



Gdański Uniwersytet Medyczny  
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Załącznik 2

## **Autoreferat**

**Małgorzata Grembecka**

Katedra i Zakład Bromatologii

Gdańsk 2015

**AUTOREFERAT**

1. Imię i nazwisko: Małgorzata Grembecka
  
2. Informacje o edukacji, posiadane dyplomy i stopnie naukowe
  - **1996 – 2001 – studia jednolite magisterskie** na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, kierunek: biotechnologia, specjalność: chemia i technologia tłuszczów.
  - **19 czerwiec 2001 – tytuł zawodowy magistra inżyniera** uzyskano z oceną bardzo dobrą, po przedstawieniu pracy magisterskiej wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Z.E. Sikorskiego: „Utlenianie lipidów w makreli wędzonej na gorąco w łagodnych warunkach”.
  - **2000 – 2001 - Francusko-Polskie Studium Podyplomowe w Dziedzinie Finansów**, Politechnika Gdańska i Wyższa Szkoła Biznesu w Rouen.
  - **2003-2007 – dzienne studia doktoranckie** na Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny).
  - **19 czerwiec 2007 – stopień doktora nauk farmaceutycznych z wyróżnieniem** nadany uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny) na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt. „Ocena bromatologiczna i chemometryczna żywności pochodzenia roślinnego na podstawie jej składu mineralnego”, promotor: prof. dr hab. Piotr Szefer; recenzenci: prof. dr hab. Ryszard. Kocjan i prof. dr hab. Wojciech Czarnowski.

Posiadane dyplomy oraz świadectwa ukończenia specjalistycznych szkoleń:

- 2002 –Diplôme de Langue Francaise
  - 2004 – Certificate of Proficiency in English
  - 2005 – Letnia szkoła chemometrii „Chemometric aspects of environment analytics”
  - 2008 – Dyplom ukończenia Kursu Wysokosprawnej Chromatografii Cieczowej, Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej.
  - 2015 – kurs SCOPE (Specialist Certification of Obesity Professional Education).
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych
    - 16 lipiec 2007 – obecnie – Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku (od 19 maja 2009 r. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego) – pracownik naukowo-dydaktyczny na stanowisku adiunkta.

4. Osiągnięcie naukowe zgłoszone do postępowania habilitacyjnego wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

**Naturalne i syntetyczne substancje słodzące w diecie współczesnego człowieka –  
ocena analityczna i bromatologiczna**

Osiągnięcie naukowe przedstawione do oceny w ramach postępowania habilitacyjnego stanowi monotematyczny cykl 6. publikacji (2. publikacje pogładowe i 4 prace oryginalne), których jestem jedyną lub pierwszą autorką, opublikowanych w latach 2012-2015, o łącznym współczynniku oddziaływania (**IF**) z roku ukazania się publikacji równym **7,833** i łącznej wartości punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (**MNiSW**) wynoszącej **129**.

4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę habilitacji

- H.1. **Grembecka M.**, Szefer P. (2012). Simultaneous determination of caffeine and aspartame in diet supplements and non-alcoholic beverages using liquid-chromatography coupled to Corona CAD and UV-DAD detectors. *Food Analytical Methods* 5(5): 1010-1017. IF=1,969, MNiSW=30,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń i przeprowadzeniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz na pełnieniu funkcji autora korespondującego. Mój udział procentowy szacuję na 90%.*

- H.2. **Grembecka M.**, Lebedzińska A., Mróz M., Szefer P. (2013). Ocena zawartości sacharozy i cukrów prostych w wybranych napojach energetyzujących. *Problemy Higieny i Epidemiologii* 94 (2): 339-341. IF=0, MNiSW=7,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń i przeprowadzeniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz na pełnieniu funkcji autora korespondującego. Mój udział procentowy szacuję na 80%.*

- H.3. **Grembecka M.**, Baran P., Błażewicz A., Fijałek Z., Szefer P. (2014). Simultaneous determination of aspartame, acesulfame-K, saccharin, citric acid and sodium benzoate in various food products using HPLC-CAD-UV/DAD. *European Food Research and Technology* 238(3): 357-365. IF=1,559, MNiSW=25,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń i przeprowadzeniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz na pełnieniu funkcji autora korespondującego. Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

- H.4. **Grembecka M.**, Lebidzińska A., Szefer P. (2014). Simultaneous separation and determination of erythritol, xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, fructose, glucose, sucrose and maltose in food products by high performance liquid chromatography coupled to charged aerosol detector. *Microchemical Journal* 117: 77-82. IF=2,746, MNiSW=35,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń, opracowaniu, optymalizacji i walidacji metody HPLC-CAD jednoczesnego oznaczania 9 substancji słodzących w produktach żywnościowych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz na pełnieniu funkcji autora korespondującego. Mój udział procentowy szacuję na 85%.*

- H.5. **Grembecka M.** (2015). Sugar alcohols: their role in the modern world of sweeteners: a review. *European Food Research and Technology* 241(1): 1-14. Erratum: *European Food Research and Technology* 241(1):15-16. IF=1,559, MNiSW=25,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na dokonaniu przeglądu literaturowego oraz napisaniu całego manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 100%.*

- H.6. **Grembecka M.** (2015). Natural sweeteners in a human diet. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 66(3): 195-202. IF=0, MNiSW= 7,0.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na dokonaniu przeglądu literaturowego oraz napisaniu całego manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 100%.*

Prace badawcze, których wynikiem są wyżej wyszczególnione publikacje naukowe, zostały zrealizowane dzięki finansowemu wsparciu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) w ramach projektu badawczego nr N N404 270840 i dwóch projektów własnych, w tym jednego w ramach środków KNOW (wsparcie działalności naukowej w zakresie realizacji nowych projektów badawczych) (tematy projektów zostały podane w Załączniku nr 4, poz. II.I.3-5). Publikacje H.1 – H.4 powstały we współpracy z prof. dr hab. Piotrem Szeferem, kierownikiem macierzystej Katedry i Zakładu Bromatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed). Jednocześnie prace H.2 i H.4 włączone do cyklu habilitacyjnego, zostały opracowane przy współpracy z prof. dr hab. Anną Lebedzińską z Katedry i Zakładu Bromatologii GUMed. W przypadku pracy H.2 współpraca dotyczyła również mgr farm. Moniki Mróz (była magistrantka). Praca H.3 została przygotowana we współpracy z mgr Piotrem Baranem i dr Agatą Błażewicz z zespołu Zakładu Chemii Farmaceutycznej Narodowego Instytutu Leków w Warszawie oraz prof. dr hab. Zbigniewem Fijałkiem, ówczesnym dyrektorem w/w Instytutu.

Poza publikacjami H.1 – H.6, wyniki prac badawczych stanowiących podstawę wniosku habilitacyjnego zostały zaprezentowane w formie referatów i komunikatów zjazdowych (Załącznik nr 4 poz. II.K.7-9, 11, III.B.13, 15 w ramach zagranicznych konferencji oraz III.B.62, 65, 66, 71, 72, 79, 80 w ramach krajowych konferencji).

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

## **WPROWADZENIE**

Człowiek od zarania dziejów wykazuje ewolucyjnie ukształtowaną preferencję w stosunku do smaku słodkiego. Jest to związane z faktem, iż ludzie, już w czasach prehistorycznych nauczyli się podobnie jak i zwierzęta wykorzystywać słodki smak celem identyfikowania żywności o wysokiej wartości energetycznej i odżywczej. Jak wskazuje literatura naukowa, zwiększona preferencja dla słodkiego smaku pokarmów i napojów została już potwierdzona zarówno u niemowląt jak i dzieci na całym świecie [Ventura i Menella 2011]. Chociaż noworodki preferują słodkie roztwory, to doświadczenia żywieniowe mogą zmienić ich stopień preferencji smaku słodkiego już w wieku 6 miesięcy [Keskitalo et al. 2007].

Jednakże, gdy mamy obecnie do czynienia z wielką różnorodnością łatwo dostępnych słodkich pokarmów, często o bardzo małej wartości odżywczej, ale charakteryzujących się wysoką wartością energetyczną, preferowanie ich w stosunku do innych może stwarzać wiele problemów zdrowotnych. Już w starożytności filozof grecki Hipokrates uważał żywność za remedium na różne choroby. Dziś już wiadomo, że spośród wszystkich czynników środowiskowych żywienie ma najbardziej widoczny wpływ na rozwój i samopoczucie człowieka. Warunkuje ono harmonijny wzrost organizmu, zdrowie, odporność na infekcje, dobre samopoczucie i zdolność do pracy fizycznej i umysłowej. W organizmie ludzkim bez przerwy przebiegają procesy metaboliczne, dlatego też potrzebuje on składników budulcowych i energetycznych, takich jak białka, węglowodany i tłuszcze, których źródłem jest pożywienie.

Za powstanie słodkiego smaku są odpowiedzialne substancje słodzące, które można podzielić stosując różne kryteria. Bierze się pod uwagę: pochodzenie (środki naturalne lub syntetyczne), funkcję technologiczną (półsyntetyczne wypełniacze i środki słodzące), konsystencję (proszki i syropy) oraz wartość odżywczą (związki odżywcze lub niedostarczające energii) [Waszkiewicz-Robak 2003].

Substancjami naturalnymi, które są powszechnie uznawane za odpowiedzialne za powstanie smaku słodkiego są węglowodany. Jest to zróżnicowana grupa związków organicznych, szeroko rozpowszechnionych w przyrodzie, a ich głównym zadaniem jest dostarczenie energii organizmowi, ale pełnią również funkcje strukturalne oraz są źródłem włókna pokarmowego. Jednocześnie warunkują prawidłową gospodarkę pozostałymi składnikami odżywczymi oraz uczestniczą w regulacji procesów sytości i głodu [Jarosz 2012]. Występujące w żywności węglowodany znacząco różnią się właściwościami fizjologicznymi, odżywczymi, chemicznymi oraz zawartością w produktach żywnościowych. Wg Ekspertów FAO/WHO węglowodany klasyfikuje się w ramach trzech głównych grup, tj. cukrów (monosacharydy i disacharydy), oligosacharydów i polisacharydów. Do węglowodanów zaliczane są również poliole (alkohole cukrowe) oraz skrobia modyfikowana [Cummins i Stephen 2007, Jarosz 2012].

Na przestrzeni dziejów głównym źródłem węglowodanów w diecie człowieka były produkty roślinne, a przede wszystkim zboża w postaci mąki, pieczywa, kasz i makaronów oraz ziemniaki, owoce i warzywa. W produktach tych węglowodany występują pod postacią skrobi, błonnika, ale też cukrów, czyli monosacharydów (glukoza, fruktoza, galaktoza) oraz

disacharydów (sacharoza, laktoza, maltoza). Cukier stołowy jest to popularna nazwa sacharozy. Badania naukowe wskazują, że cukier spełnia kryteria środka odurzającego, poprzez wpływ na chemię układu limbicznego, który jest związany z kontrolą emocjonalną [Avena i in. 2005, Avena i in. 2008]. Niektórzy naukowcy wskazują również na podobieństwo działania cukru na organizm człowieka do efektów wywoływanych przez alkohol etylowy [Lustig i in. 2012]. Wykazano również, że upodobanie noworodków do słodczy może być dodatkowo promowane przez redukujące ból właściwości cukrów [Ventura i Menella 2011].

Cukrami najczęściej spotykanymi w diecie są sacharoza, glukoza, fruktoza i laktoza, które pochodzą zarówno ze źródeł naturalnych, takich jak owoce czy produkty mleczne, ale też z innych produktów z dodatkiem cukru czy też syropu glukozowo-fruktozowego. Określenie „cukry dodane” stosuje się w przypadku, sacharozy, fruktozy, glukozy, hydrolizatów skrobi (syrop glukozowy, syrop glukozowo-fruktozowy), które są stosowane, jako takie, albo dodawane podczas procesu wytwarzania żywności [EFSA Journal 2010].

Syrop glukozowo-fruktozowy (izoglukoza, HFCS – High Fructose Corn Syrup), występuje najczęściej w dwóch postaciach, tj. HFCS 55 – 55% fruktozy i 42% glukozy czy też HFCS 42 – 42% fruktozy oraz 53% glukozy. Jest on najczęściej wytwarzany ze skrobi kukurydzianej, rzadziej pszenicznej poprzez enzymatyczną bądź kwaśną hydrolizę, a następnie częściową izomeryzację uzyskanej w ten sposób glukozy do fruktozy [White 2015]. Jego popularność wśród producentów wynika z niskiej ceny oraz wygody stosowania, gdyż zapewnia on lepszą wilgotność i pożądany wygląd produktów oraz posiada mniejszą niż cukier tendencję do krystalizacji, jak również jest w formie płynnej [White 2015]. Jednakże w porównaniu do sacharozy, gdzie równe ilości fruktozy i glukozy (1:1) są połączone wiązaniem (1→2)-β-O-glikozydowym, jest on znacznym źródłem wolnej fruktozy w diecie człowieka, co ma ogromne znaczenie ze względu na jej odmienny metabolizm.

Odpowiedź ludzkiego organizmu na spożyte cukry jest identyczna, niezależnie od źródła ich pochodzenia, tj. naturalnego czy też sztucznego w postaci dodanego w trakcie przetwarzania żywności [ADA Reports 2004, Tappy i in. 2014, White 2015]. Końcowymi produktami trawienia węglowodanów są cukry proste, głównie glukoza, ale także fruktoza lub galaktoza, które są wchłaniane w przez błonę jelita cienkiego w dwojaki sposób: poprzez transport czynny, wbrew gradientowi osmotycznemu, oraz transport bierny (dyfuzją prostą) [Hui i in. 2015, Tappy i in. 2014]. Pierwszy z mechanizmów, który jest odpowiedzialny za

wchłanianie glukozy i galaktozy, zależny jest od transportera GLUT1 aktywowanego przez jony sodu oraz gradienty Na i K po obydwu stronach błony komórkowej, co z kolei podtrzymuje pompa ATP-azowa sodowo-potasowa [Hui i in. 2015, Tappy i in. 2014]. Fruktaza wchłaniana jest na drodze dyfuzji prostej, przy udziale transportera GLUT5. Wchłanianie fruktozy zachodzi około dwukrotnie wolniej niż glukozy czy galaktozy.

Metabolizm glukozy zachodzi głównie w wątrobie, ale też w mięśniach i komórkach tkanki tłuszczowej. Jest fosforylowana w procesie glikolizy do glukozy-6-fosforanu przez heksokinazę, czy też glukokinazę w wątrobie [Tappy i in. 2014]. Następnie jest przekształcana do fruktozy-6-fosforanu, potem pod wpływem fosfofruktokinazy do fruktozy-1,6-difosforanu, który ulegając kolejnym przemianom poprzez pirogronian wchodzi w cykl kwasu cytrynowego. Fosfofruktokinaza może być allosterycznie hamowana przez ATP, cytrynian czy też jony wodorowe, co prowadzi do zahamowania procesu glikolizy. Pobudzenie procesu glikolizy następuje dopiero przy spadku stężenia ATP i wzroście AMP [Hui i in. 2015].

Natomiast metabolizm fruktozy jest niezależny od stężenia insuliny. Tylko niewielka część wchłoniętej fruktozy może być bezpośrednio przekształcana przez heksokinazę do fruktozy-6-fosforanu, który następnie podlega glikolizie, gdyż heksokinaza wykazuje znacznie wyższe powinowactwo do glukozy [Hui i in. 2015, Tappy i in. 2014]. Większość fruktozy podlega fosforylacji w wątrobie z udziałem fruktokinazy do fruktozy-1-fosforanu, który następnie jest rozszczepiany przez aldolazę na aldehyd glicerynowy i fosfodihydroksyaceton (DHAP). Aldehyd glicerynowy wskutek reakcji katalizowanej przez kinazę specyficzną dla trioz przekształca się w aldehyd-3-fosfoglicerynowy, który podobnie jak DHAP bierze udział w glikolizie, glikogenogenezie, glukoneogenezie oraz lipogenezie [Hui i in. 2015, Tappy i in. 2014, Tappy i Lê 2010]. Fruktaza jest metabolizowana bez żadnej kontroli, bez względu na zapotrzebowanie energetyczne organizmu, co prowadzi do wzmożonej syntezy kwasów tłuszczowych, estryfikacji kwasów tłuszczowych i wydzielania VLDL oraz do wzrostu stężenia triacylogliceroli w surowicy krwi. Dodatkowo nadmiar glukozy dostający się do krwioobiegu pobudza wydzielanie insuliny, co wzmacnia wszystkie wyżej wymienione procesy [Hui i in. 2015]. Fruktaza, w przeciwieństwie do glukozy, nie stymuluje sekrecji dwóch głównych hormonów zaangażowanych w długoterminową homeostazę energii – insuliny i leptyny [Elliott et al. 2002, Hui i in. 2015, Lustig i in. 2012]. Z tego też względu długotrwała dieta wysokofruktozowa może prowadzić do wzrostu



spożycia energii, a co za tym idzie wzrostu masy ciała [Elliott et al. 2002, Lustig i in. 2012]. Jednocześnie nadmiar fruktozy w organizmie zwiększa stężenie kwasu moczowego, który jest m.in. odpowiedzialny za wzrost ciśnienia krwi [Lê i Tappy 2015, Lustig i in. 2012]. Ponadto badania wskazują, że wysokofruktozowa dieta może indukować niekorzystne zmiany metaboliczne, takie jak zwiększenie stężenia triglicerydów w osoczu krwi, insulinooporności i stłuszczenie wątroby [ADA Reports 2004, Bray 2010, Tappy i Lê 2010, Tappy i in. 2010, Lê i Tappy 2015].

Węglowodany mimo, że nie są głównym czynnikiem ryzyka rozwoju większości chorób cywilizacyjnych to często pośrednio wpływają na rozwój wielu schorzeń takich jak nadwaga i otyłość, zespół metaboliczny, choroby układu krążenia, cukrzyca czy próchnica [ADA Reports 2004, Bray 2010, Kłosiewicz-Latoszek i Cybulska 2011, Lê i Tappy 2015, Lustig i in. 2012, Tilman i Clark 2014]. Jest to skutek coraz częściej obserwowanego siedzącego trybu życia, wzrostu spożycia tłuszczów zwierzęcych i cukrów prostych, co doprowadziło do przedłużającego się stanu zaburzonego bilansu energetycznego, objawiającego się nadmiarem nie spożytkowanej energii, a w rezultacie powstaniem nadwagi oraz otyłości [Jarosz i Kłosiewicz –Latoszek 2006]. Populacja amerykańska charakteryzuje się wysokim odsetkiem osób cierpiących na nadwagę i otyłość, gdyż ponad 65% dorosłych ma nadmierną masę ciała, natomiast wśród krajów europejskich na pierwsze miejsce wysuwa się Grecja, gdzie z powodu nadwagi cierpi 51% mężczyzn i 37% kobiet [Jarosz i Kłosiewicz –Latoszek 2006]. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2008 r. około 12% światowej populacji osób dorosłych w wieku 20 lat było otyłych, a w Polsce 55,7% dorosłych miało nadwagę [Global Health Observatory]. Ogólnopolskie badania również potwierdziły, że nadwaga i otyłość stanowią problem w Polsce zarówno zdrowotny jak i ekonomiczny, gdyż występują one u około 50-60% populacji osób dorosłych. Coraz częściej problem ten dotyka również dzieci (chłopcy 15,9%, dziewczynki 11,1%) [Jarosz i Kłosiewicz –Latoszek 2006].

Ogólnoswiatowa epidemia otyłości, która swym zasięgiem obejmuje zarówno kraje rozwinięte jak i te dopiero rozwijające się jest potwierdzeniem nadmiernego udziału cukrów w diecie w stosunku do tego, do czego jesteśmy ewolucyjnie przystosowani [Konarzewski 2015]. Naturalna zawartość cukrów jest zazwyczaj niska (z wyjątkiem niektórych owoców), a poza tym towarzyszą im zazwyczaj niezbędne składniki odżywcze, natomiast produkty dosładzane najczęściej charakteryzują się tylko wysoką wartością energetyczną, ale niską odżywczą. Nadmierne spożycie cukru, który jest dodawany do coraz większej liczby

produktów spożywczych, może powodować znacznie wyższą wartość energetyczną diety. Badania wykazały, że wartość kaloryczna codziennej amerykańskiej diety zawierającej dodane cukry, może wzrosnąć o średnio 35%, co stanowi prawie 800 kcal [DGA 2010]. Według Departamentu Rolnictwa USA 75% wszystkich przetworzonych produktów sprzedawanych w Stanach Zjednoczonych zawiera cukry dodane [Popkin 2015]. Jednakże wszystkie oszacowania spożycia cukrów dodanych czy też poszczególnych substancji jak np. fruktozy bazują na etykietach produktów spożywczych. Etykieta produktu powinna pomagać konsumentom w wyborze żywności i ułatwić stosowanie diety [Jarosz i Kłosiewicz –Latoszek 2010].

Ogromna presja handlu i niebywała konkurencyjność zmuszają producentów do ciągłego obniżania kosztów wytwarzania żywności przy jednoczesnym zachowaniu jej atrakcyjności w oczach konsumenta, który najczęściej poszukuje słodkich produktów. Jednocześnie gwałtownie rosnąca liczba osób dbających o linię wymusiła na producentach zastępowanie cukru jego naturalnymi substytutami oraz syntetycznymi substancjami słodzącymi, które są kwalifikowane jako dodatki do żywności. Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady Wspólnoty Europejskiej z 2008 roku dodatkiem do żywności jest każda substancja, która w normalnych warunkach nie jest spożywana sama jako żywność i nie jest stosowana jako charakterystyczny składnik żywności, bez względu na swoją ewentualną wartość odżywczą, której celowe dodanie, ze względów technologicznych, do żywności w trakcie jej produkcji, przetwarzania, przygotowywania, obróbki, pakowania, przewozu lub przechowywania powoduje, lub można spodziewać, że powoduje, iż substancja ta lub jej produkty pochodne stają się bezpośrednio lub pośrednio składnikiem tej żywności [Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008].

Alkohole poliwdorotlenowe (poliole), zwane również cukrowymi, należą do węglowodanów i są naturalnymi zamiennikami cukru jak również dodatkami do żywności. Stają się one coraz bardziej popularne wśród konsumentów, głównie ze względu na ich niższą kaloryczność, indeks glikemiczny oraz korzystne działanie przeciwpróchnicze. Alkohole cukrowe są często stosowane w połączeniu z innymi substancjami słodzącymi celem zwiększenia efektu słodzącego produktów spożywczych [Barbieri i in. 2014, Health Canada 2005, H.5]. Naturalne substytuty cukru są generalnie postrzegane za bezpieczne, niemniej jednak w trosce o zdrowie zalecane jest kontrolowanie obecności tych substancji w produktach żywnościowych.

W odróżnieniu od naturalnych substytutów cukru, sztuczne dodatki nie dostarczają kalorii i nie wpływają na poziom glukozy we krwi. Polepszają cechy organoleptyczne wielu produktów, wpływają na ich trwałość, zwiększają atrakcyjność żywności oraz zaspokajają występującą u człowieka potrzebę odczuwania słodkiego smaku [Chattopadhyay i in. 2014, Shankar i in. 2013, Sylvetsky i in. 2015]. Odznaczają się minimalną wartością kaloryczną w zastosowanych dawkach, dlatego nadają charakter dietetyczny środkom spożywczym, do których są dodawane.

Badania wykazały, że zmniejszenie korelacji między słodkim smakiem i wartością energetyczną żywności z zastosowaniem sztucznych środków słodzących u szczurów powodowało zwiększenie spożycia kalorii. Wyniki te wskazują, że spożywanie produktów zawierających syntetyczne substancje słodzące może prowadzić do zwiększenia masy ciała jak również zaburzenia homeostazy organizmu i jego procesów fizjologicznych [Hampton 2008, Swithers i Davidson 2008, Swithers i in. 2013]. Ponadto, usuwanie cukru z żywności, jako niepotrzebnego i zamienianie go sztucznymi słodzikami, może doprowadzić do niezamierzonych zaburzeń metabolizmu, wpływać na ośrodek sytości [Report of a Joint FAO/WHO 1997, Swithers i Davidson 2008] czy też prowadzić do preferencji produktów bardzo intensywnie słodkich.

Grupą produktów, która zyskała znaczne zainteresowanie konsumentów w XX wieku są napoje bezalkoholowe, których roczna sprzedaż w Polsce w 2013 r. wyniosła 3,8 mld litrów. W 2012 r. Polak średnio wypijał rocznie 50,0 litrów napojów gazowanych oraz 21 litrów napojów owocowych, podczas gdy Europejczyk 74 litry napojów rocznie [Drewnowska 2013]. Szczególną popularnością cieszą się napoje funkcjonalne, wśród których wyróżnia się napoje izotoniczne i energetyzujące, popularnie nazywane „energy drinkami”. Podstawowy skład większości z napojów bezalkoholowych jest podobny, w którym można wyróżnić: wodę, cukier (lub słodziki), aromaty, barwniki, substancje konserwujące. Natomiast napoje energetyzujące zawdzięczają swoje właściwości unikalnym składnikom, takim jak: kofeina, tauryna, glukuronolakton, guarana, witaminy szczególnie z grupy B, inozytol, L-karnityna oraz roślinne ekstrakty np. z żeń-szenia [Waszkiewicz-Robak 2008, H.2]. Jednakże w większości napojów funkcjonalnych, jak również innych bezalkoholowych, na początku listy składników znajdują się cukry [Wierzejska i Jarosz 2011]. Niestety najczęściej są to cukry dodane w procesie wytwórczym, w celu poprawy smaku i zwiększenia atrakcyjności towaru, które bardzo często nie są doliczane do dziennej spożytej liczby kalorii przez konsumentów.

Ponadto spożycie energii w postaci płynnej nie wpływa na ośrodek sytości tak jak spożycie pokarmów stałych, co może być związane z zmniejszonym rozdęciem żołądka i skrócenia czasu pasażu [Jarosz i Rychlik 2007]. Podaż nadmiernej ilości energii pochodzącej z węglowodanów może skutkować powstaniem nadwagi i otyłości, zwłaszcza u dzieci, które są najczęściej adresatami reklam napojów bezalkoholowych.

W związku z tym istotne staje się badanie produktów żywnościowych, w szczególności napojów bezalkoholowych pod kątem zawartości cukrów prostych i sacharozy jak również innych naturalnych oraz syntetycznych substancji słodzących, celem zapewnienia konsumentom rzetelnej informacji, tak by byli w stanie dokonać świadomego wyboru składników swojej codziennej diety. Jednocześnie chcąc podążać za postępem technologicznym i związanymi z tym coraz to nowszymi produktami żywnościowymi należy udoskonalać metody analityczne.

## **CELE NAUKOWO-BADAWCZE**

Biorąc powyższe pod uwagę, zaplanowałam prowadzenie badań nad analityczną i bromatologiczną oceną naturalnych i syntetycznych substancji słodzących w produktach żywnościowych, w szczególności napojach bezalkoholowych i suplementach diety, które cieszą się niesłabnącą popularnością w Polsce.

Podstawowe cele badawcze realizowane w ramach przedłożonej rozprawy habilitacyjnej to:

- 1. Opracowanie metod analitycznych wykorzystujących technikę HPLC do oznaczania naturalnych i syntetycznych substancji słodzących w żywności i w suplementach diety.**
- 2. Oszacowanie stopnia spożycia naturalnych substancji słodzących, w tym cukrów dodanych, oraz narażenia konsumenta na syntetyczne dodatki do żywności wskutek spożycia popularnych produktów spożywczych w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych i przepisów.**
- 3. Wskazanie korzyści i zagrożeń wynikających z zastosowania alkoholi poliwdorotlenowych w diecie człowieka, jako alternatywnych naturalnych substancji słodzących.**

## OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

### *SYNTEZYCZNE SUBSTANCJE SŁODZĄCE*

#### **1. Opracowanie metod analitycznych wykorzystujących technikę HPLC do oznaczania syntetycznych substancji słodzących w żywności i w suplementach diety**

Jakość zdrowotna żywności zależy w głównej mierze od składników odżywczych, ale istotną rolę spełniają również substancje obce, czyli między innymi dodatki do żywności. Stosowanie dodatków do żywności jest ściśle regulowane, poprzez regulacje prawne krajowe i Unii Europejskiej, i podlega systematycznej ocenie dotyczącej ich bezpieczeństwa. Na rynek Unii Europejskiej nie mogą się dostać produkty, które choćby przypuszczalnie stwarzają ryzyko utraty zdrowia.

Najbardziej popularnymi substancjami należącymi do tej grupy są aspartam (E951), acesulfam-K (E950) oraz sacharyna (E954). Najczęściej są one stosowane razem, gdyż produkty, w których aspartam stosowany jest w połączeniu z innymi substancjami słodzącymi wykazują większą słodycz niż wynikałoby to z sumy słodyczy użytych z osobna substancji słodzących. Niemniej jednak związkowi temu przypisuje się działanie rakotwórcze, ale przeprowadzony cykl ok. 300. badań nie wykazał praktycznie żadnych negatywnych efektów zdrowotnych, co zostało w 2013 r. potwierdzone przez Europejską Agencję ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [EFSA 2013]. Dopuszczalne dzienne spożycie aspartamu (ADI) wyznaczone przez JECFA w 1980 roku wynosi 40 mg/kg masy ciała/dzień [INCHEM, JECFA] i jest największe, jeżeli chodzi o tę grupę dodatków. Substancja ta znalazła swoje zastosowanie w wielu produktach, począwszy od deserów, wyrobów cukierniczych, przetworów owocowo – warzywnych, musztardy, suplementów diety do napojów bezalkoholowych. Podobne kontrowersje, co substancje słodzące wzbudzają konserwanty, zwłaszcza kwas benzoesowy i jego sole. Opinia publiczna potępiła ich stosowanie, uważając je za źródło wszelkiego rodzaju chorób alergicznych, układu pokarmowego, a nawet nowotworowych.

Napoje bezalkoholowe są jednymi z bardziej popularnych produktów spożywczych wśród coraz większej rzeszy ludzi. Pozwalają one uzupełnić niedobory wody w organizmie, ale są również cenione ze względu na swoje walory smakowe lub w przypadku napojów funkcjonalnych [Waszkiewicz-Robak 2008] – izotonicznych lub energetyzujących – ze względu na efekty fizjologiczne pojawiające się po ich spożyciu. Jednym z podstawowych

składników napojów energetyzujących oprócz cukrów jest kofeina, którą stosuje się jako substancję aromatyzującą, dodatek funkcjonalny i bioaktywny [Sikorski 2012]. Ta pochodna metyloksantyny, alkaloid purynowy, cieszy się od wieków dużą popularnością z powodu powszechnie znanych swoich właściwości psychoanaleptycznych [Zejc i Gorczyca 2009]. Jest ona również składnikiem wielu suplementów diety wykorzystywanych w terapii bólów głowy czy też dietach odchudzających. Suplementy diety to środki spożywcze, których celem jest uzupełnienie normalnej diety, gdyż stanowią one skoncentrowane źródło witamin, składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy czy też fizjologiczny [Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006].

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) jest najbardziej popularną metodą dla określenia zawartości dodatków do żywności [Wasik i in. 2007, Zyglar i in. 2011], podobnie jak i inne techniki analityczne stosowane do ich oznaczania [Bergamo i in. 2011, Zhu i in. 2005]. Jednakże jak do tej pory brak jest dostępnych danych dotyczących przydatności w tym zakresie HPLC - Corona CAD.

Celem badań było opracowanie nowej, szybkiej metody oznaczania syntetycznych substancji słodzących w obecności innych związków takich jak kofeina [H.1] czy też kwasu cytrynowego i benzoesu sodu znajdujących się w napojach bezalkoholowych oraz suplementach diety [H.3].

Analizy przeprowadzono przy wykorzystaniu chromatografu UltiMate 3000 (Dionex, ESA) oraz detektorów: UltiMate 3000 UV- DAD i Corona CAD (Dionex, ESA). Detektor Corona CAD charakteryzuje się wysoką czułością i w związku z tym możliwością oznaczania związków na poziomie nanogramów. Cechuje go również szeroki zakres pomiarowy, powtarzalność oraz łatwość obsługi. Za pomocą tego detektora można oznaczać substancje o różnej budowie chemicznej, także tych nie posiadających grup chromoforowych, które są niewykrywalne przez promienie UV.

Obie metody zostały poddane optymalizacji celem wyboru odpowiedniej fazy ruchomej, temperatury i prędkości przepływu. Przed rozpoczęciem badań produktów wykonano 6 krzywych kalibracyjnych z 14. punktami pomiarowymi dla obu detektorów. Na ich podstawie wyznaczono takie parametry walidacyjne jak granica wykrywalności oraz granica oznaczalności. Detektor Corona CAD przy dużych zakresach oznaczalności sięgających 4. rzędów wielkości charakteryzuje się nieliniową odpowiedzią. Jednakże przy małych zakresach jest on w stanie wygenerować odpowiedź o charakterze liniowym i z tego powodu dokonano aproksymacji do funkcji liniowej. Parametry walidacyjne uzyskane dla

obu detektorów były wysoce zadowalające, a wyniki oznaczeń uzyskane za pomocą detektora UV-DAD i Corona CAD są porównywalne

Metoda opracowana dla oznaczania aspartamu i kofeiny charakteryzowała się niezwykle szybkim czasem przebiegu, a oba detektory - Corona CAD jak i UV/DAD, pozwoliły na dokładne i precyzyjne oznaczenie analizowanych związków w produktach żywnościowych i preparatach farmaceutycznych [H.1].

Natomiast metoda zaproponowana dla syntetycznych substancji słodzących (aspartamu, acesulfamu-K oraz sacharyny) oznaczanych w obecności kwasu cytrynowego i benzoenu sodu opierała się na dwuskładnikowym gradiencie metanol-woda z dodatkiem 0,05% TFA v/v (prędkość przepływu 1 mL/min) w temperaturze 30°C. Badania dotyczące identyfikacji każdego z oznaczanych związków wykonano metodą tandemowej spektrometrii mas na spektrometrze masowym MicrOTOF-Q II (Bruker Daltonik) z analizatorem czasu przelotu TOF (*time of flight*) sprzężonym z chromatografem cieczowym Ultimate 3000 (DIONEX) we współpracy z zespołem kierowanym przez prof. dr hab. Z. Fijałką z Narodowego Instytutu Leków w Warszawie [H.3].

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że technika HPLC z detekcją UV/DAD i Corona CAD pozwala na jednoczesne, dokładne i precyzyjne oznaczenie acesulfamu-K, aspartamu, sacharyny, benzoenu sodu oraz kwasu cytrynowego w produktach żywnościowych. Jednocześnie stwierdzono, że detektor Corona CAD może być wykorzystywany do oznaczenia kwasu cytrynowego, w przeciwieństwie do detektora UV/DAD. Ponadto zaobserwowano, że stosując detektor Corona CAD niemożliwe jest oznaczenie benzoenu sodu i acesulfamu-K, podczas gdy detektor UV/DAD doskonale spełnia swoją funkcję [H.3].

Szczególną wartość naukową powyższych badań stanowi fakt opracowania metod jednoczesnego oznaczania aspartamu i kofeiny [H.1] czy też aspartamu, sacharyny, acesulfamu-K oraz kwasu cytrynowego i benzoenu sodu [H.3] przy zastosowaniu metody HPLC z detekcją Corona CAD i UV/DAD, które pozwalają na jednoczesne badanie zawartości różnych substancji dodatkowych występujących w żywności jak i na ocenę ryzyka związaną z przekroczeniem ich dopuszczalnych dawek w codziennej diecie. Zaproponowane metody i procedury analityczne zostały tak zaprojektowane by umożliwić szybki i selektywny rozdział substancji dodatkowych obecnych w badanych próbkach, dzięki czemu mogą być one wykorzystane w rutynowych kontrolach żywności przeprowadzanych przez stacje sanitarno – epidemiologiczne.

Wyniki zostały opublikowane (publikacje H.1 oraz H.3) jak również zaprezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych (Załącznik 4 poz. II.K.7; III.B.13, 62, 65, 66).

## **2. Oszacowanie spożycia oraz narażenia konsumenta na syntetyczne dodatki do żywności wskutek spożycia popularnych produktów spożywczych w świetle obowiązujących przepisów**

Wymóg wprowadzony w latach 80-tych, który ustalił, że producenci muszą wymieniać wszystkie użyte dodatki na etykietach produktu spożywczego, spowodował wiele kontrowersji. Przeciętny konsument nie zna klucza do oznaczeń substancji dodatkowych i często nie rozumie funkcji technologicznych przypisanych określonej substancji. Niepokój ludzi pobudziły emocjonalne artykuły w prasie codziennej, wskazujące na szkodliwe działania dodatków do żywności zupełnie pomijając fakt, że są one uznane za bezpieczne do stosowania na terenie Wspólnoty Europejskiej. Jak dotychczas żadna z instytucji międzynarodowych takich jak EFSA czy FDA nie stwierdziły zagrożenia zdrowotnego w wyniku spożycia aspartamu w dawce nie przekraczającej ADI (40 mg/kg m.c.) [EFSA 2013].

W publikacji H.1 analizie pod kątem zawartości aspartamu i kofeiny poddano 19 dostępnych na rynku napojów bezalkoholowych, w tym 9 napojów energetycznych, 10 napojów gazowanych, 8 suplementów diety oraz słodzik stołowy na bazie aspartamu, zakupione w sieci detalicznej w Gdańsku.

Wszystkie rodzaje badanych suplementów diety charakteryzowały się zróżnicowanym poziomem aspartamu. Jego średnie stężenie w tych produktach mieściło się w zakresie od 1,93 do 27,7 mg/tabletkę (saszetkę). Zauważono, że w przypadku suplementów diety przewidywane spożycie aspartamu, zgodnie z zaleceniami producenta, jest dużo niższe niż ADI i w związku z tym narażenie na przekroczenie dopuszczalnego dziennego spożycia tej substancji słodzącej jest bardzo małe. Największą wartość ekspozycji (2,5%) odnotowano w przypadku jednego z produktów, który według zaleceń producenta miał być zażywany do 3. razy dziennie.

Największą zawartość aspartamu wśród napojów bezalkoholowych stwierdzono w jednym z popularnych napojów cola, tj. 58,6 mg/100 mL. Spożywając litr tego napoju dziennie dostarczamy 22% dawki ADI dla aspartamu. Napoje energetyzujące bez dodatku cukru zawierały od 7,12 do 10 mg aspartamu na 100 mL, a narażenie konsumenta wskutek



spożycia 250 mL tych napojów zostało określone w granicach od 0,78% do 5,5% dawki ADI dla tej substancji słodzącej.

Zastosowana metoda pozwoliła na jednoczesne oznaczenie kofeiny, której obecność została potwierdzona we wszystkich napojach bezalkoholowych i energetyzujących, przy czym najwyższe jej stężenie zostało oznaczone w jednym z najnowszych „energy drinków” (163 mg/100 mL). Inne napoje energetyzujące zawierały tę metylkoksantynę na poziomie około 30 mg/100 mL, a napoje cola około 10 mg/100 mL. Jednocześnie potwierdzono, że oznaczone zawartości kofeiny w napojach są zbliżone do tych deklarowanych przez producentów. Ocena narażenia konsumentów na kofeinę stanowi niezwykle istotny aspekt bezpieczeństwa żywieniowego, gdyż istnieją przypadki śmiertelnego zatrucia kofeiną. Stwierdzono, że spożywanie 250 mL badanych produktów dostarcza do organizmu od 0,71% do 27% dziennej dopuszczalnej dawki kofeiny, wynoszącej według Farmakopei Polskiej VIII 1,5 g [Farmakopea Polska 2008].

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż u osoby przyjmującej analizowane suplementy diety wg wskazań producenta, nie ma możliwości przekroczenia ADI dla aspartamu. Jednakże konsumenci często nie stosują się do zaleceń producenta, a poza tym aspartam jest substancją słodzącą, która powszechnie występuje w produktach spożywczych. Z tego też względu należy rozsądnie i racjonalnie dobierać produkty przy planowaniu codziennej diety. Ponadto należy zwrócić uwagę na fakt, że producenci powszechnie praktykują mieszanie substancji słodzących celem optymalizacji smaku słodkiego, gdyż aspartam podobnie jak i inne słodziki wykazuje synergizm działania zwłaszcza w połączeniu z acesulfamem K czy też sacharyną. W przypadku tej ostatniej substancji jest wysoce zalecane, aby stosować mieszaninę słodzików, ponieważ wpływa to pozytywnie na końcowy smak i ekonomikę produkcji. Dodatkowo chcąc zwiększyć funkcjonalność produktów jak i obniżyć koszty produkcji często w połączeniu ze substancjami słodzącymi stosuje się dodatek konserwantów (benzoosan sodu) i regulatorów kwasowości (kwas cytrynowy).

Z tego też względu jednym z kolejnych etapów badań była jednoczesna ocena ilościowej zawartości substancji słodzących (aspartam, acesulfam K, sacharyna), regulatora kwasowości (kwas cytrynowy) oraz dodatku o charakterze konserwującym (beznosean sodu) w napojach bezalkoholowych. Obecnie trudno jest znaleźć produkt, który nie zawiera któregośkolwiek z powyższych związków w swoim składzie, dlatego tak istotna staje się ocena

ich zawartości oraz kontrola deklaracji producenta pod kątem właściwego oznakowania i przestrzegania maksymalnych dopuszczalnych dawek.

Badania zostały przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Bromatologii GUMed oraz we współpracy z zespołem kierowanym przez prof. dr hab. Z. Fijałką, dyrektora Narodowego Instytutu Leków w Warszawie, według metody opracowanej przeze mnie i opublikowanej w 2014 r. [H.3]. Analizie poddano 40 dostępnych na rynku produktów, w tym 20. napojów bezalkoholowych, 5. izotonicznych, 7. energetyzujących, 5. suplementów diety i 3. słodzików stołowych, zakupionych w sklepach w Gdańsku oraz w Warszawie. Produkty zostały tak dobrane, aby stanowić reprezentatywną próbkę tego, co konsument znajdzie w sklepach zarówno w Polsce jak i na świecie. Wszystkie produkty żywnościowe zostały przebadane zgodnie z metodyką zaprezentowaną w pracy H.3.

Uzyskane wyniki potwierdziły fakt korzystania przez producentów z efektu synergicznego działania mieszaniny słodzików, co pozwala na znaczne zmniejszenie ich ilości przy zachowaniu spodziewanego efektu słodzenia. Słodziki stołowe zawierające jedną substancję słodzącą, np. aspartam, zawierały go znacznie więcej niż te posiadające w swym składzie kilka z tych związków. Najwyższe stężenie aspartamu (353 mg/g) oznaczono w słodziku stołowym, który w swoim składzie miał wymienioną tylko tę substancję, podczas gdy kiedy produkt zawierał aspartam i sacharynę, jego ilość zmniejszała się do 30,3 mg/g. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku napojów bezalkoholowych, gdzie znacznie niższe poziomy substancji słodzących odnotowano dla produktów zawierających mieszaniny aspartamu i acesulfamu K czy też sacharyny. Stężenie sacharyny w napojach bezalkoholowych nie różniło się istotnie (6,56 – 6,97 mg/100 mL), a procent realizacji dawki ADI, wynoszącej 5 mg/kg m.c./dzień, osiągał 4,83%. Zawartość aspartamu w badanych suplementach diety była porównywalna (3,86 – 4,59 mg/g), podczas gdy w innych produktach, w których najczęściej występował w mieszaninie substancji słodzących, było znacznie zróżnicowane. Realizacja dawki ADI dla aspartamu mieściła się w zakresie od 0,12% dla suplementów diety do 8,68% w przypadku słodzików stołowych. Jednakże równocześnie zaobserwowano, że w przypadku wszystkich badanych suplementów diety, zawartość aspartamu jak i acesulfamu-K jest znacznie przekroczona [H.3] w stosunku do maksymalnych dopuszczalnych poziomów tych substancji w produkcie wynoszących 2000 mg/kg [Codex Alimentarius 1995, Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010]. Potwierdza to konieczność ciągłej kontroli produktów pod kątem stosowania

dozwolonych dodatków do żywności jak również opracowywania nowoczesnych metod ich analizy.

Zastosowana metoda pozwoliła również na ocenę zawartości współwystępujących dodatków w badanych próbkach. Kwas cytrynowy (E330), okazał się substancją najczęściej spotykaną w składzie analizowanych produktów, z wyjątkiem słodzików stołowych. W przypadku napojów bezalkoholowych zaobserwowano znaczące zróżnicowanie w jego zawartości - od 13 do 275 mg/100 mL. Niski poziom tej substancji regulującej kwasowość w niektórych z produktów mógł być spowodowany obecnością w nich również innego związku pełniącego tą samą funkcję, tj. kwasu ortofosforowego. Benzoosan sodu, w porównaniu do kwasu cytrynowego, występował w znacznie mniejszych stężeniach mieszczących się w granicach 5,50 – 21,5 mg/100 mL. W żadnym z badanych produktów wartość ADI dla tego konserwantu nie została przekroczona. Natomiast dla kwasu cytrynowego maksymalna dopuszczalna dawka nie została ustalona, dlatego nie oszacowano ryzyka związanego z jego spożyciem.

Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić, że narażenie konsumentów na przekroczenie dopuszczalnych poziomów spożycia analizowanych dodatków do żywności wskutek spożycia napojów bezalkoholowych i suplementów diety jest niewielkie. Podobne wyniki zostały przedstawione w Raporcie Komisji Unii Europejskiej odnośnie spożycia aspartamu i sacharyny wśród ludności, które nie przekraczało dopuszczalnego poziomu [Report from the Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union]. Należy jednak pamiętać, że te substancje znajdują się w wielu różnorodnych produktach, które są spożywane codziennie, dlatego ważne jest, aby monitorować ich poziom w produktach spożywczych.

Wyniki oznaczeń ilościowych syntetycznych substancji słodzących oraz współtowarzyszących im innych dodatków do żywności zostały zaprezentowane podczas krajowych i międzynarodowych konferencji tematycznych (Załącznik 4 poz. II.K.7; III.B.13, 62, 65, 66) oraz zawarte w publikacjach H.1 oraz H.3.

## *NATURALNE SUBSTANCJE SŁODZĄCE*

### **1. Opracowanie metod analitycznych wykorzystujących technikę HPLC do oznaczania naturalnych substancji słodzących w żywności i w suplementach diety**

Oznaczenie zawartości odżywczych substancji słodzących, czyli węglowodanów oraz alkoholi cukrowych stanowi wyzwanie analityczne, gdyż są to substancje nie posiadające grup chromoforowych, nielotne i o dużej masie cząsteczkowej. W literaturze naukowej można znaleźć przykłady aplikacji chromatografii gazowej [Medeiros i Simoneit 2007, Eyéghé-Bickong et al., 2012, Molnár-Perl 1999, White et al., 2014], wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) [Agblevor i in. 2007, Andersen i Sørensen 2000, Márquez-Sillero i in. 2013, Molnár-Perl 1999, Peters i in. 2001] oraz elektroforezy kapilarnej (CE) [Wang i Chen 2001] do oceny zawartości tych związków. Chromatografia gazowa wymaga czasochłonnej i pracochłonnej derywatyzacji próbek, dlatego też znacznie lepszy wybór stanowi wysokosprawna chromatografia ciekowa z detektorami refraktometrycznym (RI) lub rozpraszania światła przez odparowanie (ELSD). Jednakże, detektor RI charakteryzuje się niską czułością i powtarzalnością wyników, a także nie może być stosowany w elucji gradientowej. Natomiast detektor ELSD jest uważany za mniej precyzyjny i czuły w stosunku do Corona CAD [Eom i in. 2010, Jia i in. 2011, Vervoort i in. 2008]. Detekcja fluorescencyjna i spektrometria masowa mogą być również stosowane, ale wymagają długiego i czasochłonnego procesu tworzenia pochodnych, jak również są to bardzo drogie w obsłudze aparaty. Jednakże jak do tej pory doniesienia o badaniach skoncentrowanych na jednoczesnej analizie węglowodanów i alkoholi cukrowych są bardzo sporadyczne [Andersen i Sørensen 2000, Ma i in. 2014].

Jednym z osiągnięć przedstawionych do oceny jest opracowanie nowatorskiej metody jednoczesnego oznaczania 9. substancji słodzących, w tym mono- oraz disacharydów (fruktoza, glukoza, maltoza, sacharoza) oraz alkoholi poliwdorotlenowych (erytritol, ksylitol, maltitol, mannitol, sorbitol) w żywności metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej HPLC wraz z detekcją wyładowań koronowych Corona CAD™.

Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem kolumny Shodex Asahipak, NH2P-50 4E 5 µm (4,6 x 250 mm) na chromatografie UltiMate 3000 (Dionex, ESA) z detektorem Corona CAD. Najpierw przeprowadzono optymalizację procedury analitycznej, która miała na celu dobór możliwie najdogodniejszych warunków zapewniających jak najlepszy kształt i rozdzielczość pików chromatograficznych oraz czasokres analizy. Wybór odpowiedniej fazy

ruchomej był pierwszym etapem przeprowadzonej optymalizacji warunków chromatograficznych. Rozdzielczość pików chromatograficznych analizowanych związków badano zmieniając stosunek ilościowy acetonitrylu i wody, zarówno w przebiegu izokratycznym jak i gradiencie. Zadowalające rozdzielenie chromatograficzne uzyskano w przebiegu gradientowym, gdzie fazę ruchomą stanowił acetonitryl w różnych w zmieniających się w czasie proporcjach w stosunku do wody. Badano również wpływ natężenia przepływu fazy oraz temperatury kolumny na separację analizowanych związków i stwierdzono, że optymalnym rozwiązaniem jest zastosowanie przepływu gradientowego od 1,0 do 0,6 mL/min w temperaturze 25° C.

W celu potwierdzenia poprawności opracowanej metody dokonano jej walidacji, tj. określono jej dokładność, precyzję, liniowość, powtarzalność oraz granicę wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ). W efekcie przeprowadzenia procesu walidacji otrzymuje się rzetelny i precyzyjny przebieg analizy oraz potwierdzone wyniki [Konieczka i Namieśnik 2007].

Celem określenia liniowości metody oznaczania substancji słodzących wykonano 6 krzywych kalibracyjnych z 12. punktami pomiarowymi. Wszystkie uzyskane krzywe, z wyjątkiem sacharozy, miały przebieg liniowy ( $R^2 > 0,999$ ). Uśrednioną krzywą kalibracyjną sacharozy o charakterze wykładniczym poddano procesowi matematycznej transformacji do funkcji logarytmicznej o przebiegu liniowym, gdzie  $R^2 = 0,9996$ .

Dokładność została zweryfikowana metodą dodawania wzorca, która polegała na wzbogaceniu próbek napojów roztworami wzorcowymi 9. substancji słodzących: glukozy, fruktozy, maltozy, sacharozy, erytrytolu, ksylitolu, maltitolu, mannitolu, sorbitolu o odpowiednim, wzrastającym stężeniu (10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL w końcowym rozcieńczeniu). Próbkę analizowano przed i po dodaniu znanych ilości roztworów standardowych cukrów i polioli. Uzyskano wysoce zadowalające wyniki, a odzysk wahał się od 95,6% do 107%. Precyzja zastosowanej metody analitycznej, która wynosiła od 0,29 to 2,68%, została określona poprzez wyznaczenie względnego odchylenia standardowego (RSD). Podczas wstępnej analizy próbek żywnościowych nie stwierdzono w nich obecności erytrytolu, dlatego też został on wybrany jako standard wewnętrzny, który pozwolił na kontrolę czasu retencji i pola powierzchni pików chromatograficznych.

Granica wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ) zostały wyznaczone w oparciu o kąt nachylenia krzywej kalibracyjnej za pomocą poniższych wzorów:

$$\text{LOD} = \frac{3,3 s}{a} \quad \text{LOD} = \frac{10 s}{a}$$

gdzie:

s – odchylenie standardowe wyrazu wolnego

a – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej

Uzyskane wartości LOD i LOQ dla dziewięciu analizowanych substancji wynosiły odpowiednio od 0,12 do 0,44 µg/mL oraz od 0,40 do 1,47 µg/mL.

Przydatność metody analitycznej została potwierdzona na rzeczywistych próbkach napojów bezalkoholowych, w tym soków, nektarów oraz suplementów diety (H.4), a precyzja przeprowadzonych doświadczeń wahała się od 0,30% do 3,90% dla wszystkich analiz.

Opracowana metoda HPLC-CAD jest pierwszą tego typu opisaną w literaturze naukowej, która pozwala na precyzyjne, dokładne i jednoczesne oznaczenie 9. substancji nieposiadających grup chromoforowych, czyli mono- i disacharydów (glukoza, fruktoza, maltoza, sacharoza) oraz alkoholi cukrowych (erytrytolu, ksylitolu, maltitolu, mannitolu, sorbitolu) w różnych napojach bezalkoholowych i suplementach diety.

Szczegółowe wyniki badań oraz pełne opracowanie nowej metody zostało zaprezentowane w ramach konferencji (Załącznik 4 poz. II.K.8; III.B.72) oraz zawarte w publikacji H.4.

## **2. Oszacowanie spożycia naturalnych substancji słodzących, w tym cukrów dodanych, wskutek spożycia popularnych produktów spożywczych w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych**

W ciągu ostatnich kilku lat wzrosło znacząco spożycie cukrów, a w szczególności tych dodanych [H.6, Thow i Hawkes 2014]. Podobny trend można zauważyć na amerykańskim rynku, gdzie przeciętny obywatel spożywa dzienną porcję cukru równoważną 16. łyżeczkom cukru, co stanowi 256 kcal [DGA 2010, Erwin i Ogden 2013]. Według zaleceń Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) cukry dodane nie powinny stanowić więcej niż 10% dziennego zapotrzebowania energetycznego. Jednakże w Stanach Zjednoczonych wartość ta sięga, aż 15,8%, przy czym za największe ich źródło uznawane są napoje bezalkoholowe [DGA 2010].

Badania epidemiologiczne prowadzone na całym świecie wskazują na związek pomiędzy dodatnim bilansem energetycznym organizmu, a zachorowalnością na choroby metaboliczne takie jak: nadwaga, otyłość, insulinooporność oraz choroby sercowo-naczyniowe [ADA Reports 2004, Lê i Tappy 2015, Lustig i in. 2012]. Chcąc zapobiec rozprzestrzenianiu się epidemii otyłości, konsumenci powinni być edukowani, co do zdrowego stylu życia oraz wyboru produktów spożywczych ubogich w cukry dodane i tłuszcze nasycone. Źródłem informacji żywieniowej dla konsumenta jest etykieta produktu, która powinna rzetelnie informować o jego składzie.

W związku z tym celem badań była ocena zawartości naturalnych substancji słodzących, w tym cukrów dodanych w napojach bezalkoholowych oraz oszacowanie realizacji rekomendacji żywieniowych jak również poprawności deklaracji producenta, co do składu produktu.

Analizie poddano 128 produktów napojów bezalkoholowych, w tym napoje energetyzujące, izotoniczne, gazowane i niegazowane, nektary i soki owocowe oraz 11 suplementów diety (syropy). Produkty zostały wybrane na podstawie anonimowej ankiety badawczej dotyczącej analizy zwyczajów żywieniowych, sposobu żywienia oraz częstości spożywania soków i napojów przez uczniów szkół średnich i studentów. Badaniem zostały objęte 324 osoby, wśród których znalazło się 145. uczniów szkół średnich z Gdańska i Szczytna oraz 179. studentów Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Wykazano, że większość badanych osób (85%) deklaruje spożycie soków i napojów owocowo-warzywnych, przy czym największy ich udział zanotowano dla osób z małego miasta, kobiet oraz uczniów szkół średnich (około 90%). Ponadto stwierdzono, że soki są częściej wybierane przez kobiety, podczas gdy mężczyźni nie mają wyraźnych preferencji, co do rodzaju napoju. Większość z respondentów potwierdziła, że największą uwagę zwraca na cenę oraz jakość produktu, a informacje zawarte na etykiecie interesują około 58% ankietowanych. Jako najważniejsze informacje na etykiecie, respondenci wskazywali na ilość konserwantów oraz wartość energetyczną.

Wybrane do analizy produkty charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością poszczególnych cukrów. Ponadto stwierdzono, że w napojach gazowanych cukier (sacharoza) coraz częściej jest zastępowany syropem glukozowo-fruktozowym (HFCS), co znalazło swoje odzwierciedlenie w uzyskanych wynikach. Najwyższymi poziomami monosacharydów charakteryzowały się napoje gazowane. Zawierały one porównywalne ilości fruktozy i

glukozy, średnio 5,77 g i 6,04 g/100 mL napoju, co potwierdza dodatek (HFCS), gdyż cząsteczki glukozy i fruktozy są w cząsteczce sacharozy związane ze sobą, podczas gdy w syropie glukozowo-fruktozowym występują osobno. Jednocześnie napoje te okazały się najmniej zasobne w sacharozę (0,85 g/100 mL). Najwyższą średnią zawartością cukrów charakteryzowały się napoje energetyzujące (14,2 g/100 mL), a następnie nektary (13,7 g/100 mL) i napoje (12,7 g/100 mL). W przypadku napojów energetyzujących ogólna zawartość oznaczonych cukrów była zróżnicowana i wynosiła od 11,1 do 16,8 g/100 mL. W niektórych przypadkach stwierdzono rozbieżności pomiędzy składem deklarowanym przez producenta, a tym oznaczonym. W dwóch z badanych „energy drinków” nie stwierdzono obecności sacharozy, co jest o tyle zastanawiające, że w składzie obu produktów wymieniony jest cukier, jednakże producent nie zaznaczył czy dodana została sacharoza czy też jeden z cukrów prostych [H.2].

Soki zawierały średnio 11,7 g cukrów w 100 mL, przy czym były szczególnie bogate w monosacharydy, co wynika z ich specyfiki, gdyż fruktoza występuje w dużych ilościach w jabłkach, winogronach, zaś glukoza w winogronach i bananach. Potwierdza to też zaobserwowana zależność między rodzajem soku, a jego składem jakościowym. Przykładowo, soki jabłkowe charakteryzowały się największym poziomem fruktozy w porównaniu do innych produktów. Może to potwierdzać informację producenta o braku dosładzania tego typu produktów.

Nektary oprócz naturalnych soków zawierały, zgodnie z deklaracją producenta, wymieniony dodatek cukru (czyli sacharozy), jednakże w toku analizy okazało się że zamiast niego był często używany HFCS. Rozbieżności te mogą wynikać z miejsca pochodzenia oznaczanych produktów – w różnych regionach świata ludność wykazuje odmienne preferencje smakowe oraz nieco inne odczucie intensywności smaku słodkiego. W związku z tym producenci modyfikują, na potrzeby rynku, swoje towary stosując obok sacharozy różne odmiany HFCS (np. HFCS 55 lub HFCS 42).

Większość z analizowanych produktów nie zawierała czytelnej informacji dla konsumenta na temat jakości i ilości poszczególnych węglowodanów, tj. naturalnych i dodanych na etapie przetwarzania. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzano rozbieżności pomiędzy zawartością cukrów oznaczoną, a deklarowaną przez producenta. Różnice w całkowitej zawartości cukrów wahały się w granicach od 45,3 do 186% w odniesieniu do tego, co zostało wymienione na etykiecie. Dysproporcje te, w przypadku soków, częściowo mogą być tłumaczone zróżnicowaniem ich pochodzenia, czasu zbiorów



czy warunków atmosferycznych w okresie zbioru owoców. Jednocześnie w niektórych próbkach soków stwierdzono obecność sorbitolu, podczas gdy w suplementach diety maltitolu, sorbitolu oraz maltozy. W pozostałych produktach, które zostały wyprodukowane na bazie owoców zawierających alkohole poliwdorotlenowe, nie wykryto obecności polioli, co może świadczyć o wysoce zaawansowanym przetworzeniu technologicznym.

Rekomendowane dzienne spożycie węglowodanów, w przeliczeniu na zapotrzebowanie mózgu, wynosi 130 g/dzień, a cukry proste powinny stanowić nie więcej niż 10% dziennego zapotrzebowania energetycznego [Jarosz 2012]. Średnio jedna szklanka analizowanych napojów bezalkoholowych zapewnia od 14 do 35,4 g cukrów, co stanowi od 10,8 do 27,2% dziennego zapotrzebowania na węglowodany. Spożycie 250 mL napoju energetyzującego dostarcza do organizmu średnio 142 kcal, co stanowi 7,09% dziennego zapotrzebowania energetycznego (2000 kcal). W związku z tym wykazałam, że spożycie jednej puszki (330 mL) napojów energetyzujących może skutkować przekroczeniem zaleceń WHO odnośnie spożycia cukrów dodanych, których źródłem są tego typu produkty.

W ramach zaproponowanej metodyki zakres badań został rozszerzony i wzbogacony w bogaty asortyment produktów mlecznych i śniadaniowych (płatki kukurydziane, dżemy, jogurty, serki) w aspekcie ich profili węglowodanowych. Łącznie przeanalizowano 54 produkty, wśród których znalazły się: jogurty naturalne, jogurty owocowe, mleko, maślanki, kefir, napoje sojowe i inne produkty mleczne. Stwierdzono, że zawartość oznaczonych cukrów ogółem w wybranych produktach była zróżnicowana. Spośród produktów śniadaniowych najwyższymi poziomami fruktozy odznaczały się dżemy (12-33 g/100 g), co jest związane z pochodzeniem tego produktu. W przypadku produktów mlecznych wykazano mniejszą ilość laktozy w jogurtach naturalnych (3,52 g/100 g), jogurtach owocowych (2,91 g/100 g), maślance (4,35 g/100 g) czy kefirze (3,95 g/100 g) w porównaniu z mlekiem (4,42 g/100 g). Najwyższą średnią zawartością cukrów wśród produktów mlecznych charakteryzowały się jogurty owocowe (12,6 g/100 g), natomiast najniższą jogurty naturalne (4,05 g/100 g). Analizowane produkty, z wyjątkiem większości jogurtów naturalnych, były słodzone czy to cukrem (sacharozą), czy też syropem glukozowo-fruktozowym, co zostało również potwierdzone przez uzyskane profile węglowodanowe. Na uwagę zasługuje również fakt słodzenia niektórych kefirów i jogurtów naturalnych, ale niestety informacja o tym jest zazwyczaj podana niewielką czcionką na etykiecie opakowania produktu w związku, z czym osoba kupująca taki produkt może być zdezorientowana.

W toku analizy zaobserwowano również, że niektóre produkty mleczne, zwłaszcza jogurty naturalne, zawierały mniej cukrów w stosunku do wartości deklarowanej. Przyczyną tego zjawiska mogą być obecne w produktach fermentowanych bakterie. Producent nie deklaruje ile bakterii jest w danym artykule, dlatego ich liczba może się znacząco różnić. Żywe bakterie w wyniku odżywiania się cukrami prostymi oraz dwucukrami mogą wpływać na zmiany zawartości cukrów w produktach mlecznych. W związku z tym podjęto się oceny wpływu czasu przechowywania na zawartość wybranych cukrów w produktach mlecznych o smaku naturalnym oraz truskawkowym. Produkty, w ilości 12. sztuk (po 6 naturalnych i truskawkowych) były oznaczane w 3. seriach w odstępach 7-dniowych. Stwierdzono, że w czasie przechowywania zachodzą zmiany w zawartości cukrów we wszystkich badanych jogurtach, zarówno naturalnych jak i owocowych. Najmniejsze zmiany zaobserwowano dla fruktozy i sacharozy, a największe dla laktozy oraz glukozy i galaktozy. W związku z tym potwierdzono, że w fermentowanych produktach mlecznych zachodzą zmiany w profilach węglowodanowych w zależności od czasu przechowywania.

Omówione badania i wypływające z nich wnioski przedstawiono w publikacji H.2 oraz w manuskrypcie pracy pt. „Dietary sugars composition of fruit juices, energy, sports and soft drinks – focus on fructose and added sugars” wysłanej, po uwzględnieniu wszelkich uwag recenzentów, do czasopisma *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, która aktualnie jest na etapie podjęcia ostatecznej decyzji edytora, co do jej akceptacji do publikacji. Ponadto rola i znaczenie naturalnych substancji słodzących w diecie człowieka zostały przedstawione w publikacji H.6. Jednocześnie wyniki zostały zaprezentowane na krajowych oraz międzynarodowych konferencjach (Załącznik 4 poz. II.K.8-9; III.B.15, 71, 72, 79, 80). Przygotowywany jest również manuskrypt pracy przeznaczonej do wysłania do czasopisma z listy filadelfijskiej, a dotyczącej profili węglowodanowych w produktach mlecznych z uwzględnieniem wpływu czasu przechowywania na poszczególne poziomy cukrów.

### **3. Wskazanie korzyści i zagrożeń wynikających z zastosowania alkoholi poliwdorotlenowych w diecie człowieka, jako alternatywnych naturalnych substancji słodzących.**

Wśród substancji słodzących odżywczych można wyróżnić alkohole poliwdorotlenowe (poliole), zwane też cukrowymi, gdyż są pochodnymi węglowodanów prostych, otrzymanymi przez substytucję grupy aldehydowej przez hydroksylową [Livesey 2003, Shankar i in. 2014]. Stanowią one zarówno naturalną alternatywę dla cukru jak również są określane jako półsyntetyczne substancje słodzące. Jest to związane z faktem, że występują one w niewielkich ilościach w świecie roślinnym, w owocach, warzywach i grzybach, ale w celach technologicznych są produkowane syntetycznie [ADA Reports 2004, Fitch i Keim 2012, Wheeler i Pi-Sunyer 2008]. Należą one również do substancji dodatkowych do żywności, a w Unii Europejskiej oraz Polsce dopuszczonych do stosowania jest 7 alkoholi cukrowych, tj. sorbitol (E420), mannitol (E421), izomalt (E953), maltitol (E965), laktitol (E966), ksylitol (E967) i erytritrol (E968) [Regulation (EC) no 1333/2008]. Ich dodatek do żywności musi być zaznaczony na opakowaniu, gdyż spożyte w nadmiarze wywołują działanie przeczyszczające z uwagi na ich wolniejsze i niekompletne trawienie [EFSA 2011, Grabitske i Slavin 2008, Livesey 2003]. Jest to jedna z niewielu wad stosowania tych naturalnych substytutów cukru. Drugą jest cena, gdyż są one zazwyczaj produkowane syntetycznie poprzez katalityczne uwodornianie cukrów, za wyjątkiem mannitolu, który może być ekstrahowany z wodorostów oraz erytritrolu uzyskiwanego na drodze fermentacji [Barbieri i in. 2014, Chattopadhyay i in. 2014, Cock 2012, Deis i Kearsley 2012, Evrendilek 2012, Lin i in. 2010]. Ponadto ich słodkość wynosi tylko od 30% (laktitol) do 100% (ksylitol) w odniesieniu do sacharozy, dlatego stosuje się je w połączeniu z innymi substancjami słodzącymi celem zwiększenia efektu słodzącego produktów spożywczych.

Znacznie więcej jest zalet stosowania alkoholi cukrowych, dlatego też stają się one coraz bardziej popularne zarówno wśród konsumentów jak i producentów. Charakteryzują się one niższą kalorycznością i indeksem glikemicznym niż cukry, wykazują korzystne działanie probiotyczne oraz przeciwpróchnicze [Barbieri i in. 2014, Evrendilek 2012]. To ostatnie wynika z faktu, że nie są fermentowane przez bakterie występujące w jamie ustnej, dzięki czemu zęby nie są narażone na działanie kwasów uszkadzających szkliwo.

Podobnie jak węglowodany, służą nie tylko nadaniu odpowiedniego słodkiego smaku, ale pełnią również rolę teksturotwórczą, wypełniającą, konserwującą oraz utrzymującą wilgoć i nadającą uczucie chłodu w jamie ustnej [Barbieri i in. 2014, Evrendilek 2012].

Pełna charakterystyka oraz wady i zalety stosowania alkoholi poliwdorotlenowych w produktach żywnościowych została przedstawiona w publikacji H.5 i H.6. oraz zaprezentowane na krajowej konferencji (Załącznik 4 poz. II.K.11).

## **PODSUMOWANIE**

Każdy artykuł spożywczy musi być bezpieczny, powinien mieć odpowiednie walory estetyczne, posiadać dobry smak i spełniać życzenia konsumentów, którzy najczęściej poszukują słodkich produktów. Aby osiągnąć ten smak, od wieków słodzono żywność wykorzystując w tym celu produkty naturalne takie jak miód czy też cukier. Jednakże obecnie rynek produktów przetworzonych, bogatych w dodane cukry i tłuszcze nasycone, ciągle się powiększa, co skutkuje nadpodażą energii, która najczęściej jest magazynowana w organizmie w postaci tkanki tłuszczowej. Jednocześnie ze względu na pogłębiającą się wiedzę i zwiększone zainteresowanie zdrowym stylem życia przez konsumentów, coraz częściej stosowany jest szereg nowych substancji słodzących, które stanowią alternatywę dla cukru. Ponadto w wyniku ciągle rozwijającego się przetwórstwa i globalizacji wciąż pojawiają się coraz to nowsze produkty żywnościowe, o często nie do końca wystarczająco sprecyzowanym składzie, co wymusza ciągłą potrzebę kontroli i uświadamiania konsumentów. W celu umożliwienia konsumentom rozsądnych wyborów żywieniowych etykieta na opakowaniu produktu powinna zawierać pełną informację odnośnie wartości odżywczej, łącznie z ilościowym udziałem substancji dodawanych celowo w trakcie przetwarzania technologicznego, jak np. cukrów.

Celem przedstawionych powyżej badań, stanowiących przedmiot niniejszej rozprawy, których wyniki zostały opublikowane w pracach H.1-H.6, była ocena analityczna i bromatologiczna naturalnych i syntetycznych substancji słodzących obecnych w diecie współczesnego człowieka.

Najważniejsze osiągnięcia poznawcze ww. cyklu publikacji to:

- Opracowanie, optymalizacja i walidacja nowatorskiej metody HPLC-CAD, która umożliwiła precyzyjne, dokładne i jednoczesne oznaczenie 9. substancji nieposiadających grup chromoforowych, czyli cukrów i alkoholi

poliwodorotlenowych (glukozy, fruktozy, maltozy, sacharozy, erytritolu, ksylitolu, maltitolu, mannitolu i sorbitolu) w różnych napojach bezalkoholowych i suplementach diety.

- Potwierdzenie, że zawartość cukrów, w tym szczególnie tych dodanych w trakcie procesu technologicznego, oraz syntetycznych substancji dodatkowych w produktach spożywczych powinna być istotnym elementem oceny diety człowieka.
- Opracowanie metod jednoczesnego oznaczania dodatkowych substancji słodzących, konserwujących, regulujących kwasowość oraz innych bioaktywnych związków przy zastosowaniu techniki HPLC z detekcją Corona CAD i UV/DAD, które pozwalają na ocenę ryzyka związaną z przekroczeniem ich dopuszczalnych dawek w codziennej diecie.
- Potwierdzenie zasadności ciągłej kontroli żywności pod kątem stosowania dozwolonych dodatków w świetle stwierdzenia przekroczenia dopuszczalnych dawek ich stosowania w analizowanych produktach.
- Wykazanie zasadności zamieszczania na etykiecie czytelnej informacji dla konsumenta na temat jakości i ilości poszczególnych węglowodanów, tj. naturalnych i dodanych na etapie przetwarzania oraz rzetelnego deklarowania przez producenta ich zawartości.
- Stwierdzenie dodatku syropu glukozowo-fruktozowego do stosunkowo szerokiego asortymentu napojów bezalkoholowych, suplementów diety, produktów śniadaniowych i mlecznych sprzedawanych w Polsce, nawet wbrew deklaracjom producenta na etykiecie ich opakowania.
- Udokumentowanie wpływu czasu przechowywania na profile węglowodanowe fermentowanych produktów mlecznych.
- Potwierdzenie konieczności kontroli spożycia substancji słodzących przez wszystkie grupy wiekowe konsumentów w świetle ich niedoborów czy też nadmiernego pobrania z codzienną dietą.

Reasumując, uzyskane rezultaty badań dotyczących analitycznej i bromatologicznej oceny naturalnych i syntetycznych substancji słodzących w diecie człowieka mogą być wykorzystane zarówno przez dietetyków, lekarzy, konsumentów jak i producentów żywności. Przedstawione wyniki rozprawy habilitacyjnej mogą okazać się przydatne w opracowaniu nowych rekomendacji żywieniowych, diet oraz oszacowaniu spożycia substancji słodzących

w badaniach epidemiologicznych. Jednocześnie uzyskane wyniki mogą stanowić cenne uzupełnienie norm krajowych i tablic wartości odżywczej.

## Piśmiennictwo

1. ADA Reports (2004). Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of American Dietetic Association*, 104(2):255-275.
2. Agblevor F.A., Hames B.R., Schell D., Chum H.L. (2007). Analysis of biomass sugars using a novel HPLC method. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 136: 309-326.
3. Andersen R., Sørensen A. (2000). Separation and determination of alditols and sugars by high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection *Journal of Chromatography A*, 897: 195-204.
4. Avena N.M., Long K.A., Hoebel B.G. (2005). Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: Evidence of a sugar deprivation effect. *Physiology and Behavior*, 84(3): 359 – 362.
5. Avena N.M., Rada P., Hoebel B.G. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(1): 20 – 39.
6. Barbieri G., Barone C., Bhagat A., Caruso G., Conley Z.R., Parisi S. (2014). *Sweet Compounds in Foods: Sugar Alcohols. W: The Influence of Chemistry on New Foods and Traditional Products. Springer International Publishing.*
7. Bergamo A.B., da Silva J.A.F., de Jesus D.P. (2011). Simultaneous determination of aspartame, cyclamate, saccharin and acesulfame-K in soft drinks and tabletop sweetener formulations by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection *Food Chemistry*, 124, 1714-1717.
8. Bray G.A. (2010). Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose. *Current Opinion in Lipidology*, 21(1): 51-57
9. Chattopadhyay S., Raychaudhuri U., Chakraborty R. (2014). Artificial sweeteners – a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51:611-621.
10. Cock P. (2012). Erythritol. W: O'Donnell K., Kearsley M.W. (red.) *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology. Wiley-Blackwell, West Sussex UK.*
11. Codex Alimentarius (1995).  
[http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS\\_192e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/docs/CXS_192e.pdf)
12. Cummings J.H., Stephen A.M. (2007). Carbohydrate terminology and classification *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(Suppl 1): S5–S18.
13. Deis R.C., Kearsley M.W. (2012). Sorbitol and Mannitol. W: O'Donnell K., Kearsley M.W. (red.) *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology. Wiley-Blackwell, West Sussex UK.*
14. Dietary Guidelines for Americans (DGA) (2010)  
<http://www.cnpp.usda.gov/publications/dietaryguidelines/2010/policydoc/policydoc.pdf> (25.07.2015)
15. Drewnowska B. (2013). Kryzys i nowe trendy zmieniają rynek napojów. Rzeczpospolita <http://archiwum.rp.pl/artyku/1177995-Kryzys-i-nowe-trendy-zmieniaja-rynek-napojow.html>.
16. EFSA (2011). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to the sugar replacers xylitol, D-tagatose, xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, lactitol,

- isomalt, erythritol, D-tagatose, isomaltulose, sucralose and polydextrose and maintenance of tooth mineralisation by decreasing tooth demineralisation. EFSA Journal 9(4): 2076 <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2076.pdf> (10.07.2015).
17. EFSA (2013) <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/aspartame>.
  18. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA) (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. EFSA Journal, 8(3): 1462-1539.
  19. Elliott S. S., Keim N. L., Stern J. S., Teff K., Havel P. J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. The American Journal of Clinical Nutrition, 76: 911-922.
  20. Eom H.Y., Park S.Y., Kim M.K., Suh J.H., Yeom H., Min J.W., Kim U., Lee J., Youm J.R., Han S.B. (2010). Comparison between evaporative light scattering detection and charged aerosol detection for the analysis of saikosaponins. Journal of Chromatography A, 1217: 4347- 4354.
  21. Ervin R.B., Ogden C.L. (2013). Consumption of added sugars among U.S. adults, 2005–2010. NCHS Data Brief No. 122, U.S. Department Of Health and Human Services.
  22. Eyéghé-Bickong H.A., Alexandersson E.O., Gouws L.M., Young P.R., Vivier M.A. (2012). Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of the major sugars and organic acids in grapevine berries. Journal of Chromatography B 885-886:43-49.
  23. Evrendilek G.A. (2012). Sugar alcohols (Polyols). W: Varzakas T., Labropoulos A., Anestis S. (red.) Sweeteners: nutritional aspects, applications, and production technology. CRC Press, Boca Raton.
  24. Farmakopea Polska VIII. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2008, 3276.
  25. Fitch C., Keim K.S. (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of Nutritive and Nonnutritive Sweeteners. Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics 112:739-758.
  26. Global Health Observatory (GHO) data. [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/overweight/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/) (04.06.2015).
  27. Grabitske H.A., Slavin J.L. (2008). Perspectives in practice low-digestible carbohydrates in practice. Journal of American Dietetic Association, 108:1677-1681.
  28. Hampton T. (2008). Sugar substitutes linked to weight gain. JAMA, 299: 2137–2138.
  29. Health Canada (2005). [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/addit/sweeten-edulcor/polyols\\_polydextose\\_factsheet-polyols\\_polydextose\\_fiche-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/addit/sweeten-edulcor/polyols_polydextose_factsheet-polyols_polydextose_fiche-eng.php) (10.05.2015)
  30. Hui Y.S., Bin L.W., Fong M.C.F. (2015). Metabolism of hexoses. W: Goran M.I., Tappy L., Lê K.-A. (red.) Dietary Sugars and Health. CRC Press Taylor&Francis Group, Boca Raton, 157-168.
  31. INCHEM. Aspartame. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je03.htm>
  32. Jarosz M. (2012). Normy żywienia dla populacji polskiej - nowelizacja. Instytut Żywności i Żywienia Warszawa.
  33. Jarosz M., Kłosiewicz-Latoszek L. (2006). Otyłość. Zapobieganie i leczenie. PZWL, Warszawa.
  34. Jarosz M., Kłosiewicz-Latoszek L. (2010). Cukrzyca. Zapobieganie i leczenie. PZWL, Warszawa.

35. Jarosz M., Rychlik E. (2007). Napoje słodzone gazowane i ich związek z powstawaniem chorób dietozależnych. *IŻŻ, Standardy Medyczne*, 109-114.
36. JECFA <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/additive-046-m1.pdf>
37. Jia S., Park J.H., Lee J., Kwon S.W. (2011). Comparison of two aerosol-based detectors for the analysis of gabapentin in pharmaceutical formulations by hydrophilic interaction chromatography. *Talanta*, 85: 2301-2306.
38. Keskitalo K., Knaapila A., Kallela M., Palotie A., Wessman M., Sammalisto S., Peltonen L., Tuorila H., Perola M. (2007). Sweet taste preferences are partly genetically determined: identification of a trait locus on chromosome 16. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86: 55 – 63.
39. Kłosiewicz-Latoszek L., Cybulska B. (2011) Sugar and health hazard of obesity, diabetes mellitus and cardiovascular diseases. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 92(2): 181-186.
40. Konarzewski M. (2015). Na początku był głód. Państwowy Instytut Wydawniczy, Warszawa.
41. Konieczka P., Namieśnik J. (2007). Walidacja procedur analitycznych. Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, Warszawa.
42. Lê L., Tappy L. (2015). Contributions of sugars to metabolic disorders in human models. W: Goran M.I., Tappy L., Lê K.-A. (red.) *Dietary Sugars and Health*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 179-193
43. Lin S.-J., Wen C.-Y., Wang P.-M., Huang J.-C., Wei C.-L., Chang J.-W., Chu W.-S. (2010). High-level production of erythritol by mutants of osmophilic *Moniliella* sp. *Process Biochemistry*, 45: 973-979.
44. Livesey G. (2003). Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low-glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*, 16:163-191.
45. Lustig R.H., Schmidt L., Brindis C.D. (2012). Public health: The toxic truth about sugar. *Nature*, 482: 27–29.
46. Ma C., Sun Z., Chen C., Zhang L., Zhu S. (2014). Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC–ELSD. *Food Chemistry*, 145: 784-788.
47. Márquez-Sillero I., Cárdenas S., Valcárcel M. (2013). Comparison of two evaporative universal detectors for the determination of sugars in food samples by liquid chromatography. *Microchemical Journal*, 110: 629-635.
48. Medeiros P.M., Simoneit B.R.T. (2007). Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1141: 271-278.
49. Molnár-Perl I. (1999). Simultaneous quantitation of acids and sugars by chromatography: gas or high-performance liquid chromatography? *Journal of Chromatography A*, 845: 181-195.
50. Peters H.L., Levine K.E., Jones B.T. (2001). An inductively coupled plasma carbon emission detector for aqueous carbohydrate separations by liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 73: 453-457.
51. Popkin B.M. (2015). Sugar consumption in the food and beverage supply across the globe. W: Goran M.I., Tappy L., Lê K.-A. (red.) *Dietary Sugars and Health*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 157-168.
52. Regulation (EC) no 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives.



- <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF>
53. Report from the Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union [http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit\\_flavor/flav15\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf).
  54. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation 14-18 April 1997. Carbohydrates in human nutrition. <http://www.fao.org/docrep/w8079e/w8079e00.htm>, Rome.
  55. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Dz. U. 10.232.1525
  56. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności.
  57. Shankar P., Ahuja S., Sriram K. (2013). Non-nutritive sweeteners: Review and update. *Nutrition*, 29:1293-1299.
  58. Sikorski Z.E. (2012). *Chemia Żywności. Składniki Żywności*. Wydawnictwa Naukowo Techniczne, Warszawa.
  59. Stanhope K. L., Havel P. J. (2008). Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high fructose corn syrup. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88: 1733–1737.
  60. Swithers S.E., Davidson T.L. (2008) A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral Neuroscience*, 122: 161–73.
  61. Swithers S.E., Sample C.H., Davidson T.L. (2013). Adverse effects of high-intensity sweeteners on energy intake and weight control in male and obesity-prone female rats. *Behavioral Neuroscience*, 127(2): 262-274.
  62. Sylvetsky A.C., Brown R.J., Rother K.I. (2015). Biological and health effects of nonnutritive sweeteners. W: Goran M.I., Tappy L., Lê K.- A. (red.) *Dietary Sugars and Health*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 99 – 113.
  63. Tappy L., Egli L., Tran C. (2014). Metabolism of nutritive sweeteners in humans. W: Rippe J.M. (red.) *Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health*. Humana Press, New York, 35-50.
  64. Tappy L., Lê K.A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews*, 90: 23–46.
  65. Tappy L., Lê K.A., Tran C., Paquot N. (2010). Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*, 26: 1044–1049.
  66. Thow A.M., Hawkes C. (2014). Global sugar guidelines: an opportunity to strengthen nutrition policy. *Public Health Nutrition*, 17(10): 2151 - 2155.
  67. Tilman D., Clark M. (2014). Global diets link environmental sustainability and human health. *Nature*, 515: 518-522.
  68. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz.U.2006.171.1225.
  69. Ventura A.K., Mennella J.A. (2011). Innate and learned preferences for sweet taste during childhood. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 14(4): 379 – 384.
  70. Vervoort N., Daemen D., Török G. (2008). Performance evaluation of evaporative light scattering detection and charged aerosol detection in reversed phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1189: 92-100.
  71. Wang X., Chen Y. (2001). Determination of carbohydrates as their p-sulfophenylhydrazones by capillary zone electrophoresis. *Carbohydrate Research*, 332: 191-196.
  72. Wasik A., McCourt J., Buchgraber M. (2007). Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and

- evaporative light scattering detection - development and single-laboratory validation. *Journal of Chromatography A*, 1157: 187-196.
73. Waszkiewicz-Robak B. (2003). Substancje słodzące. W: Świdorski F. (red.) *Żywność Wygodna i Żywność Funkcjonalna*. Wydawnictwa Naukowo – Techniczne. Warszawa, 91 -107.
  74. Waszkiewicz-Robak B. (2008). Napoje funkcjonalne – trendy oraz składniki o ukierunkowanym działaniu zdrowotnym. *Agro Przemysł*, 5.
  75. Welsh J.A., Cunningham S.A. (2011). The role of added sugars in pediatric obesity. *Pediatric Clinics of North America*, 58(6): 1455-1466.
  76. Wheeler M.L., Pi-Sunyer X. (2008). Carbohydrate issues. Type and amount. *Journal of American Dietetic Association*, 108:S34-S39.
  77. White J.S. (2015). High-fructose syrup – so, what is it exactly? W: Goran M.I., Tappy L., Lê K.-A. (red.) *Dietary Sugars and Health*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 81-97
  78. White J.S., Hobbs L.J., Fernandez S. (2015). Fructose content and composition of commercial HFCS-sweetened carbonated beverages. *International Journal of Obesity* 39: 176-182.
  79. Wierzejska R., Jarosz M. (2011). Napoje energetyzujące a zdrowie - postęp wiedzy. *Medycyna Wieku Rozwojowego*, 4 <http://www.medwiekurozwoj.pl/articles/2011-4-13.html>.
  80. Zejc A., Gorczyca M. (2009). *Chemia leków*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 134-135.
  81. Zhu Y., Guo Y., Ye M., James F.S. (2005). Separation and simultaneous determination of four artificial sweeteners in food and beverages by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1085: 143-146.
  82. Zygler A., Wasik A., Kot-Wasik A., Namieśnik J. (2011). Determination of nine high-intensity sweeteners in various foods by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400: 2159-2172.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### 5.1. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Po zdaniu egzaminów wstępnych na studia doktoranckie prowadzone na Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny), rozpoczęłam badania, pod kierunkiem prof. dr Piotra Szefera, kierownika Katedry i Zakładu Bromatologii, nad bromatologiczną oceną zarówno jakości jak i bezpieczeństwa żywności pochodzenia roślinnego pod kątem jej składu pierwiastkowego.

Od 2004 r. podjęte przeze mnie badania prowadziłam w ramach uzyskanego grantu promotorskiego MNiSW „Analiza rozmieszczenia wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w wybranych grupach żywności, nr 2 P05D 022 28, który był realizowany do momentu uzyskania przeze mnie stopnia doktora nauk farmaceutycznych w 2007 r.

Jednocześnie jako kierownik projektu własnego „Mikro- i makroelementy w produktach żywnościowych dostępnych w sprzedaży na terenie Trójmiasta” uzyskałam finansowanie Akademii Medycznej w Gdańsku w ramach działalności statutowej.

W ramach badań doktorskich analizie poddano szeroką gamę produktów spożywczych pochodzenia roślinnego pod kątem zawartości w nich biopierwiastków (Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Mn i Fe) i metali ciężkich (Pb, Cd). Stwierdziłam, że produkty pochodzenia roślinnego (produkty zbożowe, warzywa, suche nasiona roślin strączkowych i oleistych, miody i wyroby cukiernicze, kawa) charakteryzują się znacznym zróżnicowaniem składu pierwiastkowego. Wykazałam również, że produkty nieprzetworzone technologicznie są generalnie znacznie lepszym źródłem biopierwiastków niż ich odpowiedniki poddane obróbce. Ponadto oszacowałam stopień narażenia konsumentów na pierwiastki toksyczne pobierane ze spożywanymi produktami i wykazałam, że praktycznie nie jest możliwe przekroczenie dawek PTWI. Dzięki zastosowaniu technik chemometrycznych zróżnicowałam ww. produkty na podstawie ich składu mineralnego w aspekcie ich rodzaju, pochodzenia geograficznego i botanicznego. Wyniki badań zawarłam w liczącej 469 stron wydruku komputerowego (160 stron załączników) dysertacji doktorskiej pt. „Ocena bromatologiczna i chemometryczna żywności pochodzenia roślinnego na podstawie jej składu mineralnego” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Piotra Szefera, która została wyróżniona decyzją Rady Wydziału Farmaceutycznego z OML Akademii Medycznej w Gdańsku w dniu 19 czerwca 2007 r.

Jednocześnie współpracowałam z prof. dr hab. Anną Lebedzińską w ramach oceny jakości surowego i wędzonego łososia atlantyckiego pod kątem jego składu pierwiastkowego, a uzyskane wyniki zostały sfinalizowane w postaci 2. publikacji o łącznym współczynniku IF 0,627 oraz 13. punktów MNiSW oraz 3. prezentacji na konferencjach naukowych (Załącznik 4 poz. II.A.3; II.D.17; III.B.12, 35, 40).

Równoległe prowadziłam badania we współpracy z dr Magdaleną Kwoczek dotyczące oceny owoców morza pod kątem ewaluacji ich jakości zdrowotnej oraz pochodzenia geograficznego z wykorzystaniem komputerowych technik wielowariancyjnych. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o współczynniku IF wynoszącym 2,322 i 24. punktach MNiSW (Załącznik 4 poz. II.A.1) oraz zaprezentowane w postaci 5. prezentacji na konferencjach naukowych (Załącznik 4 poz. III.B.2, 16, 17, 21, 26).

W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznym współpracowałam również z dr E. Malinowską i dr I. Zdrojewską, pracownikami KiZ Bromatologii GUMed, nad oszacowaniem jakości produktów spożywczych pod kątem zawartości składników odżywczych w aspekcie realizacji i ewentualnego przekroczenia rekomendacji żywieniowych. Uzyskane wyniki zostały rozpowszechnione w postaci 3. publikacji oraz 9. prezentacji konferencyjnych (Załącznik 4 poz. II.D.19, 20, 23; III.B.3, 5, 19, 20, 22, 34, 36-39).

Jednocześnie w trakcie trwania doktoratu odbyłam 4-miesięczny staż naukowy na Uniwersytecie w Limoges (Francja) w trakcie, którego podjęłam próbę zaadaptowania do analizy warzyw, metody specjacji chromuVI opracowanej przez Centrum Ekspertyzy Analizy Środowiskowej w Québec (Kanada) dla próbek gleby i wody (MA. 200-CrHex 1.0 „détermination du chrome hexavalent: méthode colorimétrique”). W wybranych rodzajach warzyw, zarówno świeżych jak i produktach przetworzonych technologicznie, oznaczyłam zawartość chromu całkowitego, chromuVI, stężenie chlorofilu oraz karotenoidów. Opracowałam nową metodę mineralizacji mikrofalowej próbek w celu późniejszego oznaczenia w nich chromu całkowitego metodą GFAAS.

Pod koniec stażu na forum Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu w Limoges wygłosiłam raport z przeprowadzonych badań. Przedstawiłam go również w formie pisemnej („Spéciation du chrome VI dans les végétaux”) opiekunowi stażu.

Ponadto zdobyłam dwie nagrody naukowe, a prezentacja posterowa, dotycząca wyników z pracy doktorskiej, przedstawiona w ramach Letniej szkoły chemometrii "Chemometric Aspects of Environmental Analytics" została wyróżniona przez komitet naukowy konferencji (Załącznik 4 poz. III.D.6).

Wyniki badań prowadzonych przed uzyskaniem stopnia doktora opublikowałam w 13. publikacjach pełnotekstowych (w 5. byłam pierwszym autorem) (**IF 5,131**), 1. rozdziale w monografii polskojęzycznej, o łącznej liczbie punktów **MNiSW 76**.

## 5.2. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora równoległe do badań przedstawionych w ramach rozprawy habilitacyjnej, głównymi kierunkami badawczymi, będącymi w sferze moich zainteresowań były:

- A. Wdrożenie zaawansowanych komputerowych technik chemometrycznych do oceny wielowariancyjnej jakości odżywczej, autentyczności/zafalszowań oraz oceny stopnia zanieczyszczeń i przetworzenia żywności zarówno krajowej jak i importowanej w kontekście profilaktyki zdrowotnej oraz potencjalnych zagrożeń toksykologicznych (Załącznik 4 poz. II.A.5-7; II.D.3, 5, 6, 7-14, 25-32, 34-38; II.K.2-6; III.B.10-15, 17-22, 27, 50-58, 60, 62, 63, 66, 69-71, 74-78).
- B. Ocena zawartości wybranych metyloksantyn (kofeiny i teobrominy) w produktach żywnościowych i farmaceutycznych w aspekcie ich bezpieczeństwa zdrowotnego (Załącznik 4 poz. II.D.33; III.B.59, 63).
- C. Opracowanie metody oznaczania tadalafilu w preparatach farmaceutycznych z wykorzystaniem HPLC sprzężonego z detektorem Corona CAD (Załącznik 4 poz. II.A.8).

**Ad. A. Wdrożenie zaawansowanych komputerowych technik chemometrycznych do oceny wielowariancyjnej jakości odżywczej, autentyczności/zafalszowań oraz oceny stopnia zanieczyszczeń i przetworzenia żywności zarówno krajowej jak i importowanej w kontekście profilaktyki zdrowotnej oraz potencjalnych zagrożeń toksykologicznych**

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych w roku 2007 kontynuowałam zainteresowania badawcze koncentrując się na wykorzystaniu wielowariancyjnych technik komputerowych celem określenia jakości produktów żywnościowych. We współpracy z prof. dr hab. P. Szeferem dokonałam oceny składu pierwiastkowego większości grup produktów spożywczych stosując w tym celu metodą AAS. Jednocześnie wykorzystywałam techniki chemometryczne celem określenia ich jakości zdrowotnej oraz pochodzenia na podstawie zawartości pierwiastków biofilnych oraz toksycznych. Wyniki badań własnych, jak również tych prowadzonych we współpracy z dr A. Kusiuk w czasie jej badań w ramach doktoratu (promotor: prof. dr hab. P. Szefer), zostały opublikowane w szeregu czasopism naukowych o profilu analitycznym i żywnościowym (Załącznik 4 poz. II.A. 5-7, II.D.25-32, 34-37) oraz zaprezentowane na licznych konferencjach międzynarodowych oraz krajowych (Załącznik 4 poz. II.K.3-6, III.B.6-11, 41-52, 54, 56, 58, 60, 61, 64, 67-69, 74).

Współpraca z prof. dr hab. P. Szeferem zaowocowała opracowaniem:

- dwóch obszernych angielskojęzycznych rozdziałów liczących łącznie ok. 160 stron druku w monografii edytowanej przez prof. dr hab. P. Szefera oraz prof. J. Nriagu pt.

„Mineral components in foods”, wydanej przez prestiżowe wydawnictwo CRC Press – Taylor & Francis w 2007 r.,

- anglojęzycznego rozdziału „Metals and Metalloids in Food -Essentiality, Toxicity, Applicability” opublikowanego w monografii „Food quality. Control analysis and consumer concerns” wydanej przez Nova Science Publisher,
- polskojęzycznego rozdziału pt. „Chemometria w badaniu żywności” w monografii „Chemometria w analityce: wybrane zagadnienia” redagowanej przez dr D. Zubę i prof. dr hab. A. Parczewskiego ,
- polskojęzycznego rozdziału „Pierwiastkowa analiza śladowa w badaniach produktów żywnościowych” w monografii „Analiza Śladowa - Zastosowania” pod redakcją prof. dr hab. I. Baranowskiej.
- anglojęzycznego rozdziału „Elemental trace analysis in studies of food products” w monografii „Handbook of trace analysis. Fundamentals and applications” pod redakcją prof. dr hab. I. Baranowskiej.

Ponadto zostałam zaproszona do współtworzenia skryptu (8 rozdziałów) dla studentów zatytułowanego „Żywność – Żywnienie – Zdrowie. Bromatologiczna ocena jakości żywności i wybrane elementy z żywienia człowieka” pod redakcją prof. dr hab. A. Lebidzińskiej oraz prof. dr hab. P. Szefera, wydanego przez Gdański Uniwersytet Medyczny.

Od 2012 r. prowadzę współpracę z mgr Justyną Brzezichą-Cirocką odnośnie wykorzystania nowoczesnych technik analitycznych oraz chemometrycznych w ocenie jakości i bezpieczeństwa stosowania herbaty w aspekcie jej składu pierwiastkowego. Badania zostały również wzbogacone o aspekt biodostępności, gdyż podjęto się oceny poziomów substancji antyodżywczych w herbacie, w tym szczawianów. Moja pierwotna rola, zgodnie z życzeniem prof. dr hab. P. Szefera, miała opierać się na przekazaniu wiedzy odnośnie warsztatu analitycznego, ale wraz z postępem prowadzonych doświadczeń uległa wydatnemu rozszerzeniu. Współpraca ta zaowocowała propozycją jej promotora prof. dr hab. P. Szefera abym została jej promotorem pomocniczym (2014 r.). Wniosek ten został pozytywnie zaakceptowany przez Radę Wydziału Farmaceutycznego GUMed. W wyniku przeprowadzonych badań, wspólnie z mgr J. Brzezichą-Cirocką, przygotowałam trzy manuskrypty prac wysłanych do czasopism z listy filadelfijskiej, z których dwa obecnie znajdują się w recenzji, a jeden został zaakceptowany do druku w *European Food Research and Technology*. Jednocześnie rezultaty naszych wspólnych prac zostały już

opublikowane (Załącznik 4 poz. II.D.38) oraz zaprezentowane na konferencjach naukowych (Załącznik 4 poz. III.B.73, 75, 77, 78, 81).

#### **Ad.B. Ocena zawartości wybranych metyloksantyn (kofeiny i teobrominy) w suplementach diety w aspekcie ich bezpieczeństwa zdrowotnego**

Teobromina i kofeina są jednymi z najczęściej spożywanymi alkaloidów na świecie, gdyż występują w kakao, czekoladzie i jej przetworach, herbacie i innych produktach. Ponadto wielu producentów dodaje je do suplementów diety w postaci wyciągów m.in. z zielonej herbaty czy guarany. Nie są one substancjami obojętnymi dla organizmu, ale wykazują szereg działań farmakologicznych. Z tego też względu celem podjętych przez mnie badań była optymalizacja warunków i walidacja metody oznaczania teobrominy i kofeiny w wybranych suplementach diety z wykorzystaniem HPLC z detekcją UV-DAD. Jednocześnie dokonałam oceny narażenia konsumentów wskutek przekroczenia dopuszczalnych dawek.

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazano, że spożycie rekomendowanych przez producenta dawek suplementów diety skutkuje realizacją maksymalnej dawki dobowej według Farmakopei Polskiej VI dla kofeiny w zakresie od 0,95 do 22,4%. W związku z tym stwierdzono, że spożywanie niektórych suplementów diety, zwłaszcza w połączeniu z produktami takimi jak kawa czy herbata, może skutkować przekroczeniem maksymalnej dawki dobowej dla kofeiny.

W przypadku teobrominy, jej obecność powyżej granicy oznaczalności ( $LOQ=0,15 \mu\text{g/mL}$ ) stwierdzono tylko w jednym suplementie, podczas gdy w dwóch powyżej granicy wykrywalności ( $LOD=0,05 \mu\text{g/mL}$ ), natomiast w pozostałych jej nie wykryto.

Zaproponowana metoda oznaczania kofeiny i teobrominy techniką HPLC z detekcją UV charakteryzowała się specyficznością, liniowością w szerokim zakresie oraz niską granicą wykrywalności i oznaczalności (Załącznik 4 poz. II.D.33; III.B. 59, 63).

#### **Ad.C. Opracowanie metody oznaczania tadalafilu w preparatach farmaceutycznych z wykorzystaniem HPLC sprzężonego z detektorem Corona CAD**

Zdobyte wcześniej doświadczenia w zakresie opracowywania metod analitycznych wykorzystujących HPLC sprzężone z detektorem wyładowań koronowych Corona CAD,

przyczyniły się do zaproszenia mnie przez prof. dr hab. W. Sawickiego, kierownika Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej Wydziału Farmaceutycznego GUMed, do badań nad tadalafilami i opracowaniem metody jego oznaczania. W ramach tych badań współpracowałam z mgr Kamilem Włodarskim, doktorantem prof. dr hab. W. Sawickiego.

Niniejsze badania obejmowały:

- optymalizację oznaczania tadalafilu z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorami Corona CAD oraz UV/DAD
- pełną walidację zoptymalizowanej metody wg wytycznych europejskiej i amerykańskiej farmakopei oraz oznaczenie zawartości tadalafilu.

Opracowana przeze mnie metoda oznaczania tadalafilu techniką HPLC-CAD-UV/DAD charakteryzowała się liniowością w szerokim zakresie, specyficznością oraz niską granicą wykrywalności i oznaczalności (Załącznik 4 poz. II.A.8).

Łączny dorobek po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych:

- **25 publikacji** pełnotekstowych (**IF= 17,457**), **6 rozdziałów w monografiach** angielsko- i polskojęzycznych, **8 rozdziałów w skrypcie**, o łącznej liczbie punktów **MNiSW 353**.
- **55 streszczeń i 4 referaty zjazdowe**, w tym 10 wystąpień ustnych, z prezentowanych doniesień na konferencjach naukowych w kraju (40) i za granicą (9).

#### 6. Bibliometryczne podsumowanie osiągnięć naukowych

Wyniki moich badań zostały opublikowane w czasopiśmie naukowych oraz były prezentowane (w formie posterów konferencyjnych i wystąpień ustnych) na krajowych i międzynarodowych tematycznych konferencjach naukowych.

- Całkowity dorobek: **38 publikacji** pełnotekstowych (**IF= 22,588**), **7 rozdziałów w monografiach** angielsko- i polskojęzycznych, **8 rozdziałów w skrypcie**, o łącznej liczbie punktów **MNiSW 401**.
- Wartość IF za prace, w którym jestem pierwszą autorką **15,342**.
- Przed uzyskaniem stopnia doktora: 13 publikacji pełnotekstowych (**IF 5,131**), 1 rozdział w monografii polskojęzycznej, łączna liczba punktów **MNiSW 76**.
- Mój dorobek naukowy zawiera również **88 streszczeń oraz 4 referaty zjazdowe**, w tym 11 wystąpień ustnych, z prezentowanych doniesień na konferencjach naukowych w kraju (66) i za granicą (15).



- Liczba cytowań wg bazy Web of Science: 60
  - Liczba cytowań wg bazy Scopus: 73
  - Indeks Hirscha wg bazy Web of Science: 4
  - Indeks Hirscha wg bazy Scopus: 5
7. Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach

#### **Granty finansowane przez MNiSW**

1. **Grant promotorski** nr 2 P05D 022 28 „Analiza rozmieszczenia wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w wybranych grupach żywności”, realizowany w latach **2004-2007**, charakter udziału: **główny wykonawca**
2. **Projekt naukowo-badawczy** nr N N404 270840 „Analiza zawartości węglowodanów i witaminy C w produktach spożywczych i suplementach diety słodzonych syropem glukozowo-fruktozowym”, realizowany w latach **2011 – 2014**, charakter udziału: **wykonawca**

#### **Projekty własne**

1. **Projekt własny** nr W-92 „Mikro- i makroelementy w produktach żywnościowych dostępnych w sprzedaży na terenie Trójmiasta”, finansowany przez Akademię Medyczną w Gdańsku w ramach działalności statutowej, realizowany w latach **2004-2007**, charakter udziału: **kierownik projektu i główny wykonawca**
  2. **Projekt własny** „Opracowanie metodyki analitycznej do oceny zawartości wybranych substancji dodatkowych w żywności w aspekcie jej bezpieczeństwa zdrowotnego z wykorzystaniem HPLC z detekcją Corona CAD”, finansowany przez MNiSW w ramach celowanej dotacji dla „Młodych Naukowców”, realizowany od **1.01.2011** do **31.12.2011**, charakter udziału: **kierownik projektu i główny wykonawca**
  3. **Projekt naukowy** „Wpływ czasu przechowywania na zawartość wybranych węglowodanów w produktach spożywczych”, projekt został sfinansowany ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) przyznanych na podstawie decyzji nr MNiSW-DS-6002-4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r. na lata 2012-2017, realizowany od **21.02.2014** do **12.12.2014**, charakter udziału: **kierownik projektu i główny wykonawca**
8. Nagrody i wyróżnienia za działalność naukową i dydaktyczną

#### **Nagrody i wyróżnienia za działalność naukową**

1. **Nagroda Naukowa** w kategorii najlepszych prac opublikowanych w czasopiśmie Bromatologia i Chemia Toksykologiczna (2006), nagroda Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego za współautorstwo cyklu prac dotyczących oceny wybranych biopierwiastków w produktach spożywczych.
2. **Zespołowa Nagroda Naukowa Pierwszego Stopnia** Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku (2006) – nagroda naukowa za opracowanie nowej metody HPLC i ocenę

zdrowotną żywności nowej generacji na podstawie zawartości witamin grupy B i biopierwiastków.

3. **Zespołowa Nagroda Naukowa Drugiego Stopnia** Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku (2008) – nagroda naukowa za cykl publikacji dotyczących oceny bromatologicznej i chemometrycznej wybranych elementów środowiskowych.
4. **Indywidualna Nagroda Naukowa** Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za Wyróżnioną Rozprawę Doktorską (2008) – Ocena bromatologiczna i chemometryczna żywności pochodzenia roślinnego na podstawie jej składu mineralnego.
5. **Zespołowa Nagroda Naukowa Pierwszego Stopnia** Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2009) – za prace monograficzne na temat analizy żywności z wykorzystaniem technik chemometrycznych.

#### **Nagrody i wyróżnienia za działalność dydaktyczną**

1. **Zespołowa Nagroda Dydaktyczna II stopnia** Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2010) – za opracowanie skryptu dla studentów GUMed „Żywność-Żywnienie-Zdrowie, Bromatologiczna ocena jakości żywności i wybrane elementy z żywienia człowieka”.
2. **Nagroda Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za Osiągnięcia Organizacyjne** (2010), za wzorowe pełnienie funkcji Zastępcy Sekretarza Uczelnianej Komisji Rekrutacyjnej, przyjęcie i opracowanie odwołań kandydatów na studia na rok akademicki 2009/2010.
3. **Nagroda Dydaktyczna II stopnia** Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2014), za szczególne zaangażowanie w przygotowanie materiałów dydaktycznych oraz poprawę jakości kształcenia.
4. **Nagroda Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za Osiągnięcia Organizacyjne** (2014), za wzorowe i ponadprzeciętne zaangażowanie w pracę organizacyjną na rzecz Uczelni.

#### **Inne wyróżnienia**

1. **Wyróżnienie pracy doktorskiej** przez Radę Wydziału Farmaceutycznego z OML Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego) (2007 r.).
2. **Wyróżnienie prezentacji posterowej** "Differentiation of market coffee and its infusions in view of their mineral composition" przedstawionej w ramach Summer School "Chemometric Aspects of Environmental Analytics" przez komitet naukowy konferencji (2005 r.).
3. **Wyróżnienie prezentacji posterowej** "Analiza porównawcza zawartości cukrów prostych i sacharozy w napojach energetyzujących i izotonicznych" przedstawionej w ramach XXII Naukowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja - Nauka - Społeczeństwo", Białystok (2013 r.).
4. **Wyróżnienie prezentacji posterowej** "Wpływ czasu przechowywania na zawartość glukozy, fruktozy, sacharozy i laktozy w jogurtach" przedstawionej w ramach XXIV

Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego „Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka”, Wrocław (2015 r.).

5. **Wyróżnienie komunikatu ustnego** „Ksylitol – rola w diecie oraz profilaktyce i terapii chorób człowieka” przedstawionej w ramach XXIV Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego „Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka”, Wrocław (2015 r.).
  
9. Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych  
Łącznie wygłosiłam 11 referatów, w tym 3 na konferencjach międzynarodowych.
  1. **Grembecka M.** (2005). Mineral and toxic trace elements in different food groups. 13th International Students' Scientific Conference for Students and Young Doctors, Gdańsk, Polska.
  2. **Grembecka M., Szefer P.** (2007). Distribution and coassociations of mineral components in food crops in view of chemometric analysis. 11th International Conference on Chemistry and the Environment ICCE-DCE' 2007, Toruń, Polska.
  3. **Grembecka M., Szefer P., Gurzyńska A., Dybek K.** (2008). Ocena jakości zdrowotnej wybranych warzyw na podstawie ich składu pierwiastkowego. XIX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Prawidłowa jakość żywności i racjonalne żywienie podstawą profilaktyki zdrowotnej", Łódź, Polska.
  4. **Grembecka M., Pankowska A., Gallas-Chrulska A., Szefer P.** (2009). Owoce jako niezbędny składnik zdrowej diety człowieka. XX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Jakość zdrowotna żywności i żywienia oraz przedmiotów użytku", Warszawa, Polska.
  5. **Grembecka M., Gallas-Chrulska A., Pankowska A., Szefer P.** (2010). Fresh fruits' quality in view of their heavy metal composition. 15th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Gdańsk, Polska.
  6. **Grembecka M., Kaliś A., Szefer P.** (2010). Ocena bromatologiczna jakości różnych gatunków wina. XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja polska na tle Unii Europejskiej", Gdańsk, Polska.
  7. **Grembecka M., Milińska R., Kwaśniewska S., Szefer P.** (2010). Ocena zawartości aspartamu w wybranych produktach spożywczych z wykorzystaniem HPLC z detekcją UV-DAD i Corona CAD. V Konferencja "Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej", Warszawa, Polska.
  8. **Grembecka M., Lebedzińska A., Oplatkowska A., Dizmen A., Szefer P.** (2013). Ocena zawartości wybranych substancji słodzących w produktach spożywczych z wykorzystaniem HPLC z detekcją Corona CAD. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja - Nauka - Społeczeństwo", Białystok, Polska.
  9. **Grembecka M., Szelażek A., Lebedzińska A., Szefer P.** (2014). Charakterystyka produktów mlecznych pod kątem zawartości wybranych węglowodanów. XXIII

Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bromatologia dla społeczeństwa XXI wieku”, Kraków, Polska.

10. Kotłowska A., **Grembecka M.**, Szefer P. (2014). Wpływ napojów energetyzujących na profil hormonalny u konsumentów. XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bromatologia dla społeczeństwa XXI wieku”, Kraków, Polska.
  11. **Grembecka M.**, Brodzik K., Hryniewiecka A., Lebedzińska A., Szefer P. (2015). Wpływ czasu przechowywania na zawartość glukozy, fruktozy, sacharozy i laktozy w jogurtach. XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka”, Wrocław.
10. Staże i szkolenia w krajowych i zagranicznych ośrodkach naukowo-badawczych
- Staż naukowy na Uniwersytecie w Limoges (Francja) na Wydziale Farmaceutycznym w Katedrze Chemii Analitycznej i Bromatologii, termin odbycia stażu: 01.03.2006 - 30.06.2006 – stypendium naukowe w ramach programu SOCRATES/ERASMUS
  - Staż naukowy w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej, termin odbycia stażu: 26.08.-26.09.2011
11. Działalność dydaktyczna
1. Jestem współautorką skryptu, o charakterze podręcznika (ok. 280 stron druku), dla studentów „Żywność - żywienie - zdrowie: bromatologiczna ocena jakości żywności i wybrane elementy z żywienia człowieka” pod redakcją prof. A. Lebedzińskiej i prof. P. Szefera.
  2. Praca magisterska „Zawartość makro - i mikroelementów w miodach pszczołach i wyrobach cukierniczych” (Akademia Medyczna w Gdańsku, 2005) mgr farm. Edyty Hendożko, której byłam opiekunem naukowym zdobyła I-szą nagrodę na Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego AMG (2006) oraz została wyróżniona w Ogólnopolskim Konkursie Prac Magisterskich pod auspicjami Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego (2006).
  3. Opracowałam i prowadzę jako kierownik dydaktyczny (nieprzerwanie od 1.10.2007) zajęcia fakultatywne dla Wydziału Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (dawniej Akademii Medycznej w Gdańsku):
    - „Wpływ metod pakowania i konserwowania żywności na zdrowie człowieka” – kierunek Dietetyka
    - „Wymagania konsumentów a jakość sensoryczna produktów żywnościowych” - kierunek Dietetyka

- „Wykorzystanie wody w terapii uzdrowiskowej oraz ośrodkach wellness i SPA” – kierunek Fizjoterapia
4. Opracowałam i cyklicznie prowadzę (od 2010 r.) zajęcia w ramach bloków fakultatywnych „Lek pochodzenia naturalnego” oraz „Analityczna kontrola leku, żywności i środowiska” dla studentów IV i V r. Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego:
- „Wody mineralne - rola w terapii i żywieniu człowieka oraz ich wykorzystanie w ośrodkach wellness i SPA”
  - „Ocena bezpieczeństwa żywności - wpływ procesów technologicznych na jakość produktów”
5. W latach 2005-2007 prowadziłam 8 opracowanych przez siebie zajęć fakultatywnych dla studentów Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (dawniej Akademii Medycznej w Gdańsku) w ramach szeroko pojętej problematyki jakości i bezpieczeństwa żywności, tj.
- „Akredytowane metody badań w ocenie jakości zdrowotnej żywności stosowane w zakładach produkcyjnych przemysłu spożywczego”
  - „Biotechnologia a nowe produkty żywnościowe”
  - „Fermentacja w produkcji żywności-biotechnologia w praktyce”
  - „Mikrobiologiczne podstawy oceny jakości produktów spożywczych”
  - „Środowiskowe zanieczyszczenia żywności”
  - „Wody mineralne – rola w żywieniu człowieka oraz ich wykorzystanie w ośrodkach wellness i SPA”
  - „Wpływ metod pakowania i konserwowania żywności na zdrowie człowieka”
  - „Wymagania konsumentów a jakość sensoryczna produktów żywnościowych”
6. Prowadzę zajęcia dydaktyczne z następujących przedmiotów obowiązkowych:
- „Bromatologia” - kierunek Farmacja, IV rok studiów (nieprzerwanie od 1.10.2004)
  - „Analiza i ocena jakości żywności” oraz „Toksykologia i bezpieczeństwo żywności” – kierunek Dietetyka III rok studiów stacjonarnych i niestacjonarnych na Wydziale Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (nieprzerwanie od 1.10.2007)
  - „Bromatologiczna ocena produktów spożywczych i racji pokarmowych” oraz „Środowiskowe zanieczyszczenia żywności” - kierunek Dietetyka II rok studiów magisterskich na Wydziale Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (nieprzerwanie od 1.10.2012)

7. Przygotowałam i wygłosiłam wykłady w ramach zajęć fakultatywnych „Jakość żywności we współczesnej diecie” prowadzonych przez Katedrę i Zakład Bromatologii na Wydziale Farmaceutycznym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2015 r.).
  8. Przygotowałam i prowadziłam całoroczny kurs z chemii ogólnej, nieorganicznej i organicznej w języku angielskim dla obcokrajowców kandydujących na studia medyczne English Division na Wydziale Lekarskim w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym w ramach Premedical Course 2012/2013 (1.10.2012-31.06.2013).
  9. Przygotowałam i prowadziłam cykliczne prelekcje (w latach 2014-2015) dla słuchaczy Gdańskiego Uniwersytetu III wieku w ramach spotkań zatytułowanych „Żywnienie osób starszych”.
  10. Wygłosiłam prelekcję dla uczniów Szkoły Podstawowej nr 23 w Gdańsku na temat wpływu diety na długowieczność (2015 r.).
  11. Brałam udział w popularyzacji nauki w trakcie Medykaliów Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w 2015 r.
12. Działalność organizacyjna
- Od 2012 r. do chwili obecnej piastuję stanowisko opiekuna IV r. studentów farmacji – jestem odpowiedzialna m.in. za zapisy na prace magisterskie na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej GUMed.
  - Jestem członkiem Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Farmacja od 2012 do chwili obecnej.
  - W latach 2007 – 2011 byłam członkiem Uczelnianej Komisji Rekrutacyjnej ds. Odwołań.
  - W KiZ Bromatologii jestem odpowiedzialna za prowadzenie dydaktyki, programu E-pensum, E-dziekanat oraz strony internetowej macierzystej Katedry.
  - Brałam udział w wyborze parametrów oraz negocjowałam najkorzystniejszą ofertę zakupu spektrometru absorpcji atomowej, mineralizatora mikrofalowego oraz liofilizatora, obecnie będących na stanie jednostki.
13. Inna działalność naukowo-badawcza
- Brałam udział w międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych składu mineralnego dwóch materiałów odniesienia: Oriental Basma Tobacco Leaves (INCT-OBTL-5) oraz Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6). Raporty IChTJ. Seria B nr 3/2010.
  - Brałam współudział w badaniach dotyczących analizy wartości odżywczych i zawartości witamin i składników mineralnych mąk pełnoziarnistych (pszenna, żytnia,

orkiszowa) i mieszanek wypiekowych na zlecenie Gdańskich Młynów Sp. z o.o. (2014 r.)

#### 14. Współpraca krajowa i międzynarodowa

- Współpraca ze światowej klasy specjalistą w dziedzinie nauk chemicznych prof. Pawłem M. Kozłowskim z Uniwersytetu w Louisville w Stanach Zjednoczonych, zatrudnionego również na stanowisku profesora wizytującego w KiZ Bromatologii GUMed – opracowanie wyników oznaczeń witaminy B<sub>6</sub> w produktach zbożowych za pomocą HPLC – aktualnie jest przygotowywana 1. praca celem wysłania do redakcji czasopisma z listy filadelfijskiej.
- Współpraca z prof. dr hab. W. Sawickim, kierownikiem Katedry i Zakładu Chemii Fizycznej na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym, i jego zespołem w badaniach nad tadalafilami i opracowaniu metody jego oznaczania za pomocą HPLC-CAD – 1 praca opublikowana w *European Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Współpraca z dr Agatą Błażewicz oraz mgr Piotrem Baranem z zespołu prof. dr hab. Z. Fijałką, ówczesnego dyrektora Narodowego Instytutu Leków w Warszawie – opracowanie metodyki jednoczesnego oznaczania różnych dodatków do żywności, potwierdzenie ich obecności za pomocą spektrometru masowego MicrOTOF-Q II (Bruker Daltonik) z analizatorem czasu przelotu TOF (*time of flight*) – 1. praca opublikowana w *European Food Research and Technology*.

#### 15. Opieka nad studentami i doktorantami

##### **Opieka nad doktorantami**

**Promotor pomocniczy** w przewodzie doktorskim mgr Justyny Brzezichy-Cirockiej (asystenta Katedry i Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego). Tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena bromatologiczna i chemometryczna wybranych gatunków herbat oraz ich naparów na podstawie ich składu mineralnego”. Okres sprawowania opieki naukowej: od 18 listopada 2014 – obecnie.

##### **Opieka nad studentami**

1. W latach 2004-2015 sprawowałam opiekę naukową nad realizacją 20. prac magisterskich studentów V roku Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (dawniej Akademii Medycznej w Gdańsku) na kierunku farmacja.
2. W latach 2009-2010 sprawowałam opiekę naukową nad realizacją 2. prac licencjackich studentów III r. Dietetyki na Wydziale Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

#### 16. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach lub towarzystwach naukowych

- Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, okres członkostwa: od 2000 do chwili obecnej
- Komisja Analityki Żywności Komitetu Chemii Analitycznej PAN, okres członkostwa: od 2007 do chwili obecnej
- Polskie Towarzystwo Toksykologiczne, okres członkostwa: od 2010 do chwili obecnej

17. Recenzje prac naukowych

Do chwili obecnej sporządziłam **28 recenzji publikacji naukowych** na rzecz takich periodyków naukowych jak: *Acta Chimica Slovenica* /1/, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* /2/, *Analytical Letters* /1/, *Chromatography* /1/, *Ecotoxicology and Environmental Safety* /1/, *Environmental Monitoring and Assessment* /1/, *European Food Research and Technology* /2/, *Food Analytical Methods* /7/, *Food Research International* /2/, *Fresenius Environmental Bulletin* /1/, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* /2/, *International Journal of Food and Nutritional Sciences* /1/, *Journal of Chromatography A* /1/, *Macedonian Veterinary Review* /1/, *Nutrition* /1/, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* /2/, *Sultan Quabos University Medical Journal* /1/.

20.10.2015 Małgorzata Grembecka