Załącznik nr 2a

dr inż. Joanna Harasym

AUTOREFERAT

2016

1. Imię i Nazwisko

Joanna Paulina Harasym

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

1. dyplom magistra inżyniera biotechnologa,
   Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska, 1994,
   praca magisterska pt. *Mikrobiologiczna degradacja modelowych ścieków ropopochodnych.*
2. dyplom ukończenia Studium Pedagogicznego,
   Akademia Ekonomiczna we Wrocławiu, 1998.
3. dyplom doktora nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia,
   Wydział Nauk o Żywności, AkademiaRolnicza we Wrocławiu, 2003,
   praca doktorska pt. *Badania nad wydzielaniem kwasu cytrynowego i jego soli z płynów pofermentacyjnych*.
4. dyplom ukończenia studiów podyplomowych - Menadżer Projektu Badawczo-Rozwojowego, **Wyższa Szkoła Bankowa we Wrocławiu**, 2013,
   praca dyplomowa pt. *Opracowanie procesu produkcji piwa o silnych właściwościach przeciwutleniających – studium wykonalności*.
5. dyplom ukończenia aplikacji rzecznikowskiej,
   Polska Izba Rzeczników Patentowych, Warszawa, 2015.
6. uprawnienia rzecznika patentowego,
   Polska Izba Rzeczników Patentowych, Warszawa, 2016

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1994 - 1995	**asystent stażysta** – Katedra Biotechnologii Żywności, Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny Przemysłu, Akademia Ekonomiczna im. Oskara Langego, Wrocław
1995 - 2003	**asystent** – Katedra Biotechnologii Żywności, Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny Przemysłu (od 2000 - Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny), Akademia Ekonomiczna im. Oskara Langego, Wrocław
2003 - 2004	**asystent ze stopniem doktora** – Katedra Biotechnologii Żywności, Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny, Akademia Ekonomiczna im. Oskara Langego, Wrocław
2004 - obecnie	**adiunkt ze stopniem doktora** – Katedra Biotechnologii i Analizy Żywności, Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
2011-2012	**pełnomocnik Rektora** ds. komercjalizacji wyników badań, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
2016 - 2018	**senior investigador**, Faculdad de Ciencias Agrarias, Departamiento Ingeniería Agrícola y Forestal, Uniwersytet w Valladolid, Hiszpania (w ramach **Stypendium Indywidualnego Akcji Marii Skłodowskiej-Curie – MSCA – IF**)

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

jako powyższe osiągnięcie wskazuję cykl 5 publikacji – 2 patenty krajowe, 1 patent europejski i 2 artykuły naukowe w czasopismach z listy JCR pod wspólnym tytułem:

Proces ekstrakcji β-glukanu o różnej masie molowej z owsa oraz ocena jego oddziaływania na stan zapalny w żołądku

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. **Harasym J.,** Brach J.: *Sposób otrzymywania polisacharydu nieskrobiowego ze zbóż*, Patent RP – 217750 – 4 strony, Data zgłoszenia – 2008-03-03 nr 384594, Data wydania decyzji - 2014-01-22 - **25 pkt *.**
2. **Harasym J.,** Brach J., Czarnota J. L., Stechman M., Slabisz A., Kowalska A., Chorowski M., Winkowski M., Madera A.: *A method of production of beta-glucan, insoluble food fibre and oat protein preparation*, Patent europejski – EP 2515672 B1– 9 strony, Data zgłoszenia – 2010-12-22 nr PCT/PL2010/050063, 10809339.4, Data publikacji o przyznaniu patentu w Bulletin EPO – 2016-07-06 - **40 pkt **.**
3. **Harasym J.,** Tytuł: S*posób wyodrębniania beta-glukanu ze zbóż*, Patent RP –224430 – 4 strony, Data zgłoszenia – 2014-10-27 nr 409942, Data wydania decyzji - 2016-06-13 - **15 pkt**.**
4. **Harasym, J**., Suchecka, D., Gromadzka-Ostrowska, J. 2015. *Effect of raw material size reduction by freeze-milling on beta-glucan recovery process from oat bran*, Journal of Cereal Sciences, 61, str. 119-125. **35 pkt, IF (2015) = 2.402**
5. Suchecka, D., Błaszczyk, K., **Harasym, J.,** Gudej, S., Wilczak, J., Gromadzka-Ostrowska, J. 2017. *Impact of purified oat 1-3, 1-4-β-D-glucan of different molecular weight on alleviation of inflammation parameters during gastritis*, Journal of Functional Foods, 28, str. 11-18, **45 pkt, IF (2015) = 3.973**

**(wg rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 13 lipca 2012 r., w sprawie kryteriów i trybu przyznawania kategorii naukowej jednostkom naukowym), **(wg rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 27 października 2015 r., w sprawie kryteriów i trybu przyznawania kategorii naukowej jednostkom naukowym)*

Sumaryczny IF osiągnięcia wynosi **6,375**, a sumaryczna liczba punktów osiągnięcia wg listy MNiSW oraz kryteriów oceny parametrycznej jednostek naukowych wynosi **160**. We wszystkich przedstawionych powyżej publikacjach, za wyjątkiem publikacji nr 5, byłam pomysłodawcą hipotez i metodyk badawczych oraz wykonawcą badań eksperymentalnych. Wskazane patenty zostały wdrożone w praktyce gospodarczej, a obydwa artykuły naukowe (nr 4 i 5) powstały w oparciu o wyniki prac badawczych zrealizowanych w ramach grantu badawczego własnego finansowanego z Narodowego Centrum Nauki NN312427440 pt. *Wpływ beta-glukanów owsa proces zapalny w przewodzie pokarmowym,* w którym byłam głównym wykonawcą (Zad.1 Opracowanie technologii otrzymywania preparatów beta-glukanu) we współpracy z podmiotem gospodarczym będącym właścicielem opatentowanych rozwiązań.

Dodatkowo we wszystkich pracach zbiorowych stanowiących wyżej wspomniane osiągnięcie habilitacyjne byłam współautorem odpowiedzialnym za korespondencyjną stronę publikacji (corresponding author).

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

Celem naukowym prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne było przebadanie procesu ekstrakcji wysokooczyszczonego 1-3, 1-4–β-D-glukanu z owsa o różnej masie molowej oraz opracowanie metody jego wytwarzania o przemysłowym wykorzystaniu. Dodatkowo w rezultacie studiów literaturowych nad aktywnością 1-3, 1-4 –β - D-glukanu analizując mechanizm jego oddziaływania z receptorami komórkowymi postawiłam hipotezę badawczą o istnieniu równie wysokiej lecz charakteryzującej się odmienną specyfiką aktywności 1-3, 1-4–β-D-glukanu z owsa o niskiej masie molowej. Weryfikacja tej hipotezy w oparciu o analizę działania preparatu o różnych masach molowych w stanach zapalnych żołądka stała się naturalnym uzupełnieniem zakresu badań naukowych zrealizowanych w ramach prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne. We współpracy z zainteresowanymi podmiotami gospodarczymi opracowane zostały metody otrzymywania wysokoczyszczonego 1-3, 1-4–β-D-glukanu z owsa o dużej masie molowej, wysokim stopniu czystości oraz ekonomicznie opłacalne i proekologiczne, natomiast w ramach projektu NN312427440 (w którym uczestniczył podmiot gospodarczy będący właścicielem patentów na otrzymywanie wysokoczyszczonego 1-3, 1-4–β-D-glukanu z owsa o dużej masie molowej) została wypracowana metoda otrzymywania polimeru o niskiej masie molowej oraz zweryfikowano hipotezę o odmiennej aktywności wysokoczyszczonego 1-3, 1-4–β-D-glukanu z owsa w zależności od masy molowej.

Osiągnięcie stanowi kontynuację moich zainteresowań dotyczących ekstrakcji substancji aktywnych oraz rozszerzenie zakresu badawczego o problemy związane z aktywnością otrzymanych substancji *in vivo* w badaniach na zwierzętach.

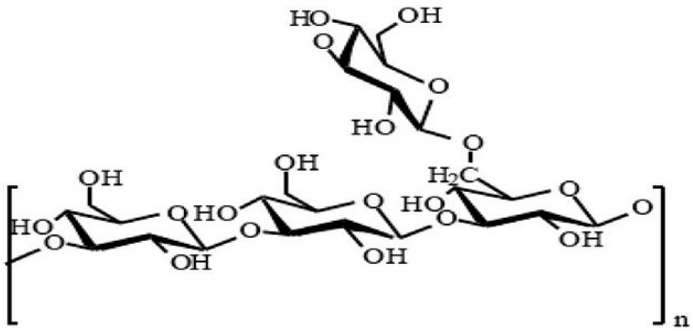
1.Wprowadzenie

β-D-glukany to homopolimery zbudowane z monomerów D-glukozy, połączonych wiązaniami β-glikozydowymi, które charakteryzuje specyficzna aktywność biologiczna. Syntezowane są w wielu rodzajach organizmów bezjądrowych i wyższych, w których są gromadzone lub wydzielane na zewnątrz. Znajdowane są np. w ścianach komórkowych grzybów *Basidiomycota* i drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*), w algach, występują także w formie egzopolisacharydów bakteryjnych oraz gromadzone są w ziarnach niektórych zbóż, głównie owsa i jęczmienia [1, 2].

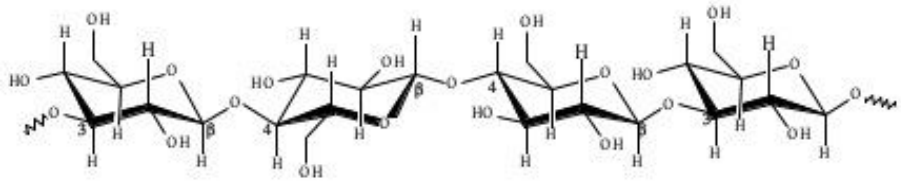
Budowa strukturalna łańcucha polimeru, rodzaj wiązań oraz częstotliwość ich występowania zmienia się w zależności od pochodzenia związku, co wpływa na spektrum jego właściwości biologicznych. β-D-glukan z drożdży piekarskich zbudowany jest z monomerów glukozowych połączonych wiązaniami β-D-(1-3) i (1-6) (Rys. 1a), β-D-glukany zbożowe połączone są wiązaniami (1-3) i (1-4) (Rys. 1b), przy czym celuloza – również będąca β-D-glukanem połączona jest jedynie wiązaniami (1-4) (Rys. 1c), β-D-glukan bakteryjny znany pod nazwa kurdlan (wydzielina bakterii *Agrobacterium sp*) charakteryzują jedynie wiązania (1-3) (Rys. 1d), β-D-glukan znany jako lentilan pochodzący z twardziaka jadalnego (*Lentinula endodes* znany jako grzyb shiitake) połączony jest wiązaniami β-D- (1-3) i (1-6), podobnie jak inne β-D-glukany grzybowe jak schizofylan (otrzymany ze *Schizophyllum commune)* i grifolan (z *Grifola frondosa),* natomiast β-D-glukan z porostów zwany lichenanem charakteryzują mieszane wiązania (1-3) i (1-4) (Rys. 1e) [3, 4].

Sposób połączenia jednostek glukopiranozowych, który determinuje ilość i częstotliwości występowania poszczególnych typów wiązań skutkuje tworzeniem

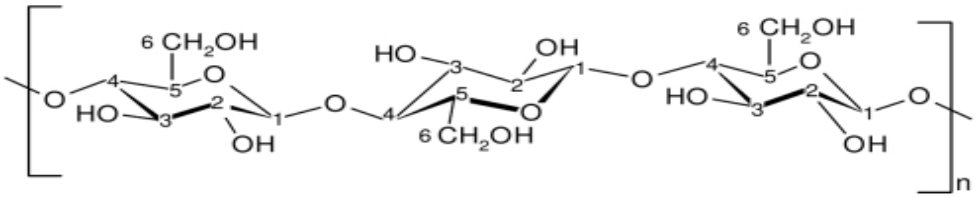
wielopostaciowych makrostruktur tego polimeru takich jak helisa, potrójna helisa, prosty łańcuch, struktura nieuporządkowana (random coil) czy cykliczna (Rys. 1e) [4, 5, 6, 7, 8].



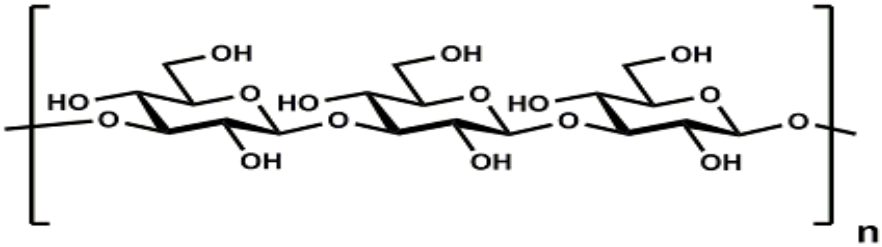
a)



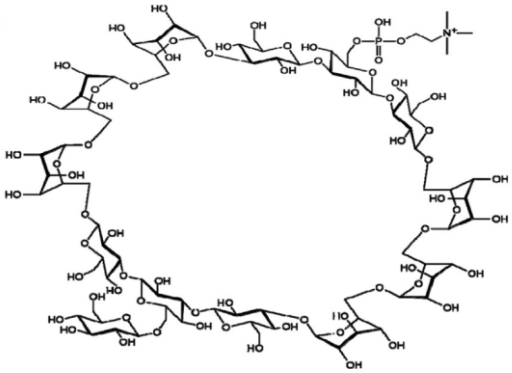
b)



c)



d)



e)

Rys. 1. Budowa łańcucha β-D-glukanu w zależności od rodzaju wiązań pomiędzy jednostkami glukopiranozowymi, a) wiązania 1-3, 1-6; b) wiązania 1-3, 1-4; c) wiązania 1-4; d) wiązanie 1-3; e) mostki tlenowe tworzące β-D-glukan cykliczny.

Szczególnie intensywne badania nad możliwościami zastosowania β-D-glukanów, zwłaszcza β-(l-3)-D-glukanu prowadzone są od początku XXI w. Związek ten wykazuje aktywność biologiczną budzącą coraz większe zainteresowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i suplementów diety. Z uwagi na różnorodność wiązań, a co z a tym idzie budowy oraz właściwości fizykochemicznych, β-D-glukany dzieli się na kilka grup, a czynnikiem je różnicującym są cechy strukturalne, które zależne są od materiału biologicznego, z którego zostały wydzielone [9, 10]. Grupą najszerzej przebadaną są β-(l-3)-D-glukany oraz β-(l-3)(l-6)-D-glukany, które mogą mieć łańcuchy liniowe, rozgałęzione lub cykliczne. Są składnikami ścian komórkowych grzybów albo wydzielinami egzopolisacharydowymi bakterii. Preparaty takie można uzyskać w wydajny sposób, o bardzo wysokiej czystości, co czyni ich przemysłową produkcję opłacalną.

Natomiast β-(l,3)(l,4)-D-glukany wykryte w sporych ilościach w ziarnach zbóż są obecnie bardzo intensywnie badane, zwłaszcza w postaci wysokooczyszczonych preparatów, z myślą o ich praktycznym zastosowaniu w różnych branżach przemysłu. Trudności w ekonomicznej ekstrakcji z surowców roślinnych były dotychczas głównym czynnikiem limitującym ich praktyczne zastosowanie w produkcji przemysłowej [10, 11]

β-D-glukany z drożdży z uwagi na strukturę polimeru są nierozpuszczalne w wodzie, a w β-D-glukanach z grzybów kapeluszowych od 53 do 83% stanowi frakcja nierozpuszczalna. Z kolei β-D-glukany zbożowe zbudowane są z cząsteczek glukozy połączonych liniowo wiązaniami β (1-3) i β (1-4)-glikozydowymi i ta cecha strukturalna sprawia, że są one rozpuszczalne w wodzie. Wśród zbóż, najwyższą zawartość β-D-glukanu (w gramach na 100 gramów suchej masy) wykazano dla jęczmienia (2-20 g, z czego 65% to frakcja rozpuszczalna w wodzie) i owsa (2-11 g, z czego 82% stanowi frakcja rozpuszczalna w wodzie). Pozostałe zboża zawierają także β-D-glukany, ale w znacznie mniejszych ilościach: sorgo 1,1-6,2 g, żyto 1,3-2,7 g, kukurydza 0,8-1,7 g, pszenżyto 0,3-1,2 g, pszenica 0,5-1,0 g, pszenica durum 0,5-0,6 g, ryż 0,13 g [12].

Zbożowy β-D-glukan jest liniowym homopolisacharydem reszt D-glukopiranozylowych, połączonych za pomocą dwóch wiązań β-(1-4) i β-(1-3). Odcinki reszt połączonych wiązaniami (1-4), czyli segmenty celulozy oligomerycznej, są oddzielone pojedynczymi wiązaniami (1-3). Chociaż większość segmentów celulozowych jest trójmonomeryczna (zawierająca trzy identyczne monomery) i tetramonomeryczna, w łańcuchach polimerów są także obecne długie jednostki celulodekstryn [13].

Zbożowy β-D-glukan wykazuje znaczną różnorodność w budowie. Mimo podobieństw pomiędzy β-D-glukanami występującymi w różnych rodzajach zbóż, β-D-glukan z owsa, jęczmienia i pszenicy jest faktycznie strukturalnie odmienny, co wykazała analiza ilościowa HPLC tych oligosacharydów wykonana z wykorzystaniem lichenazy [13]. Enzym lichenaza, czyli (1-3)-(1-4)-β-D-4-glukanohydrolaza, specyficznie rozszczepia wiązania glikozydowe (1-4) na trzecim podstawniku reszty glukozy w β-D-glukanie, poddając oligomery trzem stopniom polimeryzacji (DP). Główne produkty hydrolizy β-D-glukanu ze zboża to 3-0-β-celulobiozylo-D-glukoza (DP3) i 3-0-β-celulotriozylo-D-glukoza (DP4), ale również, uwalniane w mniejszej ilości (~5-10%), są celulodekstryno-podobne oligosacharydy, zwłaszcza z regionu polimeru, zawierającego więcej niż trzy kolejno ułożone reszty wiązań 4-O-glukozowych. Rozmieszczenie oligosacharydów wewnątrz tych samych rodzajów zbóż jest bardzo podobne, z główną różnicą występującą jedynie pomiędzy β-D-glukanami różnego botanicznego pochodzenia [13].

Dane literaturowe wskazują na pojawiające się także różnice pomiędzy stosunkami DP3:DP4 wewnątrz β-D-glukanów tych samych rodzajów zbóż, co można przypisać genotypowi i parametrom środowiskowym. β-D-glukan z odmiany woskowej jęczmienia wskazuje wyższy stosunek DP3:DP4, w porównaniu do uprawy jęczmienia niewoskowego. Ponadto, stosunek tri- do tetrasacharydów w β-D-glukanie z tkanki aleuronowej jęczmienia i owsa jest wyższy, niż ten zaobserwowany w tkance skrobiowej bielma [3].

β-D-glukan wykazuje wszystkie funkcjonalne właściwości lepkich i tworzących żel hydrokoloidów, połączone ze wszystkimi własnościami fizjologicznymi włókna pokarmowego. Za fizyczne właściwości β-D-glukanu, takie jak rozpuszczalność i własności reologiczne w roztworze i stanie żelowym, odpowiedzialne są jego cechy molekularne, takie jak występowanie oligomerów celulozowych, budowa strukturalna, masa cząsteczkowa, jak również temperatura i stężenie w roztworze [14].

W procesie rozpuszczania β-D-glukan wchłania dużo wody i tworzy żele, które nie są trawione w jelicie cienkim. Z tego powodu traktowany jest on jako błonnik pokarmowy. Zdolność β-D-glukanu do tworzenia lepkich żeli w przewodzie pokarmowym leży u podstaw roli jaką odgrywa on w profilaktyce choroby niedokrwiennej serca i cukrzycy typu 2. Wpływ pożywienia zawierającego β-D-glukany z owsa i jęczmienia na regulację stężenia glukozy we krwi po posiłku oraz stężenia cholesterolu jest bardzo dobrze znany w literaturze naukowej i stanowi naukową podstawę dla uzasadnienia oświadczeń zdrowotnych dopuszczonych w UE dla produktów zawierających β-D-glukan, szczególnie z owsa, w określonym stężeniu[15].

Należy wskazać również, że nie tylko w zależności od źródła pochodzenia, ale również sposobu ekstrakcji β-D-glukany wykazują odmienne właściwości fizykochemiczne, takie jak masa molowa, stopień rozgałęzienia łańcucha polimeru, a co za tym idzie rozpuszczalność w wodzie czy lepkość [13, 14].

Stężenie β-D-glukanu w całym ziarnie owsa mieści się zazwyczaj w zakresie od 2 do 11 % i od 6 do 16 % w produktach otrębowych [16, 17, 18]. Na rynku można spotkać produkty deklarujące nawet wyższe stężenia β-D-glukanu – 20%, 22%, 30%, 34% [19, 20], które są zwykle poprawnie określane jako koncentraty otrąb lub całkowicie błędnie jako „β-glukan z owsa".

β-D-glukan w owsie zlokalizowany jest całym bielmie, ale w największych ilościach występuje w ściankach komórek aleuronowych i subaleuronowych warstw otrębowych, różniąc się jednocześnie wzajemnym stosunkiem tri- do tetrasacharydów. W trakcie przetwarzania ziarna warstwy otrębowe mogą być oddzielone od bielma przy użyciu metod konwencjonalnego mielenia i przesiewania. Jednakże typowe procesy zazwyczaj nie są w stanie dostarczyć produktów zawierających β-glukan w wysokich stężeniach. Ponadto, stosunkowo mała zawartość β-D-glukanu w typowych otrębach sprawia, że znajdują one zastosowanie tylko w ograniczonej liczbie funkcjonalnych produktów żywnościowych.

Koncentraty β-D-glukanu, zawierające wyższe stężenia β-D-glukanu niż otręby owsiane, umożliwiają wytwarzanie produktów bogatszych w β-D-glukan, nie wpływając zbytnio na teksturę i odczucie w ustach [21, 22], natomiast izolaty β-glukanu wytwarzane na drodze ekstrakcji nie mają już żadnych ograniczeń w stosowaniu i umożliwiają tworzenie szerokiej gamy produktów zarówno spożywczych, jak i farmaceutycznych.

Metody ekstrakcji β-glukanu można podzielić na tzw. metody mokre i suche. Metody mokre to metody wykorzystujące proces ekstrakcji do wyodrębnienia z surowca wysokooczyszczonego aktywnego związku jakim jest β-D-glukan, natomiast metody

suche opierają się na mieleniu, frakcjonowaniu i odrzucaniu frakcji ubogich w β-D-glukan, co skutkuje jego zatężeniem w ostatecznie otrzymanym koncentracie.

Otrzymywanie preparatu β-D-glukanu z owsa drogą ekstrakcji na mokro odbywa się zazwyczaj w oparciu o następujące technologie:

a) enzymatycznej hydrolizy wszystkich składników oprócz β-D-glukanu,
b) precypitacji kwasowej, zasadowej lub rozpuszczalnikowej,
c) oraz odsiewania na mokro nierozpuszczalnych w wodzie części stałych.

Omówienie wyników i możliwości ich wykorzystania

W efekcie współpracy nawiązanej z podmiotem gospodarczym zainteresowanym opracowaniem technologii ekstrakcji β-D-glukanu z owsa i rozpoczęciem produkcji na rynku polskim opracowana została technologia pozyskiwania β-D-glukanu z owsa o wysokiej masie molowej przedstawiona w publikacji nr 1.

1. Harasym J., Brach J., *Sposób otrzymywania polisacharydu nieskrobiowego ze zbóż*, Patent RP – 217750, Data wydania decyzji - 2014-01-22

Wiadome jest, że zastosowana metoda ekstrakcji wpływa na masę molową otrzymanego polisacharydu. Dlatego, jeżeli oddziaływanie zdrowotne β-D-glukanu z owsa, będące naukową podstawą badań dokumentujących jego korzystny wpływ na poziom triglicerydów we krwi oraz obniżenie glikemii poposiłkowej, uzależnione zostało od zdolności do tworzenia wysokolepkich żeli – kluczową kwestią staje się takie prowadzenie procesu ekstrakcji, aby masa łańcucha polimeru pozostała jak największa.

Zasadniczą rolę w degradacji β-glukanu odgrywają endo-β-glukanazy - β-1-4-glukanaza jest obecna w ziarnie, a β-1-3-glukanaza jest syntetyzowana w momencie rozpoczęcia kiełkowania, które jest zainicjowane odpowiednią wilgotnością i temperaturą. Enzymy te zmniejszają masę cząsteczkową β-1-3,-1-4-D-glukanu, a nawet degradują go całkowicie w zależności od zaistnienia sprzyjających katalizie enzymatycznej warunków. Metody laboratoryjne, w których inaktywuje się β-glukanazy w zmielonym ziarnie przez ogrzewanie w temperaturze 85°C pod kolumną zwrotną w zawiesinie 82% wagowych etanolu przed etapem ekstrakcji [23] są efektywne jedynie w małej skali, gdyż koszt tak skonstruowanej technologii przekracza potencjalne zyski z produktu.

Z kolei rozwiązania charakteryzujące się potencjałem przemysłowego zastosowania, prezentowane w patentach amerykańskich, wykorzystują inaktywację enzymów w efekcie podniesienia temperatury supernatantu uzyskanego po odwirowaniu półproduktu z etapu ekstrakcji wodnej β-D-glukanu (czyli de facto po odbytym procesie hydrolizy polimeru) [24] czy też ze względów ekonomicznych właśnie, dostarczają metody izolacji β-D-glukanu poprzez ekstrakcję wodą bez dezaktywacji endogennych enzymów [25]. Wraz z wydłużeniem czasu ekstrakcji masa molowa β-D-glukanów znacząco się obniża, a wytrącanie β-D-glukanu zachodzi w efekcie naprzemiennego zmrażania i ogrzewania roztworu.

W trakcie badań nad inaktywacją endo-β-D-glukanaz skoncentrowałam się nad ich unieczynnieniem bezpośrednio w ziarnie. Zamknięta objętość ziarna została potraktowana jako reaktor, w którym w efekcie wysokiej temperatury dostarczonej w trakcie odpowiedniej obróbki termicznej w warunkach wilgotności pierwotnej niepożądana aktywność enzymatyczna zostaje zredukowana. Istota wynalazku polega na poddaniu ziarna przed przemiałem działaniu wysokiej temperatury, w zakresie od

60°C do 130°C, najlepiej 90°C, a następnie poddaniu go ekstrakcji w roztworze alkalicznym o pH w zakresie od 8 do 11, najlepiej od 9 do 10, w temperaturze od 10°C do 50°C, najlepiej od 20°C do 30°C. Uzyskany po zneutralizowaniu alkalicznego roztworu filtrat chłodzi się do temperatury od 10°C do 40°C, najlepiej od 25°C do 30°C i β-D-glukan wytrąca się alkoholem, korzystnie alkoholem etylowym schłodzonym do temperatury od -20°C do 0°C, korzystnie -10°C, dozowanym tak, aby jego stężenie końcowe w zawiesinie wynosiło 25% wagowych. Wyjściowej obróbce mogą też być poddane takie części ziarna, jak: mąka, otręby, płatki owsiane czy też ich mieszanina.

Zaletą opracowanej technologii jest fakt, że wstępna inaktywacja enzymów z grupy glikozydaz (EC 3.2.1.) do której należą β-D-glukanazy, pozwala na wyeliminowanie działania hydrolitycznego tych enzymów, które jest jednym z czynników zmniejszających masę cząsteczkową polimeru β-D-glukanu. W efekcie zmniejszenia degradacji łańcucha polimeru, co za tym idzie utrzymania wysokiej lepkości - staje się możliwe zastosowanie niższego stężenia alkoholu do wytrącenia β-D-glukanu bez znacznego obniżenia masy molowej otrzymanego preparatu. Skuteczność metody izolacji β-D-glukanów według wynalazku umożliwia wcześniejsza inaktywacja enzymów endo-β-D-glukanaz, obecnych w ziarnie - co uzyskuje się przez obróbkę termiczną prowadzoną przed etapem ekstrakcji. Podgrzewanie należy przeprowadzać w warunkach napowietrzania, np. w suszarce powietrznej, rozpyłowej, fluidyzacyjnej lub mikrofalowej z wymuszonym termoobiegiem. Następnie surowiec poddaje się przemiałowi na sucho lub na mokro z zastosowaniem typowych dla stanu techniki metod i urządzeń. Rozdrobniony surowiec zostaje zawieszony w roztworze o pH w zakresie od 8 do 11, korzystnie od 9 do 10. Związkiem chemicznym umożliwiającym osiągniecie takiego pH może być każda mocna zasada jak np: NH_4OH, KOH, NaOH, $Ca(OH)_2$, korzystne jest zastosowanie NaOH.

Ekstrakcja β-D-glukanów zachodzi w zakresie temperatur od 10°C do 50°C, korzystnie od 20°C do 30°C w warunkach statycznych, wstrząsanych lub przy zastosowaniu mieszania, korzystnie przy stałym mieszaniu. Po zakończeniu ekstrakcji części stałe należy oddzielić na drodze sedymentacji, koagulacji, filtracji lub odwirowania, korzystnie odwirowania, skrobię rozłożyć enzymem amylolitycznym w warukach odpowiednich do jego działania, białka wytrącić przez obniżenie pH za pomocą dowolnego mocnego lub słabego kwasu mineralnego lub organicznego, korzystnie przy udziale HCl i oddzielić osad na drodze sedymentacji, koagulacji, filtracji lub odwirowania, korzystnie filtracji. Filtrat schładza się w zakresie od 10°C do 40°C, korzystnie od 25°C do 30°C i dodaje schłodzony w zakresie od -20°C do 0°C, korzystnie -10°C, alkohol z grupy metanolu, etanolu, izopropanolu, 2-propanolu, korzystnie etanol. Stężenie końcowe alkoholu etylowego w zawiesinie wynosiło od 20% do 30% wagowych, korzystnie 25% wagowych. Wytrącony materiał został oddzielony na drodze sedymentacji, filtracji lub odwirowania.

Podsumowanie i możliwość wykorzystania wyników

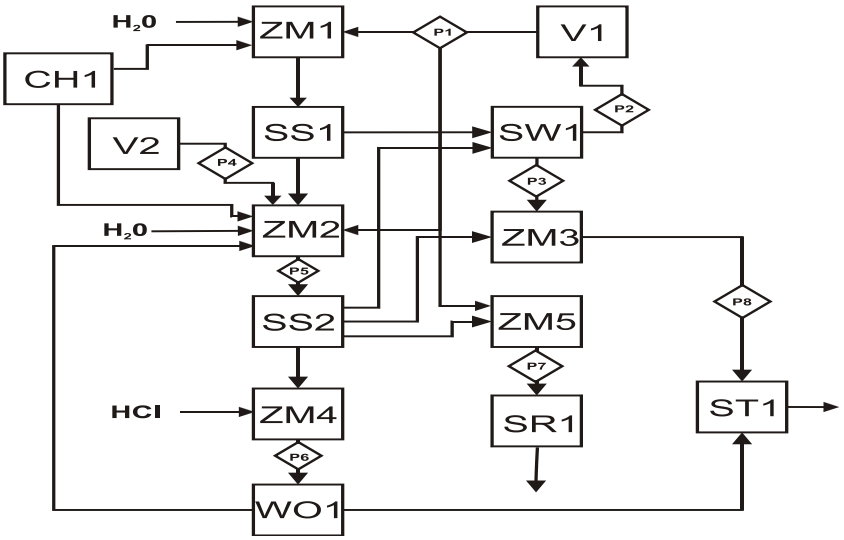
Na podstawie uzyskanych wyników stworzyłam technologię, na którą otrzymany został patent (współwłasność z podmiotem gospodarczym posiada Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu), w 2014 r. Technologia została wdrożona w 2014 r. na innowacyjnej linii technologicznej mojego współautorstwa (II.E.16) we Wrocławskim Parku Technologicznym przez podmiot gospodarczy oraz wyróżniona w 2015 r. w konkursie NOT „Za wybitne osiągnięcia w dziedzinie techniki" zrealizowane w 2014 r. (II.J.12).

Procesy wyodrębniania β-glukanu na mokro w skali przemysłowej są zwykle ograniczone wysoką lepkością ekstraktów wodnych, nawet przy niskim stężeniu β-D-glukanu, co prowadzi do powstanie dużych objętości cieczy i wysokich kosztów związanych z suszeniem i etapami odzyskiwania rozpuszczalnika. Wysoka zawartość wody stanowi również wyzwanie pod względem jakości mikrobiologicznej, stabilności lipidów owsianych i wykorzystania resztkowych strumieni bocznych. Dlatego też przy opracowywaniu składników tradycyjnych i tanich produktów żywnościowych, korzystniejsze ekonomicznie jest wykorzystanie metody frakcjonowania suchego, która eliminuje potrzebę energochłonnych etapów suszenia i jednocześnie pozwala z wyższą wydajnością masową otrzymać frakcje wzbogacone w β-D-glukan [26].

Niestety jak wspomniano wyżej, frakcje wzbogacone w β-D-glukan mają bardzo ograniczony zakres zastosowań nawet w samym przemyśle spożywczym, nie mówiąc o możliwości wykorzystania aktywności biologicznej tego polimeru w zastosowaniach farmaceutycznych. Problemy technologiczne związane z etapem suszenia i wykorzystaniem resztkowych strumieni bocznych zostały rozwiązane przeze mnie w postaci opracowania technologii biorafinacji surowca owsianego w postaci koncentratu otrąb oraz zaprojektowania linii procesowej, na której możliwa jest produkcja przemysłowa (poz.2)

2. Harasym J., Brach J., Czarnota J. L., Stechman M., Slabisz A., Kowalska A., Chorowski M., Winkowski M., Madera A., *A method of production of beta-glucan, insoluble food fibre and oat protein preparation*, Patent europejski – EP 2515672 B1– 9 strony, Data zgłoszenia – 2010-12-22 nr PCT/PL2010/050063, 10809339.4, Data publikacji o przyznaniu patentu w Bulletin EPO – 2016-07-06,

Proces wieloetapowej ekstrakcji bezodpadowej, zwanej biorafinacją, surowca owsianego charakteryzuje się tym, że surowiec rozdzielany jest na trzy strumienie produktowe bez tworzenia odpadów. Produktami są: beta-glukan, preparat nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego oraz preparat białek owsa, natomiast surowiec wyjściowy stanowi koncentrat β-D-glukan pozyskany z otrąb owsianych.



Rys.2. Schemat linii technologicznej

Przedmiotem wynalazku jest również linia technologiczna (Rys.2) charakteryzująca się tym, że tworzy ją system zbiorników i urządzeń technologicznych połączony układem

pomp i rurociągów, do którego kierowany jest surowiec i obejmujący: odbieralnik surowca (ZM1) połączony ze zbiornikiem magazynowym etanolu czystego (V1), pompy do czystego etanolu (P1), agregat chłodzący (CH1), sito wibracyjne (SS1), stację odzysku etanolu (SW1), pompę przesyłową destylatu (P8), pompę przesyłową wywaru podestylacyjnego (P7), odbieralnik surowców (ZM3), odbieralnik surowców (ZM2), pompę do ługu (P13), zbiornik ługu 20% (V3), sito wibracyjne (SS2), pompę przesyłową (P2), odbieralnik surowców (ZM5), pompę przesyłową (P5), wirówkę odśrodkową (WA1), suszarkę tacową (ST1), odbieralnik surowców (ZM4), pompę przesyłowej (P04), suszarnię rozpyłową (SR1) i pompę przesyłową (P3).

Wynalazek związany jest również ze sposobem produkcji β-glukanu, nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego oraz preparatu białek owsa, charakteryzującym się następującym przebiegiem procesów:
surowiec transportuje się do zbiornika (ZM1), gdzie dodaje się wody oraz etanolu ze zbiornika (V1) przy pomocy pompy (P1), następnie tak uzyskaną zawiesinę miesza się w temperaturze ~ 80°C; następnie schładza się wodą z agregatu chłodzącego (CH1) i kieruje na sito wibracyjne (SS1); skąd zawierający etanol przesącz kierowany jest do stacji odzysku etanolu (SW1), gdzie ulega oddestylowaniu etanol, który zawracany pompą (P8) do zbiornika (V1), a wywar z odzysku etanolu zatęża się poprzez odparowanie nadmiaru wody i tak uzyskany koncentrat kieruje się pompą (P7) do zbiornika (ZM3), natomiast zatężoną frakcję otrębową pozostającą na sicie kieruje się do zbiornika (ZM2), gdzie następnie zawiesza się ją w wodzie i roztworze NaOH podawanym przy pomocy pompy (P13) ze zbiornika (V3), a następnie miesza w temperaturze ~70°C.

Po schłodzeniu wodą z agregatu chłodzącego (CH1), zawiesinę kieruje się na sito wibracyjne (SS2) przy pomocy pompy (P2), a oddzielone części stałe kieruje się do zbiornika (ZM3), gdzie ulegają wymieszaniu z wywarem, natomiast uzyskany z sita (SS2) odciek kieruje się do zbiornika (ZM5), gdzie zakwasza się go dodatkiem HCl, a następuje wytrąca frakcję białkową. Z kolei płyn ze zbiornika (ZM5) kieruje się pompą (P5) do wirówki (WA1), gdzie oddziela się frakcję białkową, którą następnie przenosi się do suszarki tacowej (ST1), i po wysuszeniu kieruje się do konfekcjonowania. Uzyskany w etapie wirowania odciek kieruje się do zbiornika (ZM2), gdzie neutralizuje się go dodatkiem roztworu NaOH podawanym przy pomocy pompy (P13) ze zbiornika (V3), po czym następujący po neutralizacji dodatek etanolu ze zbiornika (V1) przy pomocy pompy (P1) powoduje wytrącenie β-D-glukanu. Zawiesinę kieruje się na sito wibracyjne (SS2) przy pomocy pompy (P2), skąd oddzielony w postaci stałej β-D-glukan kieruje się do zbiornika (ZM4), gdzie zawiesza się go w niewielkiej ilości etanolu podawanej ze zbiornika (V1) przy pomocy pompy (P1), a następnie pompą (P4) kieruje się go do suszarni rozpyłowej (SR1), skąd dalej kieruje się go do konfekcjonowania. Uzyskany na sicie (SS2) przesącz zawierający etanol kieruje się do stacji odzysku alkoholu (SW1), gdzie oddestylowuje się etanol, który zawraca się pompą (P5) do zbiornika (V1), następnie wywar z odzysku etanolu zatęża się poprzez odparowanie nadmiaru wody a tak uzyskany płyn kieruje się pompą (P7) do zbiornika (ZM3), gdzie miesza się go z pozostałymi składnikami, a uzyskaną zawiesinę kieruje się pompą (P3) do suszami tacowej (ST1), skąd wysuszony preparat nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego kieruje się do konfekcjonowania.

Podsumowanie i możliwość wykorzystania wyników

Na podstawie uzyskanych wyników eksperymentalnych opracowana została technologia, która otrzymała patent europejski w 2016 r. Technologia stała się punktem wyjścia do skonstruowania innowacyjnej linii technologicznej wg projektu mojego

współautorstwa (II.E.16) we Wrocławskim Parku Technologicznym i została tam wdrożona w 2010 r. przez podmiot gospodarczy (III.Q.9) oraz wyróżniona w 2011 r. w konkursie NOT Nagrodą I stopnia „Za wybitne osiągnięcia w dziedzinie techniki" zrealizowane w 2010 r (III.D.3). β-D-glukan wytworzony wg tej technologii przez podmiot gospodarczy został dostarczony do badań zaplanowanych i wykonanych w ramach grantu realizowanego we współpracy z wydziałami Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (WNoŻCZiK i WMW, kierownik prof. dr hab. J. Gromadzka-Ostrowska) i finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki NN312427440 pt. *Wpływ beta-glukanów z owsa na proces zapalny w przewodzie pokarmowym* (2011-2014).

β-D-glukan z owsa o wiązaniach 1-3, 1-4 jest związkiem o udokumentowanym wieloma pracami badawczymi oddziaływaniu na zdrowie, w związku z czym pozyskał zezwolenia Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA – European Food Safety Authority) na stosowanie tzw. „oświadczeń zdrowotnych" na produktach go zawierających wytwarzanych i wprowadzanych do obrotu w Unii Europejskiej. Również na rynku międzynarodowym jest substancją rozpoznawalną i zaakceptowaną m.in. przez amerykańską Food and Drug Administration. Świadczy to o jego znaczącym potencjale rynkowym i uzasadnia dalsze poszukiwanie i rozwój sposobów jego izolowania z surowców pierwotnych. Jednocześnie wskazane jest opracowanie takiego procesu, który charakteryzuje się niskim zużyciem mediów procesowych przy równoczesnej wysokiej wydajności wyodrębnienia substancji aktywnej z surowca, co decyduje w obecnych warunkach ekonomicznych o opłacalności jego przemysłowego wykorzystania.

Wcześniej opracowane sposoby pozwalają na pozyskanie do 70% beta-glukanu zawartego w surowcu. Nieoczekiwanie okazało się, że bardzo skuteczne jest wykorzystanie zjawiska kawitacji, wywoływanej przez falę ultradźwiękową rozprzestrzeniającą się w ośrodku zawierającym wodę, do podniesienie efektywności ekstrakcji substancji aktywnej z surowca owsianego, przy jednoczesnej redukcji wartości parametrów procesowych, a zwłaszcza znaczącemu obniżeniu temperatury etapów procesowych. Otrzymane wyniki zostały zaprezentowane w publikacji patentowej (poz. 3).

3. Harasym J., Tytuł: *Sposób wyodrębniania beta-glukanu ze zbóż*, Patent RP –224430. Data wydania decyzji - 2016-06-13

Kawitacja to zjawisko fizyczne polegające na gwałtownej przemianie fazowej z fazy ciekłej w fazę gazową pod wpływem zmniejszenia ciśnienia. Kiedy ciecz gwałtownie przyśpiesza zgodnie z zasadą zachowania energii, ciśnienie statyczne cieczy maleje. W stanie gazowym rozpuszczalnik penetruje substancję ekstrahowaną z większą skutecznością niż w stanie ciekłym. Pozwala to na podniesienie efektywności ekstrakcji oraz skrócenie czasu trwania procesu.

Istota wynalazku polega na wykorzystaniu zjawiska kawitacji w trakcie wyodrębniania β-1-3,1-4-D-glukanu z surowca zbożowego zwłaszcza owsianego. Surowiec zbożowy, taki jak ziarno, zmielone ziarno lub jego frakcje jak np. mąka lub otręby poddane są odtłuszczaniu w warunkach umożliwiających powstanie zjawiska kawitacji, szczególnie kawitacji sonicznej. Intensywne mieszanie na skutek zjawiska kawitacji powoduje efektywną penetrację matrycy tkanki roślinnej przez rozpuszczalnik o zmiennym stanie skupienia, a co za tym idzie odtłuszczenie surowca i transport masy lipidów do 50% roztworu woda: rozpuszczalnik organiczny, korzystnie alkohol etylowy,

utworzonego w zakresie stosunków masowych względem surowca odpowiednio od 1:1 do 1:5, korzystnie 1:3. Proces odtłuszczania przy pomocy mieszania kawitacyjnego prowadzony jest w temperaturze od 0° C do 60 ℃, korzystnie 25 ℃. Odtłuszczony surowiec poddawany jest ekstrakcji wodnej z wykorzystaniem kawitacji, szczególnie kawitacji sonicznej, w stosunku masowym rozpuszczalnika jakim jest woda względem masy pierwotnej surowca w procesie odpowiednio od 5:1 do 20:1, korzystnie 10:1. pH procesu ekstrakcji wynosi od 6,0 do 8,0, korzystnie 7,0 i jest osiągane przez stosowny dodatek związku chemicznego podnoszącego zasadowość środowiska, korzystnie wodorotlenku metalu. Temperatura procesu ekstrakcji w kawitatorze wynosi od 1℃ do 60 ℃, korzystnie 30℃, a ekstrakt wodny oddzielany od zawiesin nierozpuszczalnych metodami typowymi spośród filtracji, wirowania, sedymentacji lub flokulacji. Separacja ekstraktu od części stałych zachodzi metodami typowymi, a odciek zawierający ekstrakt wodny odtłuszczonego surowca poddawany jest obróbce w kawitatorze, zwłaszcza kawitacją soniczną w czasie 10 – 60 min, korzystnie 30 min w celu denaturacji białek, a następnie białka są oddzielane z roztworu metodami typowymi spośród filtracji, wirowania, sedymentacji lub flokulacji. Następnie odbiałczony odciek zawierający ekstrakt wodny poddawany jest obróbce kawitacyjnej, zwłaszcza kawitacją soniczną w obecności rozpuszczalnika organicznego, korzystnie alkoholu etylowego, w stosunku od 1: 0,1 do 1: 0,3, korzystnie 1:0,2, w temperaturze 0° C do 30 ℃, korzystnie od 15℃, prowadzącej do wytrącenia się beta-glukanu, który po oddzieleniu typowymi metodami jest suszony.

Podsumowanie i możliwość wykorzystania wyników

W efekcie przeprowadzonych badań nad wykorzystaniem kawitacji opracowałam rozwiązanie technologiczne, którego własność została przeniesiona na podmiot gospodarczy, który uzyskał na zbudowaną na ich podstawie technologię patent w 2016 r.(poz. 3), również w 2016 zostało wykonane rozszerzenie zgłoszenia w trybie PCT. Technologia ta pozwala na wytworzenie w sposób ekonomiczny β-D-glukanu o wysokiej czystości, co umożliwia badanie jego zastosowań w przemyśle farmaceutycznym. Podmiot gospodarczy prowadzi dalsze działania w zakresie przemysłowego i naukowego wykorzystania otrzymanego preparatu (tajemnica firmy).

Większość metod pozyskiwania β-D-glukanu skupia się na zachowaniu wysokiej masy cząsteczkowej polimeru łącząc dowiedzione korzyści zdrowotne z lepkością zależną od masy molowej preparatu [26]. Jako że, zależna od wysokiej masy molowej lepkość tworzy pewne ograniczenia [27] w zastosowaniach spożywczych podjęte zostały działania w celu ulepszenia własności funkcjonalnych i aplikacyjnych β-D-glukanu owsianego poprzez depolimeryzację. Wykazano, że depolimeryzacja z wykorzystaniem homogenizacji wysokociśnieniowej [28], sonifikacji [29], kwasu askorbinowego [30], hydrolizy enzymatycznej [31], degradacji termomechanicznej w trakcie ekstruzji [32], katalizy kwasem lub enzymami w obniżonej wilgotności [33] czy radiacji gamma [34] znajduje zastosowanie do polepszenia fizycznych i funkcjonalnych właściwości β-D-glukanu. Chociaż metody te są skuteczne w zmniejszaniu masy molowej, posiadają pewne wady jak wysoki koszt, niska wydajność czy długi czas przetwarzania. Jeżeli celem depolimeryzacji β-D-glukanu jest poprawienie właściwości reologicznych – wówczas wykorzystywana metoda jest jedynie rozpatrywana pod katem wydajności oraz kosztochłonności. Natomiast gdy celem jest utrzymanie aktywności metabolicznej, która zależna jest od budowy łańcucha – wówczas do procesu polimeryzacji należy podejść z dużą ostrożnością. Problem powyższy został opracowany w ramach Zadania 1 (Opracowanie technologii preparatów beta-glukanu) grantu

badawczego NN312427440, za które odpowiadałam jako wykonawca. Wyniki zostały przedstawione w artykule naukowym (poz. 4).

4. Harasym, J., Suchecka, D., Gromadzka-Ostrowska, J. 2015. *Effect of raw material size reduction by freeze-milling on beta-glucan recovery process from oat bran,* Journal of Cereal Sciences, 61, str. 119-125.

Brakuje szeroko zakrojonych badań klinicznych porównujących korzyści zdrowotne (metabolizm lipidów, cukrów, białek, działanie immunomodulujące) β-D-glukanu owsianego w zależności od jego masy cząsteczkowej. Immerstrand w swoich badaniach oceniał wpływ różnych preparatów β-D-glukanu różniących się masą molową na obniżenie poziomu cholesterolu (2348, 1311, 241, 56, 21 kDa na myszach) [35]. Wyniki sugerowały, że masa molowa oraz lepkość produktów zawierających β-D-glukan owsiany nie muszą być kluczowym parametrem odpowiedzialnym za działanie obniżające poziom cholesterolu. Badanie zostało wykonane dla produktów otrębowych, a nie oczyszczonego β-D-glukanu i niektóre interakcje związane z obecnością nierozpuszczalnej frakcji błonnika i substancjami aktywnymi ścian komórkowych roślin zostały pominięte. Wątpliwości związane z faktycznym oddziaływaniem metabolicznym np. w zakresie obniżania glikemii poposiłkowej zostały ostatnio potwierdzone przez He z zespołem, który wykonał meta-analizę badań klinicznych wykazując znaczące rozbieżności w oddziaływaniu preparatów owsianych vs oczyszczonego β-D-glukanu w regulacji poziomu cukru po posiłku [36].

Na podstawie wniosków z analizy wiedzy w danym zakresie możliwe było postawienie hipotezy o równie wysokiej aktywności biologicznej wysokooczyszczonego β-D-glukanu z owsa o małej masie molowej, która po ewentualnym jej potwierdzeniu, przyczyniłaby się do zwiększenia możliwości wykorzystania preparatu o małej masie molowej w tworzeniu formulacji spożywczych czy farmaceutycznych.

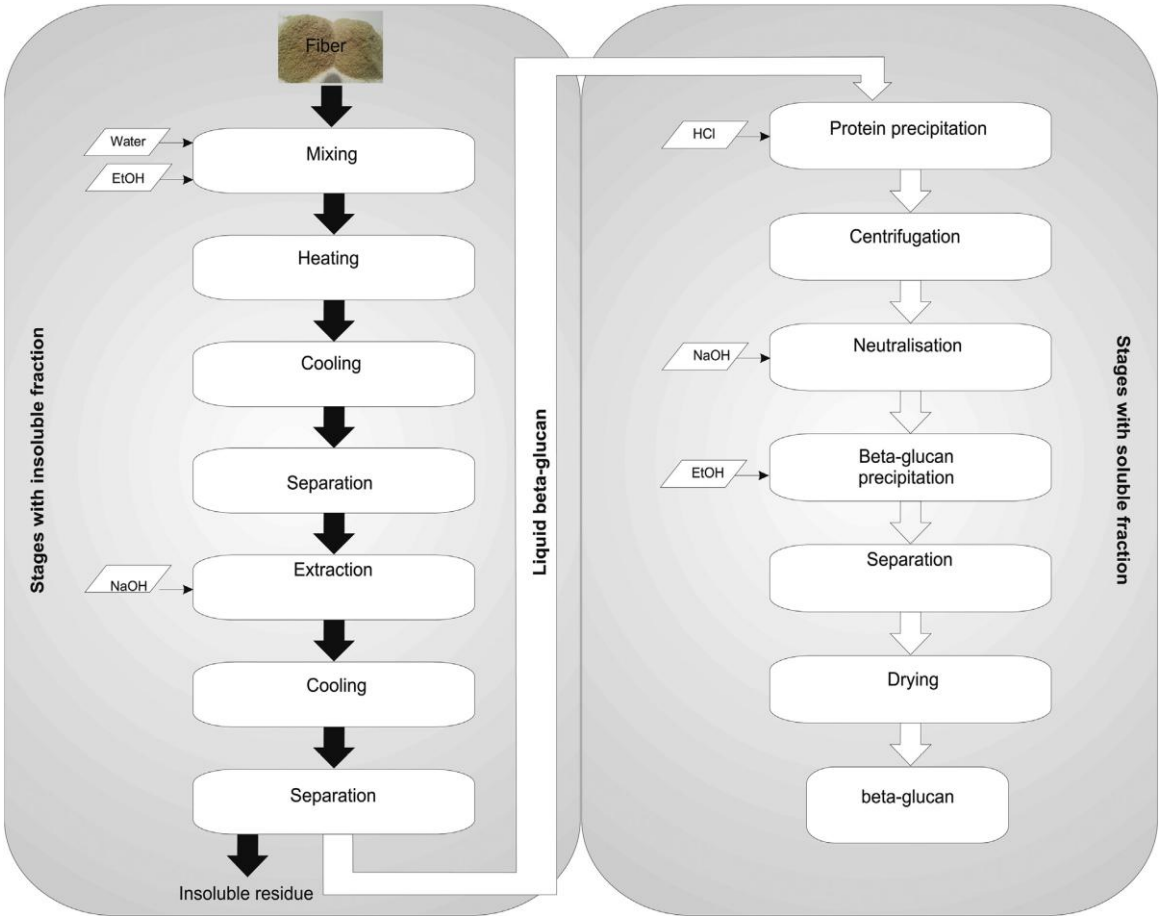
Mechaniczna obróbka surowca polisacharydowego została zweryfikowana jako skuteczna metoda na zmniejszanie cząstek i w tym celu przebadano wiele rozwiązań mechanicznych [37, 38]. Więcej możliwości pojawiło się wraz z rozwojem urządzeń do mielenia w stanie zamrożonym, a sam proces został rozpoznany jako bardzo skuteczny w procesie homogenizacji celulozy [39]. Mielenie na mokro jest technologią często wykorzystywaną w przemyśle spożywczym, umożliwiającą osiągniecie bardzo drobnego rozmiaru cząstek, jednak w procesie wyodrębniania β-D-glukanu nie znajduje aż takiego zastosowania z uwagi na jego właściwości żelujące.

Podjęto pewne próby zastąpienia mielenia na mokro w przetwórstwie zbóż mieleniem w stanie zamrożonym. Ngamnikom i Songsermpong [40] testowali trzy różne typy młynów (młotkowy, walcowy i palcowy) w procesie mielenia mąki ryżowej na sucho i w stanie zamrożonym. Uzyskane rezultaty wskazują, że mielenie w stanie zamrożonym z wykorzystaniem młyna młotkowego znacząco zmniejsza zarówno rozmiar cząstek jak i udział skrobi uszkodzonej oraz daje efekt w postaci wyższej wydajności po przesiewaniu w porównaniu z procesem suchego mielenia na tym samym młynie. Porównując - proces mielenia na mokro wykazuje znacząco wyższe właściwe zużycie energii z uwagi na duże potrzeby energetyczne różnych maszyn w całym procesie, podczas gdy mielenie na sucho czy w stanie zamrożonym wykazują się podobnym zużyciem energii.

Dlatego celem badania była ocena wpływu mielenia w stanie zamrożonym w krzyżowym młynie bijakowym stosowanego jako obróbka przedwstępna surowca w

procesie ekstrakcji otrąb owsianych w celu wyodrębnienia beta-glukanu w skali pilotażowej.

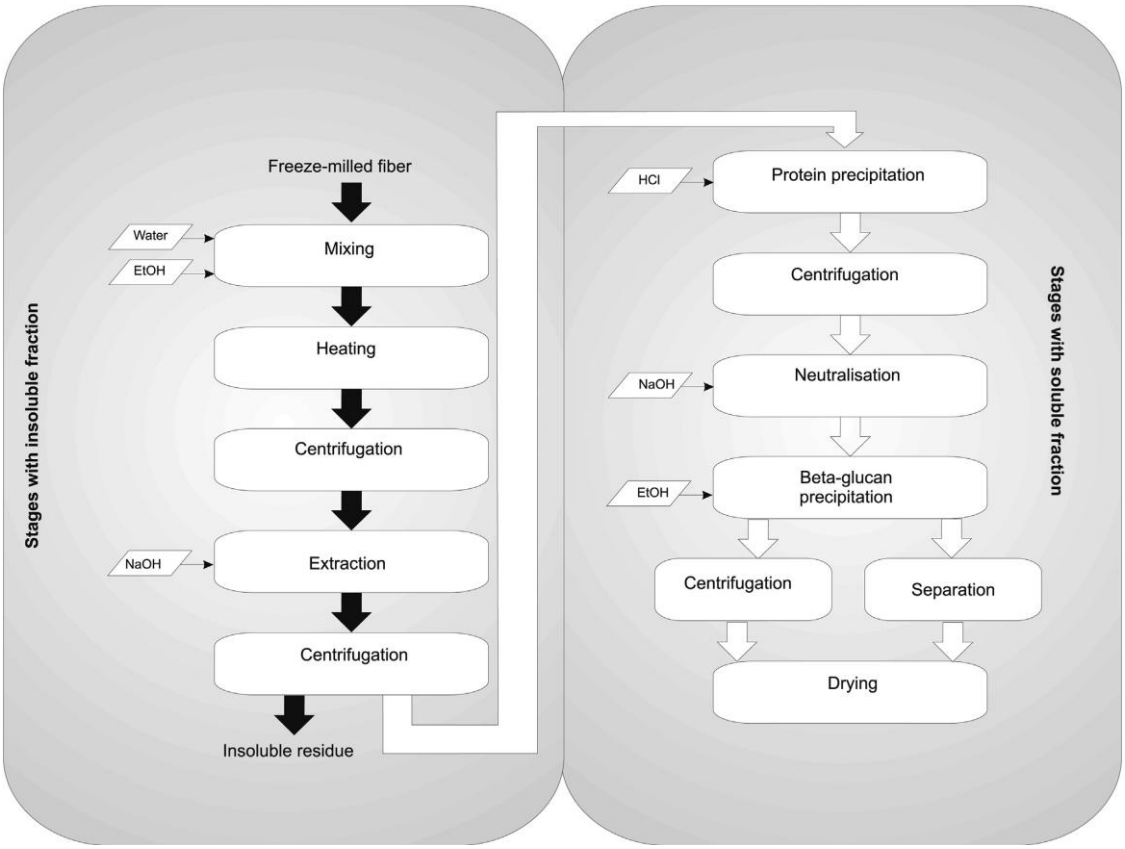
Aby porównać wpływu procesu mielenia w stanie zamrożonym na charakterystykę procesu ekstrakcji β-D-glukanu przeprowadzono proces jego izolacji wg metody opisanej w poz. 2 (Rys.3).



Rys. 3. Schemat procesu wyodrębniania β-D-glukanu o dużej masie molowej

Błonnik owsiany do ekstrakcji β-D-glukanu został przygotowany przez zamrożenie otrąb owsianych przez 24 godzin w temperaturze -20ºC w zamrażarce (M 410, New Brunswick Scientific), a następnie mielenie zamrożonego materiału w krzyżowym młynie bijakowym (SK 100, Retsch) o rozmiarze oczek 0,200 mm, a następnie kilkakrotne powtórzenie procedury. Mielenie w stanie zamrożonym zostało ocenione jako najbardziej skuteczna metoda do zmniejszenia wielkości cząstek. Rozdrabnianie odbywa się w krzyżowym młynie bijakowym w efekcie udaru oraz działania sił ścinających. Materiał przechodzi przez lej bezpośrednio do środka komory mielenia, a następnie wychwytywany jest przez bijak krzyżowy i miażdżony pomiędzy płytkami młyna a uzębioną częścią bijaka.

Zmniejszenie rozmiarów surowca spowodowało, że konieczne stało się zmodyfikowanie procesu, w którym nieprzydatne okazało się wykorzystanie filtracji, którą zastąpiono wirowaniem. W efekcie preparat β-D-glukanu o małej masie molowej został otrzymany wg zmodyfikowanej procedury przeprowadzonej zgodnie ze schematem zamieszczonym na Rys. 4.



Rys.4. Schemat procesu wyodrębniania β-D-glukanu o małej masie molowej

Charakterystykę parametrów procesu oraz uzyskanych preparatów β-D-glukanu przedstawiono w tabelach 1 i 2.

Tabela 1. Wydajność i parametry procesowe

	Process yield [%]	Beta-glucan yield [%]	Oat oil yield [%]	Moisture of beta-glucan preparation [%]	Insoluble residue [%]
CP	18.75	54.89	62%	9.5	29.8
MP	19.25	64.03	81%	5.2	20.8

CP — control process.
MP — modified process.

Tabela 2. Fizykochemiczne właściwości uzyskanych preparatów β-D-glukanu

	Purity [%]	Molecular weight g/mol]	Viscosity [mm^2/s]	Solubility [%]
BG	84.4 ± 1.87	69,652.7 ± 11,935.77	0.56 ± 0.04	88.1 ± 1.21
BGC	74.1 ± 1.44	2,179,701 ± 16,3012.6	4.96 ± 0.25	69.3 ± 0.72

BG — low-molecular beta-glucan isolate.
BGC — control beta-glucan isolate.

Podsumowanie i możliwość wykorzystania wyników

Uzyskane wyniki opublikowano w znaczącym dziedzinowym czasopiśmie o czasopiśmie o współczynniku wpływu IF = 2,402, a wyniku przeprowadzonych badań możliwe było uzyskanie wysokooczyszczonej frakcji β-D-glukanu o małej masie molowej, która została wykorzystana w badaniach wykonanych w ramach grantu badawczego finansowanego z Narodowego Centrum Nauki. Jednocześnie sporządzono zgłoszenie patentowe chroniące opracowane rozwiązanie (III.Q.5).

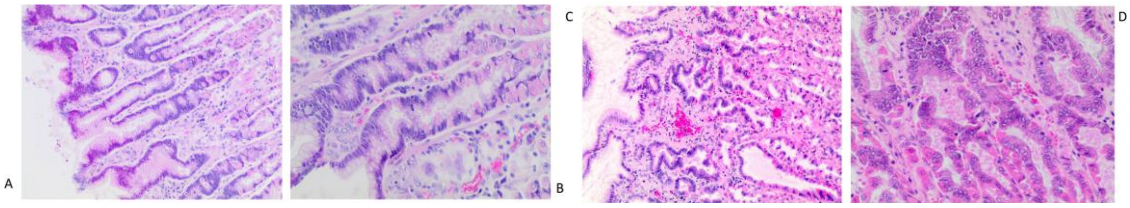
Wiele badań potwierdza pozytywny wpływ β-D-glukanu z owsa na stan przewodu pokarmowego; przy czym należy wskazać, że w przeważającej większości zbadana aktywność została oceniona z wykorzystaniem bardzo różnych źródeł β-D-glukanu jako otręby owsiane, koncentraty otrąb owsianych lub produkty żywnościowe zawierające określoną ilość β-D-glukanu (3-30%). Stąd wnioski dotyczące aktywności β-D-glukanu mogą być nieprecyzyjne z uwagi na oddziaływanie innych substancji. Dodatkowo należy zauważyć, że zastosowanie otrębów owsianych lub koncentratów otrębów owsianych w interwencjach dietetycznych w nieswoistym zapaleniu jelit jest ograniczona z powodu drażniącego działania frakcji celulozy.

Ponieważ to właśnie stany zapalne żołądka powodują wiele dolegliwości bólowych i stanowią początek wielu poważniejszych problemów związanych z zaburzeniami homeostazy jak np. zmiany nowotworowe, stanowi to istotną przesłankę do szczególnego skupienia się nad tym problem w aspekcie wykorzystania biologicznej aktywności β-D-glukanu z owsa o różnych masach molowych. Powyższy problem został przebadany, a jego wyniki zostały przedstawione w poniższej publikacji (poz.5).

5. Suchecka, D., Błaszczyk, K., Harasym, J., Gudej, S., Wilczak, J., Gromadzka-Ostrowska, J. 2017. *Impact of purified oat 1-3, 1-4-β-D-glucan of different molecular weight on alleviation of inflammation parameters during gastritis*, Journal of Functional Foods, 28, str. 11-18.

Celem eksperymentu było zbadanie wpływu suplementacji diety β-D-glukanu z owsa o różnych masach molowych na stan ostrego zapalenia błony śluzowej żołądka. W niniejszym badaniu wykorzystano model wywoływania zapalenia żołądka z wykorzystaniem roztworu dezoksycholanu. W celu zbadania, wpływu β-D-glukanu z owsa na ostre zapalenie tkanki żołądka, które są stanem chorobowym mogącym w dłuższej perspektywie czasowej prowadzić do przewlekłego zapalenia i nowotworów żołądka, badaliśmy parametry stresu oksydacyjnego i obrony, jak również poziomy cytokin zaangażowanych w odpowiedź zapalną błony śluzowej żołądka.

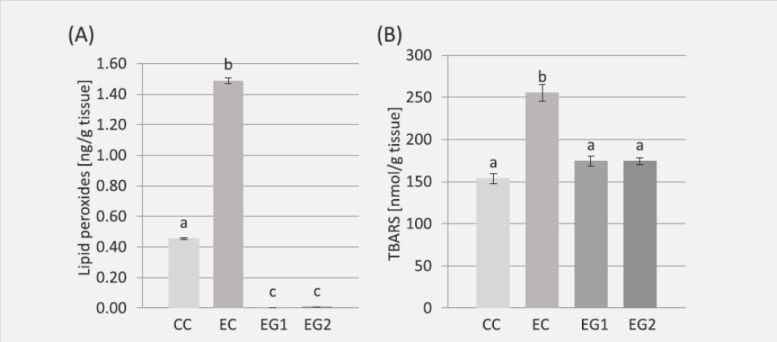
Zdjęcia histopatologiczne potwierdziły wywołanie ostrych stanów zapalnych żołądka u zwierząt modelowych (Rys. 5)



Rys.5. Stomach histological states from control (Ax100, Bx200) and deoxycholate treated (Cx100, Dx200) rats (hematoxylin-eosin stain): Microscopic picture of upper part of fundic mucosa of rat with normal morphology: A – Few intraepithelial lymphocytes present in superficial epithelium, B – Two mitotic figures present in isthmus of gastric glands; Microscopic picture of upper part of fundic mucosa of rat with mild foveolar hyperplasia: C – faveoli are slightly dilated and tortuous, one markedly dilated gland is present on the right side, D – faveoli are slightly dilated and tortuous and contain proteinaceous material.

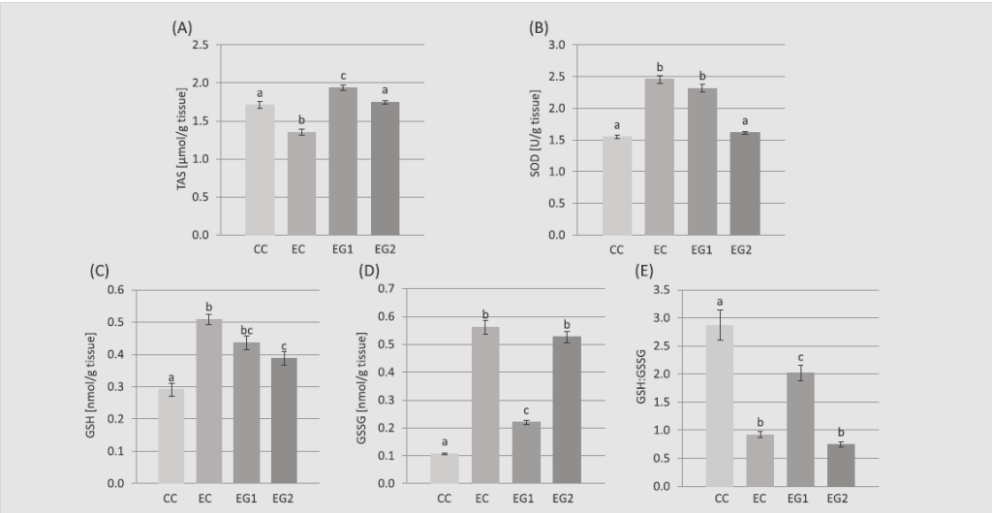
W niniejszym badaniu zaobserwowano podwyższone stężenie utlenionych lipidów i parametru TBARS w żołądku szczurów z wywołanym zapaleniem żołądka, co sugeruje, że dezoksycholan sodu spowodowane wzmożone wytwarzanie reaktywnych form tlenu oraz wyższy poziom stresu oksydacyjnego w tej tkance. Nasze wyniki wskazują, że

frakcje o dużej i małej masie molowej β-D-glukanu z owsa skutecznie obniżają poziom peroksydacji lipidów i wzrost całkowitego statusu przeciwutleniającego (TAS) w tkankach żołądka szczurów z indukowaną zapaleniem błony śluzowej żołądka (Rys. 6)



Rys.6. Oxidative stress parameters in stomach tissue. Data are shown as means ± SE. A – lipid peroxides concentration; B – thiobarbituric acid reactive substances concentration. Different letters indicate statistically significant differences between groups. (CC – control group, EC – experimental control group, EG1 – experimental group fed with high molecular weight b-glucan, EG2 – experimental group fed with low molecular weight b-glucan).

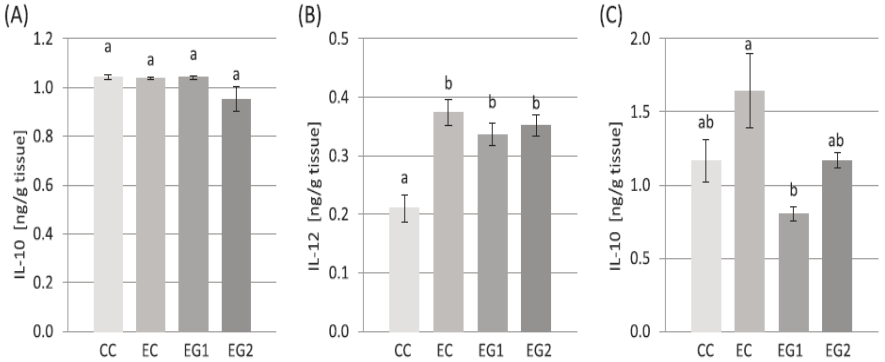
Zbadano także zmiany stężenia glutationu, który jest jednym z najważniejszych wewnątrzkomórkowych przeciwutleniaczy. Glutation jest przekształcany do formy utlenionej: disiarczek glutationu (GSSG) w procesie wychwytywania wolnych rodników katalizowanym przez rodzinę enzymów peroksydazy glutationowej. Wysoki stosunek GSH:GSSG w komórkach jest niezbędny do utrzymania obrony antyoksydacyjnej i chroni tkanki przed uszkodzeniem oksydacyjnym. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy, że zapalenie żołądka znacznie obniża stosunek GSH:GSSG, a suplementacja diety β-D-glukanem o wysokiej masie molowej częściowo zapobiegła zmniejszeniu się tego stosunku u szczurów z zapaleniem żołądka, co sugeruje jej silne działanie przeciwutleniające i ważną rolę w utrzymaniu równowagi redoks (Rys. 7).



Rys. 7. Antioxidative potential and antioxidative status of stomach tissue. Data are shown as means ± SE. A – TAS; B – superoxide dismutase concentration; C – glutathione concentration; D – glutathione disulfide concentration; F – glutathione to glutathione disulfide concentrations ratio. Different letters indicate statistically significant differences between groups. (CC – control group, EC – experimental control group, EG1 –experimental group fed with high molecular weight b-glucan, EG2 – experimental group fed with low molecular weight b-glucan).

W badaniu zauważono również znaczny wzrost stężenia prozapalnej cytokiny IL-12 w żołądkach szczurów z indukowanym zapaleniem żołądka, a także niewielki, ale nieistotny statystycznie wzrost TNF-α. To częściowo pokrywa się z ustaleniami Diakowskiej i wsp. [41], którzy obserwowali zwiększony poziom IL-12 u chorych na raka żołądka. Jednocześnie nasze dane nie wykazują żadnych zmian w stężeniu cytokin przeciwzapalnych IL-10 w ścianie żołądka szczurów z wywołanym zapaleniem żołądka. Suplementacja diety β-D-glukanem, niezależnie od jego masy molowej, nie miało istotnego wpływu na stężenia IL-12, co oznacza, że β-D-glukan, nie działa poprzez mechanizm hamowania aktywacji makrofagów w nabłonku ściany żołądka.

Jednakże, zaobserwowano znaczący spadek poziom TNF- α w grupie karmionej β-D-glukanem o dużej masie molowej w porównaniu zarówno do grupy kontrolnej, jak i grupy karmionej preparatem o małej masie molowej. Wyniki te ujawniają przeciwzapalne i immunomodulujące działanie tego β-D-glukanu z owsa w obu stanach fizjologicznym i patologicznym. Ponadto, β-D-glukan o małej masie molowej (EG2) zmniejszał stężenie IL-10 z błonie śluzowej żołądka u szczurów, co sugeruje jego właściwości przeciwzapalne (Rys.8).



Rys.8 Cytokines concentration in stomach tissue. Data are shown as means ± SE. A – IL-10 concentration; B – IL-12 concentration; C – TNF-a. Different letters indicate statistically significant differences between groups. (CC – control group, EC – experimental control group, EG1 – experimental group fed with high molecular weight b-glucan, EG2 – experimental group fed with low molecular weight b-glucan).

Wiadome jest, że indukcja zapalenia żołądka deoksycholanem prowadzi do aktywacji receptorów TLR i następnie kaskady sygnałowej, która stymuluje syntezę IL-10 [42]. Jest możliwe, że w obecności β-D-glukanu o małej masie molowej aktywacja TLR jest tłumiona, co prowadzi do zmniejszenia wytwarzania cytokin IL-10.

Podsumowanie i możliwość wykorzystania wyników

Uzyskane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokim współczynniku wpływu IF=3.973. Wraz z pozostałymi wynikami uzyskanymi w efekcie realizacji grantu badawczego umożliwiły postawienie nowych hipotez badawczych, które stały się podstawą naukową kolejnego projektu badawczego pt. *Wpływ nierozpuszczalnej frakcji beta-glukanów owsa na nieswoiste stany zapalne jelita grubego*, który otrzymał dofinansowanie z programu Opus Narodowego Centrum Nauki (UMO-2015/17/B/NZ9/01740 – kierownik prof. dr hab. J. Gromadzka-Ostrowska), a w którym jestem głównym wykonawcą (Zad.1 – Otrzymywanie i charakterystyka odbiałczonych frakcji beta-glukanów owsa) (II.I.10).

Wnioski

Opracowane metody ekstrakcji β-D-glukanu z owsa umożliwiają selektywne otrzymywanie frakcji o różnych masach molowych. Wyodrębnianie preparatu β-1-3, 1-4-D-glukanu o wysokiej masie molowej uzależnione jest m.in. od kontroli aktywności enzymu selektywnie rozkładającego ten związek, jakim jest endogenna 1-3, 1-4, β-D-glukanohydrolaza obecna w ziarnach zbóż. Enzym ten po inaktywacji m.in. z wykorzystaniem napromieniowania mikrofalami surowca przestaje wpływać na skracanie się łańcucha polimeru, co przy wykorzystaniu ekstrakcji alkalicznej umożliwia otrzymanie β-D-glukanu o masie molowej w zakresie 2000-3000 g/mol. Z kolei otrzymywanie β-D-glukanu o niskiej masie molowej często realizowane jest z wykorzystaniem metody enzymatycznej dekompozycji łańcucha, co daje rezultat w postaci mieszanki oligomerów niemającej odpowiednika w faktycznej częstotliwości wiązań występujących w β-D-glukanie. W naszych badaniach stworzyliśmy metodę nieenzymatycznej dekompozycji β-D-glukanu, która pozwala na otrzymanie czystego preparatu o niskiej masie molowej <100 g/mol.

Mając na uwadze ogólną wydajność procesu, należy uwzględnić fakt, że ważnym czynnikiem wpływającym opłacalność technologii jest to, jak duża część frakcji owsa (zwykle tylko koncentrat β-glukanu, a właściwie jego izolat) może być wykorzystywana w produktach spożywczych o dużej wartości dodanej. Na przykład, z procesów suchych wszystkie frakcje owsa są łatwe do przechowywania i dostarczania do innych rodzajów zastosowań, ale są to zastosowania ograniczone właściwościami fizykochemicznymi tych frakcji. Jedną z możliwości może być połączenie zalet obu ekstrakcji na sucho i na mokro. W tego rodzaju procesie, pierwszy (na sucho) etap zatężania przyniósłby, w sposób ekonomiczny, surowiec częściowo wzbogacony w β-D-glukanu.

Takie podejście zostało wykorzystane przeze nie w badaniach, w których opracowana została technologia biorafinacji błonnika owsianego o wysokiej zawartości β-D-glukanu, która pozwala na uzyskanie w sposób bezodpadowy trzech frakcji: wysokooczyszczonego preparatu β-glukanu, preparatu białka owsianego oraz błonnika nierozpuszczalnego.

β-D-glukan z owsa przyjmowany w diecie ujawnił działanie wspierające utrzymanie naturalnej obrony antyoksydacyjnej organizmu na właściwym poziomie. Pomimo uznanego oddziaływania prozdrowotnego w przypadku chorób żołądka otręby owsiane ze względu na wysoką zawartość frakcji nierozpuszczalnej - celulozy mogą powodować negatywne objawy pochodzące od mechanicznego podrażnienia. Oczyszczona postać β-D-glukanu z owsa, nie powoduje takich negatywnych objawów Doświadczenie wykazało znaczące różnice pomiędzy działaniami preparatów o różnych masach molowych, a wyniki mogą być następnie wykorzystywany do tworzenia schematów interwencji dietetycznych, gdyż choroby przewodu pokarmowego są szczególnie podatne na ten rodzaj kuracji.

Piśmiennictwo

1. Zhu, F. M., Du, B., Bian, Z. X., & Xu, B. J. (). Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: characteristics, physicochemical and biological activities. Journal of Food Composition and Analysis, 2015, 41, 165-173.
2. Zhu, F., B. Du, and B. Xu. A Critical Review on Production and Industrial Applications of Beta-Glucans. 2016. *Food Hydrocolloids* 52: 275-288.
3. Borchani, C., F. Fonteyn, G. Jamin, J. Destain, L. Willems, M. Paquot, C. Blecker, and P. Thonart. 2016. "Structural Characterization, Technological Functionality, and Physiological Aspects of Fungal β-D-Glucans: A Review." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56 (10): 1746-1752.
4. Xu, L. and J. Zhang. 2016. "Bacterial Glucans: Production, Properties, and Applications." *Applied Microbiology and Biotechnology* 100 (21): 9023-9036. doi:10.1007/s00253-016-7836-

5. Hu, X., J. Zhao, Q. Zhao, and J. Zheng. Structure and Characteristic of β-Glucan in Cereal: A Review. *Journal of Food Processing and Preservation,* 2015. 39 (6): 3145-3153.
6. Redmond, M. J., & Fielder, D. A. (2006). Extraction and purification method for cereal beta-glucan. US patent 012149 A1.
7. Lazaridou A., Biliaderis C. G.: *Molecular aspects of cereal β-glucan functionality: Physical properties, technological applications, and physiological effect*s. Journal of Cereal Science, 2007, 46(2), 101-118.
8. Johansson, L., M. Karesoja, P. Ekholm, L. Virkki, and H. Tenhu. 2008. "Comparison of the Solution Properties of (1→3),(1→4)-β-d-Glucans Extracted from Oats and Barley." *LWT - Food Science and Technology* 41 (1): 180-184.
9. Ryu, J. -H, D. -H Yoo, B. -H Lee, S. Lee, M. H. Joo, and S. -H Yoo. 2009. "Linkage Structure Analysis of Barley and Oat β-Glucans by High Performance Anion Exchange Chromatography." *Food Science and Biotechnology* 18 (1): 271-274
10. Gibiński M., Sikora M.: *Spożywcze i niespożywcze zastosowanie β-glukanów*. Uniwersytet Rolniczy w Krakowie. Kraków
11. Daou, C., & Zhang, H. Oat beta-glucan: its role in health promotion and prevention of diseases. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 201211, 355-365.
12. El Khoury D., Cuda C., Luhovyy B. L., Anderson G. H.: *Beta glucan: Health benefits in obesity and metabolic syndrome.* Journal of Nutrition and Metabolism, 2012 doi:10.1155/2012/851362
13. Johansson L., Tuomainen P., Ylinen M., Ekholm P., Virkki L.: *Structural analysis of water-soluble and - insoluble β-glucans of whole-grain oats and barley.* Carbohydrate Polymers, 2004, 58(3), 267-274.
14. Hu X., Zhao J., Zhao Q., Zheng J.: *Structure and characteristic of β-glucan in cereal: A review.* Journal of Food Processing and Preservation 2015, 39(6), 3145-53.
15. Harland, J.: *Authorised EU health claims for barley and oat beta-glucans.* Foods, nutrients and food ingredients with authorised EU health claims. 2014, 25-45)
16. Butt M.S., Tahir-Nadeem M., Khan M.K.I., Shabir R., Butt M.S.: *Oat: Unique among the cereals.* European Journal of Nutrition, 2008,47(2), 68-79.
17. Peterson D.M.: *Oat lipids: Composition, separation and application*, Lipid Technology, 2002,14 (0), 56-59
18. P.J. Wood, *Oats: Chemistry and Technology*, 1986, 121-152
19. http://www.blonniknaturalny.pl/
20. http://www.dsm.com/markets/foodandbeverages/en_US/products/nutraceuticals/oatwell.html
21. Lehtinen P., Kaukovirta-Norja A., Sibakov J., Myllymäki O., Poutanen K., Pihlava J-. : *Functional oat* ingredients - *opportunities and challenges for food technology.* Cereal Foods World, 2009, 54(6), 267-71.
22. 22 Vasanthan T., Temelli F.: *Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration.* Food Research International, 2008,41(9),876-81.
23. Skendi, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., & Izydorczyk, M. S. (2003). Structure and rheological properties of water soluble b-glucans from oat cultivars of Avena sativa and Avena byzantina. Journal of Cereal Science, 38, 15-31.
24. Wang L., Lynch I.E., Goering K.: *Production of β-glucan and β-glucan product*, US 5512287 A
25. Morgan K. R.: *Beta-glucan products and extraction processes from cereals* , US 6426201
26. Sibakov J, Myllymäki O, Holopainen U, Kaukovirta-Norja A, Hietaniemi V, Pihlava J-, Lehtinen P, Poutanen K.: *Minireview: β-glucan extraction methods from oats*. Agro Food Ind Hi-Tech 2012,23(1),10-2.
27. Sibakov, J., Myllymaaki, O., Suortti, T., Kaukovirta-Norja, A., Lehtinen, P., Poutanen, K., 2013. *Comparison of acid and enzymatic hydrolyses of oat bran b-glucan at low water content*. Food Res. Int. 52, 99-108.
28. Laakso, S., Lehtinen, P., 2005. *Fiber composition in liquid form*. PCT application. WO2006/040395 A1.
29. Vårum, K.M., Smidsrød, O., Brant, D.A., 1992. *Light scattering reveals micelle-like aggregation in the (1 / 3), (1 / 4)-b-D-glucans from oat aleurone*. Food Hydrocoll. 5, 497-511.
30. Kivela, R., Gates, F., Sontag-Strohm, T., 2009. *Degradation of cereal b-glucan by ascorbic acid induced oxygen radicals*. J. Cereal Sci. 49, 1-3.
31. Shimokawa, T., Yoshida, S., Takeuchi, T., Murata, K., Ishii, T., Kusakabe, I., 1996.*Preparation of two series of oligo-guluronic acids from sodium alginate by acid hydrolysis and enzymatic degradation*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 60, 1532-1534.
32. Tosh, S.M., Brummer, Y., Miller, S.S., Regand, A., Defelice, C., Duss, R., Wolever, T.M., Wood, P.J., 2010. *Processing affects the physicochemical properties of b-glucan in oat bran cereal.* J. Agric. Food Chem. 58, 7723-7730.

33. Kaukovirta-Norja, A., Lehtinen, P., Virkaj€arvi, I., Suortti, M., Myllymaaki, O., Helin, J., 2009. Method of processing b-glucan. PCT application. WO 2009/077659 A1.
34. Sung, N.-Y., Byun, E.eH., Kwon, S.eK., Song, B.eS., Choi, J.eI., Kim, J.eH.,Byun, M.eW., Yoo, Y.eC., Kim, M.eR., Lee, J.eW., 2009. *Immune-enhancing activities of low molecular weight b-glucan depolymerized by gamma irradiation* Radiat. Phys. Chem. 78, 433-436.
35. Immerstrand, T., Andersson, K.E., Wange, C., Rascon, A., Hellstrand, P., Nyman, M.S., Cui, W., Bergenståhl, B., Traagårdh, C., Oste, R., 2010. *Effects of oat bran, processed to different molecular weights of beta-glucan, on plasma lipids and caecal formation of SCFA in mice.* Br. J. Nutr. 104, 364e373.
36. He L., Zhao J., Huang J. Li Y.: *The difference between oats and beta-glucan extract intake in the management of HbA1c, fasting glucose and insulin sensitivity: a meta-analysis of randomized controlled trials,* Food Funct**.,** 2016,**7**, 1413-1428
37. Niemi, P., Faulds, C.B., Sibakov, J., Holopainen, U., Poutanen, K., Buchert, J., 2012. *Effect of a milling pre-treatment on the enzymatic hydrolysis of carbohydrates in brewer's spent grain*. Bioresour. Technol. 116, 155e160.
38. Benito-Roman, O., Sanchez, E.A., Bautista, F.J.C., Calvo, M.A.S., Yagüe, S.L., 2010. *Beta-glucan enriched products obtained from different barley milling fractions and their mixtures*. In: 13th International Conference on Process Integration, Modelling and Optimisation for Energy Saving and Pollution Reduction, PRES 2010; Prague; Czech Republic.
39. Laumer,W., Andreu, L., Helle, G., Schleser, G.H., Wieloch, T.,Wissel, H., 2009. *A novel approach for the homogenization of cellulose to use micro-amounts for stable isotope analyses*. Rapid Commun. Mass Spectrom. 23, 1934e1940.
40. Ngamnikom, P., Songsermpong, S., 2011. *The effects of freeze, dry, and wet grinding processes on rice flour properties and their energy consumption*. J. Food Eng. 104, 632e638.
41. Diakowska, D., Grabowski, K., Nienartowicz, M., Szelachowski, P., & Markocka-Mączka, K. (2011). *Stężenia interleukiny 12 i interleukiny 18 w surowicy i tkankach pacjentów z rakiem żołądka typu jelitowego*. Gastroenterologia Polska, 103–108.
42. Saito, K., Katakura, K., Suzuki, R., Suzuki, T., & Ohira, H. (2013). *Modulating Toll-like receptor 4 signaling pathway protects mice from experimental colitis,* Fukushima. Journal of Medical Science, 59, 81–88.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Moje zainteresowania naukowe lokalizują się pomiędzy mikrobiologią, biotechnologią a technologią żywności od czasów studiów na kierunku Biotechnologia, Wydziału Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej. Studia ukończyłam w 1994 z oceną bardzo dobrą, na podstawie zdanego bardzo dobrze egzaminu magisterskiego oraz broniąc tak samo ocenionej pracy pod tytułem „*Mikrobiologiczna degradacja modelowych ścieków ropopochodnych*" uzyskując tym samym tytuł magistra inżyniera biotechnologa. W tym samym roku zostałam przyjęta na Studia Doktoranckie na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, których nie podjęłam z uwagi na niekorzystne regulacje finansowe. Również w tym samym roku zatrudniłam się w Katedrze Biotechnologii Żywności Wydziału Inżynieryjno-Ekonomicznego Przemysłu, Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu na stanowisku asystenta. Moja praca naukowa związana jest z wykorzystaniem czynników fizycznych do ekstrakcji substancji aktywnych lub modyfikacji surowców roślinnych w celu ich wykorzystania w profilaktyce prozdrowotnej. Od samego początku współpracuję ściśle z przemysłem, rozwiązując istniejące problemy i tworząc innowacyjne rozwiązania i produkty.

Wśród moich zainteresowań badawczych znajdują się następujące grupy tematyczne:

<u>1. Ekstrakcja kwasów organicznych i ich soli z płynów po biosyntezie z wykorzystaniem drobnoustrojów</u>

Bezpośrednio po przyjęciu się do pracy w Katedrze Biotechnologii Żywności (obecnie Katedra Biotechnologii i Analizy Żywności) Uniwersytetu Ekonomicznego we

Wrocławiu zostałam włączona do współpracy z przemysłem rozpoczynając prace nad zleceniem z Cukrowni w Raciborzu, która zamierzała wdrożyć technologię biosyntezy kwasu cytrynowego oraz jego wydzielania (III.M.1). Tematem mojej pracy badawczej stało się opracowanie technologii wydzielania kwasu cytrynowego z podłóż po biosyntezie z udziałem pleśni *Aspergillus niger* (II.E.2) Z uwagi na docelową opłacalność procesu technologia z założenia miała wykorzystywać czynniki fizyczne, takie jak: temperatura, pH lub dodatek środków klarujących w celu wstępnego oczyszczenia roztworu po biosyntezie, aby następnie otrzymać kwas cytrynowy lub rozpuszczalne cytryniany drogą krystalizacji bezpośrednio z roztworu. Takie rozwiązanie stanowiłoby istotną alternatywę dla istniejącego procesu wyodrębniania kwasu cytrynowego, który polegał na zobojętnieniu go roztworem tlenku wapnia i uzyskaniu nierozpuszczalnego cytrynianu wapnia, następnie fizycznym oddzieleniu go od roztworu i rozłożeniu tak uzyskanej soli dodatkiem kwasu siarkowego, w efekcie, czego otrzymywano czysty wodny roztwór kwasu cytrynowego kierowany dalej do krystalizacji oraz wielkie ilości odpadu jakim był siarczan wapnia czyli gips. Metoda bezpośredniej izolacji kwasu cytrynowego z płynu po biosyntezie, zwłaszcza na podłożach zawierających melasę, stanowiła rzeczywistą potrzebę przemysłu i proekologiczną, niskoodpadową alternatywę dla istniejącego procesu.

Do produkcji kwasu cytrynowego z czystych substratów takich jak np.: cukier biały, glukoza, syrop glukozowy czy skrobia istnieje możliwość zastosowania uproszczonej tj. bezcytrynianowej metody izolacji kwasu cytrynowego. Aby otrzymać czyste kryształy kwasu cytrynowego z wysoką wydajnością konieczne jest wstępne usunięcie białka, soli mineralnych i substancji barwnych. Przebadano procesy klarowania przy użyciu bentonitów, ziemi okrzemkowej, zolu kwasu krzemowego (Klar-Sol Super), a także oszacowano wpływ temperatury. Przeprowadzone badania wykazały, że po oddzieleniu grzybni wskazane jest zastosowanie obróbki termicznej roztworów pofermentacyjnych temperaturą 70°C w czasie 30 min. Obróbka termiczna obniżała zabarwienie oczyszczanych roztworów, zmniejszała zawartość białek o około 80% oraz redukowała zmętnienie oczyszczanego roztworu o 70%. Spośród badanych środków klarujących najlepsze efekty w zakresie zmniejszenia zawartości białek, obniżenia barwy oraz redukcji zmętnienia uzyskiwano stosując bentonity. Dobre własności klarujące wykazywał również zol kwasu krzemowego (Klar-Sol Super, Erbsloh, Niemcy). Dodatek 0.25% tego środka do roztworu pofermentacyjnego redukował o 90% zmętnienie roztworu i o ponad 60% obniżał zawartość białek (II.D.5, II.D.8, III.B.1, III.B.3, III.B.9, III.B.12). W celu otrzymania cytrynianów sodu i potasu badania prowadzono na cukrowych i melasowych roztworach pofermentacyjnych otrzymanych metodą fermentacji wgłębnej pleśni *Aspergillus niger.* W trakcie badań oznaczano kwasowość ogólną, zawartość kwasu cytrynowego, pH roztworu, ilość białek i wydajność tworzenia cytrynianu sodu. Roztwory po fermentacji na podłożach cukrowych doprowadzano do pH 3,5; 4; 5; 5,2; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 13 i 13,5, a następnie poddawano je dalszej obróbce w temperaturze 60, 70, 80 i 90°C. Roztwory po fermentacji na podłożach melasowych ze względu na odmienne warunki początkowe traktowano zasadą wapniową i z otrzymanego cytrynianu wapniowego wypierano w roztworze wapń sodem przez dodatek węglanu sodu uzyskując roztwór cytrynianu sodu i strąt węglanu wapniowego. Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość otrzymywania cytrynianów sodu bezpośrednio z roztworów pofermentacyjnych poprzez uzyskanie odpowiedniej kombinacji pH i temperatury roztworu umożliwiającej maksymalne wytrącenie substancji białkowych oraz otrzymanie czystych bezbarwnych kryształów cytrynianów. Metoda charakteryzowała się również znikomą ilością odpadów i wyjątkowo małą

uciążliwością dla środowiska (II.D.4, II.E.6, III.B.4, III.B.7, III.B.8). Do czynników fizycznych wykorzystywanych od oczyszczenia roztworu po biosyntezie kwasu cytrynowego wykorzystywano również ultrafiltrację na membranach polieterosulfonowych uzyskując wysoki stopnień oczyszczenia roztworu (II.D.6, III.B.10, III.B.13). Badania nad wydzielaniem kwasu cytrynowego z płynów po biosyntezie tego kwasu z udziałem różnych drobnoustrojów prowadzono także we współpracy z Katedrą Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu, z zespołem prof. dr hab. inż. Waldemara Rymowicza, od którego pozyskałam płyn po biosyntezie kwasu cytrynowego z udziałem drożdży *Yarrowia lipolytica* (II.D.7, III.B.6, III.B.11). Otrzymane wyniki wstępne stały się podstawą do napisania, otrzymania i wykonania grantu promotorskiego z Ministerstwa Nauki i Informatyzacji (II.I.2, II.E.8), napisania oraz obrony pracy doktorskiej (II.E.7) oraz opracowania opartych na niej 3 zgłoszeń patentowych, które otrzymały prawa wyłączne – patenty (II.B.1, II.B.2, II.B.3). Po obronie kontynuowałam badania w zakresie opanowanych metodyk nad ekstrakcją z płynów po biosyntezie z udziałem *Aspergillus oryzae* innego kwasu organicznego o rosnącym znaczeniu przemysłowym – kwasu kojowego (II.D.9, II.D.10, II.D.11, II.E.9, III.B.14, III.B.15, III.B.16, III.B.17, III.B.18).

2. Wykorzystanie biotechnologii w procesach produkcyjnych

Wykorzystanie metod biotechnologicznych w tworzeniu technologii było naturalnym etapem mojego rozwoju naukowego, począwszy od wykonanej na Politechnice Wrocławskiej pracy magisterskiej dotyczące degradacji modelowych ścieków ropopochodnych z wykorzystaniem mieszanej kultury bakteryjnej wyizolowanej z terenów stacji benzynowej (II.E.1). W ramach kolejnego zlecenia z przemysłu przeprowadziłam badania nad opracowaniem metod kontroli analitycznej procesu biosyntezy L-lizyny (II.E.3), wyprowadzeniem czystych kultur *Bacillus flavus* (II.E.4) i dobraniem warunków fermentacji i składu podłoża (II.E.5) oraz uczestniczyłam w międzynarodowej konferencji w Holandii pt. International Workshop for Cleaner Production (III.Q.1), co umożliwiło mi zdobycie aktualnej wiedzy w tym zakresie i zaowocowało napisaniem artykułu przeglądowego dotyczącego wykorzystania metod biotechnologicznych w tworzeniu czystych technologii (II.D.1). Ten zakres tematyczny pozostaje wciąż aktywny przez cały okres mojej pracy naukowej i realizuję zadania w ramach współpracy z innymi pracownikami Katedry Biotechnologii Żywności (obecnie Katedra Biotechnologii i Analizy Żywności) w zakresie hodowli drożdży paszowych na rolniczych wywarach gorzelniczych (II.I.4) czy biosyntezy beta-karotenu w hodowlach drożdży *Rhodothorula rubra* (II.D.38, III.B.53, III.B.54, III.D.41, III.D.43, III.B.59). Współpracowałam także z podmiotem gospodarczym w zakresie ekstrakcji astaksantyny z hodowli alg *Haematococcus pluvialis* (III.A.11) oraz procesu stymulacji mikroorganizmów do biosyntezy karotenoidów (II.I.9).

3. Biorafineria zbożowa – koncept, surowce i perspektywy

Właściwe zagospodarowanie surowców roślinnych i wykorzystanie odpadów z przemysłu spożywczego stanowi komplementarny do pozostałych kierunek moich zainteresowań badawczych (II.D.2, II.D.3, III.B.2). W 2005 roku rozpoczęłam współpracę z podmiotem gospodarczym zainteresowanym opracowaniem konceptu technologicznego biorafinerii zbożowej wytwarzającej z surowca zbożowego produkty w wysokiej wartości dodanej. W efekcie trzech projektów zrealizowanych we współpracy z tym podmiotem gospodarczym, w których dwóch byłam kierownikiem (III.F.1, III.F.2) i dzięki wzorowo zrealizowanej współpracy otrzymałam 2 nagrody

Rektora UE we Wrocławiu za współpracę z praktyką przemysłową (II.J.2, II.J.3) zostały opracowane: ekspertyzy dotyczące stanu techniki w zakresie biorafinacji owsa *Avena sativa* (II.E.10), założenia teoretyczne procesu wydzielania β-D-glukanu z owsa (II.E.11), została przeprowadzona ocena przydatności odmian owsa obecnych na polskim rynku do procesu biorafinacji (II.E.12) oraz zaprojektowałam i zweryfikowałam proces technologiczny pozyskiwania β-D-glukanu z owsa w skali laboratoryjnej (II.E.13), a w efekcie tych pracy powstało zgłoszenie patentowe, które w 2014 roku otrzymało patent stanowiący część mojego osiągnięcia habilitacyjnego (poz.1). W trzecim projekcie z tym samym podmiotem gospodarczym, w którym byłam głównym wykonawcą, opracowałam założenia procesu technologicznego biorafinacji jęczmienia zwyczajnego *Hordeum vulgare* w celu produkcji składników o wysokiej wartości biologicznej (II.E.14). Kontynuując współpracę z przemysłem przystąpiłam do Klastra Nutribiomed najpierw jako reprezentant podmiotu gospodarczego, a następnie Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, który za moją rekomendacją przystąpił do Klastra i w którym pełnię rolę przedstawiciela UEW w Radzie Klastra oraz członka Komitetu Sterującego. Ta aktywność zaowocowała współpraca z innymi podmiotami Klastra, w ramach której uczestniczyłam w przygotowaniu wniosku projektowego składanego przez Wrocławski Park Technologiczny sp z o.o. w imieniu Klastra Nutribiomed, na potrzeby którego opracowałam założenia techniczno-technologiczne procesu biorafinacji owsa i pochodnych oraz linii technologicznej (II.E.15), a po otrzymaniu dofinansowania z Polskiej Agencji Rozwoju Przedsiębiorczości w 2008 z programu POIG 5.1. (II.I.5) współtworzyłam wraz z dr inż. Łukaszem Bobakiem z Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością prof. Tadeusza Trziszki z Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz mgr inż. Julianem Rozwadowskim z firmy Chemiprojekt sp z o.o. projekt procesowy instalacji do produkcji suplementów diety dla Wrocławskiego Parku Technologicznego (II.E.16, III.M.3). Na podstawie prac zrealizowanych z podmiotem gospodarczym będącym jednym z członków założycieli Klastra Nutribiomed została opracowana i przetransferowana w ramach powyższego projektu technologia biorafinacji owsa oraz linia produkcyjna, która została objęta polskim zgłoszeniem patentowym (III.Q.5), a następnie w trybie postępowania EURO-PCT otrzymała patent europejski będący częścią mojego osiągnięcia habilitacyjnego (poz.2). Równocześnie prowadziłam dalsze prace nad rozwojem konceptu wykorzystania zbóż jako surowca w biorafinerii (II.D.23, II.D.24, II.D.31, II.D.33, II.D.34), a zwłaszcza owsa (II.D.18, II.D.25, II.D.26, II.K.4, II.K.8), jęczmienia (II.E.17), żyta (II.D.32), teffu (II.D.37) czy innych zbóż (II.D.36), a także ich produktów ubocznych z typowego przetwórstwa na przykładzie otrąb pszennych (II.D.16, II.D.32, II.D.35). W opracowywaniu konceptu biorafinerii zbożowej wykorzystałam również pseudozboża, głównie grykę (II.D.12).

4. Aktywność metaboliczna beta-glukanów owsianych o różnej masie molowej

Możliwość otrzymania wysokooczyszczonych preparatów β-D-glukanu o różnej masie molowej umożliwiło zaplanowanie i przeprowadzenie szeregu badań wykorzystujących czysty związek. We współpracy z zespołem prof. Małgorzaty Kozłowskiej-Wojciechowskiej z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego zbadany został wpływ β-D-glukanu o dużej masie molowej otrzymanego wg opatentowanej technologii (poz. 2) na apoptozę komórek czerniaka skóry HTB-140 (II.A.8), a uzyskane wyniki pozwoliły na stworzenie zgłoszenia patentowego (III.Q.5) chroniącego zastosowanie preparatu w tym celu. Również β-D-glukan o małej masie molowej

otrzymany w wyniku technologii opisanej w publikacji wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (poz. 4) wykazywał zdolność do indukcji apoptozy komórek czerniaka złośliwego Me45 oraz raka skóry A431 (II.A.7, III.B.42, III.B.43, III.B.44), co zostało stwierdzone w efekcie badań w ramach współpracy z zespołem prof. dr hab. Jolanty Saczko z Katedry i Zespołu Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Wysokooczyszczone preparaty o różnej masie molowej zostały przebadane gruntownie we współpracy z prof. dr. hab. Joanna Gromadzką-Ostrowską (kierownik projektu) z Zakładu Fizjologii Żywienia w Katedrze Dietetyki, Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji w ramach grantu badawczego własnego finansowanego z Narodowego Centrum Nauki NN312427440 pt. *Wpływ beta-glukanów na proces zapalny w przewodzie pokarmowym*. Celem naukowym projektu była ocena przeciwzapalnego, immunomodulacyjnego i metabolicznego działania *in vivo* w przewodzie pokarmowym dwóch czystych o różnej masie molowej frakcji β-D-glukanu z owsa. Oceny dokonano zarówno u ludzi z przewlekłym stanem zapalnym warstwy śluzowej żołądka, jak i u zwierząt modelowych, u których stan zapalny warstwy śluzowej żołądka lub jelit został wywołany eksperymentalnie. Szeroki zakres badań wykonanych w trakcie realizacji projektu pozwolił na wiarygodną weryfikację hipotezy o istotnym, prozdrowotnym działaniu testowanych preparatów, a uzyskane wyniki stanowią dobrze udokumentowaną przesłankę do zastosowania β-D-glukanu owsa, szczególnie o małej masie molowej, w praktyce gospodarczej. W pierwszym etapie realizacji projektu opracowano technologię kontrolowanego pozyskiwania łańcuchów beta 1-3, 1-4 –D - glukanu o ustalonej masie cząsteczkowej w dwóch zakresach. Sposób otrzymywania i oczyszczania frakcji beta glukanu owsa został opublikowany [poz. 4] oraz stanowi przedmiot zgłoszenia patentowego (III.Q.5). Wyniki badań na ludziach wykazały m.in. zmniejszenie niecharakterystycznych parametrów stanu zapalnego (m.in. stężenie białka C-reaktywnego) i zaprezentowano je na konferencji naukowej organizowanej w ramach odbywającego się w Wiedniu w październiku 2016 r. *United European Gastroenterology Week* (III.B.55, III.B.56), a pozostałe przygotowywane są aktualnie do opublikowania. Istotną część projektu bazowego stanowiły badania *in vivo* z wykorzystaniem zwierząt modelowych (dorosłe szczury samce Spraque Dowley), z których część miała wywołany eksperymentalnie stan zapalny ściany żołądka (podanie sondą dezoksycholanu sodu), część – stan zapalny jelit (podanie dożylne LPS), a część stanowiła grupy kontrolne. Przeprowadzone badania wykazały, że dodatek w ilości 1% (w/w) β-D-glukanu ma działanie przeciwzapalne i łagodzi stres oksydacyjny we krwi i okrężnicy tkankach szczurów z indukowanym zapaleniem jelit (II.A.4, II.K.16, II.K.17, II.K.19, II.K.20, III.B.26, III.B.28, III.B.36, III.B.37, III.B.38, III.B.40, III.B.41), gdyż wstrzyknięcie lipopolisacharydu bakteryjnego do krwi spowodowało układową odpowiedź zapalną, która została złagodzona poprzez suplementację pożywienia β-D-glukanem. Podawanie β-D-glukanu spowodowało zmniejszenie populacji komórek krwi zaangażowanych w odpowiedź zapalną, jak również zmniejszenie peroksydacji lipidów we krwi i zwiększenie obrony antyoksydacyjnej krwi. Obserwowano również działanie przeciwzapalne i przeciwutleniające, β-D-glukanu z owsa w tkance okrężnicy u szczurów z indukowanym zapaleniem jelit (II.A.6). Antyoksydacyjne działanie β-D-glukanu owsa u zwierząt ze stanem zapalnym jelit wykazano także w innych narządach, m.in. w wątrobie i żołądku (II.A.1, II.K.18, III.B.23, III.B.24, III.B.25, III.B.27, III.B.35, III.B.39) oraz śledzionie (II.A.5, III.B.29), a szczególnie istotną aktywnością antyoksydacyjną charakteryzował się preparat β-D-glukanu o małej masie molowej. Uzyskane w efekcie projektu wyniki zainspirowały do postawienia nowych hipotez

badawczych dotyczących wpływu β-D-glukanu o różnej masie molowej na stany zapalne w jelicie grubym, w efekcie czego złożono oraz otrzymano kolejny grant badawczy z programu Opus Narodowego Centrum Nauki (II.J.10).

5. Zboża i pseudozboża w żywności funkcjonalnej

Zainteresowanie żywnością funkcjonalną stanowiło naturalny etap rozwoju moich zainteresowań badawczych (II.A.9, II.D.14, II.D.15, II.D.19, II.D.39, II.D.41, II.D.42, II.D.43, II.K.2, II.K.3, II.K.5, III.B.60). Do opracowywania produktów funkcjonalnych wykorzystywałam surowce zbożowe i pseudozbożowe, kierując się w stronę żywności dla osób chorych na celiakię. Z tego powodu wykorzystywałam owies (II.D.20), a właściwie otręby owsiane do wytworzenia wafli suchych (II.A.3, III.B.22, III.B.31), jak również ciastek owsianych (II.K.14, II.D.30, II.K.14) we współpracy z podmiotem gospodarczym (III.A.6, III.A.9, III.A.10), czy też koncentrat otrąb owsianych jako składnik pieczywa ekstrudowanego (II.E.18, III.F.3), oraz jako ziarno do produkcji piwa (II.D.17). Również beta-glukan z owsa wykorzystywany był przeze mnie w badaniach nad formulacjami produktów spożywczych jak majonez beztłuszczowy - we współpracy z podmiotem gospodarczym (II.E.19, III.F.4), piwo (III.B.33, III.Q.5), chleb bezglutenowy we współpracy z prof. dr hab. inż. Haliną Gambuś z Katedry Technologii Węglowodanów Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie (II.K.10) czy innowacyjne owocowe przekąski we współpracy z zespołem Prof. Marco Dalla Rosy z Uniwersytetu w Bolonii, Włochy (III.B.56). Innym surowcem nadającym się idealnie do opracowywania produktów spożywczych dla osób chorych na celiakię jest gryka (II.B.52), której charakterystykę żywieniową (II.D.13, II.K.1), wykorzystanie do wytworzenia słodów piwowarskich (III.B.32) oraz badanie potencjału rynkowego piw bezglutenowych (II.A.2, II.D.17, II.D.28, II.K.24, III.B.34) nadzoruję w ramach opieki naukowej sprawowanej nad asystentem realizującym pracę doktorską w Katedrze Biotechnologii i Analizy Żywności (III.K.1). Do opracowywania produktów funkcjonalnych o dużym udziale błonnika pokarmowego nadaje się również odpad z jej typowego przetwórstwa produkcji – łuska gryczana, na bazie, której opracowałam szereg produktów spożywczych (II.D.29, II.K.9, II.K.13), objętych zgłoszeniami patentowymi (III.Q.5), których technologie wytwarzania zostały przekazane umowami licencyjnymi (III.Q.7).

6. Wspomaganie przemian czynnikami fizycznymi

Czynniki fizyczne jako parametry wspomagające procesy technologiczne stanowiły obszar moich zainteresowań od samego początku (II.D.27, II.K.11). Wykorzystywane były przeze mnie początkowo w trakcie badań nad wyodrębnianiem kwasów organicznych, następnie w procesach izolacji β-D-glukanu. Z wykorzystaniem kawitacji ultradźwiękowej opracowałam ulepszoną ekonomicznie technologię izolacji bardzo czystego β-D-glukanu z owsa stanowiąca część osiągnięcia habilitacyjnego (poz.3). Przy pomocy zimnej plazmy dokonywałam obróbki wina (III.B.20) oraz badałam jej wpływ na kiełkowanie gryki (II.K.21) a statyczne pole magnetyczne wykorzystywałam do zmiany aktywności amylolitycznej kiełkującej gryki (III.B.50). W 2011 r. rozpoczęłam badania nad wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego jako środka wspomagającego ekstrakcję β-D-glukanu i substancji o działaniu przeciwutleniąjacym z owsa siewnego *Avena sativa*. Na badanie te otrzymałam grant własny finansowany przez Narodowe Centrum Nauki o numerze NN312 506640 (II.I.7). W efekcie zrealizowanych badań w projekcie przebadano i scharakteryzowano wykorzystanie promieniowania mikrofalowego jako czynnika wspomagającego ekstrakcję substancji aktywnych z surowca owsianego. Do badań wybrano surowce charakteryzujące się odpowiednim

udziałem i wzajemnym stosunkiem żądanych związków aktywnych (polisacharydów, β-D-glukanu, związków o działaniu przeciwutleniającym) oraz scharakteryzowano pod względem przydatności do ekstrakcji poszczególne frakcje przemiałowe ziarna owsa. Promieniowanie mikrofalowe aplikowane było na etapie przygotowania materiału do ekstrakcji oraz w trakcie ekstrakcji z wykorzystaniem dedykowanego urządzenia – ekstraktora mikrofalowego. Określono wpływ promieniowania mikrofalowego na wybrane parametry procesu ekstrakcji oraz na charakterystykę wyekstrahowanego materiału – polisacharydów, a w szczególności 1-3, 1-4 -β-glukanu oraz związków o działaniu przeciwutleniającym ogółem. Wyniki analizy literatury oraz stanu faktycznego zaprezentowano w postaci doniesień naukowych [II.D.21, II.D.22, II.E.20, II.K.6, II.K.7, II.K.12, II.K.15, II.K.22, III.B.19, III.B.21, III.B.45, II.B.46, III.B.47, III.B.48, III.B.49], a artykuły naukowe obecnie przechodzą proces recenzji.

Niezwykle obiecujące zastosowanie promieniowania mikrofalowego do wywoływania zmian fizykochemicznych w mąkach bezglutenowych wykorzystuję obecnie w ramach realizacji Indywidualnego Stypendium Marii Skłodowskiej-Curie z programu Horyzont 2020 (II.I.11, III.B.59) w Uniwersytecie w Valladolid w Hiszpanii.

6. Syntetyczna charakterystyka dorobku.

Szczegółowy wykaz opublikowanych prac naukowych zawarty został w Załączniku nr 3. Mój dorobek obejmuje 196 prac, w tym:

- 53 oryginalne prace twórcze, nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego,
- 16 prac popularnonaukowych
- 84 komunikaty naukowe prezentowane na konferencjach zagranicznych (30) i krajowych (54),
- 6 przyznanych patentów i 8 procedowanych zgłoszeń patentowych,
- 30 sprawozdań merytorycznych i ekspertyz.

Całkowita liczba punktów wynosi 741, IF 35,08, indeks Hirscha 4, liczba cytowań wg WoS 41

Odbyłam łącznie 10 staży, w tym 2 pobyty w ośrodkach naukowych krajowych, 3 w ośrodkach naukowych zagranicznych oraz 5 w firmach. Odbyłam także 8 szkoleń z zakresu ochrony własności intelektualnej, jak również kierowałam grantem z programu Patent Plus, w ramach którego ukończyłam 3 letnią aplikację rzecznikowską (2012-2015), a w 2016 zdałam pozytywnie egzamin państwowy na rzecznika patentowego. Dodatkowo w 2013 r. ukończyłam podyplomowe studia Menadżer Projektu Badawczo-Rozwojowego.

Brałam czynny udział w 25 konferencjach międzynarodowych odbywających się w Polsce, na Słowacji, we Włoszech, w Grecji, w Niemczech, w Austrii i w Irlandii. Dwukrotnie prezentowałam wykłady w ramach programu Erasmus+ na uczelniach zagranicznych - Uniwersytecie w Bolonii i w Sassari we Włoszech.

Uczestniczyłam i uczestniczę w 5 krajowych projektach badawczych (MNiI, NCN i NCBiR) w jednym jako kierownik, w pozostałych jako wykonawca. Kierowałam również 3 grantami przyznanymi w ramach dotacji celowej Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu na badania własne służące rozwojowi pracowników naukowych w latach

2000 – 2010. Realizuję 3 projekty badawcze w programach międzynarodowych – jeden jako kierownik, w dwóch jako członek Grup Roboczych.

Jestem członkiem towarzystw naukowych krajowych (PTTŻ, SITSpoż NOT) i międzynarodowych (IFA, AACCI, ACS), recenzentem w programach krajowych (NCBiR), zagranicznych ocenianych w Polsce (NBCiR) oraz międzynarodowych (COST) oraz aktywnie uczestniczę w krajowych (Klaster Nutribiomed) i międzynarodowych (POSITIVe, EUROCAROTEN) sieciach badawczych.

Dotychczas wykonałam łącznie 136 recenzji dla czasopism międzynarodowych takich jak: Food and Bioprocess Technology, Food Research International, Journal of Cleaner Production, Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber, Journal of Nutrition Science and Behaviors, Journal of Cereal Science, Journal of Food Science and Technology, Journal of Food Processing and Preservation, Nutrition Journal, Journal of Food Protection, Carbohydrate Polymers, Food & Function, Journal of Food Composition and Analysis, Food Chemistry, European Food Research and Technology, European Journal of Nutrition (szczegółowa lista w Załączniku 4 pkt. III.P.). W 2016 otrzymałam od Wydawnictwa Elsevier Certyfikat Outstanding Rewiever oraz dwukrotnie (2015, 2016) Certyfikat Recognized Rewiever za jakość wykonanych recenzji.

Jestem opiekunem naukowym asystenta realizującego pracę doktorską w Katedrze Biotechnologii i Analizy Żywności UE we Wrocławiu, promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim doktorantki na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, oraz recenzentem w postępowaniu doktorskim na tytuł Doktor Europeus doktorantki z Uniwersytetu w Sassari.

Za działalność naukowo-badawczą zostałam wyróżniona 9 - krotnie Indywidualną Nagrodą Rektora UEW za działalność naukowo-dydaktyczną, 1 raz – Zespołową Nagrodą Pierwszego Stopnia Rektora SGGW w Warszawie za cykl publikacji wraz z pracownikami dwóch innych wydziałów SGGW, 2 - krotnie Indywidualną Nagrodą Rektora UEW za współpracę naukową z przemysłem, 2 - krotnie nagrodą Wrocławskiej Rady Federacji Stowarzyszeń Naukowo-Technicznych NOT w konkursie „Najwybitniejsze osiągnięcia w dziedzinie techniki, w 2008 roku otrzymałam od Prezydenta RP Brązowy Medal za Długoletnią Służbę, a w 2011 Srebrną Honorową Odznakę Naczelnej Organizacji Technicznej.

Od początku zatrudnienia na Uniwersytecie Ekonomicznym we Wrocławiu aktywnie uczestniczę w pracach organizacyjnych: jako pełnomocnik Rektora ds. organizacji 50-lecia uczelni; członek zespołu organizującego inauguracje roku akademickiego (za co otrzymałam Nagrodę Rektora); sekretarz, a później przewodnicząca Komisji Rekrutacyjnej na studia stacjonarne; członek Komisji Wyborczej na Wydziale Inżynieryjno-Ekonomicznym; członek Rady Wydziału na Wydziale Inżynieryjno-Ekonomicznym, członek Rady Naukowej Instytutu Chemii i Technologii Żywności na Wydziale Inżynieryjno-Ekonomicznym, przewodnicząca Wydziałowego zespołu ds. mobilności w obszarze technologii żywności, sekretarz Wydziałowego zespołu ds. opracowania programu studiów doktoranckich na Wydziale Inżynieryjno-Ekonomicznym, przedstawiciel doktorów w Zespole ds. modyfikacji wydziałowej procedury w sprawie szczegółowego przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich.

Również od początku pracy w Katedrze prowadziłam zajęcia dydaktyczne z przedmiotów podstawowych, kierunkowych i specjalizacyjnych, a także zajęcia na studiach doktoranckich. Byłam opiekunem merytorycznych wycieczek studenckich, koła naukowego, praktyk studenckich i inżynierskich, zrecenzowałam 29 prac magisterskich i inżynierskich oraz pełniłam funkcję promotora 7 prac inżynierskich oraz 32 magisterskich, z których 3 zostały wyróżnione konkursie prac magisterskich. Byłam również opiekunem praktyk magisterskich studentki z Uniwersytetu w Sassari w Amach programu Erasmus+.

Zestawienie tabelaryczne opublikowanych prac naukowych z podaniem liczby punktów z listy MNiSW oraz wskaźnika Impact Factor dla czasopism.

Ilościowy wykaz najważniejszych osiągnięć naukowo-badawczych			
Wykaz osiągnięć	**Przed doktoratem**	**Po doktoracie**	**Łącznie**
Publikacji recenzowanych ogółem	**3**	**50**	**43**
Publikacje w czasopismach wyróżnionych w *Journal Citation Reports®* indeksowanych przez *Thomson Reuters® Web of Science®*	**0**	**11**	**11**
Punktacja za publikacje wg listy MNiSW wraz z punktacją za udzielone patenty i zgłoszenia	**7**	**734**	**741**
Cytowania według *Thomson Reuters® Web of Science®/* Indeks Hirscha	**0**	**41/4**	**41/4**
Cytowania według *Elsevier® Scopus®* Indeks Hirscha	**0**	**52/4**	**52/4**
Patent na wynalazek udzielony przez UP RP/udzielony za granicą na rzecz jednostki, której pracownikiem jest twórca wynalazku/ wdrożenie w	**0**	**4/1/2**	**4/1/2**
Patent na wynalazek udzielony przez UP RP lub za granicą na rzecz podmiotu innego niż jednostka naukowa, której pracownikiem jest twórca wynalazku	**0**	**1**	**1**
Zgłoszenie wynalazku w UP RP lub za granicą przez jednostkę naukową, której pracownikiem jest twórca wynalazku w	**0**	**4/3**	**4/3**
Udział w konferencjach krajowych / wygłoszone referaty/ zaprezentowane postery	**1/0/5**	**12/19/25**	**13/19/30**
Udział w konferencjach międzynarodowych / wygłoszone referaty/ zaprezentowane postery	**1/0/3**	**1/5/27**	**2/5/30**
Zlecone prace badawcze	**6**	**7**	**13**
Opracowania naukowe w formie raportów z realizacji projektów badawczych (w tym raporty z grantów)	**7**	**13**	**20**
Projekty badawcze MNiSW/NCN/NCBiR	**1**	**3/1**	**1/3/1**
Projekty finansowane ze środków UE	**0**	**3**	**3**
Zagraniczne staże naukowo-badawcze	**0**	**3**	**3**
Krajowe staże naukowo-badawcze	**0**	**7**	**7**
Nagrody i wyróżnienia	**0**	**16**	**16**

Punktacja osiągnięć wg list czasopism MNiSW i danych do oceny parametrycznej jednostek w Rozporządzeń MNiSW stosownie do roku osiągnięcia				
Publikacje w recenzowanych czasopismach naukowych wyróżnionych w *Journal Citation Reports*® indeksowanych przez *Thomson Reuters® Web of Science*®				
Tytuł czasopisma	Liczba publikacji	Punkty wg listy MNiSW	Suma punktów	Impact Factor
Journal of Cereal Science	**1**	**35**	**35**	**2.402 2.699** *2015 5 year*
Journal of Functional Foods	**2**	**45**	**90**	**3.973 4.269** *2015 5 year* **7.946 8.538**
International Journal of Biological Macromolecules	**3**	**25**	**75**	**3.138 3.22** *2015 5 year* **9.414 9.44**
Food Hydrocolloids	**1**	**45**	**45**	**3.858 4.703** *2015 5 year*
Food & Function	**1**	**30**	**30**	**2.686 3.178** *2015 5 year*
Journal of Cleaner Production	**1**	**40**	**40**	**4.959 5.315** *2015 5 year*
Cereal Foods World	**1**	**20**	**20**	**0.889 0.658** *2015 5 year*
Nutrition	**1**	**30**	**30**	**2.926 3.026** *2014 5 year*
Łącznie	**11**		**365**	**35.08 37.557**

Publikacje w recenzowanych czasopismach wyszczególnionych na liście B MNiSW			
Tytuł czasopisma	Liczba publikacji	Punkty wg listy MNiSW	Suma punktów
Przegląd Zbożowo-Młynarski	**10 (2015 – 7, 2011 – 3)**	**2015 – 6**	**42**
Nauki Inżynierskie i Technologie	**5 (2009 – 6, 2010 – 18, 2010 – 18)**	**2009 – 6, 2010 – 9, 2011 – 9)**	**42**
Ekologia i Technika	**1**	**1**	**1**
Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny	**1**	**5**	**5**
Nasza Rola	**1**	**2**	**2**
Łącznie	**18**		**92**

Rozdziały w monografiach			
Tytuł monografii	Liczba rozdziałów	Punkty wg listy MNiSW	Suma punktów
Choroby cywilizacyjne i społeczne XXI w. – przegląd i badania	**2**	**4**	**8**
Postęp cywilizacyjny – stan obecny i perspektywy	**2**	**4**	**8**
Rośliny w medycynie, farmacji i przemyśle	**3**	**4**	**12**
Łącznie	**7**		**28**

Inne zwarte recenzowane wydawnictwa w języku angielskim cyklicznej konferencji międzynarodowej			
Tytuł konferencji	Liczba publikacji pełnotekstowych	Punkty wg listy	Suma punktów
International Conference of Slovak Society of Chemistry	**12**	**3**	**36**
Łącznie	**12**		**36**

Patenty udzielone przez Urząd Patentowy RP, urzędy zagraniczne, zgłoszenia oraz wdrożenia	
Patenty udzielone przez Urząd Patentowy RP i urzędy zagraniczne	
Numer patentu/rok udzielenia	**Punkty wg MNiSW[x,y]**
PL203171/2008	**25**
PL203172/2008	**25**
PL203173/2008	**25**
PL217750/2014	**25**
EP2515672B1/2016	**40**
PL/224430/2016	**15**
Łącznie	**155**
Zgłoszenia patentowe	
Numer zgłoszenia/rok zgłoszenia	**Punkty wg MNiSW[x, y]**
384594/2008	**3**
389995/2009	**2**
393523/2010	**2**
EP10903993.4/2014	**2**
393733/2011	**2**
WO/2012/091581	**2**
WO/2012/102630	**2**
Łącznie	**15**
Wdrożenia wynalazków z patentów i zgłoszeń patentowych	
Numer wdrożonego patentu/zgłoszenia	**Firma wdrażająca**	**Punkty wg MNiSW[x]**
PL217750	**PW Futurum sp z o.o.**	**25**
EP2515672B1	**PW Futurum sp z o.o.**	**25**
Łącznie		**50**

suma	**PKT=741**	**IF=35.08** **IF(5 letni)=37.557**
W tym osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art.16 ust. 2. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r.	**160**	**6.375**

w - według Rozporządzenia MNiSW z dnia 17 października 2007 r.
x - według Rozporządzenia MNiSW z dnia 13 lipca 2012 r.
y- według Rozporządzenia MNiSW z dnia 27 października 2015 r.

Joanna Florczyk