

Dr inż. Krzysztof Dzedzic

Pracownia Chemii i Technologii Zbóż

Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



AUTOREFERAT

PRZEDSTAWIAJĄCY OPIS OSIĄGNIĘĆ I DOROBKU NAUKOWO-BADAWCZEGO

Poznań 2023

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.....	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy	
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
4.2. Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia	
4.2.1. Wstęp.....	5
4.2.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań.....	8
4.2.3. Podsumowanie.....	28
4.2.4. Spis literatury.....	29
4.3. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych.....	33
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	49
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	
6.1. Działalność dydaktyczna.....	51
6.2. Działalność organizacyjna.....	53
6.3. Działalność popularyzująca naukę lub sztukę.....	54
7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej.....	55

1. Imię i nazwisko

Krzysztof Dziejic

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- magister inżynier w zakresie biotechnologii, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Rolniczy, 30.06.2006 r.
- tytuł pracy magisterskiej: „Produkcja preparatu diwercyny w skali półtechnicznej”.
Promotor: prof. dr hab. Tomasz Jankowski.
- doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, 20.10.2011 r.
- tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena wpływu zabiegów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zawartość wybranych substancji biologicznie aktywnych”.
Promotor: dr hab. Danuta Górecka, prof. UPP.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

- 01.03.2016 r. – do chwili obecnej
- adiunkt, Pracownia Chemii i Technologii Zbóż, Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.
- 01.03.2014 r. – do chwili obecnej
- referent techniczny, Klinika Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.
- 01.10.2014 r. – 30.06.2016 r.
- starszy wykładowca, Katedra Dietetyki, Wydział Kultury Fizycznej i Nauk o Zdrowiu, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Koninie.
- 01.06.2012 r. – 30.09.2013 r.
- przedstawiciel naukowo-handlowy w firmie ALAB sp. Z o.o.
- 01.09.2010 r. – 31.12.2014 r.

- etat naukowo-badawczy w ramach projektu POIG „Nowa Żywność o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym”, Katedra Technologii Żywności Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe, będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cyklem publikacji naukowych ujętych pod wspólnym tytułem: **„Zabiegi technologiczne i agrotechniczne jako narzędzia kształtujące zawartość substancji biologicznie aktywnych różnych gatunków gryki”**.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia:

1. **Dziejczak Krzysztof**, Górecka Danuta, Szwengiel Artur, Sulewska Hanna, Kreft Ivan, Walkowiak Jarosław. The content of dietary fiber and polyphenols in morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 2018, 73, 82-88. DOI: 10.1007/s11130-018-0659-0 (**IF₂₀₁₈: 2,598; IF₂₀₁₈ 5: 4,574; MEiN = 100 pkt, liczba cytowań wg Scopus: 23; Web of Science: 23**).
2. **Dziejczak Krzysztof**, Górecka Danuta, Szwengiel Artur, Olejnik Anna, Rychlik Joanna, Kreft Ivan, Drożdżyńska Agnieszka, Walkowiak Jarosław. The cytotoxic effect of artificially digested buckwheat products on HT-29 human colon cancer cells. *Journal of Cereal Science*, 2018, 83, 68-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.020>. (**IF₂₀₁₈: 2,452; IF₂₀₁₈ 5: 4,646; MEiN = 140 pkt, liczba cytowań wg Scopus: 10; Web of Science: 10**).
3. **Dziejczak Krzysztof**, Kurek Szymon, Mildner-Szkudlarz Sylwia, Kreft Ivan, Walkowiak Jarosław. Fatty acids profile, sterols, tocopherol and squalene content in *Fagopyrum tataricum* seed milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103118>. (**IF₂₀₂₀: 3,616; IF₅₂₀₂₀: 4,646; MEiN = 140 pkt, liczba cytowań wg Scopus: 5; Web of Science: 5**).
4. **Dziejczak Krzysztof**, Kurek Szymon, Podolska Grażyna, Drzymała-Czyż Sławomira, Mildner-Szkudlarz Sylwia, Sun Wei, Walkowiak Jarosław. The lipid soluble bioactive substances of *Fagopyrum esculentum* varieties under different tillage and nitrogen

fertilisation. Foods, 2022, <https://doi.org/10.3390/foods11233801> (IF₂₀₂₀: 5,561; IF₅₂₀₂₀: 5,940; MEiN = 100 pkt, liczba cytowań wg Scopus: 1; Web of Science: 1)

- Sumaryczny impact factor: 14,227*; 19,8.**
- Liczba punktów wg MEiN: 480

* - w roku wydania publikacji; ** - średni pięcioletni Impact Factor

4.2. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników oraz ich wykorzystanie

4.2.1. Wprowadzenie

W ostatnich latach w krajach wysoko rozwiniętych wzrosła liczba tzw. „konsumentów świadomych”, którzy w sposób szczególny zwracają uwagę na jakość oraz wartość odżywczą produktów spożywczych. Wzrost świadomości społeczeństwa w kwestii chorób dietozależnych jest dodatnio skorelowany ze wzrostem zainteresowania konsumpcją żywności niskoprzetworzonej. Do takiej żywności zalicza się między innymi kasze, które mogą stanowić dobrą alternatywę dla ziemniaków oraz makaronów. Spośród kasz najczęściej spożywana w Polsce jest kasza jęczmienna, kasza gryczana – palona lub biała oraz różne kasze produkowane z pszenicy. W ostatnich czasach wzrosło zainteresowanie gryką oraz jej produktami. Gryka zaliczana jest do roślin dwuliściennych (*Poligonaceae*). Rozróżnia się wiele gatunków tej rośliny. Jednak do najbardziej popularnych i najczęściej wykorzystywanych w produkcji żywności należą: *Fagopyrum esculentum* Moench (gryka zwyczajna) oraz *Fagopyrum tataricum* (L) Gaertn (gryka tatarska), która jeszcze do niedawna stosowana była głównie jako roślina pastewna. W Polsce uprawia się kilka odmian gryki zwyczajnej, między innymi: Korę, Pandę, MHR Koronę, MHR Smugę oraz Hrubieszowską, jednak do Krajowego Rejestru odmian wpisane są pierwsze cztery wymienione. Gryka tatarska ze względu na charakterystyczny gorzki smak nie jest rozpowszechniona w Polsce, jednak przypisuje się jej właściwości prozdrowotne ze względu na wysoki potencjał przeciwutleniający. Gatunki oraz odmiany gryki różnią się istotnie biorąc pod uwagę skład ich części morfologicznych. Ponadto skład ten determinuje sposób uprawy oraz nawożenia. Ziarniak gryki jest surowcem, który cechuje się wysoką zawartością substancji odżywczych i biologicznie aktywnych. Na szczególną uwagę zasługuje wysoka zawartość błonnika pokarmowego, w tym skrobi odpornej na działanie enzymów przewodu pokarmowego człowieka, białka o odpowiednio zbilansowanym składzie aminokwasowym, tłuszczu o wysokiej wartości biologicznej oraz składników mineralnych (Kreft i in. 2020). Z kolei spośród składników bioaktywnych, na podkreślenie zasługują związki flawonoidowe. Są to drugorzędowe metabolity rozpuszczalne

w wodzie, które zalicza się do fitozwiązków wykazujących działanie przeciwutleniające. Ze względu na występowanie charakterystycznych grup fenolowych zaliczane są do polifenoli. Przypisuje się im działanie prozdrowotne i mogą być one wykorzystywane w prewencji chorób układu krążenia, układu moczowego oraz chorób nowotworowych. Naturalne surowce, będące bogatym źródłem tych związków mogłyby być wykorzystywane jako składnik żywności prozdrowotnej. Biorąc pod uwagę zawartość flawonoidów, gryka wyróżnia się na tle innych pseudozbóż. Ich dystrybucja w tej roślinie podczas jej wzrostu odbywa się w różnym tempie i jest ona zależna od jej części morfologicznych.

Produktem otrzymywanym z gryki zwyczajnej *F. esculentum*, a jednocześnie dobrym źródłem flawonoidów jest kasza gryczana. Wiele badań wskazuje (Coulston i in. 2017, Peng i in. 2015, Zhang i in. 2018, Zheng i in. 2012), iż flawonoidy mogą wykazywać działanie cytotoksyczne. W przypadku chorób nowotworowych interwencja farmakologiczna skupiona jest na podawaniu substancji, które zmniejszają liczbę komórek nowotworowych poprzez dezaktywację mechanizmów odpowiedzialnych za produkcję energii ATP lub poprzez proces deplazmolizy błony komórkowej. Proces technologiczny stosowany podczas produkcji kaszy gryczanej może wpływać na ilość i jakość flawonoidów, a także interakcje pomiędzy innymi substancjami rozpuszczalnymi w wodzie. Biorąc pod uwagę skład nasion gryki niewątpliwie wpisuje się ona w listę surowców, które mogą być wykorzystywane do produkcji żywności o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym. Warto nadmienić, że zawartość białek glutenowych w ziarniaku gryki jest na niewielkim poziomie (<20 ppm), stąd może być on wykorzystywany do produkcji żywności bezglutenowej rekomendowanej dla osób chorujących na celiakię (Diowksza i Sadowska 2021). Warto również zwrócić uwagę na produkty uboczne powstałe podczas procesu produkcji kaszy, które również są bogatym źródłem flawonoidów oraz innych hydrofilowych związków. Procesy termiczne (wpływ ciśnienia i temperatury) oraz technologiczne (oddzielanie zewnętrznych części ziarna, rozdrabnianie) mogą determinować ostateczny skład uzyskanych produktów, co w konsekwencji wpływa na aktywność zawartych związków. Procesy technologiczne stosowane podczas produkcji żywności są skutecznym narzędziem kształtującym jakość żywności i dlatego mogą być wykorzystywane do produkcji żywności prozdrowotnej.

Gryka nie jest zaliczana do roślin oleistych, bowiem zawartość tłuszczu w ziarniaku kształtuje się na poziomie około 2-3%, jednak cechuje się on wysoką wartością odżywczą. Zawiera on między innymi: skwaleń, fitosterole oraz tokoferole, którym przypisuje się działanie przeciwutleniające, co skutkuje hamowaniem procesu oksydacyjnego tłuszczu podczas

przechowywania produktów gryczanych, umożliwiając wydłużenie ich terminu przydatności do spożycia bez konieczności stosowania syntetycznych konserwantów. Tokoferole są pochodną witaminy E i odgrywają kluczową rolę w rozwoju i utrzymywaniu prawidłowych funkcji narządów rozrodczych. Dodatkowo korzystnie wpływają na układ krążenia. W tłuszczu nasion gryki zidentyfikowano cztery formy tokoferolu: α -, β -, γ - oraz δ -. Dotychczas dokładnie scharakteryzowano tłuszcz gryki zwyczajnej, a także wpływ procesów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zmiany jego składu.

Gryka wykorzystywana jest do produkcji żywności głównie w Rosji, Japonii, Chinach, Korei, Kanadzie, Chorwacji, Czechach, Słowenii, Włoszech oraz w Polsce, jednak w ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania tą rośliną również w takich krajach jak Luksemburg, Niemcy oraz Stany Zjednoczone (Kreft i in. 2020). Do produkcji żywności najczęściej wykorzystuje się obłuszczone ziarniaki gryki, łuskę oraz pozostałe części morfologiczne rośliny, jako bogatego źródła wybranych substancji biologicznie aktywnych. W związku z powyższym grykę przetwarza się nie tylko na kaszę gryczaną, ale również na mąkę, którą wykorzystuje się do produkcji makaronu, czy produktów ekspandowanych, a także stosuje się do produkcji piwa, alkoholi wysokoprocentowych (Ahmed i in. 2014). Z kolei łuskę gryczaną oraz zielone części rośliny do produkcji herbaty gryczanej. Jest to również roślina miododajna, która korzystnie wpływa na wzrost populacji pszczół i innych owadów zapylających, ze względu na jej odporność na zachwaszczanie i szkodniki. Stąd podczas jej uprawy ogranicza się ilości stosowanych herbicydów oraz pestycydów (Krkoskova i Mrazova 2014). W Japonii niektóre morfologiczne części rośliny tj. liście oraz okwiat, znajdują zastosowanie do produkcji kosmetyków, między innymi kremów rozświetlających cerę, a skrobia ze względu na niewielkie rozmiary ziaren wykorzystywana jest również do produkcji pudru do twarzy.

Wykaz skrótów

ABTS – barwny kationorodnik

ADF – kwaśny detergentowy błonnik pokarmowy

ADL – kwaśna detergentowa lignina

Arg - arginina

BBI – otręby po obłuskiwaniu

BBII – pozostałe otręby

BBG – kasza gryczana łamana

BC – ciastka z błonnikiem

BG – kasza gryczana prażona

BGC – kasza gryczana gotowana

BH – łuska gryczana
BM - muffiny z błonnikiem
C – celuloza
CA – kwas cholowy
CDC – kwas chenodeoksycholowy
DCA – kwas deoksycholowy
DHBA – kwas dihydroksybenzoesowy
DPPH - 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl
G – cały zmielony ziarniak gryki
GA – stopień rozdrobnienia obłuszczonego ziarniaka gryki $380 \mu\text{m} > \text{GA} > 180 \mu\text{m}$
GB - stopień rozdrobnienia obłuszczonego ziarniaka gryki $180 \mu\text{m} > \text{GB} > 95 \mu\text{m}$
GC - stopień rozdrobnienia obłuszczonego ziarniaka gryki $\text{GC} < 95 \mu\text{m}$
Gly - glicyna
H- łuska
He – hemicelulozy
His - histydyna
LCA – kwas litocholowy
NDF – neutralny dtergentowy błonnik pokarmowy
PCA – analiza komponentów składowych
Pro - prolina
RG – surowy ziarniak gryki
RSG – prażony ziarniak gryki
SDF – rozpuszczalny błonnik pokarmowy
Ser - seryna
TDF – całkowity błonnik pokarmowy
UDC – kwas ursodeoksycholowy

4.2.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań

W celu produkcji żywności z gryki o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym, należy poznać czynniki, które w sposób istotny determinują skład rośliny. W przypadku *Fagopyrum tataricum* prace hodowlane skupiają się głównie na pozyskiwaniu surowca łatwego do obłuskiwania cechującego się delikatnym smakiem, natomiast hodowle *Fagopyrum esculentum* mają na celu między innymi pozyskanie ziarna o wysokiej zawartości skrobi woskowej, co pozwala wyprodukować makaron o wysokiej jakości. Otwarty zatem pozostał problem jakie dostępne narzędzia można wykorzystać w celu ukształtowania pożądanej wartości odżywczej gryki, która będzie wykorzystywana do produkcji żywności o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym. Dlatego w pracach wskazanych jako osiągnięcie naukowe wiodącym tematem są badania nad możliwościami wykorzystania dostępnych narzędzi w celu kształtowania składu

zarówno nasion gryki, jak i innych części morfologicznych w dwóch gatunkach gryki, tj. *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn oraz *Fagopyrum esculentum* Moench, a także w czterech odmianach gryki zwyczajnej: Kora, Panda, MHR Smuga oraz MHR Korona.

W celu zwiększenia wydajności uprawy oraz jakości roślin zbożowych i pseudozboż stosuje się zabiegi agrotechniczne polegające na zastosowaniu różnych dawek nawozów oraz napowietrzania gleby. Działania te w zmienny sposób wpływają na skład wyrobów, co w konsekwencji determinuje ich przydatność technologiczną oraz żywieniową. Do tej pory w literaturze przedmiotu opisano wpływ nawożenia azotem lub/i fosforem głównie na zawartość białek, natomiast brak jest informacji na temat wpływu nawożenia różnymi dawkami azotu na lipofilne substancje zawarte w ziarniaku gryki.

W ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego postawiono zweryfikować następujące hipotezy badawcze:

1. Zawartość i skład flawonoidów oraz błonnika pokarmowego w gryce tatarce są różnicowane jej częścią morfologiczną.
2. Poszczególne części orzeszka gryki ze względu na zróżnicowany skład cechują się różną cytotoxycnością mitochondrialną w odniesieniu do linii komórek HT 29 po procesie trawienia *in vitro*.
3. Technologiczny proces przemiału ziarna różnicuje skład frakcji lipofilnej w zależności od stopnia rozdrobnienia.
4. Zawartość wybranych składników biologicznie aktywnych rozpuszczalnych w tłuszczach determinuje odmiana gryki oraz zastosowane zabiegi agrotechniczne.

Głównym celem prac stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zgodnie z **Dz.U.2022.574** jest:

- **Określenie zawartości flawonoidów oraz błonnika pokarmowego i jego frakcji w różnych częściach morfologicznych gryki *Fagopyrum tataricum*, tj. łodydze, liściach, kwiatostanach, oraz określenie zależności pomiędzy zidentyfikowanymi flawonoidami i frakcjami błonnika pokarmowego.** (Publikacja 1)
- **Określenie wpływu zabiegów hydrotermicznych na aktywność powstałych związków w ziarnie gryki *Fagopyrum esculentum* na podstawie testu cytotoxycności mitochondrialnej z udziałem linii komórek nowotworowych HT 29.** (Publikacja 2)
- **Ocena składu jakościowego tłuszczu w poszczególnych częściach ziarniaka gryki *Fagopyrum tataricum* o różnym stopniu rozdrobnienia oraz wybór najbardziej**

wartościowej biologicznie frakcji, która może być wykorzystana do produkcji żywności o działaniu prozdrowotnym. (Publikacja 3)

- **Ocena wpływu zabiegów agrotechnicznych, tj. napowietrzania gleby poprzez zastosowanie płuźnej metody uprawy oraz trzech dawek azotu na skład tłuszczu w obłuszczonej ziarnie gryki *Fagopyrum esculentum*.** (Publikacja 4)

Ad.1. "The content of dietary fiber and polyphenols in morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum tataricum*)"- publikacja 1.

