

Załącznik 2

Autoreferat

dr inż. Piotr Gulewicz

1. Imię i nazwisko: Piotr Gulewicz**2. Wykształcenie**

2011 - Podyplomowe Studium Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności – Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

2003 - **stopień doktora** - Stacjonarne Studium Doktoranckie przy Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu, rozprawa doktorska pt. „Izolacja, charakterystyka i aktywność biologiczna alfa-galaktozydów z nasion roślin strączkowych” wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. K. Trojanowskiej w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu

1998 – **stopień magistra inżyniera** - Wydział Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu, praca magisterska „Rozdział diwercyny w wodnych układach dwufazowych” wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. W. Grajka w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu

1993 – **matura**, IV Liceum Ogólnokształcące im. Komisji Edukacji Narodowej w Poznaniu

3. Zatrudnienie w jednostkach naukowych

Od 10.2013 - Specjalista do spraw biotechnologii - Poznański Park Naukowo-Technologiczny Fundacji Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

02.2008 – 09.2013 - Adiunkt - Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

02.2007 – 07.2007 - Starszy Specjalista – Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

06.2005– 12.2006 - Stypendium Ministerstwa Edukacji i Nauki - Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC) w Madrycie.

4. Osiągnięcie naukowe

Osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art.16 ust. 2 ustawy dnia 14 marca 2003r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki

(Dz.U.nr.65, poz. 595 ze zm.):

Monotematyczny cykl pięciu publikacji pod wspólnym tytułem: „**Ocena wartości żywieniowej nasion łubinu i grochu poddanych procesowi kiełkowania w oparciu o analizę białka, jego składu frakcyjnego i aminokwasowego, wybranych metabolitów wtórnych oraz flory bakteryjnej**”.

Dane parametryczne publikacji wchodzących w skład cyklu monotematycznego:

- **łączny IF** (Impact Factor) zgodny z rokiem opublikowania wynosi - **9.365**,
- **h-index** – 4 (stan na dzień 21.11.2014),
- **liczba cytowań** **36** (stan na dzień 21.11.2014 wg Web of Science),
- **suma punktów** wg. polskiej oceny czasopism **MNiSzW** (na podstawie komunikatów Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach zgodnie z rokiem opublikowania)
- **109**

a. Monotematyczny cykl publikacji składa się z następujących pozycji:

- I. Martínez-Villaluenga C., **Gulewicz P.**, Pérez A., Frías J., Vidal-Valverde C.; “Influence of lupin (*L. luteus* L. cv. 4492 and *L. angustifolius* L. cv. *Zapaton*) and fenugreek (*T. foenum-graecum* L.) germination on microbial population and biogenic amines”; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 20(54); 7391-7398; 2006.
(IF=2.322, MNiSW=24, liczba cytowań wg. Web of Science=3)
- II. **Gulewicz P.**, Martínez-Villaluenga C., Frias J., Ciesiołka D., Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; “Effect of germination on the protein fraction composition of different lupin seeds”; *Food Chemistry*; 107; 830-844; 2008.
(IF=2.696, MNiSW=24, liczba cytowań wg. Web of Science=13)
- III. Martínez-Villaluenga C., **Gulewicz P.**, Frias J., Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; “Assessment of protein fractions of three cultivars of *Pisum sativum* L.: Effect of germination”; *European Food Research and Technology*; 226; 1465-1478; 2008.
(IF=1.622, MNiSW=24, liczba cytowań wg. Web of Science=10)
- IV. Frias J., **Gulewicz P.**, Martinez-Villaluenga C., Pilarski R., Blazquez E., Jiménez B.,

Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; "Influence of Germination with Different Selenium Solutions on Nutritional Value and Cytotoxicity of Lupin Seeds"; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 57; 1319-1325; 2009.

(IF=2.469, MNiSW=24, liczba cytowań wg. Web of Science=5)

- V. Chilomer K., Zaleska K., Gulewicz P., Ciesiołka D., Frankiewicz A., Gulewicz K.; "Changes in Alkaloid, Alpha-galactoside and Protein Fractions Content During Germination of Different Lupin Species"; *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*; 79(1), 11-20, 2010.

(IF=0.256, MNiSW=13, liczba cytowań wg. Web of Science=5)

b. Osiągnięcie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Rośliny rodziny *Fabaceae* stanowią od stuleci ważny składnik diety człowieka i pasz zwierząt jako bogate źródło składników odżywczych: białka, tłuszczu, sacharydów, witamin, makro- i mikroelementów. Niestety, udział roślin strączkowych w strukturze zasiewów w Polsce jest bardzo niski i wynosi ok. 1%, a 80 % zapotrzebowania mieszalni pasz na składniki białkowe pokrywa głównie importowana, modyfikowana genetycznie soja. W programie Ministerstwa Rolnictwa przyjętym przez Radę Ministrów pt. "Ulepszanie krajowych źródeł białka roślinnego, ich produkcji, systemu obrotu i wykorzystania w paszach", zakłada się pozyskanie do roku 2015 650 tys. ton krajowego białka paszowego, co pozwoli na zmniejszenie importu soi o połowę. Cel ten zamierza się osiągnąć poprzez zwiększenie powierzchni upraw, do około 500 tys. ha, różnych gatunków roślin strączkowych takich jak: łubin, groch, bobik, wyka, z których uzyska się 300 tys. ton białka; o 200 tys. ton ma wzrosnąć produkcja białka rzepakowego i 150 tys. ton białka z suszonych wywarów. Warto podkreślić, że realizacja w/w programu ma istotne znaczenie w kontekście wejścia w życie planowanego zakazu wprowadzania do obrotu na terytorium Polski pasz zawierających GMO, a także zapewnienia bezpieczeństwa białkowego państwa w przypadku wystąpienia kryzysu światowego w tej dziedzinie.

Wydaje się, że niezależnie od zadań organizacyjnych, w realizacji tak ważnego dla kraju programu nie może zabraknąć badań naukowych. Rośliny strączkowe zawierają metabolity wtórne ujemnie wpływające na wykorzystanie składników pokarmowych, co ma bezpośredni

wpływ na obniżenie wartości żywieniowej, a także stan zdrowotny ludzi i zwierząt.

Metabolity wtórne (MW) występujące w nasionach roślin strączkowych należą do związków pochodzenia białkowego: inhibitory proteaz oraz fitohemaglutyniny zwane również lektynami, jak i również pochodzenia niebiałkowego: kwas fitynowy, oligosacharydy rodziny rafinozy, taniny, alkaloidy chinolizydynowe, glikozydy pirymidynowe (wicyna i konwicyna) oraz saponiny.

Jak wykazały dotychczasowe badania niekorzystne działanie czynników antyżywnościowych na organizm jest bardzo zróżnicowane. I tak: przyjmowanie niezdenaturowanych inhibitorów proteaz prowadzi do hipertrofii trzustki, a w konsekwencji do osłabienia wzrostu. Fakt ten tłumaczy się wyeliminowaniem znacznej części aminokwasów siarkowych z normalnego ich wykorzystania w tkankach organizmu na rzecz wbudowywania ich w syntetyzowane wciąż przez trzustkę enzymy trawienne bogate w aminokwasy siarkowe.

