins in angel food cakes. *Journal of Food Science*, 61, 1085–1093.

- Anema, S. G. (2007). Role of κ -casein in the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), 3635-3642.
- Anema, S.G., Lee, S.K. & Klostermeyer, H. (2006). Effect of protein, nonprotein-soluble components, and lactose concentrations on the irreversible thermal denaturation of β -lactoglobulin and α -lactoglobulin in skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7339-7348.
- Antipova, A.S., Semenova, M.G. & Belyakova, L. E. (1999). Effect of sucrose on the thermodynamic properties of ovalbumin and sodium caseinate in bulk solution and at air-water interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12, 261-270.
- Ashaolu, T.J. (2020b). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 130, 110625.
- Ashaolu, T.J. (2020a). Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: Their production, mechanisms and applications. *European Food Research and Technology*, 246, 853-865.
- Beckett, S. T. (2008). The science of chocolate (2nd edn.). The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK: RSC Publishing
- Belyakova, L.E., Antipova, A.S., Semenova, M.G., Dickinson, E., Merino, L. & Tsapkina, E.N. (2003). Effect of sucrose on molecular and interaction parameters of sodium caseinate in aqueous solution: Relationship to protein gelation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31(1), 31-46.
- Berry, T.K., Yang, X. & Foegeding, E.A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 1. Changes associated with angel food cake functionality. *Journal of Food Science*, 74, 269-277.
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337-351.
- Bhullar, Y.S., Uddin, M.A. & Shah, N.P. (2002). Effects of ingredients supplementation on textural characteristics and microstructure of yoghurt. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 57, 328-332.
- Bilal, M., Xu, S., Iqbal, H.M.N. & Cheng, H.R. (2021). *Yarrowia lipolytica* as an emerging biotechnological chassis for functional sugars biosynthesis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(4), 535-552.
- Bordier, V., Teysseire, F., Schlotterbeck, G., Senner F., Beglinger, C., Meyer-Gerspach, A.C. & Wölnerhanssen, B.K. (2021). Effect of a Chronic Intake of the Natural Sweeteners Xylitol and Erythritol on Glucose Absorption in Humans with Obesity. *Nutrients*, 13, 3950.
- Boscaini, S., Skuse, P., Nilaweera, K.N., Cryan, J.F. & Cotter, P. D. (2019). The ‘Whey’ to good health: Whey protein and its beneficial effect on metabolism, gut microbiota and mental health. *Trends in Food Science and Technology*, 133, 1-14.
- Bourne, M. (1975). Is Rheology Enough for Food Texture Measurement? *Journal of Texture Studies*, 6(2), 259 – 262.
- Braipson-Danthine, S., & Deroanne, C. (2004). Influence of SFC, microstructure and polymorphism on texture (hardness) of binary blends of fats involved in the preparation of industrial shortenings. *Food Research International*, 37, 941-948.
- Briones, V., Aguilera, J. M. & Brown, C. (2006). Effect of surface topography on color and gloss of chocolate samples. *Journal of Food Engineering*, 77, 776-783.
- Bumrungpert, A., Pavadhgul, P., Nunthanawanich, P., Sirikancharod, A. & Adulbhan, A. (2018). Whey protein supplementation improves nutritional status, glutathione levels, and immune function in cancer patients: A randomized, double-blind controlled trial. *Journal of Medicinal Food*, 21, 612-616.
- Cai, L., Feng, J., Regenstein, J., Lv, Y. & Li, J. (2017). Confectionery gels: Effects of low calorie sweeteners on the rheological properties and microstructure of fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 67, 157-165

- Campbell, L., Raikos, V. & Euston, S.R. (2003). Review modification of functional properties of egg-white proteins. *Nahrung/Food*, 47(6), 369-376.
- Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D.I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C.Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., García H.S. & Gutiérrez-López, G.F. (2018). Zeta Potential of Food Matrices. *Food Engineering Reviews*, 10, 113–138.
- Carter, B., DiMarzio, L., Pranata, J., Barbano, D.M. & Drake, M. (2021). Efficiency of removal of whey protein from sweet whey using polymeric microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8630-8643.
- Cereda, E., Turri, A., Klersy, C., Cappello, S., Ferrari, A., Filippi, A., Brugnattelli, S., Caraccia, M., Chiellino, S., Borioli, V., Monaco, T., Stella, G.M., Arcaini, L., Benazzo, M., Grugnetti, G., Pedrazzoli, P. & Caccialanza, R. (2019). Whey protein isolate supplementation improves body composition, muscle strength, and treatment tolerance in malnourished advanced cancer patients undergoing chemotherapy. *Cancer Medicine*, 8, 6923-6932.
- Chanasattru, W., Decker, E.A. & McClements, D.J. (2008). Impact of cosolvents (polyols) on globular protein functionality: ultrasonic velocity, density, surface tension and solubility study. *Food Hydrocolloids*, 22, 1475-1484.
- Chire Fajardo, G. C., Valdivia Arrunategui, R. A., Orihuela Rivera, C A., & Ureña Peralta, M. O. (2017). Assessment of physical and physicochemical quality of main chocolates traded in Peru. *Acta Agronomica*, 66(2), 164-171.
- Clemens, R. A., Jones, J. M., Kern, M., Lee, S. Y., Mayhew, E. J., Slavin, J. L. & Zivanovic, S. (2016). Functionality of Sugars in Foods and Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 433–470.
- Coupland, J.N. (2014). *An introduction to the Physical Chemistry of Food*. New York: Food Science Text Series Springer Science+Business Media.
- Davis, J.P. & Foegeding, E. A. (2004). Foaming and interfacial properties of polymerized whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 69, 404-410.
- Davis, J.P. & Foegeding, E.A. (2007). Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54, 200-210.
- de la Hera, E., Martinez, M., Oliete, B. Gómez & M. (2013). Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice cakes. *Food Bioprocess Technology*, 6, 2280–2288.
- Dickinson, E. & Matia-Merino, L. (2002). Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate-stabilized emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 16, 321–331.
- Di Monaco, R., Miele, N.A., Cabisidan, E.K. & Cavella, S. (2018). Strategies to reduce sugars in food. *Current Opinion in Food Science*, 19, 92–97.
- Doménech-Asensi, G., Merola, N., López-Fernández, A., Ros-Berruezo, G. & Frontela-Saseta, C. (2016). Influence of the reformulation of ingredients in bakery products on healthy characteristics and acceptability of consumers. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(1), 74–82.
- Drelich, J.W., Boinovich, L., Chibowski, E., Della Volpe, C., Marmur, A. & Siboni, S. (2020). Contact angles: history of over 200 years of open questions. *Surface Innovations*, 8(1–2), 3–27.
- Foegeding, E.A., Luck, P.J. & Davis, J.P. (2006). Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocolloids*, 20, 284-292.
- Flambeau, M., Respondek, F. & Wagner, A. (2012). Maltitol syrups. In K. O. Donnell, & M.W. Kearsley (Eds.), *Sweeteners and sugar alternatives in food technology* (pp. 319-329). West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Frazier, A. & Hartel, R. W. (2012). Bloom on chocolate chips baked in cookies. *Food Research International*, 48, 380–386.

- Ghosh, S. & Sudha, M.L. (2012). A review on polyols: New frontiers for health-based bakery products. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(3), 372–379.
- Glicerina, V. & Romani, S. (2016). Advances in yield stress measurements for chocolate. In J. Ahmed, P. Ptaszek & J. Basu (Eds.). *Advances in food rheology and its applications* (pp. 459–481). Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- Grembecka, M. (2015). Sugar alcohols— their role in the modern world of sweeteners: a review. *European Food Research and Technology*, 241(1), 1–14.
- Grieger, J.A., Johnson, B.J., Wycherley, T.P. & Golley, R.K. (2017). Comparing the nutritional impact of dietary strategies to reduce discretionary choice intake in the Australian adult population: A simulation modelling study. *Nutrients*, 9(5), 442.
- Guzman-Gonzalez, M., Morais, F., Ramos, M. & Amigo, L. (1999). Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1117–1122.
- Hao, Y., Wang, F., Huang, W., Tang, X., Zou, Q., Li, Z. & Ogawa A. (2016). Sucrose substitution by polyols in sponge cake and their effects on the foaming and thermal properties of egg protein. *Food Hydrocolloids*, 57, 153–159.
- Hassan, S.A. & Steinbach, P.J. (2011). Water-exclusion and liquid-structure forces in implicit solvation. *Journal of Physical Chemistry B*, 115, 14668–14682.
- Hogan, S. A., Chaurin, V., O’Kennedy, B.T. & Kelly, P. M. (2012). Influence of dairy proteins on textural changes in high-protein bars. *International Dairy Journal*, 26(1), 58–65.
- Inoue, K., Fu, W. & Nakamura, T. (2019). Explaining the different textures of commercial processed cheese from fractured structures. *International Dairy Journal*, 97, 40–48.
- Jang, S.J., Kim, H.W., Hwang, K.E., Song, D.H., Kim, Y.J., Ham, Y.K., Lim, Y.B., Jeong, T.J., Kim, S.Y. & Kim, C.K. (2015). Effects of replacing sucrose with various sugar alcohols on quality properties of semidried Jerky. *Korean Journal of Food Science of Animal Resources*, 35(5), 622–629.
- Jørgensen, C.E., Abrahamsen, R.K., Rukke, E., Johansen, A., Schuller, R.B. & Skeie, S.B. (2015). Improving structure and rheology of high protein, low fat yoghurt with undenaturated whey proteins. *International Dairy Journal*, 47, 6–18.
- Keyf, F. & Etikan, I. (2004). Evaluation of gloss changes of two denture acrylic resin materials in four different beverages. *Dental Materials*, 20(3), 244–251.
- Kim, S. Y. (2013). Quality characteristics of the single origin Bean-to-Bar dark chocolate with sugar alcohols. MSc Thesis. Seoul, Korea: Dankook University.
- Kim, E. H. J., Corrigan, V. K., Wilson, A. J., Waters, I. R., Hedderley, D. I. & Morgenstern, M. P. (2012). Fundamental fracture properties associated with sensory hardness of brittle solid foods. *Journal of Texture Studies*, 43, 49–62.
- Krittawong, C., Qadeer, Y. K., Wang, Z., Nadolsky, K., Virani, S. & Lavie, C. J. (2023). Sugar-Sweetened & Artificially Sweetened Beverages Consumption and Risk of Cardiovascular Health. *The American Journal of Medicine*, 136(2), 163–171.
- Kroger, M., Meister, K. & Kava, R. (2006). Low-calorie sweeteners and other sugar substitutes: a review of the safety issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 35–47.
- Kweon, M., Slade, L. & Levine, H. (2016). Cake baking with alternative carbohydrates for potential sucrose replacement. I. Functionality of small sugars and their effects on high-ratio cake-baking performance. *Cereal Chemistry*, 93(6), 562–567.

- Kulmyrzaev, A., Bryant, C.7 & McClements, D.J. (2000). Influence of sucrose on the thermal denaturation, gelation, and emulsion stabilization of whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1593-1597.
- Lau, C.K. & Dickinson, E. Instability and structural change in an aerated system containing egg albumen and invert sugar. (2005). *Food Hydrocolloids*, 19, 111-121.
- Lei, T. & Sun, D.W. (2019). Developments of nondestructive techniques for evaluating quality attributes of cheeses: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 527–542.
- Lenhart, A. & Chey, W. D. (2017). A systematic review of the effects of polyols on gastrointestinal health and irritable bowel syndrome. *Advances in Nutrition (Bethesda, MD)*, 8 (4), 587–96.
- Li, J. and Guo, M. (2006). Effects of polymerized whey proteins on consistency and water-holding properties of goat's milk yogurt. *Journal of Food Science*, 71(1), 34–38.
- Luck, P.J., Bray, N. & Foegeding, E.A. (2006). Factors determining yield stress and overrun of whey protein foams. *Journal of Food Science*, 65, 1677–1681.
- Luo, X., Arcot, J., Gill, T., Louie, J.C.Y. & Rangan, A. (2019). A review of food reformulation of baked products to reduce added sugar intake. *Trends in Food Science and Technology*, 86, 412-425.
- Madadlou, A., Saint-Jalmes, A., Guyomarc'ha, F., Flourya, J. & Dupont, D. (2019). Development of an aqueous two-phase emulsion using hydrophobized whey proteins and erythritol. *Food Hydrocolloids*, 93, 351–360.
- Madadlou, A., Famelart, M.H., Pezennec, S., Rousseau, F., Floury, J. & Dupont, D. (2020). Interfacial and (emulsion) gel rheology of hydrophobised whey proteins, *International Dairy Journal*, 100, 104556.
- Magens, O.M., Liu, Y. & Hofmans, J.F.A., Nelissen, J.A., & Wilson, I.D. (2017). Adhesion and cleaning of foods with complex structure: Effect of oil content and fluoropolymer coating characteristics on the detachment of cake from baking surfaces. *Journal of Food Engineering*, 197, 48-59.
- Mahomud, M.S., Katsuno, N., Zhang, L. & Nishizu, T. (2017a). Physical, rheological and microstructural properties of whey protein enriched yoghurt influenced by the heating milk at different pH values. *Journal of Food Processing and Preservation*, 6(41), 1-8.
- Mahomud, M.S., Katsuno, N. & Nishizu, T. (2017b). Formation of soluble protein complexes and yoghurt properties influenced by the addition of whey protein concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44, 173-180.
- Małeckki, J., Terpiłowski, K., Nastaj, M. & Sołowiej, B.G. (2022). Physicochemical, Nutritional, Microstructural, Surface and Sensory Properties of a Model High-Protein Bars Intended for Athletes Depending on the Type of Protein and Syrup Used. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19, 3923.
- Manisha, G., Soumya, C. & Indrani D. (2012). Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 363–373.
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A. & Sanz, T. (2014). Comparison of different polyols as total sucrose replacers in muffins: Thermal, rheological, texture and acceptability properties. *Food Hydrocolloids*, 35, 1–8.
- Martínez-Padilla, L.P., García-Mena, V., Casas-Alencáster, N.B. & Sosa-Herrera, M.G. Foaming properties of skim milk powder fortified with milk proteins. (2014). *International Dairy Journal*, 36, 21-28.
- Matumoto-Pintro, P.T., Rabiey, L., Robitaille, G. & Britten, M. (2011). Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal*, 21, 21-26.
- McGee, H. On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen; MacMillian: New York, NY, USA, 1984; ISBN 1-4165-5637-0.
- Meletharayil, G.H, Patel, H.A. & Huppertz, T. (2015). Rheological properties and microstructure of high protein acid gels prepared from reconstituted whey protein concentrate powders of different protein contents. *International Dairy Journal*, 47, 64-71.

- Mensink, M.A., Frijlink, H.W., Maarschalk, K.V. & Hinrichs, W.L.J. (2017). How sugars protect proteins in the solid state and during drying (review): Mechanisms of stabilization in relation to stress conditions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 114, 288-295.
- Mine, Y. (1995). Recent advances in understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 225-232.
- Mleko, S, Kristinsson, H.G., Liang, Y. & Gustaw, W. (2007). Rheological properties of foams generated from egg albumin after pH treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 908-914.
- Mytton, O. T., Eyles, H. & Ogilvie, D. (2014). Evaluating the health impacts of food and beverage taxes. *Current Obesity Reports*, 3(4), 432–439.
- Narine, S. S. & Marangoni, A. G. (1999). Mechanical and structural model of fractal networks of fat crystals at low deformations. *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 60, 6991–7000.
- Nascimento, M.S., Brum, D.M., Pena, P.O., Berto, M.I. & Efraim, P. (2012). Inactivation of Salmonella during cocoa roasting and chocolate conching. *International Journal of Food Microbiology*, 159, 225–229.
- Nastaj, M., Sołowiej, B.G., Gustaw, W., Perez-Huertas, S., Mleko, S. & Wesołowska-Trojanowska, M. (2019). Physicochemical properties of High-Protein-Set Yoghurts obtained with the addition of whey protein preparations. *International Journal of Dairy Technology*, 2019, 72, 395–402
- Nastaj, M., Sołowiej, B.G., Terpiłowski, K. & Mleko S. (2020a). Effect of erythritol on physicochemical properties of reformulated high protein meringues obtained from whey protein isolate. *International Dairy Journal*, 105, 104672.
- Nastaj, M., Terpiłowski, K. & Sołowiej, B.G. (2020b). The effect of native and polymerised whey protein isolate addition on surface and microstructural properties of processed cheeses and their meltability determined by Turbiscan. *International Journal of Food Science and Technology*, 55, 2179–2187.
- Nastaj, M. & Sołowiej, B.G. (2020c). Effect of various pH values on foaming properties of whey protein preparations. *International Journal of Dairy Technology*, 73, 683–694.
- Nastaj, M., Mleko, S., Terpiłowski, K. & Tomczyńska-Mleko, M. (2021). Effect of Sucrose on Physicochemical Properties of High-Protein Meringues Obtained from Whey Protein Isolate. *Applied Sciences*, 11, 4764.
- Nastaj, M., Sołowiej, B.G., Stasiak, D.M., Mleko, S., Terpiłowski, K., Łyszczek, R.J., Tomasevic, I.B. & Tomczyńska-Mleko M. (2022). Development and physicochemical properties of reformulated, high-protein, untempered sugar-free dark chocolates with addition of whey protein isolate and erythritol. *International Dairy Journal*, 134, 105450.
- Oldfield, D.J., Singh, H. & Taylor, M.W. (1998). Association of β -lactoglobulin and α -lactoglobulin with the casein micelles in skim heated milk in an ultra-high temperature plant. *International Dairy Journal*, 8, 765-770.
- Ozcan, T., Horne, D.S. and Lucey, J.A. (2015). Yoghurt made from milk heated at different pH values. *Journal of Dairy Science*, 98, 1-10.
- Pallazo, A.B., , Carvalho, M.A.R., Efraim, P. & Bolini, H.M.A. (2011). The determination of isosweetness concentrations of sucralose, rebaudioside and neotame as sucrose substitutes in new diet chocolate formulations using the time-intensity analysis. *Journal of Sensory Studies*, 26, 4, 291–297.
- Pastor, C., Santamaria, J., Chiralt, A. & Aguilera, J. M. (2007). Gloss and colour of dark chocolate during storage. *Food Science and Technology International*, 13(1), 27-34.
- Peng, Y., Serra, M., Horne, D. S. & Lucey, J.A. (2009). Effect of fortification with various types of milk proteins on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, 74, 666–673.

- Peram, M.R., Loveday, S.M., Ye, A. & Singh, H. (2013). In vitro gastric digestion of heat-induced aggregates of b-lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 96, 63-74.
- Pernell, C.W., Luck, P.J., Foegeding, E.A. & Daubert, C.R. (2002). Heat-induced changes in angel food cakes containing egg-white protein or whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 67, 2945-2951.
- Poole, R.J. (2012). The Deborah and Weissenberg numbers. *The British Society of Rheology, Rheology Bulletin*, 53(2), 32-39.
- Potter, J. *Cooking for Geeks*; O'Reilly Media, Inc.: Sebastopol, CA, USA, 2010, 254.
- Psimouli, V. & Oreopoulou, V. (2012). The effect of alternative sweeteners on batter rheology and cake properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 99-105
- Raikos, V., Campbell, L. & Euston, S.R. (2007a). Effects of sucrose and sodium chloride on foaming properties of egg white proteins. *Food Research International*, 40, 347-355.
- Raikos, V., Campbell, L. & Euston, S.R. (2007b). Rheology and texture of hen's egg protein heat-set gels as affected by pH and the addition of sugar and/or salt. *Food Hydrocolloids*, 21(2), 237-244.
- Rakicka, M., Rywinska, A., Lazar, Z. & Rymowicz, W. (2017). Two-stage continuous culture - Technology boosting erythritol production. *Journal of Cleaner Production*, 168, 420-427.
- Rakicka-Pustulka, M., Mironczuk, A.M., Celińska, E., Białas, W. & Rymowicz, W. (2020). Scale-up of the erythritol production technology - Process simulation and techno-economic analysis. *Journal of Cleaner Production*, 257, 120533.
- Reinke, S. K., Wilde, F., Kozhar, S., Beckmann, F., Vieira, J., Heinrich, S. & Palzer, S. (2016). Synchrotron X-Ray microtomography reveals interior microstructure of multicomponent food materials such as chocolate. *Journal of Food Engineering*, 174, 37-46.
- Renzetti, S. & van der Sman, R.G.M. (2022). Food texture design in sugar reduced cakes: Predicting batters rheology and physical properties of cakes from physicochemical principles. *Food Hydrocolloids*, 131, 107795.
- Rice, T., Zannini, E., Arendt, E.K. & Coffey, A. (2019). A review of polyols—biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (12), 2034-2051.
- Rodríguez Patino, J.M., Rodríguez Niño, M.R., Sánchez, C.C., Navarro García, J.M., Rodríguez Mateo, G.R. & Cejudo Fernández, M. (2001). The effect of temperature on food emulsifiers at fluid–fluid interfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21, 87-99.
- Rodríguez Patino, J.M., Naranjo Delgado, M.D. & Linares Fernández, J.A. (1995). Stability and mechanical strength of aqueous foams containing food proteins. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 99, 65-78.
- Romero, C.M. & Albis, A. (2010). Influence of polyols and glucose on the surface tension of bovine α lactalbumin in aqueous solution. *Journal of Solution Chemistry*, 39, 1865-1876.
- Ronda, F., Gomez, M., Blanco, C. & Caballero, P. (2005). Effects of polyols and nondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes. *Food Chemistry*, 90(4), 549-555.
- Rzechonek, D.A., Dobrowolski, A., Rymowicz, W. & Mironczuk, A.M. (2018). Recent advances in biological production of erythritol. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(4), 620-633.
- Sadahira, M.S., Rodrigues, M.I., Akhtar, M., Murray, B.S. & Netto, F.M. (2016). Effect of egg white protein-pectin electrostatic interactions in a high sugar content system on foaming and foam rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 58, 1-10.
- Sahi, S.S. & Alava, J.M. (2003). Functionality of emulsifiers in sponge cake production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1411-1429.

- Sahin, A.W., Zannini, E., Coffey, A. & Arendt, E.A. (2019). Sugar reduction in bakery products: Current strategies and sourdough technology as a potential novel approach. *Food Research International*, 126, 108583.
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. & Vernon-Carter, E.J. (2004). Microtexture and texture of yoghurt as influence by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 151-159.
- Saputro, A. D., de Walle, D. V., Caiquo, B. A., Hinneh, M., Kluczykoff, M. & Dewettinck, K. (2019). Rheological behaviour and microstructural properties of dark chocolate produced by combination of a ball mill and liquefier device as small scale production system. *LWT-Food Science and Technology*, 100, 10–19.
- Shin, M., Han, Y. & Ahn, K. (2013). The influence of the time and temperature of heat treatment on the allergenicity of egg white proteins. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 5, 96-101.
- Sierra Muñeton, J. D. & Katime, I. (2006). Crystallization kinetics of ethylene/acrylic acid copolymers. Cinética de cristalización de copolímeros de etileno/ácido acrílico. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7(1), 7–42.
- Singh, A., Geveke, D.J., Jones, D.R. & Tilman, E.D. (2020). Can acceptable quality angel food cakes be made using pasteurized shell eggs? The effects of mixing factors on functional properties of angel food cakes. *Food Science & Nutrition*, 7, 987-996.
- Skrzypczak, K. & Gustaw, W. (2012). Effect of prebiotics and whey proteins on physicochemical properties of bio-yoghurt. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5(84), 155 – 165.
- Slade, L., Kweon, M. & Levine, H. (2020). Exploration of the functionality of sugars in cake-baking, and effects on cake quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 283–311.
- Smith, H. J. (2011). Theobromine and the pharmacology of cocoa. In: Methylxanthines, handbook of experimental pharmacology (edited by B. B. Fredholm), (pp. 201–234). Heidelberg: Springer, Berlin, Germany.
- Smithers, G.W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*, 18, 695-704.
- Smithers, G.W. (2015). Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48, 2-14.
- Sokmen, A. & Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 1053-1058.
- Son, Y., Choi, S., Yoo, K., Lee, K., Lee, S., Hwang, I. & Kim, S. (2018). Anti-blooming effect of maltitol and tagatose as sugar substitutes for chocolate melting. *LWT – Food Science and Technology*, 88, 87-94.
- Spiegel, T. (1999). Whey protein aggregation under shear conditions – effects of lactose and heating temperature on aggregate size and structure. *International Journal of Food Science & Technology*, 34, 523-531.
- Storey, D., Lee, A., Bornet, F. & Brouns, F. (2007). Gastrointestinal tolerance of erythritol and xylitol ingested in a liquid. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 349–354.
- Szafrańska, J.O. & Sołowiej B.,G. (2020). Cheese sauces: Characteristics of ingredients, manufacturing methods, microbiological and sensory aspects. *Journal of Food Process Engineering*, 4, e13364.
- Tabilo-Munizaga, G. & Barbosa-Canovas, G.V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67, 147-156.
- Tan, J. & Balasubramanian, B. M. (2017). Particle size measurements and scanning electron microscopy (SEM) of cocoa particles refined/conched by conical and cylindrical roller stone melangers. *Journal of Food Engineering*, 212, 146–153.
- Terpiłowski, K., Rymuszka, D., Goncharuk, O.V., Sulym, I.Y. & Gun’ko, V.M. (2015). Wettability of modified silica layers deposited on glass support activated by plasma. *Applied Surface Science*, 353, 843–850.

- Thakur, R.K., Vial, C. & Djelveh, G. (2008). Effect of composition and process parameters on elasticity and solidity of foamed food. *Chemical Engineering and Processing*, 47, 474–483.
- Timasheff, S.N. (2002). Protein-solvent preferential interactions, protein hydration, and the modulation of biochemical reactions by solvent components. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15), 9721–9726.
- Todorovic, V., Redovnikovic, I. R., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M. & Sobajic, S. (2015). Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 137–143.
- Toker, O. S., Palabiyik, I. & Konar, N. (2019). Chocolate quality and conching. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 446–453.
- Tomasevic, I., Tomovic, V., Milovanovic, B., Lorenzo, J., Dordevic, V., Karabasil, N. & Djekic, I. (2019). Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. *Meat Science*, 148, 5–12.
- Tomczyńska-Mleko, M. & Mleko, S. (2014). Whey protein aerated gels as matrices for controlled mineral release in simulated gastric conditions. *Food Research International*, 62, 91–97.
- Tsevdou, M.S., Eleftheriou, E.G. & Taoukis, P.S. (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties of storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 144–152.
- Vasbinder, A.J., van Mil, P.J.J.M., Bot, A. & De Kruif, C.G. (2001). Acid-induced gelation of heat-treated milk studied by difussing wave spectroscopy. *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 21, 245–250.
- Vivar-Vera, G., Torrestiana Sanchez, B., Monrey Rivera, J. A. & Brito de La Fuente, E. (2014). Influence of temperature and mixing speed on dynamic rheological properties of dark chocolate mass during conching. In: G. V. N. Moorillan, & E. Ortega-Rivas (Eds.). *Food science and food biotechnology essentials: A contemporary perspective* (pp.247–252). Mexico: Asociacion Mexicana de Ciencia de los Alimentos, A.C.
- Watson, L., Wu, T., Horowitz, M. & Rayner, C. (2015). Whey protein: The “whey” forward for treatment of type 2 diabetes? *World Journal of Diabetes*, 6, 1274–1284.
- Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K. & Delcour, J.A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in Food Science & Technology*, 30, 6–15.
- Yang, X. & Foegeding, E.A. (2010). Effects of sucrose on egg white protein and whey protein isolate foams: factors determining properties of wet and dry foams (cakes). *Food Hydrocolloids*, 24, 227–238.
- Yang, X. & Foegeding, E.A. (2011). The stability and physical properties of egg white and whey protein foams explained based on microstructure and interfacial properties. *Food Hydrocolloids*, 25(7), 1687–1701.
- Yankov, S. & Panchev, I. (1996). Foaming properties of sugar-egg mixtures with milk protein concentrates. *Food Research International*, 29, 521–525.
- Yıldız-Akgül, F. (2018). Enhancement of strained (Torba) yoghurt with Whey Protein Isolates. *International Journal of Dairy Technology*, 71(4), 898–905.
- Ziegler, G. R., Mongia, G. & Hollender, R. (2001). Role of particle size distribution of suspended solids in defining the sensory properties of milk chocolate. *International Journal of Food Properties*, 4, 353–370.
- Zhao, H., Li, B., & James, B. J. (2018). Structure-fracture relationships in chocolate systems. *LWT - Food Science and Technology*, 96, 281–287.
- Zhao, C., Chen, N. & Ashaolu T.J. (2022). Whey proteins and peptides in health-promoting functions - A review. *International Dairy Journal*, 126 105269.

Zhou, P., Guo, M., Liu, D., Liu, X., & Labuza, T.P. (2013). Maillard-Reaction-Induced modification and aggregation of proteins and hardening of texture in protein bar model systems. *Journal of Food Science*, 78(3), 437–444.

4.8. Informacja o drugim osiągnięciu naukowym

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, wyniki zamieszczone w rozprawie doktorskiej, zostały opublikowane w postaci pięciu oryginalnych prac twórczych: **II.4.b.2.**, **II.4.b.5.**, **II.4.b.8.**, **II.4.b.9.** i **II.4.b.13.**, trzech rozdziałów w monografii: **II.2.b.1.**, **II.2.b.2.** i **II.3.b.2.**, jak również były prezentowane na siedmiu konferencjach krajowych i międzynarodowych: **II.7.B.1.**, **II.7.B.2.**, **II.7.B.3.**, **II.7.B.4.**, **II.7.B.6.**, **II.7.B.13.** i **II.7.B.18.**. **To właśnie ten nurt badań, związany z poprawą właściwości pianotwórczych preparatów białek serwatkowych różnymi czynnikami, uważam za swoje drugie, najważniejsze osiągnięcie, a szczególnie pracę:**

The effect of various pH values on foaming properties of whey protein preparations. M. Nastaj, B.G. Sołowiej. 2020. International Journal of Dairy Technology 73(4), 1-12 [Punkty MEiN: 40, IF=4,374]

Liczba cytowań wg Scopus = 12 (z pominięciem autocytowań – 10)

Liczba cytowań wg Web of Science = 9 (z pominięciem autocytowań – 7)

Wyniki tam zawarte, szczególnie te dotyczące zależności pomiędzy wartościami kąta fazowego (δ) i granicy płynięcia (τ) dla pian otrzymanych z izolatu białek serwatkowych w zmiennym pH, jak również, wykazanie na drodze elektroforezy i HPLC, różnic w składzie jakościowym i ilościowym agregatów białkowych obecnych w roztworze przed ubiciem, pianie i odcieku grawitacyjnym oraz teorię o mechanicznej defragmentacji agregatów białkowych (nieobecnych w pianie i odcieku grawitacyjnym), uważam za niezwykle nowatorskie i mające duży wpływ na rozwój dyscypliny. Podobne obserwacje nie zostały wcześniej opisane w literaturze tematu.

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

W 1998 roku podjąłem studia magisterskie „Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka”, na Wydziale Rolniczym (obecnie: Agrobiotechnologii), Akademii Rolniczej Lublinie (obecnie: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Moje zainteresowania naukowe koncentrowały się wokół wdrażania nowych technologii w przemyśle mięsny. Pracę magisterską, pt. „Badania nad wykorzystaniem nasion owsa do produkcji wyrobów mięsnych”, zrealizowałem w Katedrze Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, pod kierunkiem Pana prof. dr. hab. Zbigniewa J. Dolatowskiego. Wyniki tej pracy, zaprezentowałem później, 27 września 2005 roku w Lvivski Derzavny Agrarny Universitet we Lwowie, na międzynarodowej Konferencji Studentska Molod i Naukovij Progres v APK, głosząc referat: „The research on possibility of using naked oats as a fat substitute for meat products” (**II.7.a.1.**). W czasie studiów magisterskich aktywnie działałem w Studenckim Kole Naukowym Technologii Żywności. W 2004 roku rozpocząłem studia doktoranckie, o specjalności technologia żywności, na Wydziale Rolniczym, Akademii Rolniczej W Lublinie. W 2005 roku ukończyłem Studium Podyplomowe „Zarządzanie Jakością w Produkcji Żywności”, na Wydziale Rolniczym, Akademii Rolniczej w Lublinie.

Po rozpoczęciu studiów doktoranckich, od razu zostałem włączony do prac zespołu badawczego, kierowanego przez Pana prof. dr. hab. Stanisława Mleko, zajmującego się m.in.

badaniami właściwości funkcjonalnych preparatów białek serwatkowych i ich połączeniami z polisacharydami, substancjami słodzącymi, prebiotykami. Badania dotyczyły zastosowania ww. substancji do otrzymywania i poprawy właściwości fizykochemicznych jogurtów stałych, deserów mlecznych i analogów serów topionych.

W pierwszej fazie badań określono wpływ dodatku wybranych hydrokoloidów i ich mieszanin na właściwości reologiczne i wielkość synerezy jogurtów otrzymanych metodą termostatową. Jogurt naturalny bez dodatku polisacharydów charakteryzował się ponad 2 % synerezą i najmniejszą twardością. Jogurty z dodatkiem gumy guar (GG) i gumy ksantanowej (GK) charakteryzowały się niewielkim zwiększeniem twardości wraz ze wzrostem stężenia tych polisacharydów, ponadto w przypadku gumy ksantanowej (GK), wzrost stężenia polisacharydu wpływał na zmniejszenie synerezy. Dodatek mieszaniny GK-GG w ilości powyżej 0,01 % powodował zmniejszenie synerezy. Spośród badanych pojedynczych polisacharydów, jogurty o najlepszych właściwościach reologicznych i najmniejszym wycieku serwatki otrzymano po dodaniu GK.

Badano również wpływ różnych koncentratów białek serwatkowych na właściwości reologiczne jogurtów otrzymanych metodą termostatową. Zwiększenie suchej masy mleka przeznaczonego do produkcji jogurtów osiągnięto poprzez dodatek 1, 2 lub 4 % WPC 35, WPC 65, WPC 85 i WPC odtłuszczonego (WPCO). W przypadku jogurtu kontrolnego, skrzep powstawał po 126 min fermentacji. Dodatek odtłuszczonego mleka w proszku (OMP) spowodował skrócenie czasu do 119 min, natomiast po dodaniu WPC 85 i WPCO zaobserwowano wydłużenie okresu niezbędnego do powstania skrzepu jogurtowego, odpowiednio do 148 i 165 min. Największą twardością charakteryzowały się jogurty z 4 % dodatkiem WPC 85 i WPCO, jednak miały one zbyt gumowatą teksturę.

W kolejnych badaniach porównano wpływ substancji słodzących jak: sacharoza, ksylitol, aspartam i acesulfam-K na właściwości reologiczne deserów mlecznych oraz deserów otrzymanych z izolatu białek serwatkowych (WPI). Najlepszymi właściwościami reologicznymi (twardością i wartością modułu zachowawczego) charakteryzowały się desery otrzymane z WPI słodzone sacharozą. Zastąpienie sacharozy przez inną substancję słodzącą powodowało pogorszenie właściwości reologicznych badanych deserów otrzymanych z WPI. W przypadku deserów otrzymanych z odtłuszczonego mleka w proszku (OMP), nie stwierdzono wyraźnego wpływu stosowanego środka słodzącego na teksturę deserów mlecznych. Stwierdzono, że ksylitol nie powinien być wykorzystywany jako substancja słodząca do deserów otrzymanych z WPI, ale może być stosowany w celu uzyskania półpłynnych deserów na bazie wszystkich białek mleka.

Następnie określono wpływ dodatku oligofruktozy P95 oraz inuliny GR i HPX na właściwości reologiczne oraz wielkość synerezy jogurtów otrzymanych metodą termostatową. W przypadku jogurtu kontrolnego tworzenie skrzepu rozpoczęło się po około 90 min, natomiast w przypadku pozostałych jogurtów, proces żelowania rozpoczął się po około 105 min. Najmniejszą twardość miał jogurt kontrolny, natomiast największą uzyskał jogurt z dodatkiem inuliny HPX w ilości 3 %. Najmniejszą ilością wydzielanej serwatki charakteryzował się jogurt z dodatkiem 3 % oligofruktozy P95. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem dodatku fruktooligosacharydów malała wielkość synerezy w badanych jogurtach.

W ostatnim etapie badań otrzymano analogi serów topionych, w których kazeinę kwasową zastąpiono częściowo różnymi koncentratami białek serwatkowych (WPC 35 i WPC 65) i określono właściwości reologiczne tych produktów. Dodatek obu koncentratów białek serwatkowych powodował wzrost twardości analogów serów topionych w porównaniu z analogami otrzymanymi wyłącznie na bazie kazeiny kwasowej. Wzrost zawartości białka

przyczyniał się do wzrostu lepkości analogów serów topionych. Stwierdzono również, że zastosowanie preparatów serwatkowych (WPC 35 i WPC 65) może spowodować znaczne oszczędności i poprawę właściwości reologicznych produktu finalnego.

Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w pięciu oryginalnych pracach twórczych: **II.4.a.2.**, **II.4.a.3.**, **II.4.a.4.**, **II.4.a.5.** i **II.4.a.6.** oraz trzech prezentacjach na konferencjach krajowych: **II.7.a.2.**, **II.7.a.3.** i **II.7.a.4.**

W latach 2004-2006 kontynuowałem współpracę, zapoczątkowaną w 2001 roku przez prof. dr. hab. inż. Pawła Glibowskiego, z firmą Osmofrost Sp. z o.o.. Badania dotyczyły analizy zawartości azotanów (III) i (V) w wybranych próbkach warzyw pochodzących z rejonu województwa lubelskiego: fasolki szparagowej, kapusty brukselskiej, kapusty białej i czerwonej, jarmużu, kalafiora, pora, pomidora, brokułu, cukinii, papryki i cebuli. Wyniki badań zostały opublikowane w 2007 roku w pracy **II.4.a.1.**. Z badań wynikało, że największą zawartością azotanów (III) wykazywały próbki rabarbaru, pora, kapusty białej i czerwonej. Najmniejsze ilości azotanów (V) stwierdzono w próbkach cebuli, papryki, pomidora. W ponad 92 % analizowanych próbek nie stwierdzono obecności azotanów (III).

W latach 2004-2008 prowadziłem badania własne dotyczące właściwości pianotwórczych różnych preparatów białkowych, skupiając się głównie na koncentratkach (WPC 80 oraz WPC 65) i izolacie białek serwatkowych (WPI) oraz preparatach na bazie albuminy jaja kurzego. Obrany przeze mnie kierunek badań wynikał z zainteresowania aspektami technologicznymi i żywieniowymi preparatów białek serwatkowych jako potencjalnego środka spieniającego, będących alternatywą dla albuminy jaja kurzego, do produkcji nowej, napowietrzanej żywności funkcjonalnej. Wybór preparatów białek serwatkowych wynikał z ich bardzo wysokiej wartości biologicznej i szeroko udokumentowanych właściwości prozdrowotnych.

Efektom prowadzonych badań było wykazanie, że spośród badanych preparatów białek serwatkowych, najlepszymi właściwościami pianotwórczymi cechował się izolat białek serwatkowych (WPI), co wykazano na podstawie badań reologicznych, wydajności pienienia i stabilności pian. Zbadano również szereg różnych czynników na pienistość preparatów jak: stężenie białka (2, 4, 6, 8 i 10 %), pH, czas ubijania (1, 2, 3 i 4 min), zastosowanie różnych stężeń molowych soli jak: chlorek sodu (60, 120, 240 i 480 mM), chlorek wapnia (5, 10, 15 i 20 mM) i wersenian sodu (0, 10, 50, 100 mM).

Najwyższe parametry reologiczne otrzymanych pian, tj. granica płynięcia (τ), moduł zachowawczy (G'), moduł stratności (G'') zostały zarejestrowane przy najwyższym, 10 % stężeniu białka. Niższe stężenia białka powodowały systematyczny spadek właściwości reologicznych i stabilności otrzymanych pian. Najwyższe wartości τ , G' i G'' zarejestrowano dla WPI, średnie dla WPC 80 i najniższe dla WPC 65. Wyniki badań wskazują, że zastosowanie obu koncentratów, tj. WPC 80 i WPC 65, przy zastosowaniu modyfikacji wspomnianych powyżej, może dawać zadowalające wyniki i być bardziej opłacalne w otrzymywaniu pian o pożądanym właściwościach.

W badaniu wpływu pH na pienistość badanych preparatów białek serwatkowych stwierdzono, że obniżenie pH do 3 powodowało pogorszenie ich zdolności pianotwórczych, co tłumaczyć mniejszymi wartościami elastyczności dylatacyjnej białek na granicy faz roztworu przed spienieniem. Piany otrzymane w pH 5 wykazywały lepsze właściwości reologiczne, ponieważ ta wartość pH jest bliska punktom izoelektrycznym obu głównych frakcji WPI, czyli β -laktoglobuliny i α -laktoalbuminy. Również zwiększenie pH do wartości 9 i 11, skutkowało uzyskaniem pian o najbardziej pożądanym właściwościach reologicznych. Takie wartości pH

prowadzą do rozfałdowania białek, ekspozycji wiązań disiarczkowych, co powoduje ich polimeryzację i zwiększenie wzajemnych oddziaływań na granicy faz powietrze-woda.

Przy współpracy z Panem dr. hab. Tomaszem Białopiotrowiczem, z Zakładu Zjawisk Międzyfazowych, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skołodowskiej, dla pian otrzymanych z izolatu białek serwatkowych w zmiennym pH, określono liniową korelację między wartościami granicy płynięcia i napięciem powierzchniowym roztworów przed spienieniem. W przypadku WPI przy różnych wartościach pH zaobserwowano również inną zależność, tj. między wydajnością pienienia a granicą płynięcia. Stwierdzono, że preparat WPI można uznać za bardziej wzorcowy niż WPC 80 i WPC 65, ponieważ zawiera on najmniejszą ilość związków niebiałkowych, w związku z tym, wspomniane korelacje były łatwiejsze do zaobserwowania.

W badaniach reologicznych udowodniłem również logarytmiczną korelację (potwierdzoną wysokim współczynnikiem determinacji $R^2=0,963$), pomiędzy wartościami kąta fazowego (δ) i granicy płynięcia (τ) dla pian otrzymanych z izolatu białek serwatkowych w różnych wartościach pH. Wraz ze wzrostem pH, granica płynięcia rosła, a kąt fazowy malał. Im bardziej elastyczna była próbka analizowanej piany, tym bardziej była podatna na odkształcenia sprężyste. Ta zależność nie została wcześniej opisana w literaturze tematu.

W przypadku WPI, w wyniku elektroforezy i chromatografii gazowej wykazano istotne różnice w składzie jakościowym i ilościowym białek obecnych w roztworze przed ubiciem, pianie i odcieku grawitacyjnym. Agregacja białek była najbardziej intensywna w roztworze przed ubiciem w pH 9, w porównaniu z pianą i odciekiem grawitacyjnym. Stwierdzono, że operacja ubijania może powodować mechaniczną defragmentację tych agregatów, być może dlatego nie występowały one w pianie i odcieku grawitacyjnym. Badania te uważam za niezwykle nowatorskie, ponieważ nie zostały wcześniej opisane w literaturze tematu.

W badaniach nad zastosowaniem zmiennego czasu ubijania (1, 2, 3 i 4 min), stwierdzono, że właściwości reologiczne otrzymanych pian były zależne od rodzaju zastosowanego preparatu i czasu ubijania. Piany z albuminy jaja kurzego cechowały się lepszymi właściwościami reologicznymi i wymagały krótszego czasu ubijania w porównaniu z pianami otrzymanymi z preparatów białek serwatkowych. W przypadku pian uzyskanych z preparatów białek serwatkowych, wzrost czasu ubijania prowadził do systematycznego zwiększania się granicy płynięcia i wydajności pienienia. Z kolei, zwiększanie czasu ubijania pian otrzymanych z albuminy prowadziło do zmniejszania wartości granicy płynięcia i wydajności pienienia wywołanego efektem przebiccia. Zjawisko przebiccia pian z albuminy jaja kurzego ma miejsce, gdy przedłużanie czasu ubijania prowadzi do zwiększonej koagulacji białek globularnych na granicy faz woda-powietrze i powoduje powstanie nierozpuszczalnych agregatów, które mają mniejszą zdolność utrzymywania wody, co objawia się załamaniem i zmniejszeniem objętości piany. W przypadku pian otrzymanych z WPI, WPC 80 i WPC 65 stwierdzono liniowe zależności pomiędzy wartościami granicy płynięcia pian i czasem ubijania roztworów białek, o czym świadczą wysokie współczynniki determinacji R^2 w zakresie 0,90 - 0,95.

W badaniach nad zastosowaniem soli NaCl / CaCl₂ / Na₂EDTA stwierdzono, że w przypadku WPI, zwiększanie stężenia molowego w całym zakresie (60-480 / 5-20 / 0-100 mM), powodowało systematyczną poprawę właściwości reologicznych, wydajności i stabilności pian. Tylko w przypadku pian otrzymanych z WPC 80 i WPC 65, przy 5 mM CaCl₂, stwierdzono poprawę właściwości pianotwórczych. Dla obu analizowanych koncentratów, zaobserwowano dokładnie odwrotne zjawisko, zwiększenie stężenia wszystkich badanych soli przyczyniło się do pogorszenia ich stabilności i właściwości reologicznych. Spowodowane to

było efektem wysalania białek, ponieważ oba preparaty, z uwagi na mniejszą czystość, zawierają odpowiednio więcej substancji mineralnych niż WPI. Dla próbek pian otrzymanych z WPI, w całym zakresie badanych stężeń molowych zastosowanych soli, określono zależności liniowe między wartościami granicy płynięcia i wydajnością pienienia, a także granicą płynięcia i kątem fazowym. Izolat białek serwatkowych, w porównaniu do koncentratów białek serwatkowych WPC 80 i WPC 65, w swoim składzie zawiera najmniej składników towarzyszących jak laktoza, tłuszcz i sole mineralne. W przypadku preparatów o mniejszej zawartości białka, a co za tym idzie większej zawartości laktozy, tłuszczu, soli mineralnych i innych substancji, układ staje się bardziej skomplikowany i trudniej jest zaobserwować zależności między właściwościami fizycznymi.

W końcowym etapie badań skupiłem się na opracowaniu receptur bez białkowych (pian stałych) na bazie izolatu białek serwatkowych (WPI) i koncentratu białek serwatkowych (WPC 80) i cukru pudru. Dokonano badań porównawczych z produktem tego typu występującego na rynku, otrzymanego na bazie albuminy jaja kurzego. Stwierdzono, że piany płynne (przed utrwaleniem termicznym), otrzymane z WPI cechowały się lepszymi właściwościami reologicznymi niż piany otrzymane z WPC 80. W przypadku obu preparatów, zwiększenie dodatku cukru pudru spowodowało zmniejszenie wartości granicy płynięcia pian. Jeśli chodzi o piany stałe, największą twardością cechowały się próbki sporządzone z WPI. Dla obu badanych preparatów, wzrost stężenia cukru spowodował zwiększenie twardości i zmniejszenie kruchości otrzymanych bez. Im większa była twardość, tym większa oporność na mechaniczne rozkruszanie. Największe wartości parametru L^* (luminescencja), stwierdzono w bezach otrzymanych z WPI. Zarówno w bezach z WPI, jak i z WPC 80, zmniejszenie stężenia białka spowodowało zmniejszenie tej wartości. Większe stężenie cukru w badanych bezach spowodowało wzrost wartości parametrów barwy a^* i b^* , co oznacza, że analizowane próbki były bardziej zielone (mniej czerwone) i bardziej żółte (mniej niebieskie).

Wyniki powyższych badań stanowiły podstawę dysertacji doktorskiej, pt. „Właściwości pianotwórcze wybranych preparatów białek serwatkowych”, którą obroniłem 8 października 2008 roku przed komisją powołaną przez Radę Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii. Funkcję promotora pracy pełnił Pan prof. dr hab. Stanisław Mleko. 22 października 2008 roku, decyzją Rady Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, uzyskałem stopień doktora nauk rolniczych, w zakresie technologii żywności i żywienia, specjalność technologia mleka.

W 2006 roku, jako słuchacz studiów doktoranckich, wziąłem udział w dwutygodniowym kursie Food and Consumer (30.01.2006-10.02.2006), w ramach programu Socrates Intensive Programme, który odbył się na Corvinus University, w Budapeszcie (Węgry).

W dniu 1 grudnia 2008 roku zostałem zatrudniony na stanowisku asystenta w Katedrze Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa (obecnie: Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka), na Wydziale Nauk o Żywności, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Od 2010 roku do teraz, pełnię stanowisko adiunkta. W 2017 roku dokonano reorganizacji Wydziału Nauk o Żywności, w wyniku której powstały nowe jednostki. Aktualnie jestem pracownikiem naukowo-dydaktycznym Katedry Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Zakładu Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej, gdzie zespołem kieruje Pan dr hab. Dariusz Stasiak, prof. UP.

Innym podjętym przeze mnie kierunkiem badań były zagadnienia związane z żywieniem i suplementacją diety sportowców. Badania wykonywano we współpracy z Klubem Sportowym Paco i firmą ISTO gabinet dietetyczny z Lublina.