Gryka jest bogatym źródłem składników bioaktywnych, takich jak substancje polifenolowe, a w szczególności rutyny, kwercetyny, rozpuszczalnego i nierozpuszczalnego błonnika pokarmowego, witamin rozpuszczalnych w wodzie oraz tłuszczach, mikroelementów i białek o odpowiednio zbilansowanym składzie aminokwasowym, w tym aminokwasów egzogennych (Neethirajan i in. 2011). Ze względu na zasobność gryki oraz kaszy gryczanej w pewne korzystne składniki wykazujące właściwości funkcjonalne, roślina ta została uznana za leczniczą, jako odpowiedni surowiec do produkcji suplementów diety. Warto podkreślić, że profil związków zawartych w morfologicznych częściach gryki zależy od różnych czynników, takich jak gatunek lub odmiana gryki oraz środowisko uprawy (Ahmed i in. 2014). Gryka zawiera trzy klasy flawonoidów: flawonole, antocyjany i flawony C-glukozytowe, którym przypisuje się korzystne działanie prozdrowotne. Mają one właściwości antyoksydacyjne, hipocholesterolemiczne i przeciwcukrzycowe (Qin i in. 2013). Do związków pokrewnych występujących w gryce zalicza się fagopiryne. Substancja ta może wywoływać efekt fototoksyczny u zwierząt karmionych gryką znany jako fagopiryzm. Zawartość fagopiryny jest mniejsza w porównaniu z innymi substancjami antyoksydacyjnymi i prawdopodobnie jej ilość w ziarnie nie ma negatywnego wpływu na zdrowie człowieka. Należy jednak kontynuować dalsze badania w tym zakresie (Kreft 2016, Stojilkovski i in. 2013). Również iminocukry cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na ich wysoką aktywność biologiczną, jako inhibitory glikozydazy. D-fagomina może zmniejszyć ryzyko rozwoju insulinooporności, ograniczając ryzyko wystąpienia nadwagi oraz przerost jelitowej flory bakteryjnej. Stwierdzono również, że fagomina ma silne działanie hipoglikemiczne. Ze względu na różne zachowania wzrostowe i wymagania agrotechniczne gryki zwyczajnej istnieje tendencja do zastępowania jej gryką tatarską.

W pracy wchodzącej w skład osiągnięcia (1) przeprowadziłem analizę profilu wybranych substancji polifenolowych zawartych w poszczególnych częściach morfologicznych gryki, tj.

w kwiatach, liściach, korzeniach i łodydze gryki przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem masowym (RP-UHPLC-ESI-MS). Ponadto oznaczyłem zawartość neutralnego detergentowego błonnika pokarmowego (NDF), kwaśnej detergentowej ligniny (ADL) oraz hemicelulozy (He) z użyciem metody detergentowej Van Soest'a. Określiłem korelację pomiędzy badanymi frakcjami błonnika pokarmowego a poszczególnymi substancjami fenolowymi.

W tym celu wykorzystałem dwa ekstrahenty: wodę oraz metanol.

Uzyskane wyniki w pracy wskazują, że badane części morfologiczne gryki różnią się w sposób istotny zawartością NDF. Wykazałem, że najwyższą zawartością błonnika pokarmowego cechują się korzenie (63,92%), najniższą zaś liście (12%). Biorąc pod uwagę zawartość błonnika pokarmowego w poszczególnych częściach morfologicznych gryki uporządkowałem je w następującej kolejności: korzenie > łodyga > kwiaty > liście. Spośród frakcji błonnikowych we wszystkich badanych częściach morfologicznych gryki dominuje celuloza, przy czym korzeń i łodyga zawierają jej najwięcej, odpowiednio 38,70 i 25,57% s.m., natomiast liście najmniej (8,15% s.m.). Analiza związków polifenolowych wyizolowanych przy użyciu ekstraktów metanolowych oraz wodnych pozyskanych z kwiatów, liści, łodygi i korzenia wskazuje na istotny wpływ zarówno zastosowanego rozpuszczalnika, jak i badanej części morfologicznej rośliny, a zastosowanie metanolu jako rozpuszczalnika pozwoliło na większą ekstrakcję kwasu chlorogenowego, procyjanidyny B2 oraz rutyny ze wszystkich badanych części morfologicznych gryki; witeksyny w przypadku kwiatów, liści i korzeni, natomiast kwercetyny i izowiteksyny tylko w przypadku kwiatów. Fagopiryny zidentyfikowałem jedynie w metanolowych ekstraktach pozyskanych z kwiatów. W celu oceny istotnych czynników, które odpowiadają za uzyskane profile jakościowe i ilościowe otrzymanych ekstraktów wykorzystałem wielowymiarową analizę wariancji. Biorąc pod uwagę profil badanych związków polifenolowych (21 analizowanych substancji fenolowych) zaobserwowałem istotny ($p < 0,05$) efekt użytego ekstrahenta i morfologicznej części rośliny oraz interakcję między ekstrahentem a częścią morfologiczną rośliny. Analizując statystycznie wszystkie badane czynniki (polifenole oraz frakcje błonnika), korzenie i liście tworzą dwie skrajne grupy. Pomędzy nimi znajdują się kwiaty i łodygi, pomimo stwierdzenia najwyższej zawartości ADL w korzeniach. Również łodyga i korzeń cechują się wyższą zawartością pozostałych frakcji. Wielu autorów we wcześniejszych badaniach sugerowało, że sposób prowadzonej ekstrakcji wpływa istotnie na zawartość poszczególnych substancji przeciwutleniających (Garmus i in. 2014, Garmus i in. 2015). Masci i in. (2016) wykazał wyższy potencjał przeciwutleniający

mierzony wskaźnikiem DPPH oraz ABTS wodnych ekstraktów liści granatu niż ekstraktów etanolowych. Jednakże, w przypadku owoców granatu autorzy zaobserwowali odwrotną tendencję, co prawdopodobnie było związane z odmienną budową liści oraz owoców, a także obecnością innych składników. Zatem wydajność procesu ekstrakcji zależna jest od kilku czynników, m.in.: chemicznej budowy poszczególnych związków przeciwutleniających, wiązań chemicznych występujących pomiędzy matrycą roślinną (surowcem) a izolowanym związkiem, chemicznej natury izolowanej substancji oraz wskaźnika polarności użytych rozpuszczalników: dla metanolu- 5.2; dla wody- 9.0 (Masci i in. 2016, Sun 2005). Dlatego trudno byłoby wyekstrahować i zidentyfikować wszystkie flawonoidy i polifenole obecne w gryce tatarce wykorzystując do tego celu tylko jeden rozpuszczalnik. Przeprowadzone badania wskazują na możliwość wykorzystania różnych morfologicznych części z gryki tatarskiej jako źródła hydrofilowych substancji biologicznie aktywnych, jednakże w celu zwiększenia wydajności izolacji, do ekstrakcji należy dobrać odpowiedni rozpuszczalnik w zależności od rodzaju substancji polifenolowych, które mają zostać wyizolowane.

W przeprowadzonym badaniu wykazałem, że wszystkie badane frakcje błonnika pokarmowego były wzajemnie skorelowane, jedynie w przypadku ADL i NDF współczynnik korelacji wynosił 0,65. Pomimo korelacji pomiędzy wszystkimi frakcjami błonnika nie zaobserwowałem podobnej, jednolitej tendencji w zakresie korelacji pomiędzy poszczególnymi frakcjami błonnika a substancjami polifenolowymi. Sugeruje to, że nie tylko ekstrahent, ale także zawartość poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego w różnych częściach morfologicznych gryki wpływa na biodostępność badanych substancji. Dlatego przy wyjaśnianiu efektów fizjologicznych błonnika pokarmowego należy wziąć pod uwagę cały kompleks, tj. błonnik pokarmowy-przeciwutleniacz. Morfologiczne części rośliny można uznać za naturalne źródło substancji przeciwutleniających dla bakterii jelita grubego (Esposito i in. 2005). Suplementy wytwarzane z morfologicznych części gryki, bogate w błonnik pokarmowy i substancje antyoksydacyjne, mogą być skutecznie stosowane w walce z miażdżycą (Jiang i in. 2010). Dla lepszego zrozumienia interakcji pomiędzy analizowanymi wartościami przeprowadziłem analizę głównych komponentów składowych (PCA). Zaproponowany model (układ 3 głównych składowych) wyjaśnia 81% ogólnej zmienności. Wyodrębniłem cztery grupy zmiennych, których struktura zbliżona jest do przedstawionych wyników analizy skupień. Ekstrakty wodne pozyskane z kwiatów i liści zawierały wyższy poziom kwasów DHBA w porównaniu z ekstraktami metanolowymi, które otrzymano z łodygi, liści i korzenia - te z kolei charakteryzowały się wysoką zawartością rutyny. Stwierdziłem, że rodzaj

ekstrahenta nie wpływał istotnie na profil związków fenolowych pochodzących z łądygi. Wzajemne relacje wektorów sugerowały, że zawartość NDF, ADF, a także frakcji C i H wykazywały ujemną korelację z takimi substancjami jak: izowiteksyna, kemferol, witeksyna, fagopiryna, kwas kawowy i procyjanidyna B2. Stwierdziłem istnienie zależności pomiędzy frakcją NDF a wszystkimi zidentyfikowanymi polifenolami w *Fagopyrum tataricum*. Wyniki wielokrotnej regresji liniowej wykazały, że ekstrahent nie był tutaj istotny. Wykazałem jedynie istotną zależność między zmienną niezależną (NDF) a zmiennymi zależnymi (niektóre związki polifenolowe), $p < 0,05$. Przedstawione poniżej równanie ($R^2 = 0,9979$) pokazuje standaryzowane współczynniki (wartości w nawiasach), które pozwalają na bezpośrednie porównania poszczególnych wpływów zmiennych, np. działanie kwasu galusowego jest trzykrotnie większe niż kwasu syringowego - 0,06/0,02.

Równanie:

$$\text{NDF} = -0,69(0,10) \text{ kwas kawowy} + 0,09(0,06) \text{ kwas gallusowy} + 0,46(0,02) \text{ kwas syringowy} - 0,30(0,11) \text{ luteolina} + 0,46(0,07) \text{ kwercyiny 3-D-galaktozyd} - 0,43(0,08) \text{ izowiteksyna} + 0,12(0,03) \text{ procyjanidyna B2}$$

Obecność frakcji błonnika pokarmowego wpływa na efektywność ekstrakcji związków fenolowych, niezależnie od części morfologicznej *Fagopyrum tartaricum*. Ajila i Rao (2013) wykazali, że ograniczona ilość wolnych antyoksydantów obecnych w produktach spożywczych jest determinowana przez fizyczne i chemiczne interakcje między substancjami polifenolowymi a błonnikiem pokarmowym. Na tym etapie badań wykazałem jednak, że efektywność procesu ekstrakcji zależy od rodzaju poszczególnych substancji fenolowych oraz zawartości błonnika pokarmowego. Zatem dobierając odpowiedni ekstrahent do części morfologicznej gryki można zaprojektować preparaty o różnej zawartości substancji biologicznie aktywnych.

Ad. 2. “The cytotoxic effect of artificially digested buckwheat products on HT-29 human colon cancer cells” – publikacja 2.

Spośród wszystkich chorób nowotworowych rak okrężnicy jest główną przyczyną zachorowalności i umieralności. Tylko w 2012 r. choroba ta spowodowała 694 tys. zgonów na całym świecie. Ryzyko tego rodzaju nowotworów jest częstsze u starszych osób, zwłaszcza w wieku powyżej 60 lat. Zapadalność na raka okrężnicy jest znacznie niższa wśród wegetarian lub osób, które nie spożywają mięsa oraz nabiału (Coulston i in. 2017). W wielu badaniach wykazano, że związki bioaktywne obecne w owocach i warzywach mają korzystny wpływ na zdrowie człowieka, zwłaszcza w prewencji przed chorobami przewlekłymi, takimi jak choroby

układu krążenia i nowotwory (Ishii i in. 2008, Kuntz i in. 1999, Senthilkumar i in. 2013). Korzyści te przypisuje się naturalnym związkom bioaktywnym, takim jak błonnik pokarmowy, aminokwasy, fitosterole i inne substancje towarzyszące, do których zalicza się składniki fenolowe (Coulston i in. 2017).

Zboża i pseudozboża są ważnym źródłem makroskładników oraz substancji bioaktywnych o działaniu antyoksydacyjnym. Stosunkowo wysoka zawartość błonnika pokarmowego oraz witaminy B1, B2 i B6 determinuje potencjalne możliwości wykorzystania gryki w żywieniu dietetycznym. Przeciwutleniacze fenolowe mogą hamować szybkość powstawania wolnych rodników, chroniąc ludzkie tkanki przed uszkodzeniami. Działanie przeciwutleniające przypisuje się najczęściej kwasom fenolowym, flawonoidom i fitosterolom (Senthilkumar i in. 2013). Ishii i in. (2008) wykazali, że ekstrakt z łuski gryki ma silne działanie przeciwutleniające zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Ponadto, wykazano w badaniach *in vitro*, że pewne rozpuszczalne w wodzie składniki *F. esculentum* są skuteczne w hamowaniu komórek nowotworowych HT29 (Peng i in. 2015, Zhang i in. 2018). Substancje rozpuszczalne w wodzie, takie jak tatarozyd wyizolowany z korzeni *F. tataricum* zostały zastosowane w hamowaniu rozwoju komórek nowotworowych wątroby – linia H22 (Peng i in. 2015). Udowodniono również cytotoksyczne działanie glikozydów fenylopropanoidowych obecnych w orzeszkach gryki tatarskiej (Zheng i in. 2012).

Chociaż hamujący wpływ polifenoli na wzrost różnych linii komórek nowotworowych *in vitro* zostały dobrze poznane, to wpływ wzmiankowanych substancji po trawieniu *in vitro* nie zostały dotąd opisane (Li i in. 2016, Sathiyamoorthy i Sudhakar 2018). Przeciwutleniacze odpowiadają m.in. za wychwytywanie wolnych rodników, tlenu singletowego i usuwanie elektronów w reakcjach redoks zachodzących w komórkach. Potencjał transbłonowy żywych komórek jest zdolny do transportu MTT (bromku difenylotetrazoliowego) przez membranę do wewnątrz, gdzie tworzy on nierozpuszczalny w wodzie kryształ formazanu (Liu i Nair, 2010). Konwersja mitochondrialnego tetrazolu do formazanu zależy od zmian w fizjologii komórek. Dlatego za pomocą testu MTT służącego do pomiaru reakcji redoks na liniach komórek nowotworowych można zapewnić wiarygodne obserwacje.

W związku z tym podjąłem badania dotyczące oceny wpływu wybranych części ziarniaka gryki (obluszczone ziarniaki, łuska, otręby) po trawieniu *in vitro* na cytotoksyczność mitochondrialną komórek HT-29. W tym celu hodowałem komórki nowotworu jelita grubego i inkubowałem je z różnymi roztworami, które zostały wcześniej pozyskane w wyniku trawienia w sztucznym przewodzie pokarmowym. Roztwory uzyskane po procesie trawienia zbadałem pod kątem

zawartości wybranych flawonoidów, kwasów fenolowych, aminokwasów i tiaminy. Ocenę żywotności i aktywności metabolicznej komórek raka okrężnicy wykonałem testem MTT przy zastosowaniu oznaczenia niebieskiego bromku tetrazolowego. Przeprowadzone badania wykazały, iż surowy ziarniak gryki (RG), prażony ziarniak gryki (RSG) i otręby gryczane pozyskane w wyniku obłuskiwania gryki (BBI) po procesie trawienia w warunkach *in vitro*, charakteryzują się najwyższą zawartością katechin, a ponadto BBI najwyższą zawartością kwercetyny, zaś prażona łuska gryczana (BH) i pozostałe otręby gryczane (BBII) najwyższą zawartością rutyny. W odniesieniu do aminokwasów najwyższą ich zawartość stwierdziłem w strawionych próbkach BBII i BBI. Wykazałem również, że katechiny, kwercetyna oraz niektóre aminokwasy mają istotny cytotoksyczny wpływ na mitochondria komórek HT-29 ($p < 0,05$). Stwierdziłem, że największy wpływ cytotoksyczny na komórki HT 29 po procesie trawienia wykazują otręby (BBI i BBII). Z kolei próby RG, RSG, BBG i BH odznaczają się mniejszym efektem cytotoksycznym, a próba BG miała najniższą aktywność w tym zakresie. Dodatkowo ustaliłem rodzaj substancji odpowiedzialnej za aktywność cytotoksyczną. Na podstawie uzyskanych wyników pogrupowałem próbki gryki na trzy klastry, każdy o innej aktywności cytotoksycznej. Pierwszą z nich stanowiły BG, BGC, BBG, BH, druga (pośrednia) grupa składała się z RG i RSG, a trzecią grupę tworzyły BBI i BBII. Analiza statystyczna profilu jakościowego i ilościowego próbek wykazała, że pierwsza grupa (BG, BGC, BBG i BH) miała najniższe poziomy badanych składników. Natomiast trzecia grupa (BBI, BBII) cechowała się ich najwyższą ilością. Druga grupa (RG i RSG) tworzy zbiór pośredni pomiędzy pierwszą a trzecią grupą. Wysokie wartości analizowanych zmiennych w BBI i BBII są istotnie związane z niskim poziomem przeżywalności komórek HT-29 ($p = 0,000065$, ANOVA). Komórki z BBI lub BBII po procesie trawienia były znacząco mniej żywotne ($p < 0,05$). Średnie wartości przeżywalności komórek HT-29 nie różnią się istotnie między pierwszą a drugą grupą ($p > 0,05$). Zaobserwowałem ujemną korelację ($p < 0,05$) między żywotnością komórek HT-29 a katechiną (-0,53), kwercetyną (-0,68), Ser (-0,49), Pro (-0,54), Gly (-0,61), His (-0,62) i Arg (-0,42). Pozostałe zmienne były również odwrotnie skorelowane z przeżywalnością komórek HT-29, ale nie były one bardzo wyraźne ($p < 0,05$). Na podstawie wyników uzyskanych z analizy PCA stwierdziłem, że przeżywalność komórek HT-29 wyjaśnia 92% całkowitej wariancji i jest ujemnie skorelowana z innymi wektorami. Dlatego możliwe jest, że poszczególne zmienne mają synergiczny wpływ na przeżywalność komórek nowotworowych HT-29. Biorąc pod uwagę korelację tylko dwóch zmiennych, odnotowałem hamowanie wzrostu komórek HT-29 dla siedmiu wyżej wymienionych zmiennych. Stosując podejście wielowymiarowe, stwierdziłem, że wraz ze wzrostem zarówno stężenia poszczególnych aminokwasów, jak i

substancji polifenolowych wzrasta również poziom cytotoksyczności uzyskanych próbek względem komórek HT-29. Próby BBI i BBII (trzecia grupa) wykazały najwyższy poziom cytotoksyczności w kierunku komórek HT-29. Stwierdziłem istotnie ($p < 0,05$) ujemną korelację między wzrostem komórek HT-29 a poziomem katechiny, kwercetyny, seryny, proliny, glicyny, histydyny i argininy w próbkach ziarniaka gryki po trawieniu. Uzyskane wyniki wskazują, że pozyskane części ziarniaka gryki są bogatym źródłem substancji bioaktywnych, dlatego mogą być one stosowane jako dodatek prozdrowotny przy produkcji żywności.

Ponadto ustaliłem na podstawie przeprowadzonej analizy PCA badanych wyróżników części morfologicznych orzeszka, że flawonoidy (katechiny i kwercetyna) oraz aminokwasy (seryna, prolina, glicyna, histydyna i arginina) były najbardziej cytotoksyczne. Analiza statystyczna wykazała, że tiamina nie jest w stanie zahamować wzrostu komórek HT-29. Również rutyna będąca dominującym flawonoidem, w każdej spośród zbadanych próbek, nie wykazywała statystycznie istotnego wpływu na toksyczność komórek HT-29. Senthilkumar i in. (2013) oraz Olejnik i in. (2016) opisali cytotoksyczność niektórych substancji bioaktywnych na różnych liniach komórek nowotworowych. Autorzy wykazali, że substancje antyoksydacyjne, w skład których wchodzi kwas fenolowy i flawonoidy występujące w materiale roślinnym, są częściowo odpowiedzialne za aktywność cytotoksyczną (Denizot i Lang 1986, Olejnik i in. 2016, Senthilkumar i in. 2013). Zarówno gryka zwyczajna, jak i tatarska zawiera różne substancje konserwujące, takie jak: kwasy fenolowe, flawonoidy, kwas askorbinowy, białka i karotenoidy (Kim i in. 2004). Ponadto, lecznicza rola kiełków gryki związana jest z jej antybakteryjnym, przeciwgrzybiczym, antymutagennym oraz przeciwzapalnym działaniem. Ishii i in. (2008) zbadał działanie przeciwzapalne kiełków gryki na ludzką linię komórek raka okrężnicy i stwierdził, ich korzystny wpływ. Inni autorzy wcześniej wykazali, że rutyna ma mniej znaczący wpływ na hamowanie wzrostu komórek nowotworowych okrężnicy niż kwercetyna (Kim i in. 2005, Kuntz i in. 1999). Według Li i in. (2016), którzy zastosowali ekstrakty polifenolowe z otrębów gryczanych rutyna jest główną substancją odpowiedzialną za działanie antyproliferacyjne na linię komórkową HepG2. Senthilkumar i in. (2013) zauważył, że *Rhodiola imbricata* Edgew (różeniec dachówkowaty) – roślina o wysokiej zawartości polifenoli – miała działanie hamujące na proliferację komórek HT-29. Autorzy doszli do wniosku, że aktywność antyproliferacyjna ekstraktów acetonowych i metanolowych *R. imbricata* Edgew prawdopodobnie jest związana z obecnością polifenoli. Jednak autorzy nie ustalili dokładnego profilu antyoksydacyjnego tej rośliny, dlatego nie byli w stanie przypisać działania hamującego konkretnej substancji polifenolowej. Nie tylko potencjał

antyoksydacyjny próbek, ale także profil ilościowy i jakościowy substancji polifenolowych odgrywa ważną rolę w hamowaniu proliferacji nowotworowych komórek jelita grubego (Senthilkumar i in. 2013). Zhao i in. (2015) zbadał synergizm pomiędzy poszczególnymi substancjami antyoksydacyjnymi, aminokwasami i białkami owocu *Pyracantha fortuneana*. Autorzy stwierdzili, że interakcja między kwercetyną i katechiną miała pozytywny wpływ na ich działanie antyoksydacyjne w warunkach *in vitro*. Złożone interakcje między składnikami próbki mogą prowadzić do synergistycznego, antagonistycznego, lub nawet addytywnego działania antyoksydacyjnego (Zhao i in. 2015).

W przeprowadzonym badaniu potwierdziłem cytotoksyczne działanie zarówno katechiny, jak i kwercetyny w kierunku linii komórkowej HT-29. Ponadto na podstawie literatury przedstawiłem kilka mechanizmów wyjaśniających działanie antyproliferacyjne kwercetyny na komórki nowotworowe okrężnicy HT-29. Kwercetyna ma powinowactwo do miejsc wiążących estrogen typu II (EBS) i dlatego może być odpowiedzialna za regulację wzrostu komórek HT-29 poprzez wiązanie się z takimi miejscami (Ranelletti i in. 1992). Z badań Kim i in. (2005) wynika, że kwercetyna zmniejsza ekspresję receptorowych kinaz tyrozynowych ErbB2 i ErbB3, która jest wzmocniona w komórkach HT-29 i są one związane z rozwojem raka jelita grubego. W ten sposób hamowanie wzrostu komórek HT-29 może być wynikiem inhibicji szlaku sygnałowego ErbB2/ErbB3. Potencjał kwercetyny do hamowania wzrostu wynika również z: jej zdolności do zatrzymywania cyklu komórkowego fazy G0/G1 (Kim i in. 2010, Ranelletti i in. 1992), fazy G2/M i fazy S (Kim et al., 2005; Yang et al., 2016), a tym samym indukowania apoptozy w komórkach raka okrężnicy (Kim i in. 2010, 2005, Yang i in. 2016). W badaniach Kim i in. (2010) wykazano, że apoptoza indukowana przez kwercetynę jest związana ze wzrostem ekspresji białek związanych z apoptozą, takich jak kinaza białkowa (AMPK, p53 i p21), a także aktywacją kaspaz 3 i 9, wzrostem aktywności białek proapoptotycznych Bax, obniżeniem poziomu antyapoptotycznego białka Bcl-2 (regulacja ekspresji białka fosforylowanego Akt) i Bcl-XL (Kim i in. 2005, Li i in. 2016, Yang i in. 2016). Ponadto kwercetyna działa przeciwnowotworowo poprzez hamowanie aktywacji ekspresji białka NF-κB. Indukowana kwercetyną śmierć komórek raka okrężnicy poprzez autofagię jest rodzajem śmierci komórkowej niezależnym od kaspazy, innym niż apoptoza (Psahoulia i in. 2007). W przeciwieństwie do kwercetyny, katechina została uznana za czynnik mało istotny w hamowaniu wzrostu komórek oraz efekt apoptozy na komórki raka okrężnicy HT-29 (Agullo i in. 1996; Yang i in. 2016). Podczas gdy funkcja aminokwasów jako produktów pośrednich w metabolizmie komórkowym jest dobrze poznana, ich interakcja z transdukcją sygnału nie

zostały jasno opisane. Aminokwasy zakłócają z zależnym od sygnalizacji białkiem ERK1/2 (kinaza regulowana sygnałem zewnątrzkomórkowym) kontrolę makroautofagii w komórkach raka jelita grubego HT-29. Aminokwasy tłumią w nich makroautofagię komórki poprzez hamowanie szlaku sygnałowego ERK1/2 i zakłócanie aktywacji białka Raf-1. Tłumienie makroautofagii jest prawdopodobnie skorelowane z utratą zdolności proliferacyjnej komórek nowotworowych okrężnicy (Pattingre i in. 2003). Ponadto zablokowanie szlaku ERK1/2 osłabił wzrost guzów okrężnicy *in vivo* i inwazyjność komórek HT-29 (Sebolt-Leopold i in. 1999). Jednak istotnym jest, że makroautofagia pełni podwójną funkcję, gdy dochodzi do onkogenezy. Mianowicie może być ona odpowiedzialna zarówno za promowanie wzrostu, jak i niszczenie komórek rakowych, w zależności od specyficznego dla komórek szlaku sygnałowego i ekspresji supresora nowotworowego oraz białka onkogenego (Codogno i Meijer 2005). Aminokwasy i peptydy odgrywają również podwójną rolę w metabolizmie komórkowym, ponieważ działają zarówno jako elementy budulcowe do syntezy białek, jak i jako półprodukt metabolitów, które przyspieszają inne reakcje biosyntezy. Shin i in. (2009) wykazał, że L-arginina znacząco hamowała proliferację ludzkich komórek mezangialnych i indukowała wydzielanie tlenu azotu, który jest nie tylko ważną cząsteczką sygnałową odpowiedzialną za regulację wielu procesów metabolicznych, ale także za regulację cytotoksycznych cząsteczek efektorowych, które działają jako część nieswoistego układu odpowiedzi odpornościowej. Jednak powyżej opisane działanie dotyczy komórek, które wykazują niespecyficzną odpowiedź immunologiczną, tj. mających antygeny prowokujące produkcję przeciwnowotworową przeciwciała. W niniejszym badaniu potwierdziłem korzystny wpływ argininy na hamowanie wzrostu komórek rakowych. Jest bardzo prawdopodobne, że peptydy zawierające argininę mogą również wykazywać podobną aktywność. Tate i in. (2008) zbadali wpływ arginazy II na proliferację komórek nowotworowych. Paradoksalnie, ograniczanie dostępu L-argininy może powodować zarówno śmierć komórek nowotworowych, jak również dysfunkcję komórek T. Wyniki, które uzyskałem wskazują że nie tylko arginina, ale także inne aminokwasy takie jak: seryna, histydyna, glicyna i prolina współuczestniczą w hamowaniu wzrostu linii komórkowych HT29. Roomi i in. (2006) przedstawił dowody na znaczące zahamowanie wzrostu guza czerniaka u samców myszy z upośledzeniem odporności po uzupełnieniu mieszanki składników odżywczych (0,5%) kwasem askorbinowym, lizyną, proliną, argininą i ekstraktem z zielonej herbaty. Zdaniem badaczy hamowanie wzrostu guza wywołane składnikami odżywczymi jest związane ze zmniejszeniem proliferacji komórek i zmniejszoną angiogenezą. Niektóre aminokwasy, kwasy fenolowe lub peptydy mogą nawet wykazywać synergistyczne działanie cytotoksyczne przeciwko linii komórkowej HT-29. Podobne

obserwacje poczynił Zhao i in. (2015) podczas oceny potencjału antyoksydacyjnego niektórych flawonoidów i ich synergistycznego efektu w badaniach modelowych.

Interesujące jest, że w niniejszej pracy roztwory pozyskane po trawieniu otręb gryczanych cechowały się najwyższą zawartością rutyny, kwercetyny, katechin i peptydów zawierających aminokwasy: serynę, prolinę, glicynę, histydynę i argininę. Spośród zbadanych po trawieniu prób, otręby (BBI i BBII) cechowały się największą cytotoksycznością wobec komórek HT29. Uzyskane wyniki sugerują, że ostateczny efekt cytotoksyczny zależy nie tylko od stężenia substancji bioaktywnych, ale także działania synergicznego pomiędzy substancjami aktywnymi w tym zakresie. Niemniej jednak, należy przeprowadzić dalsze eksperymenty molekularne, aby potwierdzić uzyskane wyniki. Otrzymane wyniki wskazują, że otręby gryki są dobrym źródłem substancji bioaktywnych, które po procesie trawienia w warunkach *in vitro* skutecznie działają cytotoksycznie na komórki HT29, dlatego mogą być stosowane jako dodatki do produkcji prozdrowotnych produktów spożywczych.

Ad.3. „Fatty acids profile, sterols, tocopherol and squalene content in *Fagopyrum tataricum* seed milling fractions”- publikacja 3.

Lipidy są obecne w zbożach w niewielkich ilościach; jednak ich rola w żywieniu człowieka, a także w przetwórstwie zbóż, ma duże znaczenie (Han i in. 2019, Oghbaei i Prakash 2016). Całkowita zawartość lipidów *F. tataricum* i *F. esculentum* waha się odpowiednio od 1% do 5% i od 2% do 3% (Dziejczak i in. 2016a,b, Zhu 2016). Dotychczas pojawiły się informacje dotyczące zawartości i jakości oleju wyizolowanego z ziaren *F. esculentum*; jednak nadal brakuje badań opisujących profil lipidowy *F. tataricum* (Dziejczak i in. 2016a,b). Każde ziarno składa się z części zarodka, bielma oraz warstwy aleuronowej, które różnią się zawartością lipidów. Prawidłowa metoda rozdrabniania oraz rozdzielania pozyskanych cząstek jest narzędziem technologicznym, które umożliwia zwiększenie wydajności ekstrakcji tłuszczu ze zbóż oraz pseudozbóż (Oghbaei i Prakash 2016). W tym celu stosuje się odpowiednie młyny i sita pozwalające na uzyskanie frakcji zawierających różne składniki odżywcze. Ze względu na brak informacji o profilu lipidowym ziarna gryki tatarskiej, celem badania było zaproponowanie metody przemiału oraz separacji sitowej poprzez ocenę zawartości fitosteroli, tokoferoli i określenie profilu kwasów tłuszczowych lipidów we frakcjach *F. tataricum* różniących się wielkością cząstek. Ziarno zostało rozdrobnione przy użyciu młyna walcowego, co umożliwiło oddzielenie łuski (BH) od połamanych części ziarniaka. Następnie produkt przemiału rozdzielono na frakcję w której dominowały otręby GA (380 μm >GA>180 μm) oraz dodatkowo pozyskano dwie frakcje mąki, różniące się wielkością cząstek GB i GC (180

$\mu\text{m} > \text{GB} > 95 \mu\text{m}$ i $\text{GC} < 95 \mu\text{m}$). Analizę tłuszczu przeprowadziłem przy użyciu chromatografu GC-FID/MS (kolumna BPX 70). Najwyższy poziom lipidów (kwasy tłuszczowe ogółem - 83%, z dominującym kwasem oleinowym - 40%) stwierdziłem we frakcji otrąb GA, co najprawdopodobniej związane jest z dominującą obecnością otrąb (Bonafaccia i in. 2003). W próbie BH zaobserwowałem niewielkie ilości tłuszczu ogółem, co zostało potwierdzone w badaniach przeprowadzonych z udziałem *F. esculentum* (Dzedzic i in. 2016a, b). Większość lipidów w orzeszku gryki znajduje się w tarczce, pozostałej części zarodka oraz okrywie nasiennej, najmniej zaś w bielmie i łusce (Golijan i in., 2019). Wszystkie próbki zawierały natywne kwasy tłuszczowe występujące w konfiguracji cis, takie jak kwas wakcenyowy (C18: 1, n-7; ~ 2,8%). Inni autorzy zaobserwowali obecność kwasu wakcenyowego w korzeniu *Cynachum paniculatum* (Xiong i in. 2018). Przypuszcza się, że kwas cis-wakcenyowy może hamować rozwój chorób nowotworowych. Prozdrowotne działanie kwasu trans-wakcenyowego, stwierdzono w produktach mlecznych, wykazując że jest ono wyższe niż jego izomeru cis (Field i in. 2009). Badane próby cechowały się niskim poziomem nasyconych kwasów tłuszczowych wynoszącym od 15,71% (GA) do 18,08% (BH), podczas gdy poziom nienasyconych kwasów tłuszczowych był znacznie wyższy i wahał się od 79,42% (BH) do 82,22% (GA). Uzyskany profil kwasów tłuszczowych jest zbliżony do profilu kiełków gryki tatarskiej, jednakże podczas kiełkowania skład kwasów zmienia się na korzyść kwasu oleinowego (Yiming et al. 2015). Kwas oleinowy (C18:1, n-9) i kwas linolowy (C18:2, n-6) dominowały we wszystkich próbkach, jednak różniły się one istotnie profilem. Kwas linolowy był głównym kwasem tłuszczowym w BH (41,58%), podczas gdy kwas oleinowy dominował we frakcji GA (39,87%). We frakcji GC poziomy C18:2, n-6 i C18:1, n-9 były podobne (około 36-37%). Kwasy oleinowy i linolowy występują w dużych ilościach w większości badanych zbóż i pseudozbożach (Golijan i in. 2019). Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) są niezbędnymi kwasami tłuszczowymi dla ludzi, ze względu na ich ochronną rolę w rozwoju niektórych chorób układu krążenia. Kwas linolowy, który należy do rodziny PUFA, obniża poziom frakcji LDL w surowicy krwi. Desaturazy oraz elongazy mogą przekształcać kwasy linolowy i linolenowy *in vivo* do kwasów o dłuższych łańcuchach (takich jak kwas arachidonowy, dokozaheksaenowy, eikozapentaenowy), które mogą następnie ulegać konwersji do eikozanoidów, w tym prostaglandyny E2, prostacykliny I2, tromboksanu A2 i leukotrienu LTB4 (Górnaś i in. 2014). Cząsteczki te powodują rozszerzenie naczyń krwionośnych i działają jako antykoagulant (prostacyklina I2). Prostaglandyna E2 ma działanie prozapalne i immunosupresyjne (Materac i in. 2013). Tromboksan A2 powstaje w trombocytach i jest aktywnym czynnikiem proagregacji zwięzania naczyń krwionośnych. W

leukocytach lipooksygenaza tworzy leukotrien LTB₄ przy użyciu kwasu arachidonowego. LTB₄ jest silnym mediatorem procesów zapalnych i reakcji anafilaktycznych. Wszystkie te substancje są lokalnymi regulatorami odpowiedzi komórkowej (Materac i in. 2013). Zaobserwowałem różnice w profilu kwasów tłuszczowych uzyskanych frakcji, jednak każda z tych frakcji w większym bądź mniejszym stopniu przypominała profil próbki pozyskanej z całego orzeszka. Zawartość substancji biologicznie aktywnych rozpuszczalnych w tłuszczach była różna i zależna od wielkości otrzymywanej frakcji, dlatego odpowiednio zaprojektowaną technologię wstępnego przetwarzania ziarna można zastosować w celu produkcji żywności o wysokiej wartości odżywczej lub suplementów diety.

Lipidy roślinne zawierają również inne cenne składniki, w tym fitosterole, witaminy oraz skwalen. W odróżnieniu od lipidów zwierzęcych charakteryzują się one niskim poziomem cholesterolu, dlatego zaleca się spożywanie olejów pochodzenia roślinnego, zwłaszcza w celu zapobiegania niektórym chorobom dietozależnym (Yao i in. 2020). Lipidy roślinne zostały dotąd bardzo dobrze opisane pod względem składu i zmian zachodzących podczas ich przetwarzania i przechowywania. Uważa się, że oprócz rozpuszczalnych w wodzie składników *F. esculentum*, również niektóre składniki rozpuszczalne w tłuszczach mogą wykazywać aktywność w kierunku wybranych linii komórek nowotworowych (Fakih et al. 2018).

We frakcji otrąb wykryłem najwyższą zawartość całkowitego tokoferolu (0,1% lipidów). Cztery homologi tokoferolu (α -, β -, δ - i γ -tokoferol) zidentyfikowałem w całym ziarniaku gryki tatarskiej. Całkowita zawartość tokoferolu wynosiła 75,49 mg/100 g tłuszczu, z przewagą form α i γ , co stanowi odpowiednio około 68% i 30% całkowitej ilości tokoferoli. Dla porównania nasiona komosy białej zawierają mniejsze ilości tokoferoli ogółem, jednak poziom form γ jest wyższy (Tang et al. 2015). Lachman i in. (2018) zaobserwowali najwyższe stężenie α -tokoferolu w ziarnie pszenicy kolorowej tritordeum oraz w ziarnie jęczmienia. Tymczasem w pracy wykazałem, że całkowita zawartość tokoferolu i skład różniły się w zależności od badanej frakcji przemiału gryki i wynosiła od 9,49 mg/100 g (GB) do 110,63 mg/100 g tłuszczu (GA). γ -Tokoferol stanowił około 56% całkowitego tokoferolu w GA, natomiast α -tokoferol dominował we frakcjach BH i GC, odpowiednio 52% i 68%. Wszystkie badane frakcje granulometryczne zawierały mniejsze ilości β - i δ -tokoferolu, odpowiednio od 0,98 do 2,92 mg/100 g tłuszczu oraz 0,90–10,48 mg/100 g tłuszczu. Najwyższy poziom β -tokoferolu zaobserwowałem we frakcjach GC i GA (w każdym przypadku prawie 3 mg/100 g tłuszczu). Najwyższy poziom δ -tokoferolu odnotowałem we frakcji GA, około 12 razy więcej niż we frakcji GB, a następnie frakcji GC (7,61 mg/100 g tłuszczu). Inni autorzy zidentyfikowali trzy

tokoferole: α -tokoferol, δ -tokoferol i γ -tokoferol w kielkach gryki tatarskiej podczas siedmiodniowego procesu kiełkowania (Zhou i in. 2015), przy czym γ -tokoferol był dominujący. Względna kolejność aktywności przeciwutleniających tokoferoli badana w warunkach *in vivo* przedstawia się następująco: α -tokoferol > β -tokoferol > γ -tokoferol > δ -tokoferol, podczas gdy kolejność ich aktywności w warunkach *in vitro* jest odwrotna: δ -tokoferol > γ -tokoferol \sim β -tokoferol > α -tokoferol, gdyż forma β - i γ - są natychmiast metabolizowane w wątrobie i wydalane z żółcią lub moczem (Munteanu i in. 2004). Tak więc w odniesieniu do wyników profilu i ilości tokoferoli w badanych próbkach, mogę wskazać na próbkę GA jako najbardziej wartościową pod względem odżywczym.

W zmielonych frakcjach *F. tataricum* zidentyfikowałem dziewięć steroli, tj.: β -sitosterol, d5-awenasterol, kampesterol, 7-stigmasterol, stigmasterol, 5,24-stigmastadienol, clerosterol, d7-awenasterol i brassikasterol. Poziom fitosteroli ogółem był najwyższy we frakcji GA, najniższy natomiast we frakcji GB, odpowiednio 11537 i 1447 mg/kg tłuszczów. Dominującym fitosterolem we wszystkich analizowanych próbkach był β -sitosterol, podczas gdy D7-awenasterol, klerosterol i brassikasterol wystąpiły w najmniejszych ilościach. Cholesterol występował w zakresie od 25 mg/kg tłuszczu we frakcji GB do 53 mg/kg tłuszczu we frakcji GC (co stanowiło prawie 1% wszystkich steroli). Jego zawartość w całym ziarniaku gryki tatarskiej wynosiła 70 mg/kg tłuszczu. Całe ziarno gryki tatarskiej zawiera 15 395 mg fitosteroli/kg tłuszczu, czyli około 1,5 raza mniej niż w oleju z kielków pszenicy - 23 820 mg/kg tłuszczu (Hassanien i in. 2014). W literaturze brakuje informacji na temat zawartości fitosteroli w ziarniaku *F. tataricum*, podczas gdy dostępnych jest więcej informacji na temat ich zawartości w ziarniaku *F. esculentum* (Dziejcz i in. 2016a, b; Krkoskova i Mrazova 2005). Cały ziarniak *F. tataricum* oraz jego najbogatsza frakcja GA zawierają około trzykrotnie mniej fitosteroli w porównaniu z ziarniakami i produktami ubocznymi *F. esculentum* (Dziejcz i in. 2016a, b). Takatsuto i in. (1989) badali zawartość fitosteroli w pyłku kwitnącej rośliny *F. esculentum* i zidentyfikowali czternaście fitosteroli. Pięć jednakowych substancji stwierdzono w pyłku *F. esculentum* i ziarnie *F. tataricum*: β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, cholesterol i brassikasterol. Dziejcz i in. (2016a, b) badali zawartość fitosteroli w ziarniaku *F. esculentum* (Moench), kaszach oraz produktach ubocznych (Dziejcz i in. 2016a, b) identyfikując siedem substancji: sitosterol, kampesterol, D-7 stigmasterol, stigmasterol, awenasterol, sitostanol i cykloartenol odpowiedzialnych za obniżenie poziomu cholesterolu we krwi. Ponadto korzystne działanie cykloartenolu udowodniono w profilaktyce chorób nowotworowych (Fakih i in. 2018, Shahzad i in. 2017). Jednak wśród analizowanych prób nie zidentyfikowałem cykloartenolu.

Obecność skwalenu stwierdziłem w tłuszczu pozyskanego z frakcji GA (2141 mg/kg s.m.), G (2048 mg/kg s.m.) i frakcji GC (1597 mg/kg s.m.). W ziarniaku gryki wykazałem większe ilości skwalenu w porównaniu z lipidami ryżu, kukurydzy i jęczmienia (Ryan i in. 2007, Shimizu i in. 2019). Zatem lipidy *F. tataricum* wydają się być bogatszym źródłem tej biofunkcjonalnej substancji, niż inne pseudozboża i zboża. W celu określenia różnic między uzyskanymi próbkami, wykonałem analizę statystyczną PCA, traktując fitosterole, skwalen, tokoferole i kwasy tłuszczowe jako zmienne. PCA wykazało, że pierwsze dwa komponenty wyjaśniają prawie 81% całkowitej wariancji i wyraźnie różnicują próbki. Klerosterol, β -sitosterol, 7-stigmasterol, 5,24-stigmastadienol, kampesterol, α -tokoferol oraz kwasy tłuszczowe C20:0, C24:0 i C21:1 znajdują się w obszarze frakcji G i GC. Ujemny region PC1 i PC2 (obszar frakcji GA) jest determinowany obecnością cholesterolu, skwalenu, d5-awenasterolu, d7-awenasterolu i β -tokoferolu; tymczasem próba BH znajdowała się częściowo w dodatnim regionie PC1 i ujemnym regionie PC2 i była determinowana obecnością C14:0, C15:0, C17:0 i C18:0. Badania wykazały, że zawartość lipidów w gryce tatarce jest znacznie niższa w porównaniu do roślin oleistych, jednakże wartość biologiczna tłuszczu z otrzymanych frakcji jest wysoka i poprzez zastosowanie zaproponowanej technologii rozdrabniania oraz rozdziału na sitach można kształtować jakość uzyskiwanych surowców. Lipidy wyizolowane z uzyskanych frakcji różnią się profilem kwasów tłuszczowych, zawartością tokoferolu, fitosteroli i skwalenu, co zostało potwierdzone analizą komponentów składowych. Biorąc pod uwagę wszystkie wyniki, wydaje się słuszne zaproponowanie frakcji GA jako tej o wysokiej wartości biologicznej; dlatego dalsze prace badawcze powinny dotyczyć właściwości lipidów pochodzących z frakcji GA.

Ad.4. “The lipid soluble bioactive substances of *Fagopyrum esculentum* varieties under different tillage and nitrogen fertilisation”- publikacja 4.

Poziom składników odżywczych w surowcach roślinnych można zwiększyć stosując w uprawie różne odmiany roślin, schematy nawożenia i reżimy przetwarzania technologicznego (Lacolla et al. 2021). W ostatnim dziesięcioleciu innowacje w hodowli oraz uprawie zbóż i pseudozbóż przyniosły zadowalające rezultaty w odniesieniu do składników odżywczych. Testowano różne poziomy nawozów organicznych lub chemikaliów, takich jak sole fosforanowe, sole azotu, sole magnezu, sole żelaza i cynk (Doolette et al. 2020, Le Cadre et al. 2022, Qaswar et al. 2022, Shi i in. 2021). Innowacje w hodowli i uprawie roślin mają na celu wyjście naprzeciw oczekiwaniom konsumentów dotyczących zwiększonej zawartości substancji prozdrowotnych w końcowym produkcie spożywczym. Dla rolników ważnym parametrem jest również wydajność uprawy w odniesieniu do zmieniającego się klimatu. Konieczna jest zatem

optymalizacja uprawy gryki, z wykorzystaniem różnorodnych dostępnych narzędzi zarówno podczas hodowli, jak i uprawy. Według FAOSTAT (2020) roczna światowa produkcja gryki wynosi 1,81 mln ton i powinna zostać zwiększona w najbliższych latach.

Jednym z najważniejszych czynników agrotechnicznych wpływających na plon ziarna jest nawożenie składnikami mineralnymi, zwłaszcza solami azotowymi. W intensywnej produkcji roślinnej nawożenie azotem (N) jest niezbędne dla wzrostu produktywności roślin i dobrej jakości plonu (Kolarić i in. 2021). Zalecany poziom azotu na hektar dla gryki wynosi 50 kg i obserwuje się addytywną korelację między produkcją ziarna, a poziomem białka (Schulte auf'm Erley i in. 2005). Brak dowodów potwierdzających wpływ nawożenia azotem na skład bioaktywnych substancji rozpuszczalnych w tłuszczach skłonił do przeprowadzenia badania wpływu uprawy (z orką i bez orki) i nawożenia (bez azotu oraz z azotem w ilości 50 kg/ha i 100 kg/ha) w czterech zarejestrowanych odmianach gryki zwyczajnej: Kora, Panda, Smuga i Korona (PA-15) na poziom wybranych lipofilnych substancji bioaktywnych.

Celem pracy było określenie zawartości fitosteroli, skwalenu i tokoferoli w czterech odmianach ziarna gryki zwyczajnej: Kora, Panda, Smuga i Korona w zależności od zastosowanej metody uprawy i dawek azotu. Grykę uprawiano w Stacji Doświadczalnej Państwowego Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Osinach z zastosowaniem orki, bez orki oraz z nawozami azotowymi w dawkach 0, 50 i 100 kg/ha. Do oceny wszystkich badanych parametrów zastosowano chromatografię gazową ze spektrometrem mas. Stosowane zabiegi agrotechniczne oraz nawożenie nie wpłynęły istotnie na poziom fitosteroli, tokoferoli i skwalenu, w przeciwieństwie do odmiany. Najwyższy poziom fitosteroli odnotowano w odmianie Kora przy nawożeniu 50 kg N₂/ha (w zakresie od 1198 µg do 1800 µg/g s.m.).

Głównym celem nawożenia azotem jest zwiększenie plonu ziarna (Kolarić i in. 2021). W prezentowanym badaniu tylko zmienna „odmiana” wpływała istotnie ($P \leq 0,05$) na plonowanie. Nawożenie azotem w dawce 100 kg/ha zwiększyło plon ziarna średnio o ~0,117 t/ha w porównaniu z poziomem 50 kg N₂/ha oraz o ~0,311 t/ha w odniesieniu do plonu gryki bez azotu. Podobną tendencję zaobserwowali inni autorzy, gdy zwiększali nawożenie azotem z 0 do 30 kg N₂/ha, uzyskując końcowy plon ziarna na poziomie około 0,12 t/ha (Schulte auf'm Erley i in. 2005). Odmianą o największym uzyskanym plonie była: MHR Smuga (1,321 t/ha), następnie MHR Korona PA-15 (1,265 t/ha), Panda (1,262 t/ha), a najniższą wartość plonowania odnotowano dla MHR Kora (1,23 t/ha). Wcześniejsze badania dotyczące plonowania ziarna dwóch odmian gryki zwyczajnej - Hruszowska i Prego, z zastosowaniem różnych dawek

nawozu azotowego, również wykazały istotne różnice, przy czym były one bardziej istotne w przypadku odmiany Hruszowska (Schulte auf'm Erley i in. 2005).

Najwyższą zawartość fitosteroli ogółem stwierdzono w próbkach odmiany Kora (od 1138 µg do 1800 µg/g s.m.), a najniższe w odmianie Smuga (od 917 µg do 1183 µg/g s.m.). W piśmiennictwie dostępne są ograniczone informacje na temat poziomów fitosteroli w różnych odmianach gryki. Efekty obróbki termicznej ziarna (odmiana Kora) zostały opisane we wcześniej przeprowadzonych badaniach, w których udokumentowano, że surowy ziarniak gryki zawiera 530 µg fitosteroli/g s.m. próby, co może mieć związek z odmiennymi warunkami uprawy (Dzedzic i in. 2016a). W innym eksperymencie opisanym w 2016 roku wykazano, że surowy ziarniak gryki odmiany Kora zawierał 690 µg fitosteroli/g s.m. próby (Dzedzic i in. 2016b). Wiele czynników, w tym pogoda, skład gleby, dawki nawożenia oraz metoda uprawy mogą wpływać na całkowitą zawartość fitosterolu. W prezentowanym badaniu zidentyfikowałem siedem fitosteroli we wszystkich odmianach gryki zwyczajnej: kampesterol, stigmasterol, β-sitosterol, d5-awenasterol, 5,24-stigmastadienol, d7-stigmastenol i d7-awenasterol. Największe stężenie β-sitosterolu wykazałem w odmianie Kora bez uprawy płuznej i z dawką azotu 50 kg/ha (1302 µg/g s.m.), a najmniejsze w odmianie Smuga w uprawie 50 kg azotu/ha (746 µg/g s.m. próby). Wcześniej sugerowano, że β-sitosterol jest również dominującym sterolem w odmianie Kora (Dzedzic i in. 2016b, 2016a) i stanowił 50%–70% wszystkich steroli (Raguindin i in. 2021). Najwyższy poziom d5-awenasterolu i kampesterolu w próbkach odnotowałem w odmianie Kora bez uprawy płuznej i z dawką azotu 50 kg/ha (odpowiednio 161 i 147 µg/g s.m.), natomiast najniższy w uprawie bezpłuznej odmiany Smuga z dawką azotu 100 kg/ha (odpowiednio 82 i 67 µg/g s.m.). Raguindin i in. (2021) opisali, że w gryce i owsie dominuje β-sitosterol, a następnie kampesterol. Wyniki badań Dzedzica i in. (2016b) wykazują następującą sekwencję fitosteroli w odmianie Kora: sitosterol > kampesterol > d7-stigmasterol > cykloartenol > stigmasterol > awenasterol > sitostanol. Największe ilości stigmasterolu i stigmastadienolu zaobserwowałem w bezpłuznej uprawie odmiany Kora z nawożeniem azotem na poziomie 50 kg/ha (odpowiednio 43 i 27 µg/g s.m.), natomiast najmniejszą zawartością tych steroli cechowały się odmiana Smuga bez dodatku nawozu azotowego (odpowiednio 21 i 11 µg/g s.m.). Podobnej tendencji nie zaobserwowałem dla d7-stigmastenolu i d7-awenasterolu. Najwyższe stężenie d7-stigmastenolu odnotowałem w uprawie bezpłuznej odmiany Kora z dawką azotu na poziomie 50 kg azotu (60 µg/g s.m.), a niższe w uprawie bezpłuznej Smugi z dawką azotu na poziomie 100 kg/ha (32 µg/g s.m.). Uprawa płuzna odmiany Kora bez nawozu cechuje się największą ilością d7-awenasterolu (13

$\mu\text{g/g}$ s.m.), natomiast odmiany PA-15 bez uprawy płużnej i bez nawożenia również zawiera najmniejsze stężenie d7-awenasterolu ($8 \mu\text{g/g}$ s.m.). We wcześniejszych badaniach zidentyfikowano w ziarnie odmiany Kora stigmasterol i avenasterol, natomiast nie wykazano obecności stigmastadienolu ani d7-stigmastenolu (Dziejcz i in. 2016b), co świadczy, że fitosterole są obecne we wszystkich częściach gryki, zarówno w częściach zielonych, jak i we wszystkich warstwach ziarna. Ich stężenie różni się znacząco w zależności od tkanki i fazy wzrostu (Krkošková i Mrázová 2005). W dotychczasowych badaniach nie opisano zależności między uprawą i nawożeniem w różnych genotypach gryki zwyczajnej. Alignan i in. (2009) zaobserwowali istotny wpływ genotypu pszenicy chlebowej i warunków pogodowych na zawartość fitosterolu i fitostanolu. Czynniki genotypowy pszenicy uprawianej w warunkach ekologicznych zdominował czynnik terminu siewu w określaniu zawartości steroli i stanoli (Alignan i in. 2009). Chung i in. (2013) udokumentowali, że stężenie β -fitosterolu w ziarnach sorgo różniło się w zależności od genotypu i powierzchni upraw. Inni autorzy z kolei wykazali, że stres suszy nie wpływa na poziom fitosteroli w różnych genotypach ziarna *Foeniculum vulgare* (Gholami Zali i in. 2018). Można zatem stwierdzić, że różnorodność fitosteroli zależy od wielu wymienionych tutaj czynników. Natomiast dla optymalizacji całkowitej zawartości fitosteroli zalecana jest uprawa z metodą bezpłużną odmiany Kora z nawożeniem 50 kg/ha N_2 . Metoda uprawy nie powodowała istotnych różnic w zawartości tokoferolu. Całkowita jego zawartość w odmianach Smuga i Kora była wyższa ($30\text{--}47 \mu\text{g/g}$ s.m. w obu odmianach) niż w odmianie Panda ($20\text{--}35 \mu\text{g/g}$ s.m.). γ -Tokoferol dominował w uprawie płużnej gryki odmiany Kora z nawożeniem 50 kg/ha N_2 ($36 \mu\text{g/g}$ s.m.) oraz bez uprawy płużnej z 50 i 100 kg N_2 (41 i $37 \mu\text{g/g}$ s.m.), a także w dawce 50 kg azotu/ha ($41 \mu\text{g/g}$ s.m.). Najwyższe stężenie δ -tokoferolu w próbkach wykazałem w uprawie bezpłużnej odmiany Kora z nawożeniem $50 \text{ kg N}_2/\text{ha}$ ($4,9 \mu\text{g/g}$ s.m.) oraz Smuga z nawożeniem $50 \text{ kg N}_2/\text{ha}$ i Pa-15 przy $100 \text{ kg N}_2/\text{ha}$ ($3 \mu\text{g/g}$ s.m. w obu przypadkach). Poziom α -tokoferolu był najwyższy w uprawie gryki odmiany Smuga metodą bezpłużną (50 i $100 \text{ kg N}_2/\text{ha}$), Pa-15 ($100 \text{ kg N}_2/\text{ha}$), uprawie bezpłużnej Kora ($50 \text{ kg N}_2/\text{ha}$), Panda bez azotu, Smuga (50 i $100 \text{ kg N}_2/\text{ha}$) oraz Pa-15 (0 i $50 \text{ kg N}_2/\text{ha}$) i wahał się od $0,6$ do $0,8 \mu\text{g/g}$ s.m. próbek. Najwyższy poziom β -tokoferolu stwierdziłem w odmianie bezpłużnej Kora z $50 \text{ kg N}_2/\text{ha}$ oraz w uprawie płużnej Kora bez N_2 (odpowiednio $0,31$ i $0,28 \mu\text{g/g}$ s.m.). Podsumowując, najwyższe poziomy γ -tokoferolu i tokoferoli ogółem zaobserwowałem w odmianach Kora i Smuga. Chung i in. (2013) w przypadku uprawy orzechów włoskich zaobserwowali różnice w całkowitych poziomach tokoferoli w zależności od odmiany i miejsca wzrostu. W warunkach stosowania nawozów azotowych różnice

odnotowali tylko dla α - tokoferolu, a obserwowana tendencja w zależności od badanej odmiany była podobna jak w moim badaniu (Verardo i in. 2013).

Metoda uprawy (płużna, bezpłużna) nie powodowały różnic w zawartości skwalenu i cholesterolu w przypadku odmian Panda, Smuga i Pa-15. Inni autorzy wskazali, że zawartość skrobi w ziarnie gryki uprawianej z dodatkiem azotu była wyższa niż w normalnych warunkach uprawy, ale nadal brak jest dowodów potwierdzających wpływ nawożenia azotem i uprawy płużnej na skład lipidowy ziarna gryki. Z drugiej strony uprawa ekologiczna i konwencjonalna nie wpłynęła na istotne różnice w metabolitach wtórnych gryki zwyczajnej, takich jak flawonoidy (Gao i in. 2021, Kalinova i Vrchotova 2011). W prezentowanej pracy nie stwierdziłem zależności między odmianami, metodami uprawy i nawożeniem azotem w odniesieniu do skwalenu; jego stężenie wahało się od 10,4 $\mu\text{g/g}$ s.m. (PA-15, bez N_2 , z zastosowaniem orki) do 57,7 $\mu\text{g/g}$ s.m. (Kora, 80 kg N_2/ha , bez orki). Givens i in. (2004) przy zastosowaniu optymalnej dawki nawozu azotowego zaobserwowali obniżenie całkowitej zawartości lipidów w ziarnie owsa (2004). Wpływ zastosowania trzech dawek nawozu azotowego na zawartość skwalenu zaobserwowałem w przypadku uprawy płużnej odmiany Kora. Kalinova i Vrchotova (2011) opisali rozmieszczenie i zawartość skwalenu w trzech odmianach liści i kwiatów gryki w różnych fazach wzrostu roślin, stwierdzając najwyższy poziom skwalenu w liściach (od 84 do 98 $\mu\text{g/g}$ s.m. w zależności od odmiany). Zauważyli również, że skwalen i inne wtórne metabolity, takie jak tokoferole, są rozprowadzane z liści do ziaren (Kalinova i Vrchotova 2011). Zawartość cholesterolu różni się także w zależności od odmiany, nawożenia i metody uprawy (minimum 1,3 $\mu\text{g/g}$ próby dla Smuga, 50 kg N_2/ha , bez uprawy; maksimum 10 $\mu\text{g/g}$ dla Smuga, bez orki oraz azotu). Raguindin i in. (2021) stwierdzili w gryce zwyczajnej nieznaczne poziomy pochodnych cholesterolu, ale ich znaczenie dla organizmu jest niewielkie.

Po uwzględnieniu wszystkich zmiennych (poziom fitosteroli, tokoferolu, skwalenu, cholesterolu, nawożenia i metody uprawy) wyodrębniłem dwie odrębne grupy prób, odnoszące się do odmiany Kora i Smuga (test PCA). Metoda uprawy nie miała istotnego wpływu na zawartość badanych składników. Verardo i in. (2013) zbadali również wpływ nawożenia N_2 na zawartość fitosteroli w orzechach włoskich i wykazali, że nawożenie N_2 nie wpływa na poziom fitosteroli w orzechach. Skład tłuszczu gryki wydaje się być dobrą jej prozdrowotną cechą, a biorąc pod uwagę brak wpływu zabiegów agrotechnicznych (orka) na skład tłuszczu, można je pominąć.

Nawożenie azotem różnie wpływa na poziom fitosteroli, tokoferoli, skwalenu i cholesterolu i zależy od uprawianej odmiany gryki. Na jakość lipidów nie ma istotnego wpływu metoda uprawy. Dlatego z ekonomicznego punktu widzenia w celu uzyskania lepszego składu lipidowego polecam uprawę bezpłówną odmiany Kora z dawką azotu 50 kg/ha. Uzyskany ziarniak może być wykorzystywany jako źródło bioaktywnych substancji rozpuszczalnych w tłuszczach do produkcji żywności funkcjonalnej.

4.2.3. Podsumowanie

W prezentowanym powyżej kompleksie publikacji badano możliwości ukształtowania pożądanej wartości biologicznej i odżywczej gryki z przeznaczeniem do produkcji żywności o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym. Uzyskane wyniki dostarczają nową wiedzę i poszerzają już istniejącą na temat kształtowania składników biologicznie aktywnych pochodzących z gryki. Wykorzystano do tego celu różne części morfologiczne rośliny, procesy technologiczne, zabiegi agrotechniczne oraz różne gatunki i odmiany gryki. Przeprowadzone badania wykazały, że:

1. Efektywność procesu ekstrakcji związków fenolowych zależy od rodzaju poszczególnych substancji fenolowych, zawartości błonnika pokarmowego oraz części morfologicznej gryki. Dobierając odpowiedni ekstrahent (wodę lub metanol) do części morfologicznej gryki można zaprojektować preparaty o różnej zawartości substancji biologicznie aktywnych, takich jak związki fenolowe i błonnik pokarmowy.
2. Roztwory pozyskane po trawieniu otręb gryczanych cechowały się najwyższą zawartością rutyny, kwercetyny, katechin i peptydów zawierających aminokwasy: serynę, prolinę, glicynę, histydynę i argininę. Spośród zbadanych po trawieniu prób, otręby (BBI i BBII) cechowały się największą cytotoksycznością wobec komórek HT29. Uzyskane wyniki sugerują, że ostateczny efekt cytotoksyczny zależy nie tylko od stężenia substancji bioaktywnych, ale także działania synergistycznego pomiędzy substancjami aktywnymi, takimi jak: katechiny, kwercetyna, seryna, prolina, glicyna, histydyna i arginina.
3. Zastosowanie odpowiedniej technologii rozdrabniania gryki oraz rozdziału otrzymanych cząstek na sitach pozwala kształtować jakość uzyskiwanych surowców. Lipidy wyizolowane z uzyskanych frakcji różnią się profilem kwasów tłuszczowych, zawartością tokoferolu, fitosteroli i skwalenu. Wydaje się więc słuszne zaproponowanie stopnia rozdrobnienia na poziomie $380 \mu\text{m} < \text{GA} < 180 \mu\text{m}$.

4. Nawożenie azotem w różny sposób wpływa na poziom fitosteroli, tokoferoli, skwalenu i cholesterolu i zależy od uprawianej odmiany gryki. Z ekonomicznego punktu widzenia, w celu uzyskania lepszego składu lipidowego polecam uprawę bezpłuną odmiany Kora z nawożeniem 50 kg azotu/ha. Uzyskany ziarniak jest dobrym źródłem lipofilnych substancji prozdrowotnych.

4.2.4. Spis literatury

- Abdul Khalil HPS, Hossain M.S., Rosamah E., Azli N.A., Saddon N., Davoudpoura Y., Md N.I., Dungani R. (2015) The role of soil properties and it's interaction towards quality plant fiber: a review. *Renew Sust Energ Rev* 43:1006–1015.
- Agullo G., Gamet-Payrastré L., Fernandez Y., Anciaux N., Demigné C., Rémésy C. (1996). Comparative effects of flavonoids on the growth, viability and metabolism of a colonic adenocarcinoma cell line (HT29 cells). *Canc. Lett.* 105, 61–70.
- Ahmed A., Khalid N., Ahmad A., Abbasi N.A., Latif M.S.Z., Randhawa M.A. (2014) Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review. *J Agric Sci* 152(03):349–369.
- Ajila C.M., Rao U.J.S.P. (2013)Mango peel dietary fiber: composition and associated bound phenolics. *J Funct Foods* 5:444–450.
- Alignan M., Roche J., Bouniols A., Cerny M., Mouloungui Z., Merah O. (2009). Effects of genotype and sowing date on phytosterol–phytosterol content and agronomic traits in wheat under organic agriculture. *Food Chemistry* 117, 219–225.
- Bonafaccia G., Gambelli L., Fabjan N., Kreft I. (2003). Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chem.* 83 (1), 1–5. [https://doi.org/ 10.1016/S0308-8146\(03\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00228-0).
- Chung I.-M., Yong S.-J., Lee J., Kim S.-H. (2013). Effect of genotype and cultivation location on β -sitosterol and α -, β -, γ -, and δ -tocopherols in sorghum. *Food Research International* 51, 971–976.
- Codogno P., Meijer A.J. (2005). Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.* 12, 1509–1518.
- Coulston A.M., Boushey C.J., Ferruzzi M.G. (2017). *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*. Academic Press, Honolulu.
- Denizot F., Lang R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Meth.* 89, 271–277.
- Diowski A., Sadowska A. (2021). Impact of sourdough and transglutaminase on gluten-free buckwheat bread quality. *Food Bioscience* 43, 101309.
- Doolette, C.L., Read T.L., Howell N.R., Cresswell T., Lombi E. (2020). Zinc from foliar-applied nanoparticle fertiliser is translocated to wheat grain: A ^{65}Zn radiolabelled translocation study comparing conventional and novel foliar fertilisers. *Science of The Total Environment* 749, 142369.
- Dziejcz K., Górecka D., Marques A., Rudzińska M., Podolska G. (2016a). Content of phytosterols in raw and roasted buckwheat groats and by-products. *Czech J. Food Sci.* 33 (No. 5), 424–430.
- Dziejcz K., Górecka D., Szewngiel A., Olejnik A., Rychlik J., Kreft I., Drożdżyńska A., Walkowiak J. (2018). The cytotoxic effect of artificially digested buckwheat products on HT-29 colon cancer cells. *J. Cereal. Sci.* 83, 68–73.
- Dziejcz K., Szewngiel A., Górecka D., Rudzińska M., Korczak J., Walkowiak J. (2016b). The effect of processing on the phytosterol content in buckwheat groats and by-products. *J. Cereal. Sci.* 69, 25–31.
- Esposito F., Arlotti G., Maria Bonifati A., Napolitano A., Vitale D., Fogliano V. (2005) Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Res Int* 38(10):1167–1173.
- Fakih O., Sanver D., Kane D., Thorne J.L. (2018). Exploring the biophysical properties of phytosterols in the plasma membrane for novel cancer prevention strategies. *Biochimie* 153, 150–161.

- Field C.J., Blewett H.H., Proctor S., Vine D. (2009). Human health benefits of vaccenic acid. *Appl. Physiol. Nutr. Metabol.* 34 (5), 979–991.
- Gao L., Xia M., Wan C., Jia Y., Yang L., Wang M., Wang P., Yang Q., Yang P., Gao X., Gao J. (2021). Analysis of synthesis, accumulation and physicochemical properties of Tartary buckwheat starches affected by nitrogen fertilizer. *Carbohydrate Polymers* 273, 118570.
- Garmus T.T., Paviani L.C., Queiroga C.L., Cabral F.A. (2015) Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides* Cham.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *J Supercrit Fluids* 99:68–75.
- Garmus T.T., Paviani L.C., Queiroga C.L., Magalhães P.M., Cabral F.A. (2014) Extraction of phenolic compounds from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *J Supercrit Fluids* 86:4–14.
- Gholami Zali A., Ehsanzadeh P., Szumny A., Matkowski A. (2018). Genotype-specific response of *Foeniculum vulgare* grain yield and essential oil composition to proline treatment under different irrigation conditions. *Industrial Crops and Products* 124, 177–185.
- Gil P., Bonomelli C., Schaffer B., Ferreyra R., Gentina C. (2012) Effect of soil water-to-air ratio on biomass and mineral nutrition of avocado trees. *J Soil Sci Plant Nutr* 12(3):609–630.
- Givens D.I., Davies T.W., Laverick R.M. (2004). Effect of variety, nitrogen fertiliser and various agronomic factors on the nutritive value of husked and naked oats grain. *Animal Feed Science and Technology* 113, 169–181.
- Golijan J., Milinčić D.D., Petronijević R., Pešić M.B., Barać M.B., Sečanski M., Lekić S., Kostić A.Ž. (2019). The fatty acid and triacylglycerol profiles of conventionally and organically produced grains of maize, spelt and buckwheat. *J. Cereal. Sci.* 90, 102845.
- Górnaś P., Siger A., Juhnevič K., Laciš G., Sne E., Seglina D. (2014). Cold-pressed Japanese quince (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex. Spach) seed oil as a rich source of α -tocopherol, carotenoids and phenolics: A comparison of the composition and antioxidative activity with nine other plant oils. *Europ. J. Lip. Sci. Tech.*, 116, 563-570.
- Han L., Lin Q., Liu G., Han D., Niu L., Su D. (2019). Lipids promote glycated phospholipid formation by inducing hydroxyl radicals in a maillard reaction model system. *J. Agric. Food Chem.* 67 (28), 7961–7967.
- Hassanien M.M.M., Abdel-Razek A.G., Rudzińska M., Siger A., Ratusz K., Przybylski R. (2014). Phytochemical contents and oxidative stability of oils from non-traditional sources: phytochemical contents and oxidative stability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116 (11), 1563–1571.
- Houx J.H., Wiebold W.J., Fritschi F.B. (2016). Long term tillage treatment effects on corn grain nutrient composition and yield. *Field Crops Research* 191, 33–40.
- Ishii S., Katsumura T., Shiozuka C., Ooyauchi K., Kawasaki K., Takigawa S., Fukushima T., Tokuji Y., Kinoshita M., Ohnishi M., Kawahara M., Ohba K. (2008). Anti-inflammatory effect of buckwheat sprouts in lipopolysaccharide-activated human colon cancer cells and mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72, 3148–3157.
- Jiang P., Burczynski F., Campbell C., Pierce G., Austria J.A., Briggs C.J. (2007) Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. *Food Res Int* 40(3):356–364.
- Kalinova J., Vrchotova N. (2011). The influence of organic and conventional crop management, variety and year on the yield and flavonoid level in common buckwheat groats. *Food Chemistry* 127, 602–608.
- Kim H.-J., Kim S.-K., Kim B.-S., Lee S.-H., Park Y.-S., Park B.-K., Kim S.-J., Kim J., Choi C., Kim J.-S., Cho S.-D., Jung J.-W., Roh K.-H., Kang K.-S., Jung J.-Y. (2010). Apoptotic effect of quercetin on HT-29 colon cancer cells via the AMPK signaling pathway. *J. Agric. Food Chem.* 58, 8643–8650.
- Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S. (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* 96, 229–245.
- Kim W., Bang M., Kim E., Kang N., Jung K., Cho H., Park J. (2005). Quercetin decreases the expression of ErbB2 and ErbB3 proteins in HT-29 human colon cancer cells. *J. Nutr. Biochem.* 16, 155–162.
- Kolarić L., Popović V., Živanović L., Ljubičić N., Stevanović P., Šarčević Todosijević L., Simić D., Ikanović J. (2021). Buckwheat Yield Traits Response as Influenced by Row Spacing, Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Management. *Agronomy* 11, 2371.

- Kreft M. (2016) Buckwheat phenolic metabolites in health and disease. *Nutr Res Rev* 29(01):30–39.
- Kreft I., Zhou M., Golob A., Germ M., Likar M., Dzedzic K., Luthar Z. (2020). Breeding buckwheat for nutritional quality. *Breed. Sci.* 70, 67–73.
- Krkoskova B., Mrazova Z. (2005). Prophylactic components of buckwheat. *Food Res. Int.* 38 (5), 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.009>.
- Kuntz S., Wenzel U., Daniel H. (1999). Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. *Eur. J. Nutr.* 38, 133–142.
- Lachman J., Hejtmánková A., Orsák M., Popov M., Martinek P. (2018). Tocotrienols and tocopherols in colored-grain wheat, tritordeum and barley. *Food Chem.* 240, 725–735.
- Lacolla G., Rinaldi M., Savino M., Russo M., Caranfa D., Cucci G. (2021). Effects of organic fertilization from wet olive pomace on emmer wheat (*Triticum dicoccum* Shrank) grain yield and composition. *Journal of Cereal Science* 102, 103369.
- Le Cadre E., de Oliveira A.B., Arkoun M., Yvin J.C., Hinsinger P. (2022). Nitrogen fertilization of intercropped cereal-legume: A potassium, sulfur, magnesium and calcium plant acquisition dataset. *Data in Brief* 40, 107816.
- Li F., Zhang X., Zheng S., Lu K., Zhao G., Ming J. (2016). The composition, antioxidant and antiproliferative capacities of phenolic compounds extracted from tartary buckwheat bran [*Fagopyrum tartaricum* (L.) Gaertn]. *J. Funct. Foods* 22, 145–155.
- Liu Y., Nair M.G. (2010). An efficient and economical MTT assay for determining the antioxidant activity of plant natural product extracts and pure compounds. *J. Nat. Prod.* 73, 1193–1195.
- Makran M., Faubel N., López-García G., Cilla A., Barberá R., Alegría A., Garcia-Llatas G. (2022). Sterol bioaccessibility in a plant sterol-enriched beverage using the INFOGEST digestion method: Influence of gastric lipase, bile salts and cholesterol esterase. *Food Chemistry* 382, 132305.
- Masci A., Coccia A., Lendaro E., Mosca L., Paolicelli P., Cesa S. (2016) Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chem* 202:59–69.
- Materac E., Marczyński Z., Bodek K. H. (2013). The role of long-chain fatty acids omega-3 and omega-6 in human body. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2, 225–233.
- Munteanu A., Zingg J.-M., Azzi A. (2004). Anti-atherosclerotic effects of vitamin E ? Myth or reality? *J. Cell Mol. Med.* 8 (1), 59–76. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00260.x>.
- Neethirajan S., Hirose T., Wakayama J., Tsukamoto K., Kanahara H., Sugiyama S. (2011) Karyotype analysis of buckwheat using atomic force microscopy. *Microsc Microanal* 17(04):572–577.
- Oghbaei M., Prakash J. (2016). Effect of primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: a comprehensive review. *Cogent Food & Agricult.* 2 (1) <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136015>.
- Olejniak A., Rychlik J., Kidoń M., Czapski J., Kowalska K., Juzwa W., Olkiewicz M., Dembzyński R., Moyer M.P. (2016). Antioxidant effects of gastrointestinal digested purple carrot extract on the human cells of colonic mucosa. *Food Chem.* 190, 1069–1077.
- Pattingre S., Bauvy C., Codogno P. (2003). Amino acids interfere with the ERK1/2-dependent control of macroautophagy by controlling the activation of Raf-1 in human colon cancer HT-29 cells. *J. Biol. Chem.* 278, 16667–16674.
- Peng W., Hu C., Shu Z., Han T., Qin L., Zheng C. (2015). Antitumor activity of tatariside F isolated from roots of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn against H22 hepatocellular carcinoma via up-regulation of p53. *Phytomedicine* 22 (7–8), 730–736. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.05.003>.
- Psahoulia F.H., Moutzi S., Roberts M.L., Sasazuki T., Shirasawa S., Pintzas A. (2007). Quercetin mediates preferential degradation of oncogenic Ras and causes autophagy in Ha- RAS -transformed human colon cells. *Carcinogenesis* 28, 1021–1031.
- Qaswar M., Li D., Huang J., Han T., Ahmed W., Ali S., Khan M.N., Khan Z.H., Xu Y., Li Q., Zhang H., Wang B., Tauqeer A. (2022). Dynamics of organic carbon and nitrogen in deep soil profile and crop yields under long-term fertilization in wheat-maize cropping system. *Journal of Integrative Agriculture* 21, 826–839.
- Qin P., Wu L., Yao Y., Ren G. (2013) Changes in phytochemical compositions, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities during the processing of tartary buckwheat tea. *Food Res Int* 50(2):562–567.

- Raguindin P.F., Adam Itodo O., Stoyanov J., Dejanovic G.M., Gamba M., Asllanaj E., Minder B., Bussler W., Metzger B., Muka T., Glisic M., Kern H. (2021). A systematic review of phytochemicals in oat and buckwheat. *Food Chemistry* 338, 127982.
- Ranelletti F.O., Ricci R., Larocca L.M., Maggiano N., Capelli A., Scambia G., Benedetti- Panici P., Mancuso S., Rumi C., Piantelli M. (1992). Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type-II estrogen-binding sites in human colon-cancer cell lines and primary colorectal tumors. *Int. J. Canc.* 50, 486–492.
- Ryan E., Galvin K., O'Connor T.P., Maguire A.R., O'Brien N.M. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods Hum. Nutr.* 62 (3), 85–91. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0046-8>.
- Roomi M.W., Ivanov V., Netke S., Kalinovsky T., Niedzwiecki A., Rath M. (2006). *In vivo* and *in vitro* antitumor effect of ascorbic acid, lysine, proline and green tea extract on human melanoma cell line A2058. *Vivo Athens Greece* 20, 25–32.
- Sathiyamoorthy J., Sudhakar N. (2018). *In vitro* cytotoxicity and apoptotic assay in HT- 29 cell line using *Ficus hispida* linn: leaves extract. *Phcog. Mag.* 13, S756–S761.
- Schulte auf'm Erley G., Kaul H.-P., Kruse M., Aufhammer W. (2005). Yield and nitrogen utilization efficiency of the pseudocereals amaranth, quinoa, and buckwheat under differing nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy* 22, 95–100.
- Sebolt-Leopold J.S., Dudley D.T., Herrera R., Becelaere K.V., Wiland A., Gowan R.C., Teclé H., Barrett S.D., Bridges A., Przybranowski S., Leopold W.R., Saltiel A.R. (1999). Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors *in vivo*. *Nat. Med.* 5, 810–816.
- Senthilkumar R., Parimelazhagan T., Chaurasia O.P., Srivastava R.B. (2013). Free radical scavenging property and antiproliferative activity of *Rhodiola imbricata* Edgew extracts in HT-29 human colon cancer cells. *Asian Pac. J. Trop. Med* 6, 11–19.
- Shi M., Wang X., Wang H., Guo Z., Wang R., Hui X., Wang S., Kopittke P.M., Wang Z. (2021). High phosphorus fertilization changes the speciation and distribution of manganese in wheat grains grown in a calcareous soil. *Science of The Total Environment* 787, 147608.
- Shimizu N., Ito J., Kato S., Eitsuka T., Miyazawa T., Nakagawa K. (2019). Significance of squalene in rice bran oil and perspectives on squalene oxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 65, S62–S66. <https://doi.org/10.3177/jnsv.65.S62>.
- Shin B.C., Ryu H.H., Chung J.H., Lee B.R., Kim H.L. (2009). The protective effects of green tea extract against l-arginine toxicity to cultured human mesangial cells. *J. Kor. Med. Sci.* 24, S204.
- Shahzad N., Khan W., Md S., Ali A., Saluja S.S., Sharma S., Al-Allaf F.A., Abduljaleel Z., Ibrahim I.A.A., Abdel-Wahab A.F., Afify M.A., Al-Ghamdi S.S. (2017). Phytosterols as a natural anticancer agent: current status and future perspective. *Biomed. Pharmacother.*
- Stojilkovski K., Glavač N.K., Kreft S., Kreft I. (2013) Fagopyrin and flavonoid contents in common, tartary, and cymosum buckwheat. *J Food Compos Anal* 32(2):126–130.
- Sun T. (2005) Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem* 90(4):743–749.
- Takatsuto S., Omote K., Kitsuwat T. (1989). Phytosterol composition of the pollen of buckwheat, *Fagopyrum esculentum* moench. *Agric. Biol. Chem.* 53 (8), 2277–2278. <https://doi.org/10.1080/00021369.1989.10869612>.
- Tate D.J., Vonderhaar D.J., Caldas Y.A., Metoyer T., Patterson J.R., Aviles D.H., Zea A.H. (2008). Effect of arginase II on L-arginine depletion and cell growth in murine cell lines of renal cell carcinoma. *J. Hematol. Oncol.* 1, 14.
- Verardo V., Riciputi Y., Sorrenti G., Ornaghi P., Marangoni B., Caboni M.F. (2013). Effect of nitrogen fertilisation rates on the content of fatty acids, sterols, tocopherols and phenolic compounds, and on the oxidative stability of walnuts. *LWT - Food Science and Technology* 50, 732–738.
- Xiong Y., Li B., Huang D., He Q., Yu X. (2018). Anti- *Deinagkistrodon acutus* venom properties of ethanolic root extract from *Cynanchum paniculatum* (Bunge) kitag and its GC-MS analysis. *J. Ethnopharmacol.* 225, 189–197.
- Yang L., Liu Y., Wang M., Qian Y., Dong X., Gu H., Wang H., Guo S., Hisamitsu T. (2016). Quercetin-induced apoptosis of HT-29 colon cancer cells via inhibition of the Akt-CSN6-Myc signaling axis. *Mol. Med. Rep.* 14, 4559–4566.

Yao Y., Xu F., Ju X., Li Z., Wang L. (2020). Lipid-lowering effects and intestinal transport of polyphenol extract from digested buckwheat in caco-2/HepG2 coculture models. *J. Agric. Food Chem.* 68 (14), 4205–4214.

Yiming, Z., Hong, W., Linlin, C., Xiaoli, Z., Wen, T., Xinli, S. (2015). Evolution of nutrient ingredients in tartary buckwheat seeds during germination. *Food Chem.* 186, 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.115>

Zhan, J., Wang D., Wu Y., Li W., Hu Y., Zhao G., Fu C., Fu S., Zou L. (2018). Lipid–polymer hybrid nanoparticles for oral delivery of tartary buckwheat flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 66 (19), 4923–4932. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00714>

Zhao C.-F., Lei D.J., Song G.H., Zhang H., Xu H., Yu L.-J. (2015). Characterisation of water-soluble proanthocyanidins of *Pyracantha fortuneana* fruit and their improvement in cell bioavailable antioxidant activity of quercetin. *Food Chem.* 169, 484–491.

Zheng C., Hu C., Ma X., Peng C., Zhang H., Qin L. (2012). Cytotoxic phenylpropanoid glycosides from *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. *Food Chem.* 132 (1), 433–438.

Zhou X., Hao T., Zhou Y., Tang W., Xiao Y., Meng X., Fang X. (2015). Relationships between antioxidant compounds and antioxidant activities of tartary buckwheat during germination. *J. Food Sci. Technol.* 52 (4), 2458–2463. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1290-1>

Zhu, F. (2016). Chemical composition and health effects of Tartary buckwheat. *Food Chem.* 203, 231–245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.050>.

4.3. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

Rozprawa habilitacyjna jest kontynuacją tematu podjętego w ramach dysertacji doktorskiej pt. „Wpływ zabiegów technologicznych stosowanych podczas produkcji kaszy gryczanej na zawartość wybranych substancji biologicznie aktywnych”. Badania te były finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (NN312208836), którego byłem głównym wykonawcą. Podczas realizacji pracy doktorskiej badałem wpływ termicznych procesów technologicznych stosowanych w warunkach przemysłowych na zawartość wybranych składników odżywczych i biologicznie aktywnych w kaszy gryczanej i odpadach powstałych podczas jej przerobu.

Moja wieloletnia aktywność naukowa obejmuje:

4.3.1. Badanie zależności błonnik pokarmowy - wybrane bakterie fekalne - kwasy żółciowe w warunkach symulujących sztuczny przewód pokarmowy.

4.3.2. Wykorzystanie ubocznych produktów przemysłu spożywczego do produkcji żywności prozdrowotnej.

4.3.3. Badania wpływu stresowych warunków uprawy wybranych odmian gryki, tj. Kora i Panda na skład ziarniaka.

4.3.4. Badanie właściwości przeciwutleniających surowców oraz żywności pochodzenia roślinnego w układach modelowych.

Ad. 4.3.1.

Procesy trawienne zachodzące w przewodzie pokarmowym człowieka są bardzo złożone, ale kluczowe dla zachowania zdrowia. Obejmują one jednocześnie mechaniczną przemianę pokarmu, prowadzącą do zmniejszenia wielkości jego cząstek (zachodzącą głównie w jamie ustnej i żołądka) oraz przemianę enzymatyczną, dzięki której makrocząsteczki są hydrolizowane do małych cząstek, a następnie wchłaniane do krwiobiegu (jelito cienkie i grube). Prowadzenie badań nad trawieniem i wchłanianiem pokarmu w złożonym, wielopoziomowym układzie pokarmowym *in vivo* jest trudne technicznie (zwłaszcza kwestia dostępu do odcinka jelita cienkiego), a także bardzo kosztowne i ograniczone względami etycznymi. Rosnące zapotrzebowanie na badania składników żywności i ich interakcji w przewodzie pokarmowym prowadzi do wzrostu popularności badań GSI (model żołądka i jelita cienkiego) jako alternatywy do badań *in vivo*. Biorąc pod uwagę trudności w uzyskiwaniu zgody Komisji Bioetycznej dla badań nad efektywnością działania substancji biologicznie aktywnych z udziałem zwierząt, jednym z tematów wiodących mojego pozostałego dorobku naukowego były badania dotyczące zachowania bakterii przewodu pokarmowego w środowisku żywności wysokobłonnikowej w odniesieniu do kwasów żółciowych podczas trawienia w sztucznym przewodzie pokarmowym.

Stwierdziłem, że zdolność błonnika pokarmowego do wiązania kwasów żółciowych zależy od jego składu frakcyjnego, a jego lepkość odgrywa ważną rolę w obniżaniu poziomu cholesterolu, poprzez wiązanie kwasów żółciowych. W efekcie cholesterol LDL jest usuwany z krwi i przekształcany przy udziale wątroby w kwasy, które zastępują pulę kwasów żółciowych usuwanych z kałem. Właściwości fizykochemiczne rozpuszczalnego błonnika prowadzą do istotnych zmian objętości i lepkości treści jelita, wpływając na szlaki metaboliczne cholesterolu wątrobowego i metabolizmu lipoprotein, co również skutkuje obniżeniem poziomu cholesterolu LDL w osoczu. Ponadto błonnik pokarmowy zwiększa aktywność enzymatyczną 7- α -hydroksylazy cholesterolu, która jest głównym enzymem odpowiedzialnym za wątrobową konwersję cholesterolu do kwasów żółciowych (zał.4.II.4.24).

Kolejne badania dotyczyły oceny wpływu otrąb pszennych i wyłoków pomidorowych na funkcje przewodu pokarmowego w warunkach *in vitro*. Ze względu na związek pomiędzy dietą, mikroflorą przewodu pokarmowego, kwasami żółciowymi i chorobami nowotworowymi jelita grubego, słusznym wydawało się zbadanie procesów dotyczących wiązania kwasów żółciowych przez wyłoki pomidorowe, pszenne błonnik pokarmowy o

różnym stopniu rozdrobnienia oraz wyroby cukiernicze wzbogacone błonnikiem w warunkach *in vitro* (zał.4.II.4.14, zał.4.II.4.20).

Przeprowadzone badania dotyczyły oceny roli wyłoków pomidorowych w kondycjonowaniu bakterii kałowych i ich zdolności do wiązania pierwotnych (cholowego - CA oraz litocholowego - LCA) i wtórnych kwasów żółciowych (deoksycholowego - DCA). Zbadałem interakcje między wyłokami pomidorowymi, a bakteriami fekalnymi i kwasami żółciowymi podczas procesu trawienia w warunkach *in vitro*. Wykazałem, że wyłoki z pomidorów mogą znacząco wpływać na liczbę bakterii fekalnych i rozpuszczalność kwasów żółciowych podczas trawienia *in vitro* między innymi poprzez zdolność białek/peptydów do ich wiązania. Dostępność i stopień wykorzystania kwasów żółciowych zależą nie tylko od interakcji między badanymi kwasami żółciowymi a bakteriami, ale także od interakcji kwasów żółciowych ze strawionymi składnikami żywności. Stwierdziłem niższą rozpuszczalność kwasów żółciowych w próbkach kontrolnych (próby bez wyłoków), co spowodowane było brakiem krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych produkowanych przez bakterie. Analizując stężenie kwasów deoksycholowego (DCA) i cholowego (CA) w próbkach kontrolnych (bez wyłoków pomidorowych) wykazałem ich niską rozpuszczalność w pH (6,0) oraz dobrą rozpuszczalność w środowisku o pH 7,2, gdzie ich stężenie wzrastało. Większa rozpuszczalność tych kwasów w próbkach kontrolnych wpłynęła na zwiększenie ich biodostępności (jedynego składnika węglowego) dla bakterii kałowych. W rezultacie na końcowym etapie trawienia (pH 8,0) zaobserwowałem niskie stężenie kwasów, które mogą być metabolizowane przez niektóre bakterie jelitowe (zał 4.II.4.14). Z kolei podczas badań z wykorzystaniem pszennych preparatów błonnikowych o różnym stopniu rozdrobnienia wyższe stężenie kwasów żółciowych na II etapie trawienia preparatów o rozmiarze 90 mikronów oraz 500 mikronów można wyjaśnić ich lepszą rozpuszczalnością w pH 7,2 w porównaniu z etapem I, gdzie zastosowano pH 6,0. Stwierdziłem, że pH środowiska wpływa na rozpuszczalność kwasów żółciowych i zdolność tworzenia rozpuszczalnych soli (zał. 4.II.4.20). Zaobserwowałem również dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kwasu litocholowego (LCA), kwasu octowego, mlekowego, masłowego a liczbą bakterii *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., natomiast ujemną korelację dla *Bifidobacterium* spp. W środowisku eksperymentalnym wykazałem, że kwasy żółciowe wydają się być głównym regulatorem liczebności mikroflory jelitowej, wskazując na toksyczną aktywność ich wtórnych form na niektóre bakterie kwasu mlekowego. *Enterococcus faecalis* może

wykorzystywać kwasy tłuszczowe jako źródło węgla, gdyż ich stężenie obniżyło się w trakcie hodowli w próbce kontrolnej przy braku innego biodostępnego źródła węgla (zał.4.II.4.14).

Podczas trawienia wyłoków pomidorowych odnotowałem wzrost stężenia wtórnych kwasów żółciowych, co można powiązać z zaangażowaniem niektórych bakterii w biotransformację pierwotnych kwasów żółciowych do wtórnych kwasów żółciowych (zał.4.II.4.14). Z kolei podczas trawienia *in vitro* wyrobów cukierniczych na odcinku jelita grubego zaobserwowałem wzrost liczebności bakterii *Enterococcus*, *Lactobacillus* i *Escherichia coli*, które prawdopodobnie odpowiadają za przemianę pierwotnych kwasów żółciowych w kwasy wtórne (zał.4.II.4.24). W próbie ciastek z błonnikiem gryczanym *F. esculentum* (BC) nie stwierdziłem znacznego wzrostu bakterii *Enterococcus*, *Lactobacillus* i *E. coli*. Próbki kontrolne zawierały sacharozę, zaś ciastka z błonnikiem (BC) oraz muffiny z błonnikiem (BM) aspartam oraz acesulfamu K. Jednocześnie BM zawierały najwięcej frakcji błonnika rozpuszczalnego (SDF). Na II etapie trawienia odnotowałem, że bakterie syntetyzują kwas lithocholowy (LCA). Wykazałem także, że po II etapie fermentacji występuje najwyższe stężenie pozostałych kwasów żółciowych. Jest wysoce prawdopodobne, że desorpcja kwasów żółciowych może nastąpić wraz ze zmianą pH w przewodzie pokarmowym, jednak uzyskane wyniki wskazują, że stężenie kwasu lithocholowego w II etapie procesu trawienia wzrosło do początkowego stężenia kwasu wprowadzonego do naczynia reakcyjnego, co wskazuje, że biotransformacja kwasu LCA z kwasu cholowego lub deoksycholowego nastąpiła po drugim etapie trawienia (zał. 4.II.4.24). Ponadto *Bifidobacterium* spp. posiadają zdolność syntezy hydrolaz, które są odpowiedzialne za transformację pierwotnych kwasów żółciowych, takich jak CA, do drugorzędowych kwasów żółciowych, takich jak DCA i LCA. W ten sposób tłumaczy się silną korelację między CA, DCA i *Bifidobacterium* spp. podczas trawienia preparatów błonnikowych o różnym stopniu rozdrobnienia (90 i 500 mikronów), które mogą syntetyzować pierwotne kwasy żółciowe (zał. 4.II.4.20).

Kwasy cholowy i deoksycholowy podczas trawienia wyłoków pomidorowych wykazują dodatnią korelację z kwasem propionowym, co sugeruje związek między stężeniem kwasu CA, DCA oraz metabolitami produkowanymi przez bakterie. Dostępność i wykorzystanie kwasów żółciowych zależy nie tylko od interakcji między kwasami żółciowymi a bakteriami, ale także od interakcji kwasów żółciowych z innymi składnikami żywności. Na tym etapie badań wywnioskowałem, że bakterie kałowe mogą wykorzystywać pierwotne

kwasy żółciowe jako źródło energii w środowisku, w którym dostępność źródła węgla jest ograniczona (zał.4.II.4.14).

W celu wyjaśnienia współzależności pomiędzy błonnikiem, bakteriami i kwasami żółciowymi w warunkach *in vitro* określiłem zdolności sorpcyjne pierwotnych kwasów żółciowych (CA) i wtórnych kwasów żółciowych (DCA oraz LCA) przez muffiny (BM) i ciastka (BC) zawierające substancje bioaktywne w formie błonnika pokarmowego (zał.4.II.4.24). Wysoką zawartość błonnika TDF w badanych wyrobach cukierniczych osiągnąłem poprzez dodatek łuski gryczanej i mąki gryczanej. Zdolność produktów piekarniczych do wiązania kwasów żółciowych zależała zarówno od rodzaju produktu, jak i rodzaju analizowanego kwasu żółciowego. Poszczególne kwasy żółciowe wykazują różnicowane właściwości fizykochemiczne i biologiczne, z których najważniejszą jest hydrofilowość. Spośród pierwszorzędowych kwasów żółciowych CA jest najbardziej hydrofilowy, a najmniej LCA. Hydrofobowość molekularna żółci zależy od grupy koniugacji cholanu. Pomędzy DCA, CDC, CA i UDC zachodzi następująca zależność: DCA > CDC > CA > UDC z wolnymi solami żółciowymi > koniugaty glicyny > koniugaty tauryny. Kwas deoksycholowy jest bardziej powierzchniowo czynny niż kwas taurocholowy, co powoduje silniejsze właściwości hydrofobowe DCA w porównaniu z kwasem taurocholowym. Dlatego DCA, jako najbardziej reaktywny spośród trzech badanych kwasów żółciowych, był wiązany w najwyższym stopniu na pierwszym etapie trawienia wszystkich wyrobów cukierniczych (zał.4.II.4.24). Zdolność wiązania kwasów żółciowych zależy nie tylko od składu frakcyjnego błonnika pokarmowego, budowy chemicznej danego kwasu, pH środowiska, ale również od stężenia osmotycznego środowiska reakcyjnego. Lignina jest doskonałym adsorbentem kwasów żółciowych. Próbkę BM i BC zawierały wyższą zawartość procentową frakcji ligniny niż próbki kontrolne. Natomiast wyższe stężenia CA i DCA wykazano podczas pierwszego etapu trawienia BM i BC, co wynikało z różnego składu frakcji błonnika pokarmowego. Celuloza wykazuje najniższą zdolność wiązania kwasów żółciowych, natomiast metylacja ligniny zwiększa adsorpcję kwasów żółciowych (zał.4.II.4.24). Wynika z tego, że nie można określić prostej współzależności między zdolnością wiązania kwasów żółciowych, a zawartością błonnika pokarmowego. Wykazałem ograniczoną zdolność wiązania LCA przez hemicelulozy. Zdolność do wiązania kwasów żółciowych jest większa w przypadku produktów o wyższym poziomie TDF.

Stopień rozdrobnienia błonnika pszennego WF 90 (90 μm) i WF 500 (500 μm) determinuje jego właściwości funkcjonalne. WF 90 charakteryzował się wysoką zawartością NDF, SDF i celulozy, zaś WF 500 wysoką zawartością hemicelulozy. Maksymalny wzrost liczby bakterii *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. i *Bifidobacterium* spp. podczas procesu trawienia zaobserwowałem przy pH 7,2. Dalsza inkubacja, której towarzyszył wzrost pH do 8 w trzeciej fazie, skutkowałą zmniejszeniem liczebności ww. bakterii, jednocześnie powodując znaczny wzrost liczby *E. coli* spp. Tę zmianę proporcji między różnymi grupami mikroorganizmów można przypisać nie tylko zmianom warunków wzrostu, ale także konkurencji międzygatunkowej. W trzeciej fazie trawienia (pH 8) zarówno liczebność *E. coli* spp. oraz stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych były najwyższe. Wysokie stężenie kwasów żółciowych było silnie skorelowane z dużą liczbą *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. oraz *Bifidobacterium* spp., natomiast najniższe wartości kwasów tłuszczowych odnotowano przy pH 6,0 i 8,0 (zał.4.II.4.20). W eksperymencie wykazałem, że stopień rozdrobnienia błonnika oraz jego podstawowy skład nie miały wpływu na stężenie kwasów żółciowych i rozwój bakterii. Jednak wyższa zawartość NDF, SDF i celulozy we włóknie WF 90 sprzyjała syntezie kwasów masłowego, propionowego i octowego. Wszystko to prowadzi do wniosku, że stopień rozdrobnienia błonnika nie miał wpływu na sorpcję kwasów żółciowych na żadnym z trzech etapów trawienia. Wzrost zawartości SCFA w procesie trawienia błonnika WF 90, prawdopodobnie można tłumaczyć ekspresją genów bakterii odpowiedzialnych za syntezę SCFA. Zaobserwowałem znaczny wzrost *E. coli* spp., spadek stężenia kwasów żółciowych i wzrost stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w końcowej fazie trawienia (pH 8,0). *Bifidobacterium* spp. i *Lactobacillus* spp. są zbyt wrażliwe na pH (4,0–5,0, 7,5–8,0) i wymagają obojętnego środowiska o pH w zakresie 6,0–7,0. Dłuższa ich ekspozycja na środowisko zawierające kwasy żółciowe powoduje adhezję tych kwasów do błon ścian komórkowych i wnikanie do komórek. Kwasy żółciowe mogą następnie na różne sposoby modyfikować ekspresję bakteryjnego DNA, prowadząc do spadku liczby bakterii. *E. coli* spp. są mniej wrażliwe na zmieniające się warunki pH i mają mechanizm usuwania kwasów żółciowych z błon komórkowych, dlatego dominowały na ostatnim etapie trawienia (pH 8,0).

Wyniki uzyskane w ramach prowadzonych badań mogą przyczynić się do zastosowania w przyszłości nowych zaleceń żywieniowych dla osób zagrożonych zaburzeniami metabolizmu lipidów, takimi jak hipercholesterolemia i miażdżyca, czy rak jelita grubego

– jako środki zapobiegawcze. Niniejsza tematyka badawcza prezentowana była na licznych krajowych i międzynarodowych sympozjach (zał.4.II.7.4, zał.4.II.7.6, zał.4.II.7.11, zał.4.II.7.17, zał.4.II.7.21, zał.4.II.7.23) oraz w publikacjach (zał.4.II.4.6, zał.4.II.4.14, zał.4.II.4.15, zał.4.II.4.20, zał.4.II.4.24, zał.4.II.4.26, zał.4.II.4.27, zał.4.II.4.36, zał.4.II.4.47). Ponadto badania o podobnej tematyce realizowano w ramach zadania badawczego Miniatura I (zał. 4.II.9.2).

Ad. 4.3.2.

Wytłoki pomidorowe (TP) stanowią główne źródło odpadów przemysłu owocowo-warzywnego (11 mln ton odpadów pomidorowych, w tym 4 mln ton wytlóków pomidorowych). Uzyskuje się je jako produkt uboczny głównie podczas przerobu pomidorów w przemyśle spożywczym. Wytłoki są bogatym źródłem niektórych składników odżywczych, takich jak: białko i lizyna (15–24%), tłuszcz (5–20%, głównie kwas linolowy), cukier ogółem (28–51%) oraz substancje mineralne (3–6%). Mogą być doskonałym źródłem substancji bioaktywnych, np. błonnika pokarmowego (głównie celulozy, hemicelulozy i ligniny) oraz likopenu - głównego karotenoidu o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej. Ponad 80% likopenu w diecie pochodzi z przetworzonych produktów pomidorowych, takich jak keczup, sok pomidorowy, sos do spaghetti i sos do pizzy. Inne źródła pokarmowe likopenu to arbuzy, owoce chlebowca, banany, winogrona i papaje. Produkty uboczne z pomidorów, zwłaszcza wytloki pomidorowe, są ważnym źródłem innych funkcjonalnych składników żywności, takich jak β -karoten, kwasy fenolowe (kwas elagowy i chlorogenowy) oraz flawonoidów (rutyny i mirycetyny). Są one znane jako potencjalne czynniki obniżające poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego w surowicy. Zdolność likopenu do gaszenia tlenu singletowego jest dwukrotnie większa niż β -karotenu i dziesięciokrotnie wyższa niż α -tokoferolu. Spożywanie przetworów pomidorowych z likopenem zmniejsza ryzyko chorób układu krążenia u mężczyzn i kobiet, raka piersi u kobiet po menopauzie, raka jajnika u kobiet przed i po menopauzie oraz raka prostaty. Likopen w stanie naturalnym występuje w postaci trans i jest słabo wchłaniany w organizmie człowieka. Podczas obróbki cieplnej pomidorów i przetworów pomidorowych, w obecności tłuszczu dochodzi do izomeryzacji likopenu z konfiguracji all-trans do cis, zwiększając jego biodostępność. Procesy technologiczne, takie jak mielenie, marynowanie, fermentacja, zamrażanie i delikatne podgrzewanie również poprawiają uwalnianie i wchłanianie karotenoidów (zał.4.II.4.9, zał.4.II.4.59).

Dlatego w pracy naukowej prowadziłem również badania oceny zawartości likopenu w

odpadach przemysłu warzywnego, tj. świeżych i suszonych wyłokach pomidorowych, w zależności od okresu zbioru. Wykazałem, że zawartość likopenu w pomidorach i ich przetworach zależy od rodzaju produktu oraz terminu zbioru, co w konsekwencji determinuje jego ilości w wyłokach. W świeżych wyłokach, zebranych w sierpniu, zawartość likopenu była wyższa niż zebranych we wrześniu (odpowiednio 20,45 oraz 16,11 mg/100 g s.m.). Wyniki te sugerują, że wyłoki mogą być uważane jako dobre źródło likopenu. Podczas dojrzewania pomidorów, między 4 a 21 dniem, zawartość likopenu w pomidorach nasłonecznionych wzrasta około 2,4-krotnie, ponadto po inkubacji w świetle UV-C i świetle czerwonym zawartość likopenu wzrasta odpowiednio sześciokrotnie i dziewięciokrotnie w stosunku do tego samego okresu. Wyższa zawartość likopenu w wyłokach pomidorowych pozyskanych z pomidorów zebranych w sierpniu wynika z dłuższego dnia i lepszego nasłonecznienia w porównaniu do września. Zawartość likopenu w analizowanych próbach zależała również od rodzaju produktu pomidorowego oraz okresu zbioru. Wykazałem, że wyłoki pomidorowe są dobrym źródłem likopenu, dlatego jest to obiecujący surowiec do produkcji żywności funkcjonalnej (zał.4.II.4.9).

Kolejne badania dotyczyły gryki i przetworów gryczanych, które należą do produktów o wysokich walorach prozdrowotnych. Podczas przetwarzania gryki powstają produkty uboczne, do których należą otręby oraz łuska gryczana, bogate w błonnik pokarmowy oraz wiele substancji bioaktywnych. W pracy naukowej podjąłem próbę opracowania receptury wyrobów ciastkarskich z udziałem kaszy gryczanej prażonej, mąki i łuski gryczanej jako produktu odpadowego przemysłu zbożowo-młynarskiego (zał.4.II.4.59).

Modyfikacja wyrobów ciastkarskich, polegająca na wprowadzeniu kaszy gryczanej, mąki i łuski gryczanej, będących nośnikami substancji biologicznie aktywnych, w istotny sposób wpłynęła na skład chemiczny tych produktów.

Babka gryczana zawierała o 13% więcej tłuszczu, o 15,3% więcej białka, oraz o 37% więcej błonnika pokarmowego w odniesieniu do próby kontrolnej. Ciastka z udziałem mąki gryczanej i dodatkiem łuski gryczanej zawierały aż o 151% więcej błonnika w stosunku do próby kontrolnej. Babka gryczana cechowała się wysoką pożądalnością sensoryczną, porównywalną do próby kontrolnej, pomimo istotnie niższej oceny smaku. Z kolei ciastka z dodatkiem mąki i łuski gryczanej cechowały się gorszym smakiem i zapachem w porównaniu z próbą kontrolną, jednakże nie stwierdziłem istotnych różnic w ogólnej pożądalności obu prób. Niższa ocena smaku gryczanych produktów cukierniczych może wynikać z braku akceptacji posmaku gryki, co związane jest z powstawaniem lotnych

związków siarkowych powstających w trakcie procesów termicznych. Warto zaznaczyć, że orzeszek gryki jest cennym źródłem białka, o wysokiej zawartości kwasu glutaminowego i asparaginowego oraz lizyny, w porównaniu z białkami innych zbóż. Zawartość białka w ziarniakach gryki mieści się w zakresie od 13 do 15,5% s.m. To podwyższa wartość odżywczą wyrobów cukierniczych. Spośród innych składników na szczególną uwagę zasługuje błonnik pokarmowy, w tym skrobia oporna, które są niezbędnym składnikiem diety stosowanej w profilaktyce chorób dietozależnych. W niniejszych badaniach wykazałem wysoką zawartość błonnika pokarmowego w proponowanych wyrobach ciastkarskich, co wiąże się z obecnością mąki i łuski gryczanej oraz powstałą podczas procesu technologicznego – skrobią oporną. Zawartość błonnika pokarmowego w łusce gryczanej wynosi 91,2%, a w mące gryczanej 8,2%. Łuska gryczana, jako źródło wielu związków biologicznie aktywnych podwyższa walory zdrowotne produktów spożywczych. Wykazałem, że dodatek mąki gryczanej do wyrobów ciastkarskich wpływa korzystnie na konsystencję oraz barwę produktów. Zastosowanie mąki i łuski gryczanej w wyrobach ciastkarskich determinuje wysoką jakość sensoryczną wyrobów ciastkarskich z udziałem produktów gryczanych (zał.4.II.4.59).

Wykorzystanie łuski gryczanej oraz wytlóków pomidorowych w przemyśle spożywczym jest jedną z możliwości zwiększenia wartości prozdrowotnej żywności, jak również poszerzenia asortymentu wyrobów o atrakcyjnych cechach sensorycznych, a jednocześnie umożliwia dalsze wykorzystanie ubocznych produktów przemysłu spożywczego. W swojej dotychczasowej pracy naukowej temat wykorzystania odpadów przemysłu spożywczego poruszany był niejednokrotnie podczas konferencji naukowych (zał.4.II.7.5, zał.4.II.7.12, zał.4.II.7.20) oraz w licznych publikacjach (zał.4.II.4.9, zał. 4.II.4.21, zał.4.II.4.22, zał. 4.II.4.23, zał.4.II.4.28, zał.4.II.4.31, zał.4.II.4.38, zał.4.II.4.40, zał. 4.II.4.45, zał. 4.II.4.51, zał.4.II.4.54, zał.4.II.4.59)

Ad. 4.3.3.

Skład chemiczny gryki modyfikowany jest przez wiele czynników. Do najważniejszych należą gatunek, odmiana, uprawa oraz czynniki środowiskowe. Rośliny bronią się przed niekorzystnym działaniem czynników stresowych, wytwarzają mechanizm obronny, a skutkiem tej obrony jest wzmożona produkcja związków chemicznych. Herbicydy skutecznie ograniczają ilość występujących chwastów w zasiewach gryki, jednak niektóre stosowane substancje aktywne wywołują u niej reakcje stresowe objawiające się zahamowaniem wzrostu, chlorozą lub zmniejszeniem dorodności roślin. Takie zmiany

wywołane stresem mogą wpływać na jakość i skład produktu końcowego wykorzystywanego do produkcji żywności. Badania, które prowadziłem w tym obszarze dotyczą wpływu czterech substancji czynnych herbicydów: metazachloru, MCPA, chlomazonu oraz linuron (Linurex 500 Sc) na skład chemiczny nasion gryki. Substancje czynne herbicydów zastosowanych podczas wzrostu gryki wykazywały zróżnicowany mechanizm działania, tj. metazachlor blokuje syntezę białek, kłomazon blokuje powstawanie karotenoidów, a MCPA działa podobnie do auksyny – kwasu indolilo-3-octowego (IAA), zaburzając gospodarkę hormonalną roślin (zał.4.II.4.39, zał.4.II.4.12).

Ujemne skutki stosowania herbicydów spowodowały wzrost zainteresowania innymi metodami ograniczania zachwaszczenia, między innymi poprzez metody biologiczne, w których wykorzystuje się rośliny o potencjale allelopatycznym. Jedną z takich roślin jest żyto, wpływające negatywnie na chwasty, szczególnie dwuliścienne. Z punktu widzenia jakości żywności, interesującym wydaje się określenie wpływu stosowanych substancji aktywnych na zawartość wybranych składników nasion gryki. Dlatego w badaniach założyłem, że stosowanie chemicznych sposobów ochrony zasiewów w postaci Linurexu 500 Sc (linuron), mieszaniny metazachloru i kłomazonu oraz kwasu 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego – MCPA, a także biologicznych, w postaci poplonu żyta, różnicuje zawartość wybranych substancji odżywczych i funkcjonalnych w orzeszku gryki (zał.4.II.4.39, zał.4.II.4.12).

Wykazałem, że najwyższą ogólną zawartością białka charakteryzowały się orzeszki gryki odmiany Kora i Panda, wobec których zastosowano Linurex 500 Sc i przewyższały one zawartość białka w próbach kontrolnych, zaś najniższą zawartością białka cechowały się orzeszki gryki odmiany Panda, wobec których stosowałem poplon z żyta (zał.4.II.4.39). Również zastosowanie MCPA zwiększyło ilość białka w orzeszkach gryki w porównaniu z obiektem kontrolnym, natomiast metazachlor i kłomazon spowodowały tylko nieznaczny wzrost jego zawartości (zał.4.II.4.12). Ponadto zaobserwowałem istotnie niższą zawartość tłuszczu w próbach kontrolnych gryki odmiany Kora, jednak najniższą zawartością tego składnika cechowały się orzeszki odmiany Panda uprawiane przy zastosowaniu poplonu z żyta (zał.4.II.4.39). W przypadku zastosowania metazachloru i kłomazonu oraz MCPA nie stwierdziłem istotnego wpływu stosowanych herbicydów na zawartość lipidów w nasionach gryki odmiany Kora (zał.4.II.4.12).

Zarówno w przypadku orzeszków odmiany Kora, jak i Panda wykazałem brak wpływu zastosowania Linurexu 500 Sc oraz poplonu z żyta na zawartość neutralnego błonnika

pokarmowego (NDF) (zał.4.II.4.39), natomiast w przypadku zastosowania metazachlor + chlomazon oraz MCPA wykazałem znaczny wzrost NDF. Biorąc pod uwagę jego zawartość, nasiona gryki można sklasyfikować następująco: kontrola < metazachlor + chlomazon < MCPA (zał.4.II.4.12). Błonnik orzeszków gryczanych charakteryzował się zróżnicowanym składem frakcyjnym. Frakcją dominującą w próbkach nasion gryki uprawianych przy zastosowaniu herbicydu lub poplonu była frakcja celulozowa, a następnie lignina (zał.4.II.4.39, zał.4.II.4.12). Zastosowane herbicydy miały istotny wpływ na wzrost zawartości poszczególnych frakcji włókna w nasionach gryki w porównaniu do próby kontrolnej (zał.4.II.4.12). W przypadku gryki odmiany Kora sposób pielęgnacji nie miał istotnego wpływu na zawartość frakcji ligninowej, natomiast orzeszki gryki Panda, wobec których zastosowałem Linurex 500 Sc, cechowały się istotnie wyższą zawartością tej frakcji. Wyższą zawartością frakcji celulozowej charakteryzowały się orzeszki gryki zarówno odmiany Kora, jak i Panda przy zastosowaniu poplonu z żyta. Przeprowadzone zabiegi pielęgnacyjne wpłynęły również w sposób istotny na zawartość frakcji hemicelulozowej. Stosowanie herbicydu Linurex 500 Sc i poplonu z żyta istotnie obniżyły zawartość tej frakcji w porównaniu z próbami kontrolnymi, niezależnie od odmiany gryki. Dominującą frakcją w orzeszkach gryki Kora i Panda przy zastosowaniu Linurexu 500 Sc i poplonu żyta była frakcja celulozowa, podczas gdy w próbie kontrolnej odmiany Kora procentowy udział frakcji celulozowej, ligninowej i hemicelulozowej był podobny (zał.4.II.4.39). Obie odmiany charakteryzowały się przewagą frakcji nierozpuszczalnej (celuloza i lignina) w stosunku do frakcji rozpuszczalnej (hemiceluloza), przy czym stosunek ten kształtował się odmiennie, w zależności od odmiany oraz zastosowanego sposobu pielęgnacji. W przypadku kontrolnej uprawy odmiany Kora i Panda stosunek ten kształtował się odpowiednio 1,6:1 i 2,5:1, natomiast zastosowanie herbicydu Linurex 500 Sc wpłynęło na zmianę tych proporcji i stosunek frakcji nierozpuszczalnej do rozpuszczalnej był na poziomie 10,5:1 (Kora) i 14:1 (Panda). Znacznie większe zróżnicowanie w proporcji tych frakcji w ziarniakach gryki wystąpiło po zastosowaniu poplonu z żyta. W tym przypadku stosunek ten kształtował się na poziomie 29:1 (Kora) i 5,5:1 (Panda) (zał.4.II.4.39).

W przeprowadzonym badaniu wykazałem, że zawartość białka, tłuszczu i neutralnego detergentowego błonnika pokarmowego w orzeszkach gryki zależy od zastosowanej odmiany oraz od sposobu pielęgnacji zasiewów gryki, zatem w zależności od zapotrzebowania odżywczego i technologicznego należy uwzględnić opisane działania

pielęgnacyjne na etapie uprawy roślin (zał.4.II.4.39, zał.4.II.4.12). Zastosowanie wyżej wymienionych substancji czynnych na skład chemiczny ziarna gryki spowodowało zmiany ilościowe niektórych związków chemicznych. Badania nad wpływem tych substancji na skład chemiczny roślin innych niż gryka były przedmiotem wcześniejszych badań. Jednak prezentowane badania były pierwszymi, które opisują wpływ MCPA, metazachloru, kłomazonu, Linurexu 500 Sc oraz poplonu z żyta na zawartość wybranych substancji odżywczych i funkcjonalnych. Zaobserwowałem, że MCPA okazał się silniejszym stresorem dla roślin gryki niż metazachlor, kłomazon czy Linurex 500 Sc (zał.4.II.4.39, zał.4.II.4.12). Rezultatem badań prowadzonych w przedstawionej tematyce są publikacje (zał.4.II.4.3, zał.4.II.4.11, zał.4.II.4.12, zał.4.II.4.39).

Ad 4.3.4.

Naturalne przeciwutleniacze żywności pełnią ważną rolę w systemie obronnym organizmu człowieka, chroniąc przed oksydacyjnym uszkodzeniem komórek i tkanek. Powstawanie i eliminacja wolnych rodników, które wynikają z normalnych, niezbędnych procesów metabolicznych w organizmie lub z normalnych źródeł zewnętrznych, powinny znajdować się w dynamicznej równowadze, w przeciwnym razie mogą powodować uszkodzenia DNA, denaturację białek i peroksydację lipidów (zał.4.II.4.18). Zachodzące w żywności reakcje utleniania lipidów wpływają negatywnie na smak, zapach, teksturę i wartość odżywczą. Obecnie w przemyśle spożywczym obserwuje się tendencję do zastępowania syntetycznych przeciwutleniaczy naturalnymi inhibitorami utleniania w celu ochrony żywności przed niekorzystnymi procesami (zał.4.II.4.41). Stosowanie naturalnych przeciwutleniaczy może również przynieść korzyści zdrowotne, na przykład w obszarach układu odpornościowego, chorób serca i profilaktyki nowotworów. Syntetyczny przeciwutleniacz BHT ma udowodnioną wysoką zdolność przeciwutleniającą, dlatego jest często używany jako punkt odniesienia dla właściwości przeciwutleniających związków naturalnych. BHT stosowany w wyższych stężeniach może mieć niekorzystny wpływ na organizm ludzki. Z tego powodu jego zastosowanie jest dobrze zdefiniowane i ściśle kontrolowane. Spośród wszystkich innych dodatków przeciwutleniających, substancja ta może być dodawana do suchego mięsa w ilości nie większej niż 0,02% (Rozporządzenie Ministra Zdrowia, DzU z 2010 r.) (zał.4.II.4.41). Zmienia się jednak świadomość konsumentów, coraz więcej osób sięga po ekologiczne produkty mięsne, zawierające wyłącznie naturalne dodatki. Do produktów o wysokim potencjale antyoksydacyjnym zalicza się między innymi aloes oraz grykę.

Aloes należy do grupy surowców bogatych w związki bioaktywne wykazujące właściwości prozdrowotne, ze względu na obecność polifenoli, antranoidów i pochodnych pironu, saponin, steroidów, błonnika, kwasu salicylowego, składników mineralnych (wapń, chrom, żelazo, mangan, potas, fosfor, sód, cynk) oraz witamin (C, E, β -karoten, B1, B2, B3, B6, cholina, B12, kwas foliowy). Bioaktywne związki zawarte w aloesie działają przeciwzapalnie i dostarczają substancji będących dobrą pożywką dla bakterii symbiotycznych (zał.4.II.4.41). Z kolei gryka stanowi cenne źródło związków biologicznie czynnych m.in. polifenoli o wysokiej aktywności przeciwutleniającej, wykazując działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwzapalne i przeciwalergiczne. Związki fenolowe występują głównie w zewnętrznych warstwach ziarna gryki, a ich frakcja obejmuje flawonoidy i wolne kwasy fenolowe oraz ich formy estrowe. Podczas produkcji kaszy gryczanej powstają produkty uboczne, takie jak otręby i łuska, które mogą stanowić cenne źródło przeciwutleniaczy (zał.4.II.4.28).

Dlatego w ramach pracy naukowej zająłem się również oceną działania przeciwutleniającego ekstraktu z aloesu oraz łuski gryczanej w modelowych układach beztłuszczowych oraz zawierających tłuszcz zemulgowany, a także w modelu z wykorzystaniem prób przechowalniczych wieprzowego mięsa mielonego (pulpetów). Większą zawartość polifenoli ogółem oznaczyłem w ekstrakcie z gryki niż z aloesem (zał.4.II.4.41, zał.4.II.4.28). Najwyższą ogólną zawartością związków fenolowych cechowały się gryczane ekstrakty metanolowe, następnie acetonowe, a najniższą ekstrakty wodne. W acetonowych i wodnych ekstraktach z łuski gryczanej stwierdzono 2- i 7-krotnie niższą zawartość związków fenolowych niż w przypadku ekstraktów metanolowych (zał.4.II.4.28).

Zdolność wychwytywania rodników DPPH przez wodne ekstrakty z aloesu badałem przy zastosowaniu dwóch stężeń (5 i 10 mg/ml), a wyniki porównywałem do aktywności syntetycznego przeciwutleniacza BHT (0,1 i 0,2 mg/ml). Badane stężenia ekstraktu charakteryzowały się niższą zdolnością dezaktywacji rodników w porównaniu do przeciwutleniacza syntetycznego BHT. Wraz ze wzrostem dodatku polifenoli zmniejsza się zdolność terminacji rodników DPPH (zał.4.II.4.41). Największą zdolność wychwytywania rodników spośród badanych ekstraktów wykazały ekstrakty z łuski gryki, przy czym ekstrakt metanolowy wykazywał 2-krotnie wyższą aktywność niż ekstrakt acetonowy i 8-krotnie wyższą niż ekstrakt wodny (zał.4.II.4.28). Dodatek ekstraktu z aloesu zwyczajnego w ilości 5 i 10 mg/ml wykazał zdolność terminacji syntetycznych

rodników kationowych ABTS na poziomie niższym w porównaniu z BHT w stężeniach 0,1 oraz 0,2 mg/ml. Wodne ekstrakty z aloesu charakteryzują się istotnie niższym stopniem wychwytywania ABTS+• w porównaniu z ekstraktami metanolowymi, ze względu na niską zdolność osłabiania działania katalizatorów. Efekt spadku aktywności obserwowałem wraz ze wzrostem poziomu dodatku. Wykazałem, że ekstrakty z aloesu mają dobre właściwości chelