

dr Michał Świeca

adiunkt

Katedra Biochemii i Chemii Żywności

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Załącznik II
Autoreferat w języku polskim

Lublin, 2016

SPIS TREŚCI

1.	Dane osobowe.....	3
2.	Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	3
3.	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4.	Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)	3
4.1.	Tytuł osiągnięcia naukowego	3
4.2.	Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia.....	4
4.3.	Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
4.3.1.	Wprowadzenie	5
4.3.2.	Cel naukowy oraz omówienie wyników badań	8
4.3.4.	Podsumowanie.....	18
5.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)	20
6.	Zestawienie dorobku	31

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Michał Świeca

Miejsce pracy: Katedra Biochemii i Chemii Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- mgr biologii, specjalność biochemia, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, 2001 r.
- mgr biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, 2002 r.
- dr nauk biologicznych w zakresie biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, 2012 r.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- adiunkt (2012 r. – obecnie), Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności,
- asystent (2005– 2012), Akademia Rolnicza (od 2008 r. Uniwersytet Przyrodniczy) w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności.

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

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

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

Badania czynników determinujących efektywność i zasadność procesu biofortyfikacji kielków

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

O1. Świeca, M. (2015). Production of ready-to-eat lentil sprouts with improved antioxidant capacity: Optimization of elicitation conditions with hydrogen peroxide. *Food Chemistry*, 180, 219-226.

(MNiSW= 40 pkt., IF= 3.391*, 3.901;** liczba cytowań wg WoS=1, Scopus=2)

O2. Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., & Jakubczyk, A. (2013). Impact of density of breeding on the growth and some nutraceutical properties of ready-to-eat lentil (*Lens culinaris*) sprouts. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 12(4), 19-29.

(MNiSW= 20 pkt., IF= 0,522*, 0,522;** liczba cytowań wg WoS=4, Scopus=4)

O3. Świeca, M., Surdyka, M., Gawlik-Dziki, U., Złotek, U., & Baraniak, B. (2014). Antioxidant potential of fresh and stored lentil sprouts affected by elicitation with temperature stresses. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(8), 1811-1817.

(MNiSW= 25 pkt., IF= 1,384*, 1,655;** liczba cytowań wg WoS=6, Scopus=7)

O4. Świeca, M., Sęczyk, Ł., & Gawlik-Dziki, U. (2014). Elicitation and precursor feeding as tools for the improvement of the phenolic content and antioxidant activity of lentil sprouts. *Food Chemistry*, 161, 288-295.

(MNiSW= 40 pkt., IF= 3.391*, 3.901;** liczba cytowań wg WoS=9, Scopus=9)

O5. Świeca, M., Dziki, D. (2015). Improvement in sprouted wheat flour functionality: effect of time, temperature and elicitation. *International Journal of Food Science & Technology*. 50(9), 2135-2142.

(MNiSW= 25 pkt., IF= 1,384*, 1,655;** liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)

O6. Świeca, M. (2016). Elicitation and treatment with precursors of phenolics synthesis improve low-molecular antioxidants and antioxidant capacity of buckwheat sprouts. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(1), 17-28.

(MNiSW= 15 pkt., IF= 0; liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)

O7. Świeca, M. (2016). Potentially bioaccessible phenolics, antioxidant activity and nutritional quality of young buckwheat sprouts affected by elicitation and elicitation supported by phenylpropanoid pathway precursor feeding. *Food Chemistry*, 192 (2016) 625–632.

(MNiSW= 40 pkt., IF= 3.391*; 3.901**;

liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)

Łącznie:
Impact factor –13,463*15,025**

Punkty MNiSW – 205

*obowiązujące w roku wydania publikacji,

**średni pięcioletni Impact Factor

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

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

4.3.1. Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie środkami spożywczymi, które obok dostarczania podstawowych składników odżywczych posiadają wartość dodaną, przez co ich spożycie wpływa pozytywnie na organizm człowieka. Wśród nich należy wymienić żywność specjalnego przeznaczenia żywieniowego, zwaną również żywnością funkcjonalną, która poprzez swój unikalny skład modyfikuje oraz reguluje procesy metaboliczne i fizjologiczne. Drugi kierunek jej działania polega na możliwości obniżenia ryzyka wystąpienia stanów patologicznych (Siró, Kápolna, Kápolna, & Lugasi, 2008). Wiele opracowań naukowych dotyczących pozytywnego wpływu diety wzbogaconej w takie środki spożywcze na organizm człowieka wskazuje na istotność tego zagadnienia dla współczesnej technologii żywności (Marton, Mandoki, Csapo-Kiss, & Csapo, 2010).

W świetle tego faktu coraz częściej poszukuje się możliwości modyfikowania środków spożywczych na wszystkich etapach ich otrzymywania: hodowli roślin i zwierząt, procesów technologicznych i warunków przechowywania produktów. Do często stosowanych zabiegów należy modyfikowanie procesów technologicznych oraz fortyfikacja żywności składnikami bioaktywnymi (Fletcher, Bell, & Lambert, 2004; Ramos, Miller, Brandão, Teixeira, & Silva, 2013). W przypadku kielków, zabiegi te ograniczają się do modyfikacji genetycznych (inżynierii metabolicznej) oraz modyfikacji warunków kiełkowania (Baenas, García-Viguera, & Moreno, 2014).

Kielki roślinne od szeregu lat polecane są w diecie jako źródło łatwo przyswajalnych składników odżywczych i prozdrowotnych. Ich wysoki potencjał odżywczy wynika z faktu, iż w stosunku do nasion, z których są otrzymywane, ich skład chemiczny jest istotnie zmodyfikowany przemianami metabolicznymi zachodzącymi w trakcie kiełkowania i wzrastania roślin. W pierwszych etapach następuje intensywna mobilizacja substancji zapasowych, co powoduje zwiększenie ich biodostępności. W wyniku rozkładu kwasu fitynowego przez fitazę zwiększona jest dostępność makro- i mikroelementów m.in. fosforu, magnezu, cynku czy miedzi. Z żywieniowego punktu widzenia niezwykle istotne są także zmiany jakościowo - ilościowe frakcji węglowodanowej – zwiększeniu ulega procentowy udział skrobi opornej oraz błonnika pokarmowego.

Kielki oraz otrzymane na ich bazie ekstrakty wykazują szereg aktywności biologicznych w badaniach *in vivo* oraz *in vitro*, wśród których należy wymienić m.in.:

- stymulowanie systemu immunologicznego,

- modyfikowanie metabolizmu hormonów,
- właściwości przeciwnowotworowe, w tym przeciwnaczyniotwórcze, hamowanie inicjacji nowotworów, aktywowanie apoptozy,
- modyfikowanie metabolizmu węglowodanów i lipidów,

(Świeca, Baraniak, & Gawlik-Dziki, 2013; Rychlik i in., 2015; Gawlik-Dziki, Jeżyna i in., 2012; Marton i in., 2010).

Wykazano bezpośrednią zależność pomiędzy poziomem wielu z tych aktywności a szeroko pojętym potencjałem przeciwutleniającym, który w dużej mierze kreowany jest poprzez zawartość przeciwutleniaczy niskocząsteczkowych. Podczas kiełkowania zwiększa się biodostępność składników odżywczych i mineralnych, jednak tylko w nielicznych przypadkach jest to związane z jednoczesnym wzrostem potencjału nutraceutycznego (Marton i in., 2010). W przypadku większości roślin strączkowych, zbóż i pseudozbóż pomimo obserwowanego wzrostu zawartości przeciwutleniaczy wyrażonego w odniesieniu do suchej masy kiełków (w odniesieniu do świeżej masy zwykle kiełkowanie nie zwiększa poziomu substancji bioaktywnych lub wręcz powoduje obniżenie ich zawartości) realny potencjał przeciwutleniający kiełków jest niższy od oznaczonego dla suchych nasion (Paśko i in., 2009; Świeca & Gawlik-Dziki, 2015; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010).

Biofortyfikacja ma na celu poprawę składu i/lub bioprzyswajalności składników odżywczych i prozdrowotnych roślin. To nowatorskie podejście zakłada wykorzystanie modyfikacji genetycznych, jak też dywersyfikację warunków uprawy roślin (Allen, de Benoist, Dary, & Hurrell, 2006). Zarówno zawartość jak i aktywność składników kiełków może być modyfikowana w trakcie procesu kiełkowania poprzez elicytację, która stanowi tanią i skuteczną technologię otrzymywania niskoprzetworzonej żywności funkcjonalnej (Vidal-Valverde i in., 2002). Elicytacja jest strategią polegającą na wykorzystaniu naturalnych mechanizmów rośliny w celu zwiększania syntezy metabolitów wtórnych. W warunkach stresu, który efektywnie można wywołać poprzez zastosowanie elicytorów, roślina indukuje reakcję obronną (Matkowski, 2008). Reakcja ta obejmuje m.in. syntezę przeciwutleniaczy, takich jak polifenole, tokoferole czy kwas askorbinowy, a wzrost ich zawartości powoduje zwiększenie potencjału nutraceutycznego. Elicytorami mogą być zarówno czynniki abiotyczne (np. temperatura, promieniowanie), jak i biotyczne (np. zagęszczenie, obecność mikroorganizmów), które są w stanie zaindukować w komórkach szlaki metaboliczne odpowiedzialne za syntezę wybranych metabolitów (Radman, Saez, Bucke, & Keshavarz, 2003). Zaburzenia metabolizmu spowodowane działaniem elicytorów zwykle są odwracalne, jednak w przypadku zbyt dużej intensywności lub czasu działania czynnika mogą one prowadzić do zahamowania wzrostu i rozwoju roślin. Fakt ten jest niezwykle istotny w przypadku zastosowania indukcji w procesie kiełkowania, ponieważ kiełki są niezwykle wrażliwe na warunki stresowe. Uzyskanie zamierzonego efektu wymaga więc zastosowania ściśle dobranych warunków. Dotychczas podjęto nieliczne próby wykorzystania elicytacji w celu biofortyfikacji kiełków, a te przeprowadzone skupiały się przede wszystkim na oznaczeniach składu i bioaktywności otrzymanego produktu i nie

analizowały czynników wpływających na przebieg, efektywność procesu i potencjalną biodostępność składników odżywczych i bioaktywnych.

Grupą roślinnych metabolitów wtórnych, których poziom można efektywnie zwiększać poprzez zastosowanie elicytacji są polifenole (Baenas i in., 2014). Związki te, które w roślinach pełnią rolę fitohormonów, substancji sygnałowych czy też elementów budulcowych, stanowią grupę naturalnych przeciwutleniaczy o bardzo dobrze udokumentowanej bioaktywności (Wang, Melnyk, Tsao, & Marcone, 2011). Polifenole jako przeciwutleniacze wspomagają utrzymanie właściwego potencjału redoks organizmu, a mechanizmy ich działania obejmują:

- a) właściwości redukujące – mogą oddawać elektron lub atom wodoru,
- b) zdolności neutralizowania wolnych rodników - mogą stabilizować lub delokalizować niesparowany elektron,
- c) chelatowanie jonów metali, które stanowią substraty w reakcji Fentona,
- d) hamowanie aktywności oksydaz,
- e) terminację łańcuchowych reakcji generujących wolne rodniki,
- f) stabilizowanie wolnych rodników poprzez ich uwodornianie lub kompleksowanie (Wang i in., 2011).

Polifenole syntetyzowane są w szlaku fenylopropanoidowym, który obejmuje ciąg reakcji, wśród których do kluczowych należą katalizowane przez amoniakolizację fenyloalaninową oraz tyrozynową. Wydajność syntezy, odpowiednio kwasu *trans*-cynamonowego i *p*-kumarowego jest w dużej mierze limitowana poziomem związków będących ich bezpośrednimi prekursorami (fenyloalaniny i tyrozyny). Te aminokwasy aromatyczne są z kolei syntetyzowane w szlaku regulowanym m.in. poprzez dostępność kwasu szikimowego. Kwasy polifenolowe powstające w pierwszych reakcjach szlaku mogą zostać w dalszych etapach przekształcone do chalkonu naryngeniny stanowiącego metabolit wyjściowy dla flawonoidów, które charakteryzuje wysoki potencjał nutraceutyczny (Shetty, 2004). Należy podkreślić, że odpowiedź rośliny jest zwykle nieswoista - ukierunkowanie metabolizmu do syntezy konkretnych bioaktywnych składników można uzyskać poprzez dostarczenie związków będących ich prekursorami (Baenas i in., 2014). W celu wyjaśnienia czy i w jakim stopniu obecność tych prekursorów może być dodatkowym czynnikiem modyfikującym właściwości kiełków, podjąłem nowatorskie badania nad skutecznością ich stosowania w procesie biofortyfikacji kiełków.

Hipoteza badawcza prac wchodzących w skład opracowania będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zakłada, że zastosowane modyfikacje procesu kiełkowania zaindukują szlaki biosyntezy związków przeciwutleniających, co spowoduje wzrost ich zawartości, a tym samym zwiększenie potencjału nutraceutycznego kiełków.

Prace obejmują ocenę wykorzystania wybranych modyfikacji procesu kiełkowania (elicytacji z zastosowaniem stresów biotycznych i abiotycznych oraz elicytacji wspomaganą suplementacją prekursorami wybranych związków bioaktywnych) do regulowania składu, potencjału odżywczego i prozdrowotnego kiełków roślin, których nasiona charakteryzuje wysoka zawartość substancji

odżywczych. Szczególny nacisk został położony na parametry warunkujące efektywność zastosowanych modyfikacji (przyrost biomasy, jakość odżywcza), wpływ zastosowanych zabiegów na metabolizm kielków oraz potencjalną biodostępność związków polifenolowych i ich aktywność przeciwutleniającą.

4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników badań

Głównym celem osiągnięcia będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest ocena efektywności i zasadności biofortyfikacji kielków poprzez zmianę warunków ich otrzymywania.

Szczegółowe cele pracy:

1. Określenie wpływu elicytacji na zawartość i właściwości przeciwutleniające naturalnych przeciwutleniaczy w kielkach.
2. Ocena możliwości zastosowania suplementacji prekursorami związków fenolowych do zwiększenia ich zawartości i polepszenia właściwości przeciwutleniających otrzymanych kielków.
3. Analiza wpływu warunków hodowli kielków na strawność składników odżywczych i potencjalną biodostępność składników fizjologicznie aktywnych.
4. Wytypowanie markerów zmian metabolicznych i fizjologicznych zachodzących w kielkach do oceny zasadności i przydatności zastosowanych modyfikacji procesu kiełkowania biofortyfikacji.

AD 1. Potencjał prozdrowotny żywności w dużej mierze jest determinowany przez zawartość substancji bioaktywnych. Zazwyczaj w produktach spożywczych występuje wysoka, dodatnia korelacja pomiędzy zawartością przeciwutleniaczy niskocząsteczkowych a aktywnością przeciwutleniającą. Z uwagi na powyższe w pracach wchodzących w skład Osiągnięcia oceniony został wpływ różnorodnych modyfikacji procesu kiełkowania na zawartość przeciwutleniaczy (przede wszystkim związków fenolowych) i właściwości przeciwutleniające kielków. W celu określenia spektrum potencjalnej bioaktywności otrzymanej żywności wykorzystałem szereg testów antyoksydacyjnych określających zróżnicowany mechanizm działania przeciwutleniaczy.

W badaniach dokonałem analizy kielków soczewicy, pszenicy oraz gryki. Dywersyfikacja warunków kiełkowania obejmowała zastosowanie stresów abiotycznych w tym stresu temperaturowego, promieniowania UV, bezpośredniego stresu oksydacyjnego indukowanego nadtlaniem wodoru, jak też stresów biotycznych takich jak: zmiany zagęszczenia hodowli oraz zastosowanie ekstraktów otrzymanych z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i kory wierzby *Salix*

daphnoides.

W pracy **O1** wykazałem, że poziom związków polifenolowych w kiełkach soczewicy był uzależniony od stężenia czynnika stresowego (15 mM i 150 mM nadtlenu wodoru) i czasu jego aplikowania (elicytacja jednostopniowa oraz ciągła). Najwyższy wzrost zawartości polifenoli otrzymałem 24h po indukcji - w odniesieniu do kiełków kontrolnych wynosił on około 44%. Uzyskane wyniki wykazały, że bardziej efektywne jest przeprowadzenie jednostopniowej elicytacji. W opracowaniu **O2** wykazano, że zagęszczenie hodowli, będące czynnikiem zwykle pomijanym podczas produkcji kiełków, również odgrywa istotną rolę w modyfikowaniu ich składu i bioaktywności. Zmiany ilościowe uzyskano szczególnie dla frakcji flawonoidów oraz tanin skondensowanych, których poziom był najwyższy w kiełkach otrzymanych w hodowlach o najwyższym zagęszczeniu (1,63 kiełka na cm²). W pracy **O3** wykazano, że stres temperaturowy wywołany poprzez krótkotrwałe prowadzenie hodowli kiełków soczewicy w niskiej (4°C) lub podwyższonej (40°C) temperaturze pozwala na zwiększenie zawartości związków polifenolowych oraz witaminy C, przy czym najwyższy wzrost zaobserwowano 24h po zastosowaniu czynnika stresowego. W kiełkach przechowywanych otrzymanych w wyniku elicytacji oznaczona zawartość związków polifenolowych była nieznacznie wyższa lub nie różniła się istotnie od tej oznaczonej dla kontroli. Na uwagę zasługuje istotny wzrost zawartości witaminy C w kiełkach indukowanych w 4°C, który zaobserwowano zarówno w świeżym jak i przechowywanym materiale. Ilość oznaczonych polifenoli była także determinowana zastosowanym układem ekstrakcyjnym. Wpływ elicytacji uwidocznił się bardziej we frakcji hydrofilowej, jakkolwiek zmiany w stosunku do odpowiedniej kontroli nie przekraczały 10%. Z kolei elicytacja poprzez naświetlenie promieniami UV spowodowała 7% i 22% wzrost zawartości odpowiednio polifenoli ogółem i flawonoidów w kiełkach soczewicy, co wykazano w pracy **O4**.

W przypadku kiełków pszenicy (**O5**) poziom polifenoli był uzależniony zarówno od czasu i temperatury kiełkowania jak też rodzaju zastosowanych elicytorów biotycznych - 0,1% wodnych naparów kory wierzby oraz drożdży *S. cerevisiae*. Najwyższa zawartość polifenoli została oznaczona w 4-dniowych kiełkach otrzymanych w temperaturze 20°C, przy czym w tym przypadku nie stwierdzono pozytywnego wpływu elicytacji (kiełki otrzymane z hodowli elicytowanych charakteryzowała obniżona zawartość polifenoli, zaobserwowano jedynie nieznaczny wzrost zawartości wolnego kwasu ferulowego). Indukcyjny wpływ elicytorów dobrze widoczny był natomiast w przypadku 4-dniowych kiełków hodowanych w temperaturze 25°C, dla których po zastosowaniu ekstraktu kory wierzby zaobserwowano wzrost całkowitej zawartości polifenoli o 21% w stosunku do kiełków nieelicytowanych.

W oparciu o obiecujące wyniki uzyskane dla kiełków elicytowanych ekstraktami z kory wierzby, czynnik ten został także wykorzystany do indukcji biosyntezy polifenoli w kiełkach gryki. W pracy **O6** wykazałem, że w przypadku gryki elicytacja nie przyniosła oczekiwanych rezultatów. Oznaczone poziomy polifenoli (ekstrakcja 80% etanolem), witaminy C i karotenoidów nie różniły się

istotnie od poziomu tych składników w kiełkach kontrolnych.

Ocena potencjału przeciwutleniającego otrzymanych kiełków dokonana została w oparciu o zdolność do neutralizowania kationorodnika ABTS, zdolność do chelatowania jonów żelaza, potencjał redukcyjny, działanie ochronne w stosunku do lipidów oraz wpływ na aktywność wybranych enzymów prooksydacyjnych. W przypadku indukcji kiełków soczewicy 15 mM i 150 mM roztworami nadtlenu wodoru (**O1**) najwyższy wzrost zdolności przeciwrodnikowych zaobserwowano po zastosowaniu ciągłej elicytacji - dla kiełków w 4-tym dniu hodowli wzrost wynosił odpowiednio 50% i 23%, a w 5-tym dniu 23% i 50%. Zastosowane modyfikacje spowodowały istotne zwiększenie zdolności do ochrony lipidów przed uszkodzeniami oksydacyjnymi – największe w 3- i 4-dniowych kiełkach po zastosowaniu ciągłej elicytacji 150 mM roztworem nadtlenu wodoru. Zdolność do chelatowania jonów żelaza uległa 10-krotnemu wzrostowi w 5-dniowych kiełkach z hodowli jednokrotnie elicytowanej 15 mM roztworem H₂O₂. W oparciu o wartości całkowitego indeksu przeciwutleniającego (faktora opisującego wzrost całkowitego potencjału antyoksydacyjnego w odniesieniu do warunków kontrolnych) wykazałem, że elicytacja nadtlakiem wodoru efektywnie zwiększa potencjał przeciwutleniający kiełków – zastosowanie jednokrotnej elicytacji roztworem 150 mM pozwoliło na ponad 3-krotne jego zwiększenie w 5-dniowych kiełkach. Badania wpływu zagęszczenia kiełków (**O2**) wykazały, że zdolność do hamowania indukowanej peroksydacji lipidów była odwrotnie proporcjonalna do zagęszczenia hodowli. Dla kiełków 4-dniowych zależność tę zaobserwowano także w przypadku zdolności do hamowania aktywności lipooksygenazy, nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu na zdolność do wiązania jonów metali przejściowych.

W przypadku kiełków świeżych oraz przechowywanych w warunkach chłodniczych otrzymanych w wyniku indukcji z zastosowaniem stresów temperaturowych (**O3**) obserwowany efekt elicytacji był uzależniony od układu zastosowanego do ekstrakcji przeciwutleniaczy - w przypadku ekstraktów buforowych oznaczono istotny wzrost zdolności do neutralizowania wolnych rodników w 4-dniowych świeżych kiełkach indukowanych w temperaturze 4°C i 40°C o odpowiednio 26% i 24% w stosunku do kiełków nieelicytowanych (**O3**). Wykazano również, że zastosowane modyfikacje niekorzystnie wpływają na potencjał redukcyjny. W przypadku ekstraktów metanolowych aktywności oznaczone dla kiełków elicytowanych były porównywalne lub niższe od tych wyznaczonych dla kiełków kontrolnych, co nie wskazuje na zasadność zastosowania stresów temperaturowych w celu intensyfikacji potencjału antyoksydacyjnego związków rozpuszczalnych w alkoholu. W kiełkach przechowywanych (niezależnie od zastosowanego układu ekstrakcyjnego) aktywności przeciwutleniające kiełków elicytowanych były generalnie porównywalne z oznaczonymi dla kontroli. Niewielki wzrost potencjału przeciwutleniającego oznaczono tylko w przypadku kiełków indukowanych w 40°C.

Wyniki otrzymane w pracy **O4** wykazały ponad 5% wzrost aktywności przeciwutleniającej, a w szczególności zdolności redukcyjnych oraz zdolności do chelatowania jonów żelaza w kiełkach soczewicy, w których biosyntezę związków fenolowych indukowano poprzez naświetlenie

promieniami UV.

W przypadku kielków pszenicy (**O5**) wykazano, że zdolność do neutralizowania wolnych rodników została zwiększona w wyniku elicytacji naparem z drożdży oraz z kory wierzby tylko w 4-dniowych kielkach hodowanych w temperaturze 25°C. W porównaniu do kielków kontrolnych wzrost wynosił odpowiednio 42% i 11%. W pozostałych przypadkach analizowana aktywność nie różniła się istotnie od wyznaczonej dla prób kontrolnych lub była wyraźnie niższa. Jako przykład można podać 2- i 4-dniowe kielki (temperatura kiełkowania 25°C) elicytowane mieszaniną elicytorów, dla których uzyskano aktywność niższą o około 35%. Natomiast w przypadku potencjału redukcyjnego jego wzrost o więcej niż 15% (w stosunku do odpowiednich kontroli) otrzymano tylko w przypadku 2-dniowych kielków hodowanych w 20°C po indukcji mieszaniną elicytorów oraz 4-dniowych kielkach hodowanych w 25°C po indukcji naparem uzyskanym z drożdży (wzrost o około 20%).

Z kolei wykorzystanie ekstraktu z kory wierzby jako elicytora w hodowli kielków gryki nie miało wpływu na potencjał przeciwutleniający - aktywności przeciwutleniające kielków elicytowanych nie różniły się istotnie od wartości uzyskanych dla kielków kontrolnych (**O6**).

W wyżej wymienionych pracach wykazałem, że elicytacja stanowi metodę skutecznie zwiększającą zawartość niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy w kielkach soczewicy, gryki i pszenicy. W przypadku kielków gryki elicytowanych naparem kory wierzby nie oznaczono wzrostu potencjału przeciwutleniającego pomimo obserwowanego wzrostu zawartości flawonoidów. W przypadku kielków soczewicy najwyższy wzrost zawartości związków polifenolowych oraz aktywności przeciwutleniających uzyskano poprzez zastosowanie 15 mM roztworu nadtlenu wodoru, zaś potencjał przeciwutleniający kielków pszenicy został najefektywniej zwiększony poprzez indukcję naparem drożdży. Wykazałem, że jako induktory można stosować różne czynniki, a końcowy efekt jest determinowany rodzajem, stężeniem i czasem podania elicytora.

AD2. Badanie oceny możliwości zastosowania elicytacji wspomaganą suplementacją prekursorami związków fenolowych do zwiększenia ich zawartości i właściwości przeciwutleniających otrzymanych kielków została przedstawiona w pracach **O4**, **O6**. Inspirację do wprowadzenia tego nowatorskiego kierunku badań do technologii żywności stanowiła znajomość prac związanych z otrzymywaniem związków biologicznie aktywnych w hodowlach *in vitro* komórek i tkanek roślinnych, gdzie czynnikiem limitującym założony efekt był niedobór związków będących prekursorami wybranych metabolitów wtórnych.

Układ badawczy przedstawiony w pracy **O4** obejmował elicytację promieniowaniem UV, przy czym kielki zostały otrzymane z nasion wzbogaconych w fenyloalaninę i tyrozynę, które w szlaku fenylopropanoidowym są przekształcane odpowiednio do kwasu cynamonowego i *p*-kumarowego. Najwyższą zawartość polifenoli oznaczono w przypadku kielków otrzymanych w hodowlach wzbogaconych fenyloalaniną (wzrost odpowiednio o 19% i 14% w przypadku kielków

nieelicytowanych i elicytowanych). Kiełki otrzymane w wyniku suplementacji fenyloalaniną zawierały 2,41 mg flawonoidów w 1 g świeżej masy, co stanowiło wzrost o 58% w stosunku do kontroli. Analiza potencjału przeciwutleniającego ekstraktów acetonowych otrzymanych z kiełków soczewicy wykazała, że czynnikiem decydującym o jego wzroście była dostępność aminokwasów aromatycznych, natomiast wpływ promieniowania UV był marginalny. Wartość całkowitego indeksu przeciwutleniającego wskazała na 27% wzrost potencjału antyoksydacyjnego kiełków otrzymanych z nasion wzbogaconych w fenyloalaninę. W odniesieniu do kontroli potencjał redukcyjny i przeciwrodnikowy tych kiełków był wyższy odpowiednio o 29% i 34%.

W pracach **O6** dokonałem oceny wpływu elicytacji 0,01% naparem kory wierzby oraz suplementacji prekursorami polifenoli na skład i aktywność przeciwutleniającą kiełków gryki. W oparciu o analizę ekstraktów etanolowych wykazałem, że wzbogacenie hodowli w fenyloalaninę, tyrozynę i kwas szikimowy indukowało nadprodukcję polifenoli. Największy wzrost oznaczono dla hodowli elicytowanych, wzbogaconych w kwas szikimowy. W porównaniu z kontrolą zarówno kiełki otrzymane z nasion wzbogaconych w kwas szikimowy jak i kiełki z hodowli dodatkowo elicytowanej charakteryzował wzrost zawartości polifenoli ogółem (odpowiednio o 11% i 21%), tanin skondensowanych (odpowiednio o 31% i 29%) oraz flawonoidów (odpowiednio o 47% i 71%). Analiza jakościowo – ilościowa frakcji polifenolowej wykazała istotny wzrost zawartości witeksyny, rutyny, izoorientyny i kwasu chlorogenowego w kiełkach elicytowanych otrzymanych z nasion wzbogaconych w kwas szikimowy. Wszystkie zastosowane modyfikacje procesu kiełkowania (wzbogacanie prekursorami polifenoli, elicytacja i elicytacja nasion wzbogaconych prekursorami polifenoli) spowodowały wzrost zawartości witaminy C – największy w przypadku wzbogacenia kwasem szikimowym i fenyloalaniną (odpowiednio o 36% i 31%). Wzrost zawartości frakcji polifenolowej w kiełkach otrzymanych z nasion suplementowanych kwasem szikimowym powiązany był ze zwiększeniem zdolności do neutralizowania wolnych rodników oraz zdolności do hamowania indukowanej peroksydacji lipidów. Należy podkreślić, że zastosowanie elicytacji nie spowodowało istotnego zwiększenia efektu generowanego poprzez wzbogacenie hodowli w prekursory szlaku fenylopropanoidowego.

Omówione prace jednoznacznie wskazują, że suplementacja hodowli prekursorami polifenoli pozwala na zwiększenie ich biosyntezy. Dodatek tych związków intensyfikował pozytywny wpływ elicytacji i powodował dalszy wzrost potencjału przeciwutleniającego kiełków. Należy podkreślić, że prace te stanowią jak dotąd jedyny skuteczny przykład transferu tego typu technologii do produkcji kiełków o zwiększonej zawartości polifenoli.

AD3. Biodostępność składników żywności, będąca czynnikiem determinującym ich rzeczywistą wartość odżywczą i prozdrowotną, jest zwykle pomijana podczas badań żywności fortyfikowanej, w tym także produktów uzyskanych w wyniku biofortyfikacji. Większość badań dotyczących aktywności fizjologicznej polifenoli opiera się na ich analizie po wyekstrahowaniu z matrycy.

Dominującym składnikiem w stosowanych do tego celu układach jest zazwyczaj rozpuszczalnik organiczny. W warunkach *in vivo* bioaktywność substancji aktywnych jest uzależniona od ich biodostępności, stąd niezwykle istotne jest określanie wpływu biofortyfikacji na biodostępność polifenoli z otrzymanych kiełków. W przeprowadzanych badaniach zastosowano układ doświadczalny obejmujący analizę zawartości i aktywność przeciwutleniaczy w ekstraktach otrzymanych w wyniku trawienia *in vitro* oraz uzyskanych w wyniku ekstrakcji z użyciem rozpuszczalników organicznych. Porównanie to pozwala na określenie aktywności zbliżonej do wykazywanej w organizmie i wskazuje na potencjalną biodostępność. Aspekt ten, podobnie jak zagadnienia dotyczące wartości odżywczej, analizowano w wybranych pracach wchodzących w skład Osiągnięcia.

W pracy **O4** w oparciu o analizę ekstraktów uzyskanych po przeprowadzeniu symulowanego procesu trawienia wykazano, że zastosowanie zarówno promieniowania UV jak i suplementacji prekursorami szlaku fenylopropanoidowego w hodowli kiełków soczewicy spowodowało wzrost zawartości związków fenolowych i ich właściwości przeciwutleniających. W przypadku potencjalnie biodostępnej frakcji najwyższy wzrost całkowitego potencjału antyoksydacyjnego oznaczono w przypadku kiełków otrzymanych z nasion wzbogaconych fenyloalaniną oraz kiełkach elicytowanych otrzymanych z nasion wzbogaconych tyrozyną (wartości całkowitego indeksu przeciwutleniającego odpowiednio 1,4 oraz 1,44). Należy podkreślić, że wszystkie modyfikacje istotnie zwiększyły zdolność do chelatowania jonów metali przejściowych. Suplementacja nasion fenyloalaniną pozwoliła także na blisko 53% i 30% wzrost potencjału przeciwrodnikowego oraz zdolności protekcyjnych w stosunku do lipidów.

Z kolei badania wpływu stresu temperaturowego, czasu wzrostu i przechowywania kiełków soczewicy wykazały, że w ekstraktach otrzymanych w wyniku trawienia *in vitro* na uwagę zasługuje istotny wzrost potencjału przeciwrodnikowego stwierdzony w przypadku kiełków indukowanych w 4°C – wzrost odpowiednio o 17% i 57% dla kiełków 3- i 4-dniowych (**O3**).

W pracy **O7** wykazałem, że indukcja 0,01% naparem kory wierzby 1-dniowych kiełków gryki otrzymanych z nasion wzbogaconych tyrozyną i kwasem szikimowym spowodowała odpowiednio o około 30% i 17% wzrost zawartości polifenoli ogółem w potencjalnie biodostępnej frakcji otrzymanej z kiełków w wyniku trawienia *in vitro*. Istotny wzrost zawartości potencjalnie biodostępnych flawonoidów otrzymano również w hodowli wzbogaconej w tyrozinę – wzrost o 19,5% w stosunku do kiełków kontrolnych. Analiza potencjału przeciwutleniającego potencjalnie biodostępnej frakcji kiełków gryki wykazała, że najlepsze wyniki uzyskano dla otrzymanych z nasion wzbogaconych tyrozyną – wzrost o około 16% w stosunku do kontroli. Zastosowanie elicytacji oraz elicytacji wspomagannej pozwoliło na otrzymanie kiełków, które charakteryzowała istotnie większa zdolność do ochrony lipidów przed uszkodzeniami oksydacyjnymi – w przypadku elicytowanych kiełków otrzymanych z nasion wzbogaconych tyrozyną uzyskano niemal 2-krotny wzrost wspomnianej aktywności. Kluczową rolę odgrywała suplementacja prekursorami szlaku fenylopropanoidowego, jednak należy podkreślić, że w odróżnieniu do wyników przedstawionych w

pracy **O4** elicytacja kiełków otrzymanych z nasion suplementowanych prekursorami zwykle pozwalała na dalszy wzrost ich potencjału antyoksydacyjnego.

W celu zobrazowania współzależności pomiędzy zawartością, aktywnością i biodostępnością fizjologicznie czynnych związków obliczono wartości współczynników względnej biodostępności polifenoli (RBF; relative phenolics bioaccessibility factor) oraz względnej biodostępności przeciwutleniaczy (REF; relative antioxidant efficiency factor). W pracy **O4** w oparciu o wartości RBF i REF wykazano, że zarówno promieniowanie UV jak i suplementacja prekursorami szlaku fenylopropanoidowego kiełków soczewicy nie miały istotnego wpływu na potencjalną biodostępność związków polifenolowych. Biodostępność flawonoidów była wysoka, jednak w próbach otrzymanych w modyfikowanych warunkach niższa niż oznaczona dla kiełków kontrolnych. Analizując potencjalną biodostępność substancji wykazujących aktywność przeciwutleniającą wykazano, że zarówno elicytacja jak elicytacja wspomaganą nie miały ujemnego wpływu - w większości przypadków wyznaczone wartości współczynników REF są zbliżone lub wyższe od tych wyznaczonych dla kontroli. Jest to szczególnie widoczne w przypadku zdolności do chelatowania jonów żelaza (wszystkie modyfikacje kiełkowania) oraz zdolności do neutralizowania wolnych rodników (kiełki otrzymane z nasion suplementowanych tyrozyną).

W pracy **O3** wykazano, że potencjalna biodostępność polifenoli była bardzo wysoka zarówno w przypadku kiełków soczewicy świeżych jak i przechowywanych. Porównując wyniki uzyskane dla ekstraktów metanolowych z otrzymanymi dla ekstraktów po trawieniu *in vitro* nie stwierdzono negatywnego wpływu elicytacji. Porównywalne wyniki otrzymano podczas analiz ekstraktów buforowych, jednak w tym przypadku w kiełkach 3-dniowych wartości współczynnika biodostępności polifenoli (ACP) były nieznacznie niższe zarówno w przypadku kiełków świeżych jak i przechowywanych. W oparciu o analizę wartości współczynników względnej biodostępności przeciwutleniaczy (REF) oraz biodostępności przeciwutleniaczy (BAC; antioxidant bioaccessibility factor) wyznaczonych dla poszczególnych aktywności wykazano, że elicytacja stresami temperaturowymi generalnie nie zmniejsza biodostępności związków kreujących potencjał antyoksydacyjny. Niewielki spadek biodostępności związków odpowiedzialnych za neutralizowanie wolnych rodników i chelatowanie jonów metali odnotowano w przypadku 3-dniowych kiełków przechowywanych przez 7 dni w warunkach chłodniczych.

Z kolei analiza kiełków gryki (**O6, O7**) otrzymanych poprzez zastosowanie elicytacji i elicytacji wspomaganą prekursorami szlaku fenylopropanoidowego wykazała zdecydowanie lepszą przyswajalność flawonoidów z kiełków elicytowanych otrzymanych z nasion niewzbogacanych oraz wzbogacanych w fenyloalaninę (wzrost w stosunku do kontroli o około 35%). Potencjalna biodostępność związków o potencjale przeciworodnikowym była uwarunkowana dodatkiem metabolitów pośrednich w syntezie polifenoli – obecność kwasu szikimowego powodowała obniżenie tego parametru, natomiast fenyloalaniny i tyrozyny zwiększenie.

Kiełki spożywane są z uwagi na wysoki potencjał prozdrowotny oraz wysoką wartość odżywczą. Elicytacja, jako metoda wykorzystująca naturalne mechanizmy obronne wznrastających roślin, może prowadzić do niekorzystnych zmian biodostępności składników odżywczych. Przyczyną tego może być z jednej strony zwiększona aktywność inhibitorów hydrolaz trawiennych, zaś z drugiej zwiększona ilość polifenoli, które poprzez interakcje z enzymami trawiennymi i matrycą żywności mogą ograniczać strawność składników odżywczych. W pracy **O7** poddano analizie zawartość i strawność białka oraz skrobi w kiełkach gryki otrzymanych w modyfikowanych procesach kiełkowania. Analiza profilu białkowego otrzymanych kiełków wykazała, że zastosowanie suplementacji kwasem szikimowym oraz fenyloalaniną spowodowało istotny spadek zawartości białka całkowitego. Strawność białka i skrobi oznaczono w oparciu o autorską metodykę bazującą na wynikach otrzymanych podczas trawienia *in vitro*, która po raz pierwszy została opisana w *Journal of the Science of Food and Agriculture* (**D2-17**). Strawność białka całkowitego uległa istotnemu obniżeniu tylko w kiełkach otrzymanych z nasion suplementowanych kwasem szikimowym oraz fenyloalaniną, przy czym wpływ elicytacji nie był widoczny. Wykazałem, że obniżenie strawności białka całkowitego spowodowane było zmniejszoną biodostępnością frakcji albumin i globulin, nie zaś wzrostem aktywności inhibitorów trypsyny i chymotrypsyny w analizowanych kiełkach. Istotny spadek zawartości skrobi całkowitej oznaczono w elicytowanych kiełkach otrzymanych z nasion wzbogaconych fenyloalaniną oraz kiełkach z hodowli suplementowanej tyrozyną. Kiełki te, podobnie jak elicytowane otrzymane z nasion niesuplementowanych, charakteryzowała wysoka zawartość skrobi odpornej, która powodowała obniżenie strawności skrobi.

W przypadku kiełków pszenicy (**O5**) elicytowanych ekstraktami kory wierzby i/lub drożdży wyraźne obniżenie poziomu białka całkowitego odnotowano w kiełkach 4-dniowych otrzymanych w 25°C. Strawność białka generalnie była wyższa w kiełkach 2-dniowych, dla których również nie zaobserwowano istotnego wpływu elicytacji. W przypadku kiełków 4-dniowych tylko dla kiełków otrzymanych w 20°C zaobserwowano obniżenie strawności białka – wynosiła ona około 65% w kiełkach kontrolnych oraz indukowanych mieszaniną elicytorów. Zasadniczo elicytacja nie spowodowała zmian zawartości skrobi całkowitej w otrzymanych kiełkach. Wyraźne różnice zaobserwowano natomiast podczas analizy biodostępności skrobi, której strawność była zwykle odwrotnie proporcjonalna do zawartości skrobi odpornej. Było to szczególnie widoczne w przypadku 4-dniowych kiełków otrzymanych w temperaturze 25°C elicytowanych ekstraktem drożdży oraz mieszaniną elicytorów.

Omówione prace jednoznacznie wskazują, że zmiany ilościowo-jakościowe składu substancji bioaktywnych w otrzymanych kiełkach modyfikują zazwyczaj zawartość i strawność składników odżywczych. W oparciu o uzyskane wyniki możliwe jest projektowanie żywności funkcjonalnej pochodzenia roślinnego posiadającej określone cechy, która może być przeznaczona dla konkretnych grup konsumenckich (*personalized nutrition*).

Ad4. Modyfikacje procesu kiełkowania obejmujące wykorzystanie elicytacji i elicytacji wspomaganiej stanowią użyteczne narzędzie pozwalające na biofortyfikację kiełków. Pełna ocena efektywności i zasadności zastosowanej technologii wymaga rozszerzonej analizy dotyczącej wpływu zastosowanych czynników na przyrost biomasy i kondycję kiełków. Dodatkowo zasadna wydaje się także analiza wpływu zastosowanej technologii na aktywności wybranych enzymów, które mogą powodować zmiany jakości konsumpcyjnej otrzymanej żywności.

Z punktu widzenia produkcji kiełków ważnym aspektem prowadzenia procesu modyfikacji jest zastosowanie takich warunków, które nie wpływają negatywnie na ich wzrost i przyrost biomasy. W pracy **O1** jako wyznaczniki pomocne do określenia wpływu elicytacji nadtlakiem wodoru na wzrost i kondycję kiełków zostały wybrane przyrost biomasy i wielkość kiełków oraz poziom związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (indykator produktów utlenienia lipidów). Dodatkowo ocenę wzbogacono o analizę aktywności katalazy, enzymu będącego integralnym komponentem enzymatycznej obrony przeciwutleniającej. Spośród analizowanych sposobów elicytacji tylko zastosowanie 150 mM roztworu H_2O_2 hamowało przyrost biomasy. Było to szczególnie dobrze widoczne w przypadku kiełków 3-dniowych, dla których zaobserwowano również istotny wzrost poziomu związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym. Największy wzrost aktywności katalazy (około 1,7-krotny) oznaczono dla 4-dniowych kiełków poddanych ciągłej elicytacji 150 mM roztworem nadtlaku wodoru. W przypadku elicytacji promieniowaniem UV do oceny zasadności zastosowanych warunków wykorzystano podobne parametry (**O4**). Wykazano, że zarówno elicytacja jak i elicytacja wspomaganie nie wpływają negatywnie na wzrost kiełków soczewicy. W przypadku kiełków elicytowanych otrzymanych z nasion suplementowanych tyrozyną poziom stresu (oznaczony jako poziom związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym) był istotnie niższy od wyznaczonego dla kontroli. W odniesieniu do kontroli wzrost aktywności katalazy (o około 30%) oznaczono tylko w przypadku kiełków otrzymanych z nasion wzbogaconych fenyloalaniną oraz kiełków indukowanych promieniowaniem UV otrzymanych z nasion niesuplementowanych metabolitami szlaku fenylopropanoidowego. W pracy **O2** wykazano, że duże zagęszczenie hodowli podczas produkcji kiełków soczewicy powoduje istotne obniżenie przyrostu biomasy oraz zmniejszenie wielkości kiełków. W przypadku kiełków gryki (**O6**), jako marker stresu oksydacyjnego, obserwowanego po zastosowaniu elicytacji, wybrano wzajemny stosunek formy utlenionej i zredukowanej kwasu askorbinowego. Wykazano, że zastosowanie suplementacji prekursorami szlaku fenylopropanoidowego redukowało stres wywołany elicytacją – tylko w przypadku kiełków elicytowanych uzyskanych z niesuplementowanych nasion zaobserwowano istotny wzrost procentowej zawartości kwasu dehydroaskorbinowego. Zarówno poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym, jak i wzajemny stosunek formy utlenionej i zredukowanej kwasu askorbinowego dostarczają informacji o stresie oksydacyjnym, który w pewnym zakresie pozwala na osiągnięcie zamierzonych efektów (wzrost potencjału prozdrowotnego) zaś w nadmiarze może negatywnie wpływać na jakość kiełków.

W badaniach mechanizmów zmian zachodzących we frakcji polifenolowej kiełków otrzymanych w wyniku elicytacji i elicytacji wspomagananej ma znaczenie analiza aktywności wybranych enzymów biorących udział w syntezie polifenoli i ich metabolizmie. Na podstawie zmian aktywności amoniakolizazy fenyloalaninowej (PAL) i tyrozynowej (TAL) można wnioskować, czy zwiększona ilość polifenoli jest związana z ich syntezą *de novo*. Analiza wpływu stężenia elicytora, sposobu oraz czasu jego podania dokonana w pracy **O1** wykazała, że kluczową rolę w syntezie polifenoli w przypadku soczewicy odgrywa aktywność PAL. Aktywność tego enzymu była efektywnie zaindukowana poprzez ciągłą elicytację 150 mM roztworem H₂O₂ - w przypadku kiełków 3-dniowych zaobserwowano niemal jej dwukrotny wzrost. W pracy **O4** również wykazano, że poprzez zastosowanie promieniowania UV możliwe jest zaindukowanie syntezy polifenoli. W analizowanym materiale aktywności PAL i TAL były istotnie wyższe w porównaniu do kontroli. Z kolei w przypadku elicytowanych kiełków gryki (**O6**) wykazano, że aktywność PAL była istotnie wyższa w kiełkach otrzymanych z hodowli wzbogaconej kwasem szikimowym, zaś aktywność TAL została niemal 3-krotnie zaindukowana poprzez elicytację kiełków otrzymanych z nasion wzbogaconych aminokwasami aromatycznymi. Wysoka aktywność TAL została także oznaczona w kiełkach otrzymanych z nasion wzbogaconych tyroziną.

Indukcja mechanizmów obronnych rośliny obserwowana po zastosowaniu elicytacji często wiąże się ze zmianami aktywności oksydazy polifenolowej (PPO) i peroksydazy (POD) - dwóch enzymów, których podwyższona aktywność może wiązać się z obniżeniem poziomu polifenoli, a przez to z obniżeniem jakości prozdrowotnej oraz konsumenckiej (brązowienie enzymatyczne) otrzymanej żywności. Stąd też w wybranych pracach wchodzących w skład Osiągnięcia dokonano analizy wpływu zastosowanych modyfikacji otrzymywania kiełków na aktywność tych enzymów. W przypadku kiełków soczewicy indukowanych nadtlakiem wodoru (**O1**) podwyższone aktywności PPO i POD otrzymano w przypadku ciągłej elicytacji wyższym stężeniem induktora. Dodatkowo aktywność POD, niezależnie od czasu i sposobu elicytacji była wyższa w kiełkach 3- i 4-dniowych. Indukcja nasion soczewicy promieniowaniem UV nie wpłynęła na aktywność tych enzymów, co potwierdza zasadność zastosowanej metodyki (**O4**). W przypadku indukcji metabolizmu kiełków gryki (**O6**) ekstraktami otrzymanymi z kory wierzby wzrost aktywności PPO i POD otrzymano tylko w kiełkach z nasion wzbogaconych kwasem szikimowym.

W oparciu o wyniki wchodzących w skład Osiągnięcia można wskazać na kluczowe determinanty, które mogą być pomocne w ocenie skuteczności i zasadności biofortyfikacji opartej na indukcji naturalnych mechanizmów obronnych rośliny. Końcowy efekt biofortyfikacji określają dwa decydujące czynniki: wzrost potencjału prozdrowotnego kiełków wynikający ze zwiększonej biosyntezy przeciwutleniaczy. Niezwykle istotny aspekt stanowi także monitorowanie wzrostu oraz jakości kiełków. Zbyt wysoki poziom stresu hamuje wzrost kiełków i niekorzystnie wpływa na ich morfologię, co powoduje obniżenie wydajności produkcji i jakości konsumenckiej kiełków. W pracach wchodzących w skład Osiągnięcia do oceny efektywności i zasadności elicytacji

zapropnowałem szereg analiz, które w oparciu o zmiany wybranych czynników statusu antyoksydacyjnego roślin mogą dostarczać informacji koniecznych w projektowaniu procesu biofortyfikacji. Zmiany metaboliczne oraz poziom aktywności enzymatycznej ochrony przeciwutleniającej, wskazujące na status oksydoredukcyjny kielków, pozwalają na prawidłowy dobór warunków elicytacji. Dodatkowo, z uwagi na fakt, że prozdrowotny efekt w dużej mierze jest generowany poprzez związki polifenolowe, zwróciłem uwagę na aktywność enzymów, których działanie może istotnie modyfikować zawartość związków fenolowych. Wykonane analizy obejmują ocenę wpływu warunków otrzymywania kielków zarówno na aktywność enzymów biorących udział w ich syntezie jak też tych, dla których związki polifenolowe stanowią substraty.

4.3.4. Podsumowanie

Przedstawiony jako Osiągnięcie cykl prac stanowi kompilację zagadnień z zakresu biochemii i technologii żywności i żywienia. W układzie modelowym wielopoziomowo analizowano mechanizmy oraz efekty zmian indukowanych poprzez modyfikację warunków otrzymywania żywności skielkowanej. Uzyskane wyniki dostarczają wiedzy dotyczącej mechanizmów elicytacji i wynikających z nich zmian w obrębie metabolomu rośliny, które prowadzą do wzmocnienia pożądanych z punktu widzenia konsumenta właściwości prozdrowotnych. Dodatkowo opracowanie pogłębia istniejącą wiedzę na temat mechanizmów generowania prozdrowotnego efektu przez bioaktywne składniki pochodzenia roślinnego. Osiągnięcie dostarcza kompleksowej bazy wiedzy dotyczącej wykorzystania elicytacji oraz elicytacji wspomaganiej substratami biosyntezy polifenoli w celu zwiększania potencjału prozdrowotnego otrzymanego produktu.

Wykazano, że zmiana warunków kiełkowania dywersyfikuje skład oraz potencjał przeciwutleniający otrzymanych kielków. W każdym z opracowań wchodzących w skład Osiągnięcia wskazano warunki, które pozwalają na otrzymanie żywności o istotnie wyższym potencjale prozdrowotnym. Wykazano, że podczas badań dotyczących właściwości przeciwutleniających niezwykle istotny jest dobór odpowiedniego układu ekstrakcyjnego pozwalającego na efektywne izolowanie substancji bioaktywnych a przez to ocenę rzeczywistej (lub zbliżonej do niej) aktywności biologicznej. Wyniki potwierdzają także tezę, że charakterystyka produktów powinna być dokonywana w oparciu o szereg testów pomiarowych, które są w stanie zweryfikować aktywności różniące się mechanizmem działania. Generalnie kiełki otrzymane w wyniku zastosowanych modyfikacji charakteryzuje biodostępność składników aktywnych i odżywczych porównywalna lub wyższa od wyznaczonej dla kielków kontrolnych. Należy podkreślić, że obserwowane w niektórych przypadkach obniżenie biodostępności związków wykazujących aktywność przeciwutleniającą (w porównaniu z kiełkami uzyskanymi w warunkach kontrolnych) jest kompensowane poprzez ich zwiększoną zawartość i/lub aktywność.

Podsumowując, biofortyfikacja kiełków przeprowadzona poprzez zastosowanie elicytacji i elicytacji wspomaganą stanowi efektywne narzędzie pozwalające na modyfikację składu i potencjalnej bioaktywności otrzymanych produktów. Końcowy efekt jest wypadkową wielu czynników, wśród których kluczową rolę odgrywa zawartość przeciwutleniaczy niskocząsteczkowych, których aktywność jest determinowana ich biodostępnością. Dodatkowo, przy projektowaniu receptury otrzymywania tego typu żywności należy pamiętać o potencjalnym niekorzystnym wpływie reakcji obronnych indukowanych działaniem elicytorów, które mogą hamować przyrost biomasy oraz akumulację i biodostępność substancji fizjologicznie czynnych.

Literatura

Allen, L., de Benoist, B., Dary, O., & Hurrell, R. (2006). Guidelines on food fortification with micronutrients. World Health Organization, Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1–341. doi:10.1242/jeb.02490

Baenas, N., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2014). Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(9), 13541–63.

Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485–1490.

Fletcher, R. J., Bell, I. P., & Lambert, J. P. (2004). Public health aspects of food fortification: a question of balance. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(4), 605–614.

Gawlik-Dziki, U., Jeżyna, M., Świeca, M., Dziki, D., Baraniak, B., Czyż, J. (2012). Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on in vitro anticancer activity of broccoli sprouts. *Food Research International*, 49(1), 469–476.

Marton, M., Mandoki, Z., Csapo-Kiss, Z., & Csapo, J. (2010). The role of sprouts in human nutrition . A review. *Alimentaria, Hungarian University of Transylvania*, 3, 81–117.

Matkowski, A. (2008). Plant in vitro culture for the production of antioxidants — A review. *Biotechnology Advances*, 26(6), 548–560.

Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M., & Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115(3), 994–998.

Radman, R., Saez, T., Bucke, C., & Keshavarz, T. (2003). Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 37(1), 91.

Ramos, B., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., Teixeira, P., & Silva, C. L. M. (2013). Fresh fruits and vegetables—An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 1–15.

Rychlik, J., Olejnik, A., Olkiewicz, M., Kowalska, K., Juzwa, W., Myszka, K., Grajek, W. (2015). Antioxidant capacity of broccoli sprouts subjected to gastrointestinal digestion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(9), 1892–1902.

Shetty, K. (2004). Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: A review. *Process Biochemistry*, 39(7), 789–803.

Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—a review. *Appetite*, 51(3), 456–67.

Świeca, M., & Baraniak, B. (2014). Influence of elicitation with H₂O₂ on phenolics content, antioxidant potential and nutritional quality of *Lens culinaris* sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(February), 489–96. doi:10.1002/jsfa.6274

Świeca, M., Baraniak, B., & Gawlik-Dziki, U. (2013). In vitro digestibility and starch content, predicted glycemic index and potential in vitro antidiabetic effect of lentil sprouts obtained by different germination techniques. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1414–20.

Świeca, M., & Gawlik-Dziki, U. (2015). Effects of sprouting and postharvest storage under cool temperature conditions on starch content and antioxidant capacity of green pea, lentil and young mung bean sprouts. *Food Chemistry*, 185, 99–105.

Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sierra, I., Blazquez, I., Lambein, F., & Kuo, Y. H. (2002). New functional legume foods by germination: Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *European Food Research and Technology*, 215(6), 472–477.

Wang, S., Melnyk, J. P., Tsao, R., & Marcone, M. F. (2011). How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International*, 44(1), 14–22.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)

Bezpośrednio po podjęciu pracy w Katedrze Biochemii i Chemii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, jako członek zespołu badawczego prof. dr hab. Barbary Baraniak (późniejszej promotor dysertacji doktorskiej), uczestniczyłem w badaniach dotyczących proteomu roślin strączkowych (**D1-1; D1-4; D1-7**).

W badaniach podjęto próbę optymalizacji warunków hydrolizy białek z czterech gatunków roślin strączkowych. Na podstawie wartości stopnia hydrolizy wyznaczono optymalny stosunek enzymu do substratu (E/S) w mieszaninie reakcyjnej oraz czas hydrolizy. Podatność białek na działanie enzymów była warunkowana gatunkiem rośliny i rodzajem użytego enzymu, tylko w przypadku bromelainy i proteazy bakteryjnej widoczny był wpływ stosunku E/S i czasu hydrolizy. Białka mąk z nasion wszystkich badanych gatunków roślin najintensywniej ulegały hydrolizie pod wpływem pepsyny i trypsyny (**D1-1**). W dalszych etapach badań przeprowadzono także optymalizację warunków limitowanej hydrolizy białek grochu, soczewicy oraz wyki z użyciem proteaz serynowych i cysteinowych w celu uzyskania hydrolizatów białkowych o pożądanym stopniu hydrolizy (**D1-4**). W cytowanej pracy analizowano również wpływ warunków hydrolizy na zmiany profilu lipidowego otrzymanych hydrolizatów – stwierdzono, że hydroliza istotnie obniża zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych. Podjęto również próbę implementacji techniki IMAC w celu rozdzielenia poszczególnych frakcji peptydowych. Ocenie poddano także możliwość zastosowania flokulantów Magnafloc LT-22 i Magnafloc LT-25 w procesie izolowania i i frakcjonowania białek soczewicy (**D1-7**). W oparciu o analizy spektrofotometryczne oraz techniki elektroforetyczne wykazano, że kluczową rolę odgrywa stężenie flokulantów oraz pH w jakim są ekstrahowane białka. Wykazano, że zastosowanie flokulantów pozwala na otrzymanie wysokoskoncentrowanych izolatów białkowych. Tematykę tą podjąłem również w późniejszym okresie mojej pracy naukowej, co zaowocowało opracowaniem dotyczącym otrzymywania frakcji peptydowych z nasion fasoli adzuki oraz charakterystyki ich potencjalnej bioaktywności (**D2-6**). Hydroliza poszczególnych frakcji białkowych została przeprowadzona w warunkach symulujących ludzki przewód pokarmowy, ocenie w warunkach *in vitro* został poddany potencjał przeciwutleniający oraz hipotensyjny. Wykazano, że peptydy otrzymane z frakcji prolamin charakteryzowała najwyższa aktywność inhibitorowa w stosunku do

enzymu konwertującego angiotensynę ($IC_{50} = 0.17$ mg/ml), natomiast frakcje globulin i glutein były źródłem peptydów zdolnych do chelatowania jonów żelaza i miedzi.

Równoległe podjąłem nową tematykę badawczą związaną z charakterystyką związków fenolowych występujących w żywności pochodzenia roślinnego. W latach 2007-2008 brałem udział w analizie ziół przyprawowych, które jako dodatek funkcjonalny istotnie modyfikują właściwości organoleptyczne oraz jakość odżywczą i prozdrowotną żywności (**D1-2; D1-3; D1-5**). W pracy **D1-3** porównano potencjał antyoksydacyjny ekstraktów z czarnego pieprzu, kopru, pietruszki i czarnuszki. Wykazano, że najwyższym potencjałem redukcyjnym oraz działaniem ochronnym w stosunku do lipidów charakteryzowały się ekstrakty z kopru. Najwyższą zdolność do chelatowania jonów metali przejściowych oznaczono dla ekstraktów z czarnego pieprzu, zaś ekstrakt z natki pietruszki efektywnie neutralizował wolne rodniki DPPH. Z uwagi na fakt, że wśród analizowanych ziół koper posiadał wysoki potencjał przeciwutleniający dokonano oceny wpływu obróbki termicznej na jego aktywność (**D1-5**). Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno mrożenie jak i suszenie nie wpływa istotnie na zawartość związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą kopru, która była porównywalna do oznaczonej dla kopru świeżego. Wykazano także, że w przypadku kopru najwyższą wydajność ekstrakcji związków polifenolowych uzyskano przy zastosowaniu 50% wodnego roztworu acetonu.

W kolejnej pracy analizowano wpływ układów ekstrakcyjnych na wydajność ekstrakcji polifenoli i zmiany bioaktywności ekstraktów ziół (**D1-2**). W porównaniu do ekstrakcji metanolowej, zmiana odczynu środowiska na analogiczne do panujących w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego znacząco zwiększyły wydajność ekstrakcji związków fenolowych z rozmarynu (*Rosemarinus officinalis*), tymianku (*Thymus vulgaris*) i majeranku (*Origanum marjorana*). Najwyższą zdolnością do neutralizowania wolnych rodników DPPH charakteryzował się ekstrakt z rozmarynu (91,97%). Aktywność prób z tymianku i majeranku była znacznie niższa (odpowiednio 32,55 i 24%).

We wspomnianym okresie wraz ze współpracownikami podjąłem się charakterystyki biochemicznej oksydazy polifenolowej (PPO) z sałaty - enzymu, który istotnie wpływa na jakość pozbiorną tego warzywa (**D1-6**). Badana PPO wykazywała najwyższe powinowactwo w stosunku do 4-metylokatecholu ($K_m = 1.00 \pm 0.09$ mM and $V_{max} = 5405 \pm 3$ U/ml min⁻¹). Optymalne pH dla jej działania było determinowane rodzajem użytego substratu i wynosiło odpowiednio 5.5 i 6.8 dla katecholu i 4-metylokatecholu. Najefektywniejszymi inhibitorami PPO był kwas *p*-hydroksybenzoesowy oraz zredukowany glutation. Wyznaczono także masę molekularną enzymu – 60 kDa.

W latach 2009-2011 w ramach współpracy z Katedrą Roślin Przemysłowych i Leczniczych UP oceniałem aktywność biologiczną ekstraktów z roślin zielarskich. Efektem tej współpracy był cykl publikacji dotyczących aktywności antyoksydacyjnej nasion, koszyczków kwiatowych i ziela *Arnica montana* L. i *Arnica chamissonis* var. *Foliosa* Less. (**D1-8; D1-9; D1-10**). Ziele, kłącza oraz

koszyczki kwiatowe arniki były bogate w związki fenolowe (flawonoidy i fenolokwasy). Jak wykazano, wysoka zdolność do neutralizowania wolnych rodników w przypadku tego materiału uzależniona była od zastosowanej metody ekstrakcji, gatunku i organu rośliny (D1-9). Dodatkowo analizowano nasiona arniki, które zazwyczaj są pomijane jako materiał zielarski (D1-8). W obydwu gatunkach dominującymi związkami fenolowymi były kwas chlorogenowy i kawowy oraz kwercetyna i kemferol. Wolne rodniki (DPPH, ABTS, rodnik ponadtlenkowy) były najwydajniej neutralizowane przez ekstrakty otrzymane z nasion *A. chamissonis*. Ilość oznaczonych polifenoli we wszystkich badanych próbach jak również wykazana przez nie wysoka aktywność przeciwrodnikowa oraz zdolność do ochrony lipidów przed peroksydacją uzależnione były od metody ekstrakcji - badane nalewki były bardziej efektywne niż napary. Z uwagi na fakt, że arnika jest stosowana w leczeniu stanów zapalnych, określono również wpływ nalewek otrzymanych z tego zioła na aktywność lipooksygenazy i oksydazy ksantynowej (D1-10). Wykazano, że nalewki z różnych części *A. montana* i *A. chamissonis* działają jako efektywne inhibitory aktywności badanych enzymów, która jest indukowana podczas stanów zapalnych. W oparciu o cykl w/w prac dotyczących potencjalnej bioaktywności składników dwóch gatunków arniki można wnioskować, że *Arnica chamissonis* może stanowić wartościową alternatywę dla chronionej i trudnej w uprawie *A. montana*.

Analiza ilościowo-jakościowa przeciwutleniaczy polifenolowych ziół oraz produktów roślinnych o niskim potencjale odżywczym oraz ich właściwości przeciwutleniające znajdują się w kręgu moich zainteresowań do dziś. Badania z tego zakresu obejmują analizę liści komosy ryżowej (wyniki opublikowano w *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* (D2-1) oraz *Food and Chemical Toxicology*; IF 2,61 (D2-7)), chmielu (wyniki opublikowano w *Journal of the Institute of Brewing*; IF 0,837 (D2-8)), zielonej kawy (wyniki opublikowano w *LWT - Food Science and Technology*; IF 2,895 (D2-24)) oraz bazylii (wyniki opublikowano w *Saudi Journal of Biological Sciences*; IF 1,257 (D2-25)).

W przytoczonych opracowaniach wykazano, że liście komosy ryżowej są źródłem potencjalnie biodostępnych i bioprzyswajalnych związków fenolowych (fenolokwasów w tym kwasu ferulowego, synapinowego, galusowego oraz flawonoidów: kemferolu, izoramntyny, rutyny), które działają jako kompetycyjne inhibitory oksydazy ksantynowej. Wykazano również, że etanolowe ekstrakty z liści komosy efektywnie hamują proliferację komórek raka prostaty, ich zdolność do migracji oraz komunikację na poziomie komórkowym w oparciu o złącza szczelinowe. Badane ekstrakty, zarówno te uzyskane przy zastosowaniu etanolu jak i otrzymane po trawieniu *in vitro*, posiadały wysoką zdolność do hamowania aktywności lipooksygenazy skorelowaną z wysokim potencjałem przeciwrodnikowym i redukcyjnym oraz zdolnością do chelatowania jonów metali przejściowych (D2-1; D2-7). Badania te zostały wykonane w ramach projektu badawczego „Ocena aktywności biologicznej i biodostępności *in vitro* naturalnych dodatków i wzbogaconego nimi chleba pszennego” (nr NN 312 233738), którym byłem głównym wykonawcą.

W kolejnych badaniach dokonałem oceny efektywności powszechnie stosowanych układów ekstrakcyjnych w procesie izolowania frakcji polifenolowej. Ocenie został poddany także potencjał przeciwutleniający uzyskanych ekstraktów. Wykazano, że w przypadku chmielu zastosowanie 50% metanolu lub etanolu pozwala, w porównaniu z ekstrakcją w układzie wodnym, na uzyskanie preparatów o istotnie wyższej zawartości polifenoli oraz istotnie wyższym potencjale antyutleniającym (zdolność do neutralizowania kationorodnika ABTS i chelatowania jonów żelaza oraz siła redukcji) (**D2-8**). Analogiczne badania ekstrakcji związków polifenolowych ze świeżych, mrożonych oraz suszonych liści bazylii wykazały, że najlepsze wyniki uzyskano stosując wielostopniowe izolowanie z użyciem zakwaszonych roztworów acetonu (**D2-25**).

W ostatnich latach zielona kawa i preparaty ją zawierające cieszą się dużą popularnością jako dodatki funkcjonalne do środków spożywczych. W Katedrze w ramach projektu badawczego (nr 2013/09/B/NZ9/01801) „Interakcje i biodostępność kwasu chlorogenowego i ferulowego jako kluczowe czynniki warunkujące aktywność biologiczną wybranych surowców roślinnych” analizie poddano kawy pozyskane z Etiopii, Kenii, Brazylii oraz Kolumbii, które w ramach współpracy pozyskano z przedsiębiorstwa Cofeina Romuald Zalewski sp. Jawna. Określono, że dominującym kwasem chlorogenowym w ziarnach zielonej kawy jest kwas 5-kawoilochinowy, którego poziom był uzależniony od pochodzenia kawy. Zawartość kofeiny nie różniła się istotnie i wynosiła od 4.36 mg/gdw do 4.99 mg/gdw. Zmielone kawy charakteryzował wysoki potencjał przeciwutleniający, który utrzymywał się także po procesie symulowanego trawienia *in vitro*. W świetle tych wyników zmieloną zieloną kawę zastosowano jako dodatek funkcjonalny (do 5%) w produkcji pieczywa. Otrzymane pieczywo posiadało istotnie zwiększony potencjał przeciwutleniający, przy czym należy podkreślić, że dodatek zielonej kawy do 3% był akceptowalny w ocenie organoleptycznej (**D2-24**). Tematyka prozdrowotnego działania zielonej kawy była kontynuowana w badaniach zdolności do inhibitowania aktywności lipooksygenazy (LOX) przez ekstrakty otrzymane z zielonych kaw (**D2-13**). Zaobserwowano, iż ekstrakty buforowe analizowanych kaw wykazują duży potencjał hamujący w stosunku do LOX (EC50 od 2.75 do 2.94 mg DW/mL). Analizując mechanizm działania inhibitorów LOX wykazano, że są one kompetycyjnymi inhibitorami aktywności tego enzymu. Pomimo faktu, że ekstrakty kawy otrzymane w wyniku symulowanego procesu trawienia nie zawierały więcej związków fenolowych ogółem charakteryzował je istotnie większy potencjał przeciwrodnikowy oraz redukcyjny. Należy natomiast podkreślić, że związki zdolne do hamowania peroksydacji lipidów były wysoce bioprzyswajalne. Podsumowując, zielona kawa jest doskonałym źródłem przeciwutleniaczy wykazujących zróżnicowany mechanizm działania, które w badaniach *in vitro* charakteryzuje wysoka biodostępność i bioprzyswajalność.

W ramach współpracy z Katedrą Ekologii Rolniczej UP w Lublinie brałem udział w badaniach dotyczących oceny jakości odżywczej i nutraceutycznej pszenicy oraz składu chemicznego nasion lnu, których wyniki zostały opublikowane w *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (IF 2,906)(**D2-2**), *Cereal Chemistry* (IF 1,231)(**D2-14**), *Journal of the Science of Food Agriculture* (IF 1,714)(**D2-26**)

oraz Journal of Elementology (IF 0,69)(D2-37). W pracy D2-2 wykazano, że analizowane odmiany pszenicy orkiszowej istotnie różni zawartość zarówno wolnych jak i związanych kwasów fenolowych. Wykazano również, że pomimo niższej zawartości frakcja wolnych kwasów fenolowych posiada znacznie wyższy potencjał przeciwutleniający. Spośród analizowanych odmian najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym charakteryzowały się ziarna odmiany Ceralio, zaś najniższym odmiany Schwabenkorn. W dalszej części badań podjęto ocenę wybranych parametrów technologicznych oraz wartości odżywczej (D2-14). Ziarna wszystkich odmian charakteryzowały się podobną twardością oraz relatywnie niską energią niezbędną do przemiału. Najwyższą zawartość białka oznaczono w ziarniakach odmiany Spelt I.N.Z. oraz Schwabenkorn (15.5%). Zawartość skrobi była podobna dla wszystkich analizowanych odmian, przy czym istotne różnice stwierdzono w zawartości skrobi opornej oraz strawności skrobi. W kolejnej pracy dokonano oceny zastosowania nawożenia opartego o odpady z biogazowni oraz pokopalniane (D2-26). Wykazano, że w porównaniu do konwencjonalnej uprawy możliwe jest zwiększenie plonowania, przy czym otrzymane ziarniaki charakteryzuje wysoka jakość. Modyfikacje uprawy zróżnicowały ilość skrobi, natomiast zastosowanie odpadów z biogazowni pozwoliło na istotne zwiększenie zawartości białka, w tym glutenu. Dodatkowo w nasionach tych uzyskano istotny wzrost potencjału redukcyjnego oraz przeciwrodnikowego. W pracy D2-37 dokonano oceny wpływu wybranych zabiegów agrotechnicznych na skład nasion lnu, ze szczególnym uwzględnieniem zmian w obrębie frakcji makro- i mikroelementów.

W ten kierunek wpisują się także badania zrealizowane we współpracy z Państwową Wyższą Szkołą Zawodową w Chełmie oraz Katedrą Eksploatacji Maszyn i Zarządzania UP w Lublinie dotyczące wpływu wybranych stymulatorów na plonowanie oraz wartość odżywczą i prozdrowotną dwóch odmian fasoli (D2-27). W uprawie fasoli zastosowano preparat Nano-Gro, zawierający oligosacharydy oraz mikroelementy, co pozwoliło na istotne zwiększenie plonowania. Dodatkowo wszystkie badane metody aplikacji biostymulatora spowodowały istotne zwiększenie zawartości polifenoli oraz potencjału redukcyjnego – najlepsze wyniki uzyskano poprzez dwukrotne spryskanie siewek roztworami induktora (wzrost o około 10% w odniesieniu do kontroli). Średni wzrost potencjału przeciwutleniającego (niezależnie od sposobu aplikacji biostymulatora) wynosił około 6%.

W czasie swojej pracy naukowej szczególną uwagę poświęciłem charakterystyce żywności niskoprzetworzonej, głównie kielkom roślinnym, które stanowią środki spożywcze o wysokiej jakości odżywczej i prozdrowotnej. Badania z tego zakresu zaowocowały publikacją szeregu prac zarówno przed jak i po ukończeniu dysertacji doktorskiej, które dotyczyły wpływu kiełkowania na zmiany potencjału przeciwutleniającego kielków, w tym wpływu na aktywność wybranych enzymów prooksydacyjnych oraz wybranych markerów stanu zapalnego (D1-11; D2-3; D2-4; D2-5; D2-15).

W pracy opublikowanej w Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska UMCS dokonano oceny kielków soczewicy, rzodkiewki, rzeżuchy oraz lucerny (D1-11). Wykazano, że wśród analizowanych kielków te otrzymane z soczewicy były najlepszym źródłem potencjalnie

biodostępnych związków fenolowych. Biodostępność związków o potencjale przeciwrodnikowym wynosiła od 56% dla rzodkiewki do 74% w przypadku kiełków lucerny. Najlepszym źródłem potencjalnie biodostępnych związków o potencjale redukcyjnym były kiełki rzeżuchy i rzodkiewki.

Badania opublikowane w cyklu trzech prac (**D1-12; D2-3; D2-4**), dotyczące potencjalnej biodostępności i bioprzyswajalności związków bioaktywnych z kiełków brokułu, zostały wykonane w ramach projektu badawczego „Ocena aktywności biologicznej i biodostępności *in vitro* naturalnych dodatków i wzbogaconego nimi chleba pszennego”, w którym byłem głównym wykonawcą. Wykazano, że potencjalnie bioprzyswajalna frakcja kiełków brokułu jest bogatym źródłem polifenoli i wykazuje szerokie spektrum aktywności przeciwutleniających (właściwości prewencyjne w stosunku do lipidów, zdolność do hamowania aktywności lipooksygenazy oraz aktywacji katalazy) (**D2-4**). Tematyka ta została poszerzona w opracowaniu opublikowanym w Food Research International, gdzie jednoznacznie wykazano, że w kreowaniu potencjału nutraceutycznego kiełków brokułu istotną rolę prócz sulforafanów odgrywiają polifenole. Wskazano także, iż chemoprewencyjne działanie kiełków brokułu w stosunku do dwóch linii nowotworowych raka prostaty (AT-2 oraz MAT-LyLu) jest wypadkową aktywności wieloskładnikowej mieszaniny substancji biologicznie czynnych, a nie jak wskazywano do tej pory bioaktywności pojedynczych związków. Podkreślona została kluczowa rola przeciwutleniaczy jako substancji modulujących aktywność wybranych enzymów pro- i antyoksydacyjnych biorących udział we wzroście komórek nowotworowych, ich inwazyjności oraz komunikacji na poziomie komórkowym (**D2-3**). W pracach **D1-12** oraz **D2-9** podjęto próbę zwiększania zawartości związków biologicznie aktywnych w kiełkach brokułu poprzez dywersyfikację warunków kiełkowania polegającą na indukcji metabolizmu wzrastających roślin przy użyciu wodnych ekstraktów drożdży oraz wierzby. Elicytacja istotnie zmodyfikowała zawartość flawonoidów oraz związków fenolowych ogółem. Wzrost ilości polifenoli związany był ze zwiększeniem zawartości (+)-katechiny, kwasu *p*-kumarowego oraz kwercetyny i kempferolu. Najlepsze rezultaty stwierdzono po zastosowaniu jednokrotnej aplikacji elicytora. Indukcyjny wpływ elicytacji w przypadku kiełków brokułu został określony w oparciu o zmiany zdolności do modyfikowania aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, lipooksygenazy i oksydazy ksantynowej oraz zdolności do neutralizowania rodników hydroksylowych oraz kationorodnika ABTS.

Dalsze wyniki dotyczące biofortyfikacji żywności niskoprzetworzonej poprzez modyfikację warunków jej otrzymywania zostały przedstawione w 5 pracach opublikowanych w *Scientia Horticulturae* (IF 1,396), *Food Chemistry* (IF 3,391), *Journal of the Science of Food and Agriculture* (IF 1,714), *International Journal of Food Science and Technology* (IF 1,384) oraz *Journal of Elementology* (IF 0,69). Intensyfikacja biosyntezy przeciwutleniaczy niskocząsteczkowych w kiełkach soczewicy (**D2-5**), bazylii (**D2-28**) oraz sałacie masłowej (**D2-29; D2-15**) została osiągnięta odpowiednio poprzez dywersyfikację warunków oświetlenia oraz zastosowanie hormonów roślinnych i ekstraktów drożdżowych. Wykazano, że poziom polifenoli jest istotnie determinowany przez obecność światła w czasie wzrostu kiełków. W odniesieniu do innych warunków uprawy,

zastosowanie ciągłego oświetlenia istotnie zwiększyło zawartość kwasów fenolowych w kiełkach 3- i 4-dniowych, co przełożyło się również na zwiększenie potencjału przeciwutleniającego. W dwóch z przytoczonych prac siewki sałaty masłowej (**D2-15**) oraz bazylii (**D2-28**) elicytowano poprzez ich spryskanie roztworami kwasu jasmonowego, arachidonowego oraz abscysynowego/ β -aminomasłowego. W przypadku sałaty wykazano, że zastosowana modyfikacja uprawy oprócz polifenoli efektywnie zwiększyła ilość karotenoidów, chlorofili oraz witaminy C. Najwyższy wzrost potencjału antyoksydacyjnego zaobserwowano po użyciu 0,1 mM roztworów kwasu jasmonowego i abscysynowego. Wszystkie z zastosowanych elicytorów zaindukowały biosyntezę polifenoli w liściach bazylii, co spowodowało istotne zwiększenie potencjału przeciwutleniającego i przeciwzapalnego (zdolność do inhibicji aktywności lipooksygenazy i cyklooksygenazy). W ostatnim z opracowań (**D2-29**) wykazano, że ekstrakt drożdżowy efektywnie indukuje syntezę polifenoli (w szczególności kwasu chikorowego), ale nie wpływa na zawartość witaminy C, flawonoidów oraz karotenoidów. Nadprodukcję związków o aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej najefektywniej indukowano poprzez dwukrotną i jednokrotną elicytację odpowiednio 1% i 0,1% wodnym naparem drożdży.

Analizowano także wpływ jonów magnezu i wapnia na mobilizację białek podczas kiełkowania, co pozwoliło na wyznaczenie warunków istotnie zwiększających poziom wolnych aminokwasów, a tym samym biodostępność białka (**D2-16**). Badania te potwierdziły uzyskane wcześniej wyniki, wskazujące, że potencjał nutraceutyczny żywności jest determinowany raczej poprzez mieszanie związków biologicznie aktywnych (ich wzajemne interakcje) niż przez jeden z jej składników. W tematykę tę wpisują się także badania opublikowane w pracy **D2-30**, które dotyczą zmian wartości odżywczej i prozdrowotnej kiełków wybranych roślin strączkowych w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych. Wykazano, że proces przechowywania istotnie modyfikuje skład oraz biodostępność frakcji węglowodanowej oraz polifenolowej kiełków. Jako przykład można podać zmiany właściwości redukcyjnych potencjalnie biodostępnej frakcji kiełków grochu, które po 7-dniowym przechowywaniu 3- 4- i 5-dniowych kiełków wzrosły odpowiednio o 40%, 31% i 23%. Przechowywanie istotnie zwiększyło także biodostępność skrobi, co przełożyło się na zwiększenie wartości przewidywanego indeksu glikemicznego.

Tematyka dotycząca zastosowania modyfikacji (elicytacja przy zastosowaniu stresów abiotycznych i biotycznych) procesu otrzymywania kiełków soczewicy o określonej charakterystyce była tematem mojej dysertacji doktorskiej wykonanej pod opieką naukową prof. dr hab. Barbary Baraniak. Obrona pracy odbyła się w roku 2012 na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Wyniki badań zawarte w dysertacji zostały umieszczone w pracach naukowo-badawczych opublikowanych w *Food Chemistry* (IF 3.259)(**D2-10**), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (IF 2.912)(**D2-17**) oraz *Journal of the Science of Food and Agriculture* (IF 1.714) (**D2-18**). W powyższych opracowaniach wykazano, że potencjał przeciwutleniający oraz odżywczy mąk otrzymanych w wyniku suszenia konwekcyjnego kiełków

soczewicy jest determinowany zarówno czasem kiełkowania jak i sposobem ich uprawy. Zastosowanie czynników modyfikujących potencjał osmotyczny (roztwory mannitolu i chlorku sodu) pozwoliło na istotne zwiększenie zawartości skrobi odpornej, co jednak nie przełożyło się na obniżenie wartości przewidywanego indeksu glikemicznego. Wykazano także, że kluczową rolę w determinowaniu strawności skrobi, do wyznaczenie której po raz pierwszy zastosowano metodę obejmującą trawienie w warunkach *in vitro*, odgrywały inhibitory α -amylazy (**D2-10**). W pracach **D2-17** oraz **D2-18** wykazano, że wartość prozdrowotną i odżywczą mąk otrzymanych z kiełków soczewicy można modyfikować poprzez zastosowanie w ich hodowli bezpośredniego stresu oksydacyjnego oraz niskiej lub wysokiej temperatury. Potencjał antyoksydacyjny analizowanych mąk, oznaczony w oparciu o cztery metody różniące się mechanizmem działania, został w przypadku kiełków 6-dniowych zwiększony 4,4- oraz 3,1-krotnie poprzez zastosowanie 200 mM nadtlenu wodoru i inkubacji w 40°C. Co istotne, zastosowane modyfikacje procesu kiełkowania nie wpłynęły negatywnie na strawność białka i skrobi. W pracy **D2-17** opisano i dokonano walidacji autorskiej metody opartej na technice HPLC dedykowanej do ilościowo – jakościowej analizy polifenoli w roślinach strączkowych. Wyniki stanowiące kontynuację badań zawartych w dysertacji, dotyczące mąk otrzymanych z 8-dniowych kiełków soczewicy zostały przedstawione w opracowaniu opublikowanym Saudi Journal of Biological Sciences (IF 1.257)(**D2-19**). Podobnie jak w przypadku mąk otrzymanych z kiełków z wcześniejszych dni hodowli wykazano, że poprzez modyfikacje procesu kiełkowania możliwe jest otrzymanie mąk o zwiększonej zawartości skrobi odpornej oraz obniżonej strawności skrobi. Najwyższą zawartością związków polifenolowych oznaczono w próbach otrzymanych

w hodowlach modyfikowanych przy użyciu 600 mM mannitolu oraz 300 mM NaCl – odpowiednio 6.52 mg/g i 6.56 mg/g mąki. Najwyższy wzrost zdolności ochronnych w stosunku do lipidów określono dla mąk otrzymanych z kiełków indukowanych nadtlaniem wodoru oraz mannitolem. Badania te skupiały się na analizie wybranych efektów takich jak: zmiany składu frakcji polifenolowej, potencjału przeciwutleniającego oraz odżywczego. Należy podkreślić, że w opracowaniach tych nie dokonano optymalizacji warunków indukcji (stężenie i czas podania elicytora) jak też nie analizowano mechanizmów nabywania określonych cech. Otrzymane w dysertacji wyniki ukierunkowały moje zainteresowania na prowadzenie dalszych badań w celu określenia kluczowych determinantów procesu biofortyfikacji i zostały przedstawione w Osiągnięciu, będącym podstawą do ubiegania się

o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Równocześnie z badaniami dotyczącymi żywności skiełkowanej w ramach współpracy z dr Dariuszem Kowalczykiem zajmowałem się zagadnieniami związanymi z aplikacją powłok i filmów jadalnych w technologii żywności. Wyniki badań zostały przedstawione w publikacji naukowej (**D2-20**) oraz monografii tematycznej obejmującej porównanie zdolności emulgujących preparatów lecytyn sojowych i rzepakowych różniących się zawartością fosfolipidów (**D2-31**).

Pierwsze z przytaczanych opracowań dotyczyło oceny możliwości zastosowania glicerolu i sorbitolu jako plastyfikatorów w produkcji filmów wykonanych z dodatkiem białek grochu (**D2-20**). W pracy wykazano, że wybrane parametry charakteryzujące otrzymane filmy były determinowane zarówno poprzez rodzaj i stężenie plastyfikatora oraz pH i temperaturę roztworu filmotwórczego.

Jednocześnie z prowadzeniem badań związanych z dysertacją w latach 2010-2013 brałem udział jako główny wykonawca w realizacji projektu badawczego (nr NN 312 233738) „Ocena aktywności biologicznej i biodostępności *in vitro* naturalnych dodatków i wzbogaconego nimi chleba pszennego”. Rezultaty projektu realizowanego pod kierownictwem dr hab. Urszuli Gawlik-Dziki zostały opracowane w cyklu publikacji naukowych, których jestem współautorem. Projekt obejmował ocenę wybranych surowców (**D1-12; D2-1; D2-7; D2-4; D2-3; D2-32**), które są zasobne w substancje biologicznie aktywne oraz ocenę możliwości ich zastosowania jako suplementów w produkcji pieczywa wzbogaconego (**D2-32; D2-11; D2-21; D2-12; D2-22; D2-33**). W badaniach szczególny nacisk został położony na potencjalną biodostępność i bioprzyswajalność polifenoli i składników odżywczych oraz czynniki, które mogą wpływać na wartość tych dwóch parametrów określających efektywność fortyfikacji. W ramach tego projektu dokonano oceny przydatności kiełków brokułu, liści komosy ryżowej oraz suchej łuski cebuli. Wykazano, że wszystkie te surowce zawierały duże ilości potencjalnie biodostępnych i bioprzyswajalnych związków o wielokierunkowej aktywności biologicznej, w tym przeciwutleniającej, przeciwzapalnej oraz antynowotworowej. Sucha łuska cebuli, będąc produktem odpadowym okazała się jednocześnie doskonałym dodatkiem funkcjonalnym (**D2-32; D2-11**). Wykazano, że dodatek suchej łuski cebuli do 3% był akceptowalny w ocenie organoleptycznej oraz istotnie zwiększył potencjał przeciwutleniający wzbogaconych chlebów, a w szczególności potencjał redukcyjny oraz zdolność do ochrony lipidów przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Potencjalnie biodostępna frakcja analizowanych chlebów wykazywała zdolność do modyfikacji aktywności wybranych enzymów pro- i antyoksydacyjnych oraz hamowała proliferację i komunikację komórek lini raka żołądka. Pomimo istotnego ulepszenia potencjału nutraceutycznego suplementacja istotnie obniżyła strawność białka (**D2-12**). W oparciu o wyniki doświadczalne i przewidywane zawartości polifenoli (flawonoidów) oraz techniki chromatograficzne i elektroforetyczne wykazano obecność niestrawnych kompleksów białkowo – flawonoidowych (masa molekularna około 25 kDa i 14.5 kDa), które modyfikują potencjalną aktywność oraz strawność białka chlebów. Kiełki brokułu charakteryzuje wysoki potencjał prozdrowotny (**D1-12; D2-3; D2-4**), dlatego mąka z nich uzyskana została wykorzystana do wzbogacenia pieczywa (**D2-21**). Co istotne, wykazano, że w przypadku chlebów wzbogaconych, których otrzymywanie wymaga obróbki termicznej to związki polifenolowe (a nie sulforafany) są w głównej mierze odpowiedzialne za kreowanie potencjału nutraceutycznego mąki kiełków brokułu. Wykazano także, że frakcja biodostępna i bioprzyswajalna analizowanych wzbogaconych produktów wykazywała aktywność w stężeniach, które nie odbiegały od obserwowanych *in vivo* po spożyciu żywności bogatej w polifenole. Wykazano także, że suplementacja tym dodatkiem ma jednak ograniczenia – polifenole

obniżają bowiem strawność składników odżywczych. Dodatkowo, w ocenie organoleptycznej wskazano na możliwość dodatku tylko do 2% mąki z kielków (czynnikiem limitującym jest charakterystyczny zapach związków siarkowych). Ostatnim z dodatków funkcjonalnych analizowanych w projekcie były liście komosy ryżowej (**D2-33; D2-22**). W pierwszym z opracowań model oparty na suplementowanych chlebach wykorzystano do opracowania procedury pozwalającej na ocenę efektywności fortyfikacji. Model ten wskazuje na zasadność wyboru produktów będących nośnikami substancji bioaktywnych oraz wskazuje na użyteczność analiz biodostępności i bioprzyswajalności do oceny efektywności fortyfikacji. Reasumując, dodatek zmielonych liści komosy ryżowej poprzez zwiększenie zawartości polifenoli spowodował wzrost potencjału prozdrowotnego produktów funkcjonalnych. Praca **D2-22** została przedstawiona i omówiona w sekcji News amerykańskiego portalu Bakery and Snack „Quinoa leaf bread: Antioxidant activity lower than expected”. Podobnie jak w przypadku chlebów wzbogaconych w mąki otrzymane z suchej łuski cebuli i kielków brokułu także w tym przypadku wskazano na obecność kompleksów powstałych w wyniku interakcji białkowo-fenolowych, które istotnie obniżają zarówno strawność składników odżywczych jak też bioaktywność produktów (**D2-22**).

Tematyka fortyfikacji pieczywa w dodatki funkcjonalne zasobne w związki polifenolowe została podsumowana w opracowaniu przeglądowym wydanym w Trends in Food Science and Technology (IF 4,651), którego jestem współautorem. W oparciu o najnowsze dane literaturowe wskazano na celowość prowadzenia procesu, omówiono powszechnie używane dodatki funkcjonalne oraz czynniki decydujące o efektywności fortyfikacji – biodostępność, bioprzyswajalność, interakcje związków fenolowych z matrycą (**D2-23**).

Nośnikiem substancji biologicznie aktywnych powinny być produkty dostępne, stosowane w żywieniu i powszechnie akceptowane przez konsumenta. Podjęto więc badania nad wykorzystaniem w tym celu makaronów i pasty fasolowej. Wyniki dotyczące dodatku liści pietruszki opublikowano w dwóch pracach, które zawierają wyniki efektywności fortyfikacji w aspekcie potencjalnej biodostępności i bioprzyswajalności (**D2-38; D2-34**). W porównaniu do makaronu kontrolnego 4% dodatek suszonych liści pietruszki spowodował wzrost zawartości polifenoli, potencjału redukcyjnego i przeciwrodnikowego potencjalnie biodostępnej frakcji o odpowiednio 67%, 220% i 146%. Wykazano, że wypadkowa aktywność produktów determinowana jest przez wiele czynników (ilość dodatku, biodostępność składników aktywnych) i zależy od procesu technologicznego (obróbka termiczna). Podobnie jak w przypadku wzbogaconych chlebów potwierdzono interakcje polifenoli z matrycą żywności, które powodują obniżenie strawności białek oraz maskują aktywność przeciwutleniającą polifenoli. Makaron pszenny został wykorzystany również jako nośnik związków bioaktywnych pochodzących z mąki chleba świętojańskiego (**D2-39**). Wzbogacenie w karob (5% dodatek) spowodowało 2-, 18- i 3-krotny wzrost odpowiednio zawartości polifenoli, potencjału antyrodnikowego i redukującego. Dodatek mąki funkcjonalnej spowodował

również wzrost wartości przewidywanego indeksu glikemicznego. Wraz ze wzrostem ilości dodatku zaobserwowano w porównaniu do kontroli nieznaczny spadek strawności białka.

Potwierdzona we wcześniejszych badaniach wysoka bioaktywność frakcji polifenolowej łuski cebuli predysponuje ten surowiec do wzbogacania żywności (D2-32; D2-11). Przeprowadzono badania nad jej wykorzystaniem do wzbogacenia produktu wysokobiałkowego jaki stanowi pasta fasolowa (D2-35). Pastę fasolową wzbogacano ekstraktem wodnym otrzymanym z łuski cebuli, co pozwoliło na istotne zwiększenie zawartości polifenoli oraz aktywności antyoksydacyjnej otrzymanego produktu. Przeprowadzono analizę wpływu interakcji flawonoidów z białkami matrycy na strawność poszczególnych frakcji białkowych.

Tematykę dotyczącą fortyfikacji kontynuuję także w ramach współpracy z Katedrą Higieny Żywnienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Dotychczas drukiem ukazało się opracowanie dotyczące oceny w warunkach *in vivo* efektywności i bezpieczeństwa fortyfikacji ryżowych chlebów bezglutenowych (D2-36). W 14 dniowym doświadczeniu wykazano, że fortyfikacja ryżowych chlebów bezglutenowych dodatkami bogatymi w substancje bioaktywne powoduje zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego osocza zwierząt laboratoryjnych. Zastosowane diety pozwoliły także na redukcję poziomu triglicerydów.

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

- badanie proteomu nasion roślin strączkowych oraz zbóż,
- charakterystyka związków fenolowych jako fizjologicznie czynnych składników ziół i przypraw,
- modyfikacja potencjału nutraceutycznego żywności poprzez fortyfikację składnikami bioaktywnymi,
- badanie biodostępności i bioprzyswajalności aktywnych składników żywności,
- modyfikowanie składu i aktywności żywności niskoprzetworzonej pochodzenia roślinnego.

Otrzymane wyniki pogłębiły już istniejącą oraz dostarczyły nowej wiedzy z zakresu bioaktywności żywności niskoprzetworzonej i fortyfikowanej ze szczególnym uwzględnieniem potencjalnej biodostępności i bioprzyswajalności. Mój dorobek naukowy, łącznie z pracami uwzględnionymi w cyklu publikacji powiązanych tematycznie stanowiących Osiągnięcie naukowe, obejmuje autorstwo lub współautorstwo 57 oryginalnych prac oraz 47 komunikatów naukowych. Wszystkie szczegółowe informacje dotyczące wykazu opublikowanych prac naukowych przedstawiłem w załączniku nr 5.

6. Zestawienie dorobku

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

Lp	Rodzaj publikacji	Liczba publikacji			IF a	Punkty MNiSW b	
		Przed doktoratem	Po doktoracie	Ogółem			
1	Oryginalne prace twórcze	Prace indeksowane w bazie JCR	4	40	44	97,49	1413
		Prace opublikowane w czasopiśmie nieindeksowanych w bazie JCR	9	4	13	-	89
2	Rozdziały w monografiach	0	1	1	-	4	
3	Rozdziały w podręcznikach	1	0	1	-	-	
4	Komunikaty naukowe	Konferencje zagraniczne i międzynarodowe	2	18	20	-	-
		Konferencje krajowe	9	16	25	-	-
5	Dorobek publikacyjny ogółem	27	73	104	97,49	1502	
W tym oryginalne prace twórcze wchodzące w skład Osiągnięcia							
6			7		13,463	205	

a- obowiązujące w roku opublikowania

b- zgodnie z listą czasopism punktowanych z roku opublikowania

Liczba cytowań publikacji według bazy:

-Web of Science (WoS): 349

-Scopus: 409

Indeks Hirscha według bazy:

- Web of Science: 13

-Scopus: 13

Lp.	Nazwa czasopisma	L-ba publikacji	IF	Pkt. MNiSW
1	Acta Scientiarum Polonorum s. Biotechnologia	1	0	2
2	Acta Scientiarum Polonorum s. Hortorum Cultus	4	2,128	80
3	Acta Scientiarum Polonorum s. Technologia Alimentaria	4	0	38
4	Annales UMCS s. DDD	1	0	9
5	BioMed Research International	1	1,579	30
6	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna	2	0	8
7	Cereal Chemistry	1	1,231	25
8	Food Chemistry	14	46,251	544
9	Food and Chemical Toxicology	1	2,610	35
10	Food and Function	1	2,791	30
11	Food Research International	3	8,641	120
12	Fresenius Environmental Bulletin	1	0,378	15
13	Herba Polonica	4	0	26
14	International Journal of Food Science and Technology	3	4,152	75
15	Journal of Food Processing and Preservation	1	1,159	15
16	Journal of Agricultural and Food Chemistry	2	5,818	90
17	Journal of Elementology	2	1.380	30
18	Journal of the Institute of Brewing	1	0,837	25
19	Journal of the Science of Food and Agriculture	3	5,142	105
20	LWT – Food Science and Technology	2	4,832	70
21	Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences	1	0	6
22	Saudi Journal of Biological Sciences	2	2,514	40
23	Scientia Horticulturae	1	1,396	30
24	Trends in Food Science and Technology	1	4,651	50
25	Rozdziały w monografiach	1	0	4
SUMA:			97,49	1502

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

Pkt. MNiSW - punkty zgodnie z rokiem publikacji

Michał Świeca