Niezdenaturowane lektyny posiadają natomiast zdolność aglutynacji czerwonych ciałek krwi. Właściwość ta związana jest ze zdolnością wchodzenia w interakcje z sacharydami i glikoproteinami. Szkodliwe działanie lektyn na organizm tłumaczy się tworzeniem kompleksów z białkami ścian komórkowych kosmków jelitowych co uniemożliwia w konsekwencji wchłanianie składników pokarmowych. Nastęstwem wiązania lektyn z białkami ścian komórkowych jest osłabienie mechanizmu odpornościowego organizmu i wynikające z tego zakażenie drobnoustrojami poprzez układ krwionośny i limfatyczny.

Kwas fitynowy, który nie jest rozkładany w przewodzie pokarmowym zwierząt monogastrycznych wiąże kationy czyniąc je niedostępnymi dla organizmu. Prowadzi to w konsekwencji do zakłóceń procesów metabolicznych wymagających obecności określonych pierwiastków. Nastęstwem tego jest osłabienie wzrostu i zmiany krzywiczne.

Oligosacharydy rodziny rafinozy (ORR) nie są trawione w górnym odcinku przewodu pokarmowego zwierząt monogastrycznych. Po dostaniu się do jelita grubego są fermentowane przez mikroflorę jelitową z wydzieleniem znacznej ilości gazów głównie wodoru, dwutlenku węgla i metanu wywołując tzw. bębnicę. Z tego względu sacharydy te zalicza się do czynników uciążliwych, stwarzających dla organizmu duży dyskomfort i ograniczających stosowanie nasion roślin strączkowych w żywieniu.

Szkodliwość działania garbników, rozpuszczalnych w wodzie związków fenolowych, na organizm polega na inaktywacji enzymów trawiennych poprzez tworzenie z nimi trwałych kompleksów. Ogranicza to w znacznym stopniu zdolność trawienną organizmu i wykorzystanie składników zawartych w pokarmie.

Alkaloidy chinolizydynowe (QA) obecne w nasionach roślin należących do rodzaju *Lupinus* zaliczane są do związków toksycznych, chociaż toksyczność ich jest bardzo zróżnicowana. Są to związki fizjologicznie aktywne, a zatrucie nimi objawia się silnym pobudzeniem i drgawkami. Z uwagi na toksyczność, w wielu krajach ustalone zostały normy dopuszczalnej zawartości tych związków na poziomie 200 mg/kg.

Saponinom, czynnym glikozydom steroli lub trójterpenów, występującym w wielu gatunkach roślin, przypisuje się natomiast właściwości hemolityczne.

Chociaż, badania ostatnich lat dowodzą, że niektóre wymienione wyżej MW mogą mieć korzystne działanie na organizm, większość badaczy uważa je za składniki niepożądane i obniżające wartość żywieniową produktu roślinnego.

W świetle przytoczonych faktów, intensyfikacja badań naukowych nad minimalizacją udziału MW w produkcie roślinnym, a tym samym polepszeniem jego wartości żywieniowej nabiera szczególnego znaczenia. Chodzi tu nie tylko o wykorzystanie odpowiednich metod do ich eliminacji, ale również o ocenę biochemiczną produktu po takim zabiegu. Niestety, w literaturze naukowej nadal brakuje pełnych danych dotyczących tego zagadnienia.

Dotychczas opracowano szereg metod pozwalających na obniżenie zawartości MW w produktach spożywczych. Należą do nich: obłuskiwanie nasion, moczenie w wodzie, kiełkowanie, ekstrakcja różnymi ekstrahentami, gotowanie, ogrzewanie na sucho, ekstruzja, obróbka enzymatyczna. Inne metody eliminacji czynników antyżywniowych oparte są na hodowli, uprawie i inżynierii genetycznej. Nowym podejściem w eliminacji czynników antyżywniowych są metody biotechnologiczne. Wydaje się, że metody te mogą być w najbliższej przyszłości cennym narzędziem w dziedzinie rolnictwa, technologii żywności i żywienia umożliwiającym w pełni wykorzystać potencjał rodzimych roślin strączkowych.

Polepszanie wartości żywieniowej roślin to także wzbogacanie ich w składniki niezbędne w przemianach metabolicznych organizmu. Chodzi tu o fundamentalne dla zdrowia mikroelementy jak selen, magnez, cynk itp.

Wyniki badań przedstawione w niniejszym autoreferacie stanowią kompilację rezultatów pięciu oryginalnych prac doświadczalnych, poświęconych zmianom wartości żywieniowej nasion łubinu i grochu w trakcie procesu kiełkowania. Ocena wartości żywieniowej została dokonana na podstawie analizy białka, jego składu frakcyjnego i aminokwasowego, wybranych metabolitów wtórnych (bioaktywne aminy, sacharydy rodziny rafinozy, alkaloidy chinolizydynowe) jak i analizie flory bakteryjnej. Wykazano również, że proces kiełkowania może być dogodnym narzędziem wzbogacania materiału roślinnego w

ważne fizjologicznie mikroelementy jak selen. Kompleksowość tych badań stanowi istotny wkład w poznanie wpływu kiełkowania nasion łubinu i grochu na przemiany metaboliczne zachodzące podczas tego procesu, wynikiem czego jest wzrost wartości żywieniowej. Chociaż areal zasiewu, zarówno łubinu jak i grochu w Polsce, w ostatnim okresie uległ znacznemu ograniczeniu, obie te wysokobiałkowe rośliny mają długą historię uprawy i stanowią potencjalne źródło białka krajowego i substytut importowanej soi.

Kiełkowanie nasion - wpływ na skład frakcyjny białka i poziom metabolitów wtórnych

Proces kiełkowania nasion jest od stuleci podstawą kulinarną w krajach Dalekiego Wschodu. Ta praktyka w ostatnich kilku dekadach znalazła również uznanie w krajach Zachodnich, ponieważ konsumenci domagali się niskokalorycznej, zdrowej i bezpiecznej żywności. Kiełkowanie jest jedną z najbardziej efektywnych metod stosowanych dla polepszenia wartości pokarmowej roślin strączkowych i redukcji czynników antyżywnościowych. Procesowi temu towarzyszy wiele zmian strukturalnych i przemian metabolicznych określanych jako aktywacja zarodka.

Podstawowymi procesami warunkującymi prawidłowy przebieg kiełkowania są przemiany prowadzące do tworzenia substratów dla syntez składników komórki rosnącej siewki. W trakcie kiełkowania następuje mobilizacja substancji zapasowych (wysokocząsteczkowych białek, lipidów i sacharydów) i ich rozkład hydrolityczny do związków niskocząsteczkowych. Dotychczasowe badania wykazały, że proces kiełkowania prowadzi do rozkładu białek zapasowych nasion, polepszenia strawności białek, a także do wzrostu zawartości niektórych aminokwasów egzogennych. Wpływa więc na wzbogacenie wartości żywieniowej nasion. Stosunkowo mało informacji można było znaleźć w literaturze na temat wpływu kiełkowania nasion roślin należących do rodziny *Fabaceae* na skład frakcyjny białek, skład aminokwasowy, a także poziom MW. Wyniki badań opublikowane w pracach (II, III, V) dotyczą właśnie tych zagadnień:

- II. **Gulewicz P.**, Martínez-Villaluenga C., Frias J., Ciesiołka D., Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; "Effect of germination on the protein fraction composition of different lupin seeds"; *Food Chemistry*; 107; 830-844; 2008.
- III. Martínez-Villaluenga C., **Gulewicz P.**, Frias J., Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; "Assessment of Protein Fractions of Three Cultivars of *Pisum sativum* L.: Effect of Germination"; *European Food Research and Technology*; 226; 1465-1478; 2008.

- V. Chilomer K., Zaleska K., **Gulewicz P.**, Ciesiołka D., Frankiewicz A., Gulewicz K.; "Changes in Alkaloid, Alpha-galactoside and Protein Fractions Content During Germination of Different Lupin Species"; *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*; 79(1); 11-20; 2010.

Przedmiotem badań były nasiona dwóch gatunków łubinu *Lupinus luteus* odm. Lord (polska), 4486, 4492 (hiszpańskie) i *Lupinus angustifolius* odm.: Graf (polska), Troll, Zapaton (hiszpańskie), oraz trzy hiszpańskie odmiany grochu *Pisum sativum* odm.: Ucerro, Ramrod, Agra. Kiełkowanie prowadzono w różnych warunkach (temperatura, czas). W produkcie po kiełkowaniu oznaczano: białko ogólne, skład frakcyjny białka wg. Osborna, skład aminokwasowy frakcji azotu niebiałkowego (II,III,V), zawartość QA i ORR (V). Wyniki badań porównywano z materiałem wyjściowym (nasiona surowe).

Wykazano, że kiełkowanie hiszpańskich odmian łubinów: *L. luteus* i *L. angustifolius* prowadzi do głębokich zmian ilościowych i jakościowych frakcji białkowych. Zmiany te charakteryzowały się zmniejszeniem zawartości frakcji globulin (G) i frakcji azotu nierozpuszczalnego (N_{nr}) oraz zwiększeniem zawartości frakcji azotu niebiałkowego (N_{nb}). Obniżenie poziomu frakcji N_{nr} dowodzi, że w wyniku procesu kiełkowania dochodzi do degradacji białek ścian komórkowych, a powstałe w wyniku tego peptydy i aminokwasy wzbogacają frakcję azotu niebiałkowego.

Stwierdzono również, że w wyniku kiełkowania następuje wzrost zawartości białka w porównaniu z nasionami surowymi. Wzrost zawartości białka w kiełkach tłumaczy się włączeniem azotanów i azotynów obecnych w nasionach (50-240mg/kg) w biosyntezę nowych białek, peptydów i aminokwasów. Oczywiście, jest to bardzo korzystne dla wartości żywieniowej. Na podstawie analizy składu aminokwasowego frakcji białkowych kiełków wykazano, że glutamina, glicyna, arginina, alanina (NEAA - aminokwasy endogenne) i lizyna (EAA - aminokwasy egzogenne) były dominującymi aminokwasami frakcji albumin (A), natomiast glutamina i arginina (NEAA) oraz leucyna i treonina (EAA) dominowały w frakcji G. Głównymi aminokwasami frakcji glutelin i prolamin (Gt+P) były aspargina, glutamina, arginina (NEAA) oraz leucyna i lizyna (EAA) (II).

Podobne wyniki uzyskano dla polskich odmian łubinu tych samych gatunków. Zmiany składu frakcyjnego zależały od warunków kiełkowania, a także od gatunku łubinu. Stwierdzono również, że proces kiełkowania wpływał na zmniejszenie całkowitej zawartości NEAA i zwiększenie całkowitej zawartości EAA frakcji N_{nb} w porównaniu z frakcją N_{nb} nasion

surowych. Przeprowadzone badania wykazały również, że kiełkowanie prowadziło do istotnego obniżenia zawartości QA i ORR w nasionach łubinu, a efekt ten był zależny od gatunku łubinu i warunków kiełkowania (V).

Stwierdzono, że w procesie kiełkowania nasion łubinu zachodzą następujące zmiany: wzrost zawartości białka, obniżenie zawartości frakcji G i N_{nr} przy jednoczesnym wzroście frakcji N_{nb} oraz obniżeniu poziomu MW. Zmiany te są bardzo korzystne dla wartości żywieniowej.

Istotne zmiany w składzie frakcyjnym białek obserwowano również w trakcie kiełkowania trzech odmian grochu *Pisum sativum* (III).

W przeciwieństwie jednak do łubinu, procesowi temu towarzyszyło istotne obniżenie poziomu A - frakcji białka dominującej w nasionach, a także istotne zmiany w składzie jakościowym i ilościowym białek tworzących tą frakcję.

Frakcja G okazała się natomiast bardziej stabilna i pozostawała w kiełkach na poziomie kontroli. Warto zaznaczyć, że frakcję A roślin motylkowatych tworzą między innymi takie białka, jak: lipooksygenaza, inhibitory tripsyny, lektyny, związki antygenowe i alergiczne, które wpływają niekorzystnie na jakość oraz bezpieczeństwo żywności i pasz. Degradacja tych białek zachodząca w trakcie kiełkowania wpływa korzystnie na wartość żywieniową grochu.

Na podstawie przeprowadzonej analizy składu aminokwasowego frakcji białkowych kiełków grochu stwierdzono również, że są one bogatsze w EAA w porównaniu z nasionami surowymi. Podobnie jak w przypadku łubinu, kiełkowanie nasion grochu wpływało na wzrost zawartości białka w końcowym produkcie (III).

Ocena bezpieczeństwa chemicznego i mikrobiologicznego kiełków

Nasiona stosowane do kiełkowania zanieczyszczone są z reguły mikroorganizmami, dla których warunki kiełkowania, wilgotność i temperatura, stanowią doskonałe środowisko do szybkiego namnażania.

W trakcie kiełkowania uruchamiany jest szereg procesów biochemicznych w nasionach. Do procesów tych należą między innymi reakcje dekarboksylacji aminokwasów bądź aminacji i transaminacji aldehydów i ketonów. Z dotychczasowych badań wiadomo, że niektóre aminy pełnią ważną fizjologiczną i metaboliczną funkcję w żywych organizmach, stąd ich obecność w produktach żywnościowych i materiałach paszowych. Niezależnie od istotnych funkcji, które pełnią aminy ich wysoka zawartość może powodować farmakologiczne i toksyczne efekty, które objawiają się podrażnieniem skóry, bólami i zawrotami głowy, wymiotami oraz biegunką.

Dotychczas brak było informacji na temat wpływu licznych czynników jak: gatunek rośliny, odmiana, kiełkowanie, warunki wzrostu, stadium rozwoju, obróbka technologiczna, warunki przechowywania na poziom amin w produktach pochodzenia roślinnego.

W badaniach, których wyniki zaprezentowano w pracy (I) określono wpływ procesu kiełkowania na populację bakterii, poziom poliamin oraz cytotoksyczność różnych produktów.

- I. Martínez-Villaluenga C., Gulewicz P., Pérez A., Frías J., Vidal-Valverde C.; "Influence of lupin (*L. luteus* L. cv. 4492 and *L. angustifolius* L. cv. Zapaton) and fenugreek (*T. foenum-graecum* L.) germination on microbial population and biogenic amines"; Journal of Agricultural and Food Chemistry; 20(54); 7391-7398; 2006.

Oceny wpływu procesu kiełkowania na populację mikroorganizmów oraz poziom amin biogennych przeprowadzono na dwóch gatunkach łąbinu, *Lupinus luteus* i *Lupinus angustifolius* oraz kozieradki *Trigonella foenum-graecum*. Określano obecność następujących mikroorganizmów: bakterii mezofilnych, bakterii psychrotroficznych, bakterii typu fekalnego (z rodziny *Enterobacteriaceae*) oraz paciorkowców fekalnych - bakterii *Streptococcus*.

Badania te wykazały, że zarówno w przypadku łąbinu jak i kozieradki, populacja mikroorganizmów zwiększała się znacznie w ciągu pierwszego etapu kiełkowania, natomiast w późniejszym zmiany te nie były tak widoczne. Dominującymi mikroorganizmami były bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae*. Stwierdzono również, że całkowita zawartość amin biogennych w nasionach badanych łąbinów: putrescyny, kadaweryny, histaminy, tyraminy, spermidyny i sperminy była kilkakrotnie niższa niż w nasionach kozieradki. W trakcie kiełkowania poziom większości poliamin stopniowo wzrastał osiągając poziom średnio trzykrotnie większy w porównaniu z nasionami surowymi.

Wykazano, że pomimo wzrostu chorobotwórczej mikroflory i zawartości amin biogennych ich poziom nie stanowi zagrożenia dla organizmu i jednostek z ograniczoną aktywnością enzymów detoksykacyjnych.

Możliwość wzbogacania kiełków w substancje biologicznie czynne w procesie kiełkowania

Selen zaliczany jest do pierwiastków, którego właściwości wykazują wybitne działanie prozdrowotne. W śladowych dawkach jest niezbędny do prawidłowego wzrostu, zdrowia i rozrodu. Wyniki ostatnich badań wskazują, że selen wykazuje właściwości przeciwdziałające

różnym typom nowotworów, infekcjom wirusowym oraz patogenezie chorób sercowych. Wykazuje również właściwości wspierające układ odpornościowy oraz płodności. Ilość selenu w organizmie zależy głównie od jego zawartości w pokarmie. Niestety, w niemal wszystkich krajach europejskich ilość selenu zawarta w diecie odbiega od normy rekomendowanej przez WHO. Powodem tego stanu jest niedobór i niska dostępność tego pierwiastka w glebie. Z tego też względu, zwiększenie zawartości selenu w produktach spożywczych stało się priorytetem badań wielu placówek naukowych na całym świecie. Badania przedstawione w pracy IV poświęcone były wzbogacaniu w selen nasion łubinu *Lupinus angustifolius* na drodze kiełkowania.

- IV. Frias J., **Gulewicz P.**, Martinez-Villaluenga C., Pilarski R., Blazquez E., Jiménez B., Gulewicz K., Vidal-Valverde C.; “Influence of Germination with Different Selenium Solutions on Nutritional Value and Cytotoxicity of Lupin Seeds”; *Journal of Agriculture and Food Chemistry*; 57; 1319-1325; 2009.

Kiełkowanie nasion łubinu prowadzono w obecności różnego stężenia nieorganicznych soli Na_2SeO_3 i Na_2SeO_4 w temperaturze 20 i 25°C. Po zakończeniu kiełkowania stwierdzano wzrost zawartości selenu w skiełkowanych nasionach. Wzrost ten zależny był od użytego stężenia i rodzaju soli. Stwierdzono, że najwyższą zawartość selenu mają kiełki uzyskane przy zastosowaniu soli Na_2SeO_4 w najwyższym stężeniu 8mg/dm³.

Stwierdzono również, że wzbogacone w selen kiełki miały większą aktywność antyoksydacyjną, zawartość EAA, a także nie wykazywały cytotoksyczności w stosunku do komórek ludzkiej białaczki HL60. Nasiona łubinu kiełkowane w obecności soli Na_2SeO_4 przy stężeniu 8mg/dm³ i w temperaturze 20°C wykazywały wyższe tempo kiełkowania i wyższą zawartość niektórych EAA w porównaniu z nasionami kiełkowanymi w obecności Na_2SeO_3 . Dlatego te warunki rekomenduje się do produkcji kiełków łubinu wzbogaconych w selen.

5. Podsumowanie:

Przedstawione powyżej rezultaty pięciu monotematycznych oryginalnych prac eksperymentalnych stanowią pierwsze tak kompleksowe podejście w badaniach nad polepszeniem wartości żywieniowej nasion łubinu i grochu na drodze kiełkowania oraz są istotnym wkładem w poznanie zmian składu biochemicznego towarzyszącemu temu procesowi. Chodzi tu nie tylko o korzystne przemiany zachodzące w składzie frakcyjnym białek, ale również redukcję poziomu MW, co jest bardzo istotne z punktu poprawy wartości

żywnościowej.

Wykazano również, że na drodze procesu kiełkowania można wzbogacać nasiona w selen pełniący ważną rolę w przemianach metabolicznych organizmu. Przeprowadzone badania pokazały również, że stosowane warunki kiełkowania (wilgotność, temperatura, czas) nie prowadziły do wzrostu stężenia amin biogennych oraz ilości szkodliwych bakterii *Enterobacteriaceae* do poziomu zagrażającego stosowaniu uzyskiwanego produktu. Otrzymane wyniki mają nie tylko charakter badań podstawowych, ale również użyteczny. Dotyczy to głównie wzbogacania nasion w ważne dla organizmu mikroelementy jak np. selen.

Najważniejsze wyniki:

1. Proces kiełkowania prowadzi do głębokich zmian składu frakcyjnego białka nasion łubinu i grochu. Zmiany te są zależne od gatunku rośliny, a także warunków kiełkowania – temperatury i czasu.
2. W przypadku nasion łubinu, kiełkowanie prowadzi do zmniejszenia zawartości frakcji globulin i frakcji azotu nierozpuszczalnego N_{nr} oraz wzrostu frakcji azotu niebiałkowego N_{nb} , którą tworzą głównie wolne aminokwasy i peptydy. Spadek zawartości frakcji N_{nr} tłumaczy się uwalnianiem i degradacją białek ścian komórkowych. Obserwowany proces jest bardzo korzystny dla wartości żywnościowej.
3. W odróżnieniu od łubinu, kiełkowanie nasion grochu prowadzi do obniżenia zawartości frakcji albumin, natomiast frakcja globulin jest bardziej stabilna. Z uwagi na białka tworzące frakcję albumin takie jak: lipooksygenaza, inhibitory tripsyny, lektyny, związki antygenowe i alergiczne obniżenie zawartości tej frakcji jest bardzo korzystne.
4. Wykazano, że kiełkowanie powoduje zmniejszenie całkowitej zawartości NEAA i zwiększenie całkowitej zawartości EAA frakcji N_{nb} , w porównaniu z frakcją N_{nb} nasion niekiełkowanych.
5. W wyniku kiełkowania nasion łubinu i grochu następuje również wzrost zawartości białka ogólnego w stosunku do materiału wyjściowego - nasion surowych. Jest to spowodowane obniżeniem zawartości ORR oraz włączeniem soli azotu III i azotu V w syntezę nowych białek.
6. Proces kiełkowania wpływa na obniżenie w produkcie końcowym zawartości czynników antyżywnościowych obecnych w nasionach: QA i ORR.
7. Nasiona łubinu, kiełkowane w obecności soli Na_2SeO_4 przy stężeniu 8 mg/dm^3 i w temperaturze 20°C wykazują wyższe tempo kiełkowania i wyższą koncentrację niektórych aminokwasów egzogennych w porównaniu z nasionami kiełkowanymi w obecności soli

Na_2SeO_3 . Te warunki rekomenduje się do produkcji kiełków łubinu wzbogaconych w selen.

8. W prowadzonych warunkach kiełkowania nie zachodzi niebezpieczeństwo przekroczenia poziomu szkodliwych dla organizmu bakterii i amin biogennych w produkcie końcowym.

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

6.1. Zestawienie dorobku naukowego

Zestawienie dorobku naukowego (z wyłączeniem pięciu prac wchodzących w skład monotematycznego cyklu publikacji) przedstawiono w tabelach 1, 2 i 3. W tabeli 4 przedstawiono zestawienie dodatkowych osiągnięć dydaktyczno-organizacyjnych.

Tabela 1. Zestawienie dorobku naukowego opublikowanego przed i po doktoracie

Wyszczególnienie	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Oryginalne prace twórcze w języku angielskim opublikowane w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	2	8 (5)*	10 (5)
Publikacje naukowe opublikowane w czasopismach międzynarodowych lub krajowych nie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	2	6	8
Komunikaty i doniesienia na konferencjach międzynarodowych zagranicznych	1	4	5
Komunikaty i doniesienia na konferencjach międzynarodowych w kraju	5	1	6
Komunikaty i doniesienia na konferencjach w kraju	4	3	7
Razem	14	22 (5)	36 (5)

*W nawiasach zawarto ilość publikacji będących częścią monotematycznego osiągnięcia naukowego

Liczba punktów wg polskiej oceny czasopism MNiSW (na podstawie komunikatów Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach dla lat opublikowania) za wszystkie opublikowane oryginalne prace twórcze wynosi 353, bez uwzględnienia pięciu prac wchodzących w skład monotematycznego cyklu wynosi 244, w tym 47,5 przed doktoratem i 196,5 po doktoracie. Łączny IF tych prac wynosi 13,707 w tym 10,232 po doktoracie. Według bazy Web of Science (dane z 21.11.2014) liczba cytowań wszystkich prac łącznie z pięcioma wchodzących w skład cyklu monotematycznego wynosi 162 (137 bez autocytowań), wskaźnik Hirscha – 7. Jestem również współtwórcą patentu nr 193183 „Sposób otrzymywania

oligosacharydów z nasion roślin motylkowych”.

Tabela 2. Czasopisma, w których opublikowano oryginalne prace twórcze.

Wyszczególnienie	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Acta Societatis Botanicorum Poloniae		1	1
Bulletin of Polish Academy of Science – Biological Sciences	1	1	2
Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy		1	1
Czech Journal of Animal Sciences		1	1
European Food Research and Technology		1	1
Folia biologica (Kraków)		1	1
Food and Chemical Technology		1	1
Food Chemistry		2	2
Fragmenta Agronomica		1	1
Journal of Agriculture and Food Chemistry	2	3	5
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition		1	1
Polish Journal of Food and Nutrition Sciences		1	1
Postępy Biologii Komórki	1		1
Turkish Veterinary and Animal Sciences		1	1
Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Biologia i Hodowla Zwierząt		1	1
Żywność, Nauka, Technologia, Jakość		1	1
Razem	4	18	22

Tabela 3. Wykaz opublikowanych prac naukowych z uwzględnieniem IF, punktów MNiSW dla roku publikowania i liczby cytowań.

Lp.	Publikacja naukowa	Punkty MNiSW	IF wg roku publikowania	Liczba cytowań ³
1 ¹	P. Gulewicz, D. Ciesiołka, J. Frias, C. Vidal-valverde, S. Frejnagel, K. Trojanowska, K. Gulewicz; „Simple method of isolation and purification of α -galactosides from legumes”; J. Agric. Food Chem. 48 (8), 3120 – 3123, 2000	21	1.56	45
2	W. Wysocki, P. Gulewicz, T. Aniszewski, D. Ciesiołka, K. Gulewicz; „Bioactive preparations from alkaloid-rich lupin. Relation between chemical composition	0.5		

	and biological activity”; Bull. Pol. Acad. Sci. Biol. Sci. Vol. 49, no. 2, 2001			
3	P. Gulewicz, S. Szymaniec, B. Bubak, J. Frias, C. Vidal-valverde, K. Trojanowska, K. Gulewicz; „Biological activity of a-galactosides preparations from lupinus angustifolius l. and pisum sativum l. seeds”; J. Agric. Food Chem. 50, 384-389, 2002	21	1.915	21
4	M. Lisowski, M. Lewandowska, M. Bednarczyk, P. Gulewicz and K. Gulewicz; „Prebiotic properties of pea a-galactoside preparation applied to chicken per os”; Bull. Pol. Acad. Sci. Biol. Sci. 51, no. 4, 2003	0.5		
5	Z. Tarasewicz, D. Szczerbińska, D. Majewska, A. Dańczak, P. Gulewicz; „Assessment of the influence of the oligosaccharides isolated from pea seeds on functional quality of quails”; Czech.J. Anim. Sci. 49, (6), 257-264, 2004	6	0.227	2
6²	C. Martínez-Villaluenga, P. Gulewicz, A. Pérez, J. Frias, C. Vidal-Valverde; „Influence of lupin (<i>L. luteus</i> L. cv. 4492 and <i>L. angustifolius</i> L. cv. <i>Zapaton</i>) and fenugreek (<i>T. foenum-graecum</i> L.) germination on microbial population and biogenic amines”; J. Agric. Food Chem. 20, 54, 7391-7398, 2006	24	2.322	3
7	J. Frias, C. Martínez-Villaluenga, P. Gulewicz, A. Pérez, R. Pilarski, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde; „Biogenic amines and hl-60 citotoxicity of alfalfa and fenugreek sprouts”; Food Chem. 105: 959-967, 2007	24	3.052	7
8	C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, P. Gulewicz, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde; “Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts”; Food Chem. Toxicol. 46, 1635-1644, 2008	24	2.321	28
9	P. Gulewicz, C. Martínez-Villaluenga, Frias J., D. Ciesiołka, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde, “Effect of germination on the protein fraction composition of different lupin seeds”; Food Chem. 107, 830-844, 2008	24	2.696	13
10	C. Martínez-Villaluenga, P.Gulewicz, J. Frias, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde; “Assessment of protein fractions of three cultivars of <i>Pisum sativum</i> L.: Effect of germination”; Eur. Food Res. Technol. 226, 1465-1478, 2008	24	1.622	10
11	J. Frias, P. Gulewicz, C. Martinez-Villaluenga, R. Pilarski, E. Blazquez, B.	24	2.469	5

	Jiménez, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde; "Influence of germination with different selenium solutions on nutritional value and cytotoxicity of lupin seeds"; J. Agric. Food Chem. 57, 1319-1325, 2009			
12	K. Chilomer, K. Zaleska, P. Gulewicz, D. Ciesiołka, A. Frankiewicz, K. Gulewicz; „Changes in alkaloid, alpha-galactoside and protein fractions content during germination of different lupin species”; Acta Societatis Botanicorum Poloniae, vol. 79, no 1, 2010	13	0.256	5
13	J. Frias, P. Gulewicz, C. Martinez-Villaluenga, E. Penas, M. Piskula, H. Kozłowska, E. Ciska, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde; “Changes in nutritional value and cytotoxicity of garden cress germinated with different selenium solutions”; J. Agric. Food Chem. 58, 2331-2336, 2010	32	2.816	10
14	P. Gulewicz, J. Mikołajczak, K. Gulewicz; „Parametry mikrobiologiczne i chemiczne kiszonki z lucerny z dodatkiem ekstraktu łubinowego, lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt. Nowe możliwości zastosowania ekstraktu z liści lucerny. monografie pod red. E. Greli. Wydawnictwo Stowarzyszenia Rozwoju Regionalnego i Lokalnego „Progress”, tom IV, 87-93, Sandomierz 2010	3		
15	P. Gulewicz, J. Mikołajczak, A. Górską, P. Nyske, K. Gulewicz; „Ocena składu chemicznego kiszonek z ziemniaków parowanych z dodatkiem całych i rozdrobnionych nasion łubinu gorzkiego”; Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Biologia I Hodowla Zwierząt LXII, NR 580, 2011, 177-188	6		
16	M. Bednarczyk, M. Urbanowski, P. Gulewicz, K. Kasperczyk, G. Maiorano, T. Szwaczkowski; “Field and <i>in vitro</i> study on prebiotic effect of raffinose family oligosaccharides”; Bull Vet Inst Pulawy 55, 465-469, 2011	20	0.414	5
17	Chilomer K., Kasproicz-Potocka M., Gulewicz P., Frankiewicz A.; ”The influence of lupin seed germination on the chemical composition and standardized ileal digestibility of protein and amino acids in pigs”; J. Anim. Physiol. An. N. 96 issue 3; 639-646;	30	0.855	2

	2012			
18	D. Szczerbińska, Z. Tarasewicz, P. Gulewicz, D. Majewska, M. Ligocki; „evaluation of the possibility of using oligosaccharide-free pea in japanese quail feeding”; Turk. Vet. Anim. Sci. 36(6); 676-682; 2012.	20	0.236	0
19	Sz. Powałowski, W. Grajek, P. Gulewicz; „Wpływ ciśnienia osmotycznego na stan fizjologiczny komórek drobnoustrojów”; Postępy Biologii Komórki, 29, 435-448, 2002	5		
20	P. Gulewicz, S. Powałowski, K. Trojanowska; „Charakterystyka ważniejszych prebiotyków”; Żywność, Nauka, Technologia, Jakość, (34), 27-29, 2003	6		
21	D. Ciesiołka, P. Gulewicz, C. Matrinez Villaluenga, R. Pilarski, M. Bednarczyk, K. Gulewicz; „Products and biopreparations from alkaloid-rich lupin in animal nutrition and ecological agriculture”; Folia Biologica (Kraków). 53, 59-66, 2005	10	0.311	
22	M. Kasprowicz-Potocka, P. Borowczyk, P. Gulewicz, A. Zaworska, A. Frankiewicz; „Optymalizacja fermentacji nasion łubinu wąskolistnego za pomocą drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> w kierunku maksymalizacji produkcji białka w uzyskanym produkcie”; Fragmenta Agronomica; 29(4); 78-86; 2012	5		
23	P. Gulewicz, C. Martinez-Villaluenga, M. Kasprowicz-Potocka, J. Frias; „Non-nutritive compounds in fabaceae family seeds and the improvement of their nutritional quality by traditional processing – a review”; Pol. J. of Food Nutr. Sci. 64, no 2 , 75-89, 2014	10		
	Suma za publikacje przed doktoratem	47.5	3.475	66
	Suma za publikacje po doktoracie bez uwzględniania publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe	196.5	10.232	60
	Suma za publikacje wskazane jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r.	109	9.365	36
	Suma za publikacje po doktoracie	305.5	19.597	96
	Łączna suma	353	23.072	162

¹ na niebiesko zaznaczono publikacje przed doktoratem² na zielono zaznaczono publikacje wskazane jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r³ stan na dzień 21.11.2014 źródło Web of Science

Tabela 4. Zestawienie dodatkowych osiągnięć dydaktyczno-organizacyjnych, współpracy z organizacjami naukowymi oraz działalności popularyzacyjnej naukę.

Lp	Wyszczególnienie	Ilość
1	Udzielone patenty międzynarodowe i krajowe	1
2	Projekty badawcze międzynarodowe i krajowe – udział	1
3	Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych	1
4	Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki: - zajęcia dydaktyczne ze studentami w j. polskim i j. angielskim (ilość przedmiotów) - wystąpienia i artykuły popularnonaukowe:	17 4
5	Opieka naukowa nad studentami: - promotorstwo prac magisterskich - promotorstwo prac inżynierskich	10 7
6	Staże w zagranicznych ośrodkach naukowych	2
7	Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych	2
8	Inne osiągnięcia: - członek komisji na XXXIII i XXXIV Olimpiadzie Wiedzy i Umiejętności Rolniczej - Uczestnictwo w Kolegium Redakcyjnym Wielkiej Encyklopedii Zdrowia	2 1
9	Członkostwo w organizacjach i towarzystwach naukowych: - Polskie Towarzystwo Łubinowe – sekretarz komisji rewizyjnej - Polskie Towarzystwo Technologów Żywności - członek	1 1
10	Planowanie oraz organizacja bazy badawczej i aparaturowej do tworzonego Centrum Biotechnologii w Poznańskim Parku Naukowo-Technologicznym	1

6.2. Tematyka pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

6.2.1. Tematyka osiągnięć naukowo-badawczych przed doktorem

6.2.1.1. Rozdział w wodnych układach dwufazowych

Wodne układy dwufazowe są jedną z bezpieczniejszych metod do rozdziału mieszanin bardzo labilnych substancji. W trakcie studiów uczestniczyłem w badaniach dotyczących wykorzystania wodnych układów dwufazowych do rozdziału glukoamylazy oraz oczyszczania diwercyny z płynu pochodzącego *Carnobacterium divergens*. Wyniki badań dotyczących rozdziału diwercyny były przedmiotem mojej pracy magisterskiej pt. „Rozdział diwercyny w wodnych układach dwufazowych”. Pracę tą wykonałem w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. Włodzimierza Grajka i obroniłem 9 czerwca 1998 roku. Wyniki omawianych badań były przedstawione również w formie 2 doniesień konferencyjnych (załącznik 3; A6 i A7).

6.2.1.2. Izolacja, charakterystyka i aktywność biologiczna oligosacharydów rodziny rafinozy

W październiku 1998 roku rozpocząłem studia na Stacjonarnym Studium Doktoranckim przy Wydziale Technologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu.

Moje zainteresowania naukowe skupiły się na roślinach strączkowych jako cennym źródle białka i wielu ważnych fizjologicznie związków chemicznych, do których należą oligosacharydy rodziny rafinozy (ORR).

Podstawą procedury otrzymywania preparatów ORR jest ekstrakcja nasion strączkowych, która w efekcie prowadzi do otrzymania ekstraktu zawierającego szereg ważnych fizjologicznie związków oraz produktu o wysokiej zawartości białka pozbawionego MW o charakterze antyżywnościowym. Po ponad roku badań, we współpracy z zespołem Pracowni Fitochemii w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN oraz Instytutem Fermentacji Przemysłowej w Madrycie opracowano wydajną i prostą metodę izolowania i oczyszczania tych sacharydów z nasion grochu, łubinu i soczewicy. Wyniki badań opublikowano w formie oryginalnej pracy twórczej (załącznik 3; A1; załącznik 4 pkt. L-1), a metoda izolacji jest przedmiotem patentu (załącznik 3; pkt. 2).

Ekstrakt z nasion łubinu jest bogatym źródłem związków biologicznie czynnych. Na

drodze frakcjonowania można otrzymać poza preparatami ORR również frakcje zawierające związki, które podawane do gleby przyczyniają się do zwiększenia wydajności upraw sałaty i pomidorów. Opis kompleksowego zagospodarowania i wykorzystania bioaktywnych preparatów otrzymanych z frakcjonowania ekstraktu z nasion łubinu gorzkiego został opublikowany w pracy oryginalnej (załącznik 3; A3, B2) oraz jako doniesienie konferencyjne (załącznik 3; A13).

Otrzymanie czystej chemicznie mieszaniny ORR było przełomem w badaniach i stało się punktem wyjścia do badań nad określeniem związku między składem chemicznym preparatów ORR, a ich toksycznością, aktywnością immunotropową i wpływem na wzrost wybranych szczepów bakterii probiotycznych.

Badania te wykonywano we współpracy z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu oraz Instytutem Fermentacji Przemysłowej CSIC w Madrycie. Ich wyniki potwierdziły hipotezę badawczą, że uzyskane preparaty ORR nie są szkodliwe dla organizmu myszy, a jednocześnie stanowią źródło węgla dla bakterii probiotycznych. Wyniki tych badań opublikowano w formie pracy oryginalnej (załącznik 3; A2) oraz doniesień konferencyjnych (załącznik 3; A5, A8, A9, A10, A11, A12, A14). Takie właściwości preparatów ORR pozwalały przypuszczać, że mogą mieć one działanie prebiotyczne.

W kolejnych badaniach określano wpływ podawania *per os* preparatów ORR na mikroflorę jelitową i wybrane wyróżniki tuszek i mięsa broilerów.

Dowodzono, że podawanie preparatów ORR nie miało wpływu na wartość użytkową ptaków co odzwierciedla brak różnic w masach zwierząt i tuszek, stwierdzono natomiast pozytywny wpływ na ilość bifidobakterii w kale. Wyniki badań opublikowano w pracy oryginalnej (załącznik 3; B10).

Z kolei w badaniach na przepiórkach wykazano, że podawanie preparatów ORR skróciło okres osiągnięcia dojrzałości, zwiększyło nieśność, zmniejszyło pobranie paszy na jajo oraz poprawiło indeksy wylęgowości. Wyniki badań opublikowano w oryginalnej pracy twórczej (załącznik 3; B1).

Wyniki wcześniejszych badań wykazujące, że preparaty mają właściwości prebiotyczne przy podawaniu *per os* skłoniły do badań nad wpływem podawania ich *in ovo*.

W badaniach wykazano, że preparaty ORR stanowią źródło węgla dla wybranych gatunków bakterii rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Natomiast jednorazowe podanie roztworu ORR *in ovo* może zastąpić stosowanie antybiotykowych promotorów wzrostu. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy oryginalnej (załącznik 3; B6). Efektem zainteresowania

prebiotykami, probiotykami oraz mechanizmami umożliwiającym przeżycie drobnoustrojów w niesprzyjających warunkach było współautorstwo dwóch prac przeglądowych (załącznik 3; A4, B9)

6.2.2. Tematyka osiągnięć naukowo-badawczych po doktoracie

6.2.2.1. Poprawa wartości żywieniowej roślin

Produktem ubocznym izolacji ORR z nasion roślin strączkowych jest wysokobiałkowy produkt uboczny. Ocenę tego produktu (nasiona grochu po izolacji ORR na drodze ekstrakcji) jako komponentu białkowego w paszy dla przepiórek przeprowadzono we współpracy z Katedrą Hodowli Ptaków Użytkowych i Ozdobnych ZUT w Szczecinie.

Dodatek grochu pozbawionego ORR przyczynił się do polepszenia parametrów produkcyjnych jaj oraz parametrów reprodukcyjnych. Wyniki badań opublikowano w oryginalnej pracy twórczej (załącznik 3; B7).

Obiecujące wyniki badań nad nasionami roślin strączkowych skłoniły mnie do zgłębienia zagadnienia wpływu obróbki technologicznej materiału roślinnego na jego wartość żywieniową, a także bezpieczeństwo tak uzyskanych produktów. W roku 2005 uzyskałem stypendium Ministerstwa Nauki w Hiszpanii i rozpocząłem badania pod kierunkiem pani profesor Concepcion Vidal-Valverde w wiodącym w Europie w tej tematyce Instituto de Fermentaciones CSIC w Madrycie.

Od tego momentu moje zainteresowania naukowe koncentrują się wokół możliwości wykorzystania różnych procesów do poprawy wartości pokarmowej uwzględniając przy tym bezpieczeństwo mikrobiologiczne i chemiczne.

Moje badania skupiły się na wykorzystaniu kiełkowania w poprawie wartości pokarmowej. W procesie tym, w zależności od warunków, mogą być tworzone aminy biogenne, które powyżej pewnej granicy są szkodliwe dla organizmu człowieka. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że zawartość amin biogennych wzrasta w trakcie kiełkowania lucerny i kozieradki do poziomu nieszkodliwego dla człowieka. Większe stężenia amin mogą mieć działanie cytotoksyczne. Stwierdzono, że w porównaniu z kontrolą ekstrakty z kiełków nie wpływały na żywotność komórek HL-60. Wyniki badań opublikowano w pracy oryginalnej (załącznik 3; B3).

W kolejnych badaniach, których przedmiotem były kiełki brokułów i rzodkiewek, poziom amin biogennych wzrósł, ale do poziomu niezagrażającemu zdrowiu konsumenta. Stwierdzono

również brak cytotoksyczności ekstraktów z kiełków rzodkiewek i brokułów. Wyniki badań opublikowano w pracy oryginalnej (załącznik 3; B4).

Kiełkowanie jest procesem podczas którego można wzbogacać produkt w substancje biologicznie czynne takie jak selen. W kolejnych badaniach związanych z kiełkowaniem nasion oceniano możliwość wzbogacania w selen, którego niedobór w diecie może powodować wiele poważnych chorób związanych ze stresem oksydacyjnym. Obecnie w większości krajów Europy spożycie selenu jest poniżej rekomendowanych dawek dziennych.

Oprócz badań przytoczonych w osiągnięciu naukowym próbie wzbogacania w selen poddano kiełkowaną rzeżuchę. Wykazano, że zawartość selenu w kiełkach zależała od rodzaju soli selenu użytej w kiełkowaniu (Na_2SeO_3 lub Na_2SeO_4) i jej stężenia. Kiełki wzbogacone w selen wykazywały większe właściwości antyoksydacyjne niż kiełki otrzymane na samej wodzie destylowanej. Całkowita zawartość glukozyzolanów uległa zwiększeniu w porównaniu z kiełkami uzyskanymi na wodzie. Również wskaźnik CS (chemical score) dla EAA uległ nieznacznej poprawie w kiełkach z selenem.

Wzbogacaniu w selen poddano również brokuły, które mają silne właściwości antyoksydacyjne co jest związane z obecnością związków fenolowych i witaminy C. Brokuły uprawiane były w wazonach z podłożem wzbogaconym w selen. Głowy brokułów uprawianych na podłożu z selenem miały wyższą zawartość związków fenolowych i silniejsze właściwości antyoksydacyjne.

Wyniki tych badań opublikowano w pracy oryginalnej (załącznik 3; B5) oraz w formie doniesień konferencyjnych (załącznik 3; B15, B17, B19, B20).

Skiełkowane nasiona łubinu poddano również badaniom dla określenia wpływu tego procesu na współczynnik standaryzowanej strawności jelitowej białka surowego i aminokwasów u rosnących świń, porównując ich wartości z wynikami uzyskanymi dla nasion surowych.

Badaniami objęte były nasiona *Lupinus luteus* odm. Lord i *Lupinus angustifolius* odm. Graf. Kiełkowanie prowadzono w temperaturze 24°C przez 4 dni w ciemności. Badania żywieniowe były prowadzone na wykastrowanych knurkach o średniej masie ciała ok. 25 kg, u których w jelicie krętym zostały chirurgicznie wprowadzone T-kaniule. Uzyskane rezultaty wskazują, że kiełkowanie przeprowadzone w opisanych warunkach, nie wpływało jednoznacznie pozytywnie na standaryzowane współczynniki strawności jelitowej białka surowego i aminokwasów egzogennych: lizyny oraz metioniny. (załącznik 3; B8).

Pracując na Katedrze Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej UTP w Bydgoszczy pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Mikołajczaka moje zainteresowania naukowe skupiły się

głównie na wykorzystaniu roślin strączkowych i produktów z ich przerobu w żywieniu zwierząt. Efektem takich zainteresowań było zastosowanie ekstraktu z łubinu żółtego odmiany Lord jako dodatku przy zakiszaniu lucerny. Lucerna posiadająca niską zawartość sacharydów rozpuszczalnych w wodzie należy do zielonek trudno kiszących się. Jako źródło węgla dla bakterii mlekowych zastosowano do zakiszania zielonki lucerny ekstrakt z łubinu zawierający w swoim składzie ORR. Dodatek ekstraktu łubinowego miał pozytywny wpływ na jakość uzyskanych kiszzonek, ponieważ zwiększyła się ilość bakterii mlekowych oraz zawartość kwasu mlekowego, a zmniejszyła zawartość kwasu masłowego. Wyniki tych badań opublikowano w formie pracy oryginalnej (załącznik 3; B11).

Innym wariantem zastosowania nasion łubinu było zakiszanie parowanych ziemniaków z dodatkiem całych i rozdrobnionych nasion łubinu gorzkiego *Lupinus angustifolius* odm. Mirela. Dodatek łubinu przyczynił się do zwiększenia zawartości kwasu mlekowego w kiszoncek, jednakże wraz ze wzrostem dodatku łubinu wzrastała również zawartość pozostałych ważnych dla jakości kiszoncek kwasów organicznych takich jak kwas octowy, propionowy i masłowy. Całkowita zawartość alkaloidów chinolizydynowych w kiszoncek, w porównaniu z ilością alkaloidów w dodanych nasionach do ziemniaków zakiszanych, zmniejszyła się do poziomu poniżej 0,02%, a więc poziomu, który w przypadku nasion łubinu jest odpowiedni dla odmian słodkich. W taki sposób można wykorzystać nasiona łubinu gorzkiego w żywieniu zwierząt. Wyniki tych badań opublikowano w formie pracy oryginalnej i doniesienia konferencyjnego (załącznik 3; B12).

Zawartość składników pokarmowych w nasionach nasion strączkowych określa ich przydatność w żywieniu zwierząt, a także pozwala dobrać odpowiedni sposób obróbki, aby ten skład poprawić. Wyniki badań zawartości składników pokarmowych nasion polskich odmian łubinów i grochu przedstawiono w formie doniesienia konferencyjnego (załącznik 3; B21).

Fermentacja mlekowa rozdrobnionych nasion prowadzi do wielu korzystnych zmian w składzie chemicznym. W doświadczeniach na hiszpańskim łubinie *Lupinus angustifolius* cv. Zapaton stwierdzono, że w wyniku fermentacji zwiększa się kwasowość, zawartość sacharydów ulega obniżeniu, a skład aminokwasowy ulega poprawie. Wyniki tych opublikowano w formie doniesienia konferencyjnego (załącznik 3; B16).

Z kolei zastosowanie fermentacji drożdżowej wiąże się ze znaczną poprawą jakości białka fermentowanych łubinów, ważny jest przy tym dobór odpowiednich warunków środowiskowych w celu optymalizacji procesu. Wyniki badań opublikowano w formie pracy oryginalnej i doniesienia konferencyjnego (załącznik 3; B13; B18; B22).

Wiedza i doświadczenie związane z metabolitami wtórnymi i możliwościami poprawy wartości pokarmowej nasion roślin strączkowych zostały zebrane i podsumowane w publikacji przeglądowej, która została wydana w roku 2014 (załącznik 3; B14).

Obecnie pracuję w Poznańskim Parku Naukowo-Technologicznym, gdzie tworzę Centrum Biotechnologii mające umożliwić przedsiębiorcom i naukowcom wspólne rozwijanie innowacyjnych odkryć w zakresie biotechnologii. Do moich zadań należy stworzenie bazy naukowo-badawczej oraz dobór, zakup i uruchomienie niezbędnej aparatury. W Centrum Biotechnologii zajmować się będę badaniami nad rozwijaniem biotechnologicznych metod poprawy wartości żywieniowej i konserwacji żywności oraz produkcją preparatów bioaktywnych na drodze mikrobiologicznej.

Tematyka prowadzonych przeze mnie badań dotyczy różnych aspektów poprawy wartości żywieniowej roślin stosowanych w produkcji żywności i pasz. Także wykorzystanie związków biologicznie czynnych obecnych w roślinach, które z jednej strony występując w złożonej matrycy roślinnej stanowią czynniki antyżywniowe, a wyizolowane i podawane w sposób kontrolowany mogą oddziaływać pozytywnie. Badania te wpisują się w aktualną problematykę związaną ze zrównoważonym rozwojem rolnictwa i promowaniem rodzimych źródeł białka. Począwszy od pierwszych etapów mojej ścieżki naukowej, realizowana przez mnie tematyka badań ma charakter multidyscyplinarny i prowadzona jest w oparciu o ścisłą współpracę z ośrodkami naukowymi zarówno w kraju i za granicą.

Piotr Gulewicz