Badano wpływ suplementacji monohydratem kreatyny wysokobiałkowej diety mężczyzn uprawiających ćwiczenia siłowe. W grupie objętej suplementacją stwierdzono znaczny wzrost możliwości siłowych, a co za tym idzie większą liczbą powtórzeń podczas wykonywania krótkotrwałego, powtarzalnego wysiłku fizycznego, w porównaniu do grupy kontrolnej. Grupa suplementowana zanotowała przyrost beztłuszczowej masy ciała oraz podstawowych grup mięśniowych.

W kolejnym etapie badań określono wpływ suplementacji odżywkami węglowodanowo-białkowymi oraz białkowymi diety mężczyzn uprawiających ćwiczenia siłowe. Stwierdzono, że suplementacja wpłynęła istotnie na zwiększenie masy ciała, masy mięśniowej, obwody podstawowych grup mięśniowych, przy jednoczesnej redukcji tkanki tłuszczowej oraz spowodowała wzrost możliwości siłowych, objawiających się większą liczbą powtórzeń podczas wykonywania wysiłku fizycznego.

Wyniki zamieszczone w powyższych pracach zostały opublikowane w postaci jednego oryginalnego artykułu: **II.4.b.4.** oraz w trzech monografiach: **II.2.b.4.**, **II.2.b.8.** i **II.3.b.1.**, jak również były prezentowane na trzech konferencjach krajowych: **II.7.B.5.**, **II.7.B.9.** i **II.7.B.12.**. W tamtym czasie, również moje artykuły popularno-naukowe z zakresu suplementacji diety preparatami białek serwatkowych, ukazywały się bardzo poczytnych magazynach branżowych jak: Kulturystryka i Fitness oraz Muscular Development: **II.5.b.1.**, **II.5.b.2.**, **II.5.b.3.** i **II.5.b.4.**.

Doświadczenie zdobyte podczas wykonywania prac badawczych podczas realizowania rozprawy doktorskiej i po uzyskaniu stopnia doktora pozwoliło mi wypracować własny warsztat badawczy. Moje zainteresowania zmieniały się wraz z rozwojem naukowym, zdobywanym doświadczeniem oraz wpływem, polskiego i zagranicznego otoczenia naukowego, z którym miałem okoliczność współpracować. Dalej rozwijałem podjętą tematykę i kontynuowałem współpracę z zespołem badawczym zakładu Technologii Mleka i Hydrokoloidów (obecnie: Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej). **Niezwykle istotna dla rozwoju mojej kariery naukowej, była i jest, współpraca naukowa z Panem dr. hab. Konradem Terpilowskim, prof. UMCS, z Katedry Zjawisk Międzyfazowych, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.**

Dalsze badania dotyczyły zastosowania hydrokoloidów polisacharydowych, mieszanin białkowo-polisacharydowych w celu poprawy właściwości funkcjonalnych (pienistość, żelowanie) różnych białek (preparaty białek serwatkowych, albumina jaja, gluten, żelatyna, białka pestek dyni) oraz otrzymywania analogów serów topionych, napojów fermentowanych i ich mimetyków oraz biodegradowalnych polimerów, batonów białkowych na bazie białek roślinnych z soi, ryżu i grochu.

Badano wpływ stężenia karagenu i rodzaju zastosowanego koncentratu białek serwatkowych (WPC 80, WPC 65 i WPC 35) na właściwości reologiczne żeli białkowo-polisacharydowych. Dodatek karagenu do roztworów WPC 35 i WPC 65, zawierających dużo niebiałkowych składników takich jak: laktoza, tłuszcz i sole mineralne, powodował najwyższy wzrost twardości żeli w przypadku najniższego stężenia polisacharydu 0,1 %. W przypadku WPC 80, najtwardsze żele otrzymano przy najwyższym stężeniu karagenu (0,3 %). Obecność polisacharydu obniżała temperaturę żelowania białek serwatkowych wraz ze wzrostem stężenia karagenu.

Następnie analizowano wpływ dodatku dekstranu o zróżnicowanej masie cząsteczkowej na właściwości teksturalne i reologiczne żeli otrzymywanych z izolatu białek serwatkowych. Dodatek dekstranu do żelu białkowego powodował obniżenie jego twardości. Twardość żeli białkowych spadała wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej dekstranu. Kruchość żeli białkowych malała wraz ze wzrostem stężenia dodanego dekstranu, natomiast przyległość

żelu białkowego wzrastała wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej dekstranu. Dodatek dekstranu powodował spadek wartości modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G''), co może świadczyć o stabilizującym działaniu dekstranu na strukturę białek serwatkowych.

W kolejnych badaniach określono wpływ κ -karagenu i ι -karagenu na właściwości reologiczne pian otrzymanych z izolatu białek serwatkowych (WPI) oraz dwóch koncentratów białek serwatkowych WPC 80 i WPC 65. Rodzaj użytego karagenu nie miał znaczącego wpływu na właściwości pianotwórcze badanych preparatów. Największe wartości granicy płynięcia (τ) stwierdzono dla WPI, mniejsze dla WPC 80, a najmniejsze dla WPC 65. Dla wszystkich badanych preparatów stwierdzono systematyczny wzrost wartości τ przy dodatku karagenu w zakresie 0-0,1-0,2 %, i tym samym poprawę właściwości reologicznych. Przy 0,3 % dodatku obserwowano drastyczny spadek wartości τ . Zjawisko to można tłumaczyć fazą separacji, która polega na zmniejszeniu się oddziaływań pomiędzy różnymi biopolimerami, co skutkuje ich rozdzieleniem. Zjawisko było bardziej widoczne dla WPC 80 i WPC 65, ponieważ zawierały one najwięcej niebiałkowych składników, co spowodowało pogorszenie właściwości pianotwórczych badanych preparatów.

Wyniki badań z zakresu poprawy właściwości pianotwórczych (karagen) i żelujących (karagen/dekstran) preparatów białek serwatkowych opublikowano w jednym oryginalnym artykule badawczym: **II.4.b.3.**, dwóch monografiach: **II.4.b.1.** i **II.2.b.3.** oraz były prezentowane na dwóch konferencjach krajowych: **II.7.B.3.** i **II.7.B.8.**

W 2012 roku (15.09.2012-29.09.2012) byłem współorganizatorem oraz wykładowcą dwutygodniowego programu Lifelong Learning Programme Erasmus - Intensive Programme (IP): Regulatory Aspects and Scientific Risk Assessment of Food and Feed Safety, realizowanego w Suleyman Demirel University w Isparcie (Turcja).

Kolejnym kierunkiem były badania związane z przeżywalnością *Lactobacillus casei* w mlecznych napojach fermentowanych otrzymanych z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka, oceną właściwości reologicznych i teksturalnych mimetyków napojów fermentowanych otrzymywanych na bazie inuliny i serwatki i analiza kefirów dostępnych na rynku lubelskim.

Zbadano wpływ wyselekcjonowanych preparatów białek mleka (CGMP, α -la, SPD, WPI i WPC65) na właściwości fizykochemiczne i reologiczne mlecznych napojów fermentowanych, otrzymanych przy użyciu potencjalnie probiotycznych bakterii *Lb. casei*. W badaniach stwierdzono, że wybrane preparaty białek mleka stymulowały wzrost szczepu bakterii *Lb. casei* L26. Dodatki preparatów białek serwatkowych miały korzystny wpływ na właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych. Skrzepy mlecznych napojów fermentowanych otrzymywane z mleka odtłuszczonego charakteryzowały się wyższymi wartościami takich parametrów jak twardość, czy współczynnik konsystencji. Produkty otrzymane przy użyciu szczepu *Lb. casei* L26 charakteryzowały się dużą synerżą, niezależnie od zawartości tłuszczu w mleku. Wzrost stężenia preparatów białek mleka w napojach fermentowanych powodował stopniowe zmniejszanie ilości wydzielonej serwatki. Oprócz poprawy właściwości fizykochemicznych mlecznych napojów fermentowanych, wzbogacanie ich preparatami białek mleka wpływało na zwiększenie walorów prozdrowotnych oraz nadawało produktom cechy żywności funkcjonalnej.

W przypadku mimetyków napojów fermentowanych, celem pracy było otrzymanie produktów na bazie mleka i serwatki. Za właściwości teksturotwórcze tak powstałych mimetyków napojów fermentowanych miała odpowiadać inulina o wysokim stopniu polimeryzacji o stężeniu 13 i 15 %. Uzyskane wyniki odniesiono do handlowych jogurtów naturalnych oraz śmietan. Zastosowane stężenie serwatki (6,25 %) pozwoliło uzyskać kwasowość większości mimetyków bliską tej, która występuje w produktach komercyjnych.

Powstałe mimetyki charakteryzowały się większą zwięzłością, co przekładało się na wyższe wartości twardości, adhezyjności czy kohezji w stosunku do jogurtów czy śmietan komercyjnych. Mimetyki z 15 % zawartością inuliny wykazywały się bardziej zwartą strukturą niż ich 13 % odpowiedniki. Obecność serwatki w proszku pozwoliła na stworzenie produktu o kwasowości takiej jak w fermentowanych napojach mlecznych.

W badaniu dotyczącym kefirów dostępnych na rynku lubelskim, głównym założeniem było porównanie właściwości reologicznych (lepkość, krzywa płynięcia, tiksotropia) oraz kwasowości. Lepkość wszystkich kefirów zmniejszała się w miarę zwiększania prędkości ścinania. Spośród badanych kefirów największą lepkością odznaczał się kefir firmy B, co mogło mieć związek ze zwiększoną zawartością białka (4 %) w produkcie. Wszystkie przebadane kefiry wykazywały cechy płynów nieniu-tonowskich, rozrzedzanych ścinaniem, tzw. płynów pseudoplastycznych, o czym świadczy przebieg ich krzywych płynięcia. Badane kefiry w różnym stopniu wykazywały zjawisko tiksotropii. Kefiry o większej zawartości białka cechowały się większą odpornością na warunki ścinania w zadanym zakresie niż kefiry o mniejszej zawartości białka. Ponadto, wszystkie przebadane kefiry cechowały się prawidłową kwasowością.

Wyniki poniższych badań opublikowano w jednym oryginalnym artykule badawczym: **II.4.b.7.**, dwóch monografiach: **II.2.b.5.** i **II.2.b.6.** oraz prezentowano na dwóch krajowych konferencjach: **II.7.B.10.** i **II.7.B.11.**

Kolejny kierunek badań to określenie wpływu dodatku mączki chleba świętojańskiego (MCS), izolatu białek serwatkowych (WPI), spolimeryzowanego izolatu białek serwatkowych (WPP), spolimeryzowanego izolatu białek serwatkowych jako zamiennika soli emulgujących, mikrokoagulatów WPI i boczniaka ostrygowatego (POM) na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych.

Otrzymano analogi serów topionych z kazeiny kwasowej (KK) z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego (MCS) oraz analizowano ich teksturę i topliwość. W badaniach stwierdzono, że wraz ze wzrostem dodatku kazeiny zwiększała się twardość, przylegalność i lepkość uzyskanych analogów, natomiast zmniejszeniu ulegała ich spójność oraz topliwość. Dodatek 0,05 % mączki chleba świętojańskiego wpłynął na zmniejszenie twardości, a zarazem zwiększenie spójności analogów serów topionych otrzymanych z 11 % kazeiny kwasowej. Z kolei, przylegalność wszystkich próbek zmniejszała się wraz ze zwiększaniem zawartości hydrokoloidu w produkcie. Sprężystość nie zależała od zawartości kazeiny kwasowej oraz mączki chleba świętojańskiego i była cechą niezależną od innych właściwości tekstury. Dodatek mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % wpłynął na istotne zmniejszenie topliwości w porównaniu z próbkami kontrolnymi, jednak wszystkie badane analogi serowe cechowały się dobrą topliwością.

Zbadano również wpływ dodatku izolatu białek serwatkowych (WPI) i polimeryzowanego izolatu białek serwatkowych (WPP) na właściwości fizykochemiczne, ze szczególnym naciskiem na właściwości powierzchniowe, analogów serów topionych z częściowym zastąpieniem tłuszczu. Wyższe stężenia WPP promowały bardziej hydrofobowe powierzchnie próbek. I odwrotnie, wzrost dodatku WPI powodował modyfikację powierzchni serów na hydrofilową. Wpływ szorstkości powierzchni był znacznie większy w przypadku próbek zawierających WPI. Wzrost dodatku białka spowodował spadek topliwości i wzrost stabilności serów, dzięki czemu nadawały się one bardziej do rozdrabniania / tarcia. Obrazy optyczne i konfokalne dowiodły, że sery z WPP wykazywały bardziej upakowaną i gęstszą strukturę w porównaniu z próbkami z WPI.

Dokonano oceny wpływu spolimeryzowanego izolatu białek serwatkowych (WPI) jako zamiennika soli emulgujących na właściwości teksturalne, reologiczne i topliwość modelowych serów topionych na bazie kwaśnej kazeiny. Częściowe zastąpienie soli emulgujących spolimeryzowanym WPI (0,2-0,4 %) zwiększyło cechy teksturalne i lepkość, jednak wyższe stężenia WPI zmniejszyły twardość i adhezyjność. Najwyższe początkowe wartości modułów zachowawczych (G') i stratności (G'') odnotowano przy stężeniu 0,4 % WPI, co było skorelowane z najwyższą twardością i adhezyjnością. Wszystkie badane próbki charakteryzowały się dobrą topliwością (liczba testowa Schreibera > 4). Ponadto, zastąpienie soli emulgujących spolimeryzowanym WPI poprawiło smarowność serów topionych. Zaobserwowana poprawa właściwości teksturalnych, wykazana przez niższą twardość i adhezyjność, lepszą spoistość i smarowność lub wystarczającą topliwość, sugeruje, że spolimeryzowany izolat białek serwatkowych może być stosowany jako potencjalny zamiennik soli emulgujących w serach topionych.

W dalszym etapie badań określono wpływ mikrokoagulatów białek serwatkowych, jako zamiennika tłuszczu, na teksturę, właściwości reologiczne, topliwość i mikrostrukturę modelowego sera topionego przygotowanego przy użyciu kwasowej kazeiny. Częściowe zastąpienie bezwodnego tłuszczu mlecznego mikrokoagulatami białek serwatkowych (3-8 %) zwiększyło twardość i lepkość modelowych serów topionych. Moduł zachowawczy (G') był wyższy niż moduł stratności (G'') podczas całego eksperymentu. Badane próbki charakteryzowały się dobrą topliwością (liczba testowa Schreibera > 4). Zaobserwowana zmiana właściwości fizykochemicznych sugeruje, że mikrokoagulatory białek serwatkowych mogą być wykorzystywane jako potencjalny zamiennik tłuszczu w serach topionych.

Na końcu zbadano wpływ frakcji polisacharydowej z bocznika ostrygowatego (POM) na teksturę, właściwości reologiczne i topnienie, gęstość, aktywność wody, barwę i właściwości przeciwutleniające sera topionego na bazie kwaśnej kazeiny. Próbki badano po 24 godzinach i 21 dniach przechowywania. Twardość serów z POM (0,125-0,25%) była niższa niż serów kontrolnych. Moduł zachowawczy (G') był wyższy niż moduł stratności (G'') podczas eksperymentu. Początkowe wartości modułu zachowawczego i modułu stratności były wyższe po okresie przechowywania, co korelowało z wyższą twardością. Próbki nieprzechowywane i przechowywane wykazały dobrą topliwość (liczba testowa Schreibera > 4). Dodatek POM zwiększył aktywność przeciwutleniającą (FRAP). Biorąc pod uwagę pożądane właściwości fizykochemiczne i przeciwutleniające, optymalny poziom dodatku POM w serze topionym ustalono na poziomie 0,25 %.

Wyniki poniższych badań opublikowano w pięciu oryginalnych artykułach badawczych: **II.4.b.6.**, **II.4.b.14.**, **II.4.b.17.**, **II.4.b.22.** i **II.4.b.26.**, jednej monografii: **II.2.b.9.** oraz prezentowano na pięciu krajowych i zagranicznych konferencjach: **II.7.B.7.**, **II.7.B.15.**, **II.7.B.17.**, **II.7.B.23.** i **II.7.B.25.**.

Kolejnym kierunkiem badań była modyfikacja właściwości powierzchniowych żeli otrzymanych z białek serwatkowych, otrzymywanie trójskładnikowych biopolimerów z koncentratu białek serwatkowych (WPC 80), glutenu i kaolinitu (KAO), badania nad procesem żelowania dwuskładnikowych mieszanin glutenu i żelatyny oraz mieszanin białek z pestek dyni i albuminy jaja kurzego oraz badania nad aktywacją powierzchni szkła zimną plazmą powietrzną i wpływu na zmiany właściwości powierzchniowych glutenu osadzonego na takiej powierzchni.

Określono, że modyfikacja właściwości powierzchniowych żeli białek serwatkowych może przekształcić te produkty na nowy poziom zastosowań. Mogą być one stosowane jako matryca do uwalniania składników aktywnych, materiał do inżynierii tkankowej, czy

tymczasowe struktury ulegające biodegradacji w organizmie człowieka. Pomimo, że tradycyjne techniki badawcze jak mikroskopia jest wykorzystywana do badania żeli białkowych od lat, to wykazano, że inne metody powierzchniowe jak profilometr optyczny i pomiary kąta zwilżania w celu określenia zwilżalności powierzchni (hydrofobowość/hydrofilowość), ujawniają inne bardzo ważne właściwości żeli białek serwatkowych.

Zbadano wpływ różnych stężeń glutenu na trójskładnikowe biopolimery z koncentratem białek serwatkowych (WPC 80) i kaolinitem (KAO). Wzrost stężenia glutenu spowodował wzrost modułów zachowawczego (G') i stratności (G'') i lepkości otrzymanych mokrych biopolimerów oraz siły przebicia dla suchych biopolimerów. Dla trójskładnikowego biopolimeru zaobserwowano warstwy z interkalacją i eksfoliacją w porównaniu z biopolimerem otrzymanym bez KAO. Wyższe stężenie glutenu spowodowało powstanie mniej porowatej struktury, chociaż istniały różnice w chropowatości w skali mikro i nano. Kąty zwilżania zmniejszyły się wraz ze wzrostem stężenia glutenu, co korespondowało z mniej porowatą mikrostrukturą powierzchni. Pozorna swobodna energia powierzchniowa wzrastała wraz ze wzrostem stężenia glutenu. Najlepsze właściwości plastyczne i najlepszy kształt otrzymanego naczynia uzyskano dla trójskładnikowego biopolimeru o stężeniu glutenu 15 %.

W badaniach nad procesem żelowania dwuskładnikowych mieszanin glutenu i żelatyny, roztwory żelatyny dodano do dyspersji glutenu, aby uzyskać 25 % białka z glutenu i 0, 0,3, 0,6 i 1,0 % żelatyny. Utworzono żele indukowane ciepłem. Włączenie żelatyny do matrycy żelu glutenowego spowodowało jego wzmocnienie, co objawiało się wzrostem właściwości elastycznych. Przy stężeniu żelatyny 0,6 % nastąpiło wzmocnienie glutenu i struktura matrycy glutenowej wykazała najlepszą zdolność do włączenia żelatyny do wnętrza struktury. Wyniki badania FTIR wykazały, że przy stężeniu żelatyny 0,6 %, więcej żelatyny było obecne w próbkach wymywanych niż w próbkach z dodatkiem 1 % żelatyny. Dodatek żelatyny spowodował efekt wygładzenia powierzchni i obniżenia chropowatości powierzchni otrzymanych żeli.

Następnie zbadano proces żelowania dwuskładnikowych mieszanin białek z pestek dyni i albuminy jaja kurzego. Stwierdzono, że zastąpienie białek z pestek dyni białkami z jaja kurzego, poprawiło właściwości reologiczne otrzymanych żeli, co objawiało się wyższym modułem zachowawczym (G'), niższym $\tan(\delta)$ oraz większą lepkością i twardością ultradźwiękową. Żele o większej zawartości białka jaja kurzego były bardziej elastyczne i bardziej odporne na pękanie struktury. Wyższe stężenie białka z pestek dyni zmieniło mikrostrukturę żelu na bardziej szorstką. Uzupełnienie białek z pestek dyni albuminą jaja spowodowało spadek aktywności wody, co miało istotne znaczenie dla stabilności mikrobiologicznej otrzymanych żeli. Stwierdzono silne korelacje między aktywnością wody a właściwościami reologicznymi żeli. Poprawa ich właściwości reologicznych skutkowałą spadkiem aktywności wody. Zastępowanie białek z pestek dyni białkami jaja kurzego skutkowało bardziej jednorodnymi żelami o silniejszej mikrostrukturze i lepszym wiązaniu wody.

W kolejnym badaniu przeanalizowano, w jaki sposób aktywacja powierzchni szkła zimną plazmą powietrzną, wpływa na zmiany właściwości powierzchniowe glutenu osadzonego na takiej powierzchni. Obróbka powierzchni glutenu zimną plazmą spowodowała jej modyfikację. Zastosowanie powierzchni aktywowanych plazmą skutkowało gładzszymi powierzchniami w porównaniu do tych uzyskanych na podłożu nieaktywowanym. Powierzchnia glutenu otrzymana na szkłe aktywowanym plazmą powietrzną wykazywała wyższą wartość pozornej swobodnej energii powierzchniowej. Było to spowodowane znacznym wzrostem liczby grup -OH wpływających na polarny składnik energii powierzchniowej. Zastosowanie tej metody może poprawić możliwości zastosowania glutenu.

Metoda pozwala na otrzymanie biodegradowalnych naczyń (doniczek), a mniejsza chropowatość powierzchni takiego biopolimeru spowoduje mniejszą przyczepność ziemi i różnych zanieczyszczeń do ich powierzchni. W ten sposób modyfikowany gluten może być również wykorzystywany do otrzymywania aktywnych opakowań i biodegradowalnych folii.

Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w pięciu oryginalnych pracach twórczych: **II.4.b.10.**, **II.4.b.12.**, **II.4.b.18.**, **II.4.b.20.** i **II.4.b.28.** oraz były prezentowane na jednej krajowej konferencji naukowej: **II.7.B.14.**

Od 2018 roku współpracuję z firmą EUROHANSA Sp. z o.o., w ramach doktoratu wdrożeniowego mgr. inż. Jana Małeckiego (obrona pracy w wrześniu 2022 roku), który dotyczył opracowania receptur, analiz fizykochemicznych i wprowadzenia na rynek batonów białkowych zawierających kombinację białek roślinnych z soi (SOY), ryżu (RPC) i grochu (PEA) z płynnymi syropami: błonnikiem z tapioki (TF), oligofruktozą (OF) i maltitolem (ML). Określono zdolności tych składników do modyfikowania tekstury, właściwości fizykochemicznych, odżywczych, właściwości powierzchniowych, mikrostruktury, parametrów sensorycznych i przydatności technologicznej. Wykonano dziesięć wariantów próbek, w tym próbkę kontrolną wykonaną z koncentratu białek serwatkowych (WPC) w połączeniu z syropem glukozowym (GS). Wszystkie zastosowane kombinacje miały pozytywny wpływ na zmniejszenie twardości batonów po okresie przechowywania. Mikrostruktura i kąt zwilżania wykazały duży wpływ zastosowanych białek i syropów na cechy wytwarzanych produktów, przede wszystkim na zwiększoną hydrofobowość powierzchni próbek wykonanych z RPC + ML, SOY + OF i RPC + TF. Połączenie użytych białek i syropów znacznie zmniejszyło zawartość cukru w produkcie. Aktywność wody, lepkość dynamiczna i analiza sensoryczna (najwyższe oceny końcowe) wykazały, że batony wykonane z RPC + OF, SOY + OF i SOY + ML charakteryzują się wysokim potencjałem do wykorzystania w tego typu produktach. Wyniki badań opublikowano w oryginalnej pracy twórczej: **II.4.b.24.**

Od 2018 roku do dziś, prowadzę wspólne badania z Panem Salvadorem Peréz-Huertasem (wtedy doktorant na Wydziale Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, w Katedrze Zjawisk Międzyfazowych), a obecnie doktor z Katedry Inżynierii Chemicznej, na Uniwersytecie w Granadzie (Hiszpania). Przeprowadzone wspólnie badania opublikowano w manuskryptach H1 i H5, wchodzących w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego.

Od 2020 roku do dziś, współpracuję z Panią Prof. dr hab. Magdalena Polak-Berecką, z Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Nasze wspólne badania dotyczą zastosowania sfermentowanego soku z jarmużu kędzierzawego w produkcji sera typu Feta. Badania reologiczne i aparat Turbiscan wykazały, że sfermentowany sok z jarmużu kędzierzawego w połączeniu z podpuszczką przyspieszył tworzenie skrzepu, co skutkowało silniejszym skrzepem w porównaniu z próbką zawierającą samą podpuszczkę. Wartości pH oraz zawartość laktozy i białka istotnie zmniejszyły się w wyniku dojrzewania. Zastosowanie sfermentowanego soku z jarmużu poprawiło właściwości teksturalne i zmieniło mikrostrukturę uzyskanego sera. Wreszcie, proces dojrzewania poprawił profil aminokwasowy sera. Powyższe wyniki wskazują, że sfermentowany sok z jarmużu kędzierzawego może być stosowany do produkcji sera o ulepszonych właściwościach funkcjonalnych.

Od 2020 roku do dziś, współpracuję z Panią dr hab. Katarzyną Kozłowicz, z Katedry Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Wydziału Inżynierii Produkcji, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Rozpoczęliśmy wspólne badania nad wykorzystaniem wytlóków z pszczelnika mołdawskiego w kształtowaniu właściwości

termofizycznych i fizykochemicznych lodów na bazie mleka ryżowego. Podstawowy skład lodów modyfikowano zróżnicowaną porcją wytlóków (1 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 % i 3 %). Analiza zawartości kwasów tłuszczowych wykazała wysoki udział kwasu linolenowego (n-3) w badanych lodach, szczególnie przy 3 % udziale wytlóków. Dodatek wytlóków zwiększył zawartość suchej masy, tłuszczu i białka w lodach. Rosnący udział tego dodatku wpływał na właściwości fizyczne lodów, zwiększając twardość, kleistość i lepkość oraz zmniejszając szybkość ich topnienia.

Również od 2020 roku do dziś, współpracuję z Panem Profesorem Igozem Tomasevicem, z Katedry Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, z Wydziału Rolniczego, Uniwersytetu w Belgradzie (Serbia). W 2020 roku, w ramach programu PROM, pod kierunkiem Pana Profesora, odbyłem tam trzytygodniowe szkolenie (20.02.2020-13.03.2020). Prowadziliśmy wspólne pomiary z wykorzystaniem unikalnej aparatury, w tym dużej infrastruktury badawczej, niedostępnej w Polsce - Computer Vision System (CVS). Zapoznawałem się również z systemami jakości zapewniającymi bezpieczeństwo żywności. Wyniki badań opublikowałem w manuskryptach H4 i H5, które wchodziły w skład osiągnięcia o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego. W ramach tego samego programu, w dniach 15.10.2021-07.11.2021, Pan Profesor Igor Tomasevic wraz z grupą doktorantów, przybył do Zakładu Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej, gdzie pod moją opieką odbył trzytygodniowe szkolenie z zakresu zastosowania reometrii oscylacyjnej do badań żywności. Ponadto, prowadzimy również wspólne badania nad możliwością produkcji serbskiego sera białego (ser Homoljski) o obniżonej zawartości soli kuchennej. Badanie miało na celu zbadanie możliwości produkcji serbskiego sera białego z połową NaCl, trzema czwartymi NaCl i całym NaCl zastąpionym KCl (odpowiednio Na50, Na25 i Na0). Zarówno częściowe, jak i całkowite zastąpienie soli nie miało wpływu na przebieg zmian proteolitycznych, teksturę i podstawowy skład podczas dojrzewania. Konsumentci płci żeńskiej nie akceptowali żadnego poziomu substytucji soli, podczas gdy konsumenci płci męskiej wykazywali niechęć tylko do sera Na0. Prawie 80 % wszystkich konsumentów doceniło umiarkowanie lub bardzo wariant sera Na25. Z badań wynika, że warto rozważyć produkcję sera z 50-75 % NaCl zastąpionego KCl.

Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w trzech oryginalnych pracach twórczych: II.4.b.15., II.4.b.19. i II.4.b.23. oraz były prezentowane na jednej krajowej konferencji naukowej: II.7.B.21..

W 2021 roku odbyłem trzymiesięczny staż (01.04.2021-15.07.2021) na Wydziale Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, w Katedrze Zjawisk Międzyfazowych, pod opieką naukową Pana dr. hab. Konrada Terpiłowskiego, prof. UMCS. Celem stażu było prowadzenie wspólnych badań związanych z technikami powierzchniowymi (szorstkość, kąt zwilżania, mikroskopia optyczna, mikroskopia SEM, mikroskopia konfokalna) i stabilności żywności (Aparat Turbiscan). Przy użyciu w/w technik, dokonałem szeregu analiz otrzymanych produktów wysokobiałkowych jak: jogurty, bezy, czekolady deserowe i makaroniki. Wyniki badań opublikowałem we wszystkich manuskryptach H1-H5, które wchodziły w skład osiągnięcia o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego.

W 2021 roku uczestniczyłem w pięciodniowym szkoleniu (15.11.2021-19.11.2021) „Mistrzowie dydaktyki” w Ghent University w Belgii. Kurs dotyczył wdrażania nowych metod dydaktycznych, realizacji zajęć z wykorzystaniem metody tutoringingu przy pomocy nowoczesnych metod nauczania tj. wideokonferencji, zajęć e-learningowych.

W 2021 roku uczestniczyłem w wizycie studyjnej w Universitat Politècnica de València. Trzydniowe szkolenie (22.11.2021-24.11.2021) służyło podniesieniu kompetencji kadry akademickiej i administracyjnej oraz potencjału instytucjonalnego w przyjmowaniu osób z zagranicy przez Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

Pomiędzy 01.02.2022-31.03.2022 roku, byłem opiekunem trzymiesięcznego stażu, który Pani dr hab. Katarzyna Szymczyk, prof. UMCS, z Katedry Zjawisk Międzyfazowych, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, odbyła w Zakładzie Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej. Celem stażu było zapoznanie się z zapleczem badawczym zakładu, przeprowadzenie wspólnych badań z zakresu właściwości mieszanin sorbinianów i sorbitolu oraz przygotowanie publikacji naukowych.

Od 2023 roku w ramach Grantów Wyszehradzkich z Międzynarodowego Funduszu Wyszehradzkiego, jestem wykonawcą w międzynarodowym projekcie "Food Quality in Digital Age" wraz z czterema Partnerami: University of Belgrade (Serbia), Mendel University in Brno (Republika Czeska), Slovak University of Agriculture in Nitra (Słowacja), Hungarian University of Agriculture and Life Sciences (Węgry). Dotychczas odbyłem 2 wizyty szkoleniowe (z czterech planowanych):

- czterodniową w Brnie (27.02.2023-02.03.2023) – szkolenie z zakresu zastosowania drukarek 3D w technologii żywności, oprogramowania, obsługi i konserwacji drukarek 3D.

- czterodniową w Budapeszcie (07.06.2023-10.06.2023) - szkolenie z zakresu niedestruktywnych metod analitycznych.

W latach 2012-2023, w ramach Erasmus + STAFF MOBILITY FOR TRAINING (STT), odbyłem siedem wyjazdów stażowych, tj.:

1. W 2012 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (31.07.2012-06.08.2012) w Ondokuz Mayis University (Samsun, Turcja). W ramach szkolenia realizowałem badania dotyczące właściwości reologicznych, tekstury tradycyjnych fermentowanych produktów mleczarskich, jak również badania chromatograficzne tradycyjnych miódów tureckich.

2. W 2017 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (14.05.2017-20.05.2017) w Slovak University of Agriculture w Nitrze (Słowacja). W ramach szkolenia realizowałem badania dotyczące oceny właściwości reologicznych i teksturalnych żywności. Zapoznawałem się procesami produkcji piwa, oceną jęczmienia i słodu wpływającą na końcową jakość piwa. Ponadto, zapoznawałem się z oceną somatometryczną (BMI, zawartość tkanki tłuszczowej) z wykorzystaniem zanurzeniowej bioimpedancji.

3. W 2017 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (03.09.2017-09.09.2017) w Slovak University of Agriculture w Nitrze (Słowacja). W ramach szkolenia realizowałem badania dotyczące właściwości fizykochemicznych serów i kielbas tradycyjnych, zapoznawałem się z metodą TBARS oraz produkcją i oceną sensoryczną piwa rzemieślniczego.

4. W 2021 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (14.06.2021-18.06.2021) w Slovak University of Agriculture w Nitrze (Słowacja). W ramach szkolenia zapoznawałem się z technikami spektroskopowymi FT-NIR (Bruker Optics). Realizowałem także badania nad otrzymaniem i oceną fizykochemiczną wysokobiałkowych bez otrzymanych z izolatu białek serwatkowych i erytrytolu oraz analogów serów topionych z dodatkiem różnych preparatów białek serwatkowych.

5. W 2021 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (16.08.2021-20.08.2021) w Mendel University w Brnie (Republika Czeska). W ramach szkolenia otrzymywałem sery białe przy użyciu różnych czynników koagulacyjnych. Zapoznawałem się z technikami

spektroskopowymi FT-NIR Thermo/Nicolet Antaris Spectrometry. Dokonywałem również oceny porównawczej właściwości fizykochemicznych serów z Czech oraz Polski.

6. W 2022 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (30.05.2022-03.06.2022) w University of Zagreb (Chorwacja). W ramach szkolenia zapoznawałem się z zastosowaniem ultradźwięków, pola elektrycznego (PEF), techniką sous-vide w technologii żywności.

7. W 2023 roku odbyłem tygodniowe szkolenie (29.05.2023-05.06.2023) w University of Zagreb (Chorwacja). W ramach szkolenia zapoznawałem się z zastosowaniem drukarek 3-D, pola elektrycznego o dużej intensywności (HIPEF), wysokiego ciśnienia hydrostatycznego (HHP), zimną plazmą, ozonowaniem oraz enkapsulacją składników bioaktywnych w technologii żywności.

5.1. Podsumowanie osiągnięć naukowo-badawczych

Podsumowując, mój dorobek naukowy wraz z pięcioma artykułami dokumentującymi osiągnięcie naukowe obejmuje 82 pozycje bibliograficznych, w których jestem autorem lub współautorem. Zestawienie mojego dorobku przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Podsumowanie dorobku naukowego

	Liczba dokonań		Sumaryczna liczba punktów		Sumaryczny Impact Factor	
	Przed doktoratem	Po doktoracie	Przed doktoratem	Po doktoracie	Przed doktoratem	Po doktoracie
Publikacje z listy JCR	-	20	-	1625	-	66,209
Publikacje spoza listy JCR	6	12	24	201	-	-
Rozdziały w monografiach	-	12	-	98	-	-
Doniesienia i komunikaty konferencyjne	4	28	-	-	-	-
Zgłoszenia patentowe	-	-	-	-	-	-
Razem	10	72	24	1924	-	66,209
	82		1948		66,209	

Informacja na temat sumarycznego dorobku naukowego (uwzględniając okres przed i po uzyskaniu stopnia doktora) oraz wskaźników dokonań naukowych przedstawiono w Załączniku 4. Sumaryczny Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) podano zgodnie z rokiem ukazania się pracy. Liczbę punktów za publikację podano wg roku opublikowania na podstawie wykazu czasopism naukowych. Po wyłączeniu pięciu prac będących podstawą szczególnego osiągnięcia naukowego (IF=15,806, 480 pkt. MEiN), wartość pozostałej części mojego dorobku naukowego wynosi 50,403 i 1468 pkt. MEiN, z czego dla prac opublikowanych po uzyskaniu tytułu naukowego doktora.

IF=**66,209**, liczba punktów MEiN – **1948**.

-Indeks Hirscha według bazy Web of Science – **7**

-h-index według bazy Scopus -**7**

- liczba cytowań na podstawie Web of Science -**135** (z pominięciem autocytowań – **104**), z dnia 31.08.2023

- liczba cytowań na podstawie Scopus – **164** (z pominięciem autocytowań – **134**), z dnia 31.08.2023

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

6.1. Działalność dydaktyczna

Zajęcia dydaktyczne zacząłem prowadzić już na studiach doktoranckich w latach 2004-2008. Obecnie będąc pracownikiem naukowo-dydaktycznym Katedry Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prowadzę zajęcia dydaktyczne ze studentami stopnia I i II, stacjonarnego oraz niestacjonarnego kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Dietetyka oraz Gastronomia i Sztuka Kulinarna.

Aktualnie prowadzę i współprowadzę zajęcia z następujących przedmiotów: Historia Nauki o Żywieniu i Dietetyki, Technologia młeczarstwa, Produkty Mleczarskie, Projektowanie Środków Spożywczych, Żywnienie Sportowców i Osób Aktywnych Fizycznie, Technologia Specjalizacyjna (Technologia Mleka), Technologia Gastronomiczna. Opracowałem programy nauczania z następujących przedmiotów: Historia Nauki o Żywieniu i Dietetyki, Trendy w Żywieniu Człowieka, Środki Wspomagające Aktywność Fizyczną, których to jestem koordynatorem.

W corocznych ankietach studenckich, moja praca dydaktyczna, zarówno w kwestii wykładów, jak i ćwiczeń laboratoryjnych i audytoryjnych, była oceniana pozytywnie. Podobnie było podczas hospitacji.

Od 2008 roku posiadam certyfikat The European Language Certificate TELC English, potwierdzający znajomość języka angielskiego na poziomie B2, a od 2021 roku zaświadczenie, wydane przez Centrum Nauczania Języków Obcych i Certyfikacji Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Dlatego prowadzę również anglojęzyczne zajęcia dla studentów wizytujących w ramach programu Erasmus Plus. Odpowiadam za zajęcia oraz opracowanie programów nauczania z następujących przedmiotów: New Product Development, Nutrition of Sportsmen and Physically Active People, Supplements Supporting Physical Activity.

Po uzyskaniu stopnia doktora, byłem promotorem łącznie 20 prac magisterskich, 40 prac inżynierskich oraz 12 licencjackich, na studiach stacjonarnych, niestacjonarnych, I i II stopnia na następujących kierunkach studiów: Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Żywnienie Człowieka i Dietetyka, Dietetyka.

Swoje kompetencje dydaktyczne podnosiłem, uczestnicząc w rozlicznych krajowych i zagranicznych, kursach, warsztatach i szkoleniach wymienianych wcześniej. Należy jeszcze wspomnieć o kilku. W dniach 19 stycznia-15 czerwca 2010 roku uczestniczyłem w szkoleniu zorganizowanym przez Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, w ramach projektu „Z Nauki do Gospodarki”, nr projektu POKL.08.02.01-06-030/09. Celem szkolenia było podniesienie poziomu wiedzy z zakresu przedsiębiorczości akademickiej typu spin off/spin out.

W dniu 19 marca 2011 roku uczestniczyłem w kursie „Nowe trendy w suplementacji”, które zostało zorganizowane przez klub sportowy PACO w Lublinie.

W dniach 8-10 grudnia 2021 roku uczestniczyłem w projekcie „Zintegrowany Program Rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie”, nr projektu: POWR.03.05.00-00-Z232/17. Efektem było szkolenie „Innowacyjne Narzędzia Edukacyjne i Techniki Pracy z Grupą”.

W 2009-2023, w ramach Erasmus Teaching Staff Mobility i Erasmus + Teaching Staff Mobility For Teaching (STA), odbyłem dwadzieścia cztery wyjazdy dydaktyczne do następujących ośrodków naukowych:

1. Turcja, Samsun, Ondokuz Mayıs University, 01.05.2009-09.05.2009
2. Turcja, Antalya, Akdeniz University, 10.05.2009-17.05.2009
3. Włochy, Campobasso, University of Molise, 30.05.2009 – 06.06.2009
4. Hiszpania, Walencja, Polytechnic University of Valencia, 04.05.2010-11.05.2010
5. Turcja, Adana, Cukurova University, 30.05.2010-06.06.2010
6. Turcja, Antalya, Akdeniz University, 07.06.2010- 14.06.2010
7. Litwa, Kowno, Kaunas University of Technology, 18.04.2011– 23.04.2011
8. Hiszpania, Kordoba, University of Cordoba, 22.05.2011-27.05.2011
9. Holandia, Dronten, Dronten University of Applied Sciences, 31.10.2011-04.11.2011
10. Czechy, Praga, Czech University of Life Sciences Prague, 23.04.2012-28.04.2012
11. Estonia, Talin, Tallinn University of Technology, 29.05. – 03.06.2012
12. Turcja, Isparta, Suleyman Demirel University, Lifelong Learning Programme Erasmus-Intensive Programme (IP): Regulatory Aspects and Scientific Risk Assessment of Food and Feed Safety, 15.09.2012-29.09.2012
13. Francja, Lille, ISA Lille, 29.04.2013 – 03.05.2013
14. Grecja, Carditsa, Technological Educational Institute of Thessaly, 09.06.2014-13.06.2014
15. Grecja, Carditsa, Technological Educational Institute of Thessaly, 01.06.2015-06.06.2015
16. Czechy, Praga, Czech University of Life Sciences Prague, Summer School “ Safety in Food Chain”, 26.07.2015-02.08.2015
17. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 21.03.2016-25.03.2016
18. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 05.03.2017-11.03.2017
19. Czechy, Praga, Czech University of Life Sciences Prague, 07.08.2017-13.08.2017
20. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 19.03.2018-23.03.2018
21. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 26.05.2019-01.06.2019
22. Chorwacja, Zagrzeb, University of Zagreb, 07.06.2021-11.06.2021
23. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 07.03.2022-11.03.2022
24. Słowacja, Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 20.03.2023-24.03.2023

6.2. Działalność organizacyjna

Od 2005 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (PTTŻ).

Od 2009 roku udzielam się w uczelnianej komisji przetargowej do przeprowadzenia zamówień publicznych. Jestem również odpowiedzialny za przygotowanie specyfikacji technicznych sprzętu zamawianego do Zakładu Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej. W dniu 8 lutego 2011 wziąłem udział w szkoleniu „Prawidłowy opis przedmiotu zamówienia”, organizowanym przez Polską Agencję Rozwoju.

Od 2021 r. pełnię funkcję opiekuna roku studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Technologia żywności i żywienia człowieka UP w Lublinie.

Z uwagi na kontakty międzynarodowe, od 2021 roku zostałem powołany na członka Komisji Wydziałowej Komisji ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą.

Jestem członkiem Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia w kadencji 2020-2024.

Od 2020 roku reprezentuję Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie we współpracy z Lubelskim Klubem Biznesu (umowa z dnia: 21.10.2020 roku). Działalność ta ma na celu promować i inicjować współdziałanie oparte na transferze wiedzy, technologii i rozwiązaniach innowacyjnych.

W roku 2023 w ramach strategii rozwoju województwa (SRW) i regionalnej strategii innowacji (RIS), w imieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, sporządziłem wnioski o wydanie opinii dla przedsięwzięcia z zakresu poszerzenia infrastruktury badawczej, zgodnie z postanowieniami „Kontraktu Programowego dla Województwa Lubelskiego”, tytuł przedsięwzięcia: „Rozwój infrastruktury badawczej Zakładu Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej”.

Od 2023 roku zostałem powołany na koordynatora wydziałowego programu CEEPUS Środkoeuropejskiego Programu Wymiany Uniwersyteckiej.

Od 2023 roku zostałem powołany do Rady Eko-HUB Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Misją Eko-HUB i Stowarzyszenia Polska Ekologia jest rozwój żywności ekologicznej wysokiej jakości.

6.3. Recenzje publikacji w czasopiśmie krajowych i zagranicznych

W latach 2020-2023 wykonałem w sumie 52 recenzje artykułów dla następujących czasopism krajowych i międzynarodowych: Foods (15), Applied Sciences (4), International Journal of Gastronomy and Food Science (3), International Dairy Journal (2), Chemical Papers (2), Sustainability (2), Beverages (2), Medycyna Weterynaryjna (2), SCIENTIA AGRICULTURAE BOHEMICA (1), International Journal of Food Engineering (1), European Food Research and Technology (1), Dairy (1), Biotech (1), AgriEngineering (1), Processes (1), Food Chemistry Advances (1), Polymers (1), Coatings (1), International Journal of Molecular Sciences (1), Journal of Personalized Medicine (1), Fermentation (1), International Journal of Dairy Technology (1), Journal of Dairy Sciences (1), Nutrients (1), Journal of Molecular Liquids (1), Adsorption (1), Journal of Food Engineering (1).

6.4. Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki

W latach 2004 – 2011 rokrocznie współorganizowałem „Kiermasz Bożonarodzeniowy wypieków artystycznych” w ramach Studenckiego Koła Naukowego Technologii Żywności (SKNTŻ).

W 2006 (16.09-22.09), 2010 (18.09-24.09) i 2011 (17.09-23.09) roku uczestniczyłem w III, VII i VIII Lubelskim Festiwalu Nauki jako wykonawca trzech projektów: dwukrotnie „Szampan serwatkowy” oraz „Młode piwo górnej fermentacji”.

W 2007 (22.09-28.09) roku na IV Lubelskim Festiwalu Nauki wygłosiłem prelekcję „W zdrowym Ciele Zdrowy Duch”.

W latach 2009 – 2013 publikowałem artykuły z zakresu suplementacji diety preparatami białek serwatkowych, które ukazywały się bardzo poczytnych magazynach branżowych jak: Kulturystryka i Fitness oraz Muscular Development.

W 2015 roku występowałem w cyklicznej audycji Radia Lublin „Tajemnice żywności” pod redakcją Pani Małgorzaty Maksim. Audycje dotyczyły jakości serów dojrzewających oraz wędlin.

19 kwietnia 2021 roku, w ramach umowy o współpracy z XXX Liceum Ogólnokształcącym im. ks. Jana Twardowskiego w Lublinie z Uniwersytetem Przyrodniczym w Lublinie, wygłosiłem anglojęzyczną prelekcję pt. „Healthy lifestyle and dieting”.

W 2021 (18.09-24.09) roku w ramach XVII Lubelskiego Festiwalu Nauki, byłem kierownikiem projektu „Białka przyszłości / Proteins of the future” i również wygłosiłem anglojęzyczny wykład na ten temat.

W 2022 (10.09-16.09) roku w ramach XVIII Lubelskiego Festiwalu Nauki, byłem wykonawcą dwóch projektów: „Białka roślinne: moda czy konieczność?” oraz „Białka serwatkowe suplementem przyszłości”.

7 kwietnia udzieliłem wywiadu „Żużel to nie skoki narciarskie”, który ukazał się na łamach „Przeglądu Sportowego”.

W trakcie I Świąta Lubelskiego Serowarstwa i Mleczarstwa w Lublinie, wygłosiłem prelekcję „Jakość mleka do produkcji serów” (9 października 2022 r.).

Ponadto, jestem autorem notatek które ukazują się w ilustrowanym kwartalniku „Aktualności UP”, na stronach internetowych Wydziału Nauk o Żywności i Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, jak również mediach społecznościowych: Facebook, Instagram.

6.5. Współpraca z przemysłem i otoczeniem społeczno-gospodarczym

W latach 2004-2006 współpracowałem z Firmą Osmofrost Sp. Z .o.o. (Osmolice Pierwsze 18 A, 23-107 Strzyżewice), wykonując analizy zawartości azotanów (III) i (V) w wybranych próbkach warzyw pochodzących z rejonu województwa lubelskiego.

W roku 2006 podjąłem współpracę z firmą FIT BEST LINE (Anna Płonka, ul. Rynek 15, 36-020 Tyczyn, NIP: 813-298-82-48). Współpraca dotyczyła opracowania receptur i technologii produkcji suplementów o zróżnicowanym czasie wchłanianości”. Umowa z dnia 5 lutego 2016 r. – Roman Płonka VKT/U-136/2016, gdzie byłem kierownikiem projektu.

Od 2011 roku współpracuję z Klubem Sportowym Paco (Andrzej Stachura, ul. Tomasza Zana 72, 20-601 Lublin) oraz gabinetem dietetycznym ISTO (Grzegorz Kowaluk, ul. Fantastyczna 8, 20-531 Lublin) w zakresie suplementacji diety sportowców i osób aktywnych fizycznie.

Od 2018 roku współpracuję z firmą EUROHANSA Sp. z o.o. (ul. Letnia 10-14, 87-100 Toruń), w ramach doktoratu wdrożeniowego mgr. inż. Jana Małeckiego (obrona pracy w wrześniu 2022 roku). Współpraca dotyczyła opracowania receptur batonów białkowych zawierających kombinację różnych białek roślinnych.

Od 2020 roku współpracuję ze Szkołą Artystyczną Wiesław Kucia (Wiesław Kucia, Wojciechowska 3, 20-704 Lublin) w zakresie opracowywania receptur nowatorskiej żywności funkcjonalnej.

W grudniu 2021 rozpocząłem współpracę z Lubelskim Ośrodkiem Doradztwa Rolniczego (ul. Pożowska, 24-130 Końskowola). Nasza współpraca dotyczyła opracowania technologii produkcji serów dojrzewających oraz organizacji warsztatów serowarskich. Umowa z dnia 16 grudnia 2021 r. - VKZ/U-408/TŻ/2021, gdzie byłem kierownikiem projektu.



PODPIS ZAUFANY

MACIEJ
NASTAJ
03.09.2023 22:06:22 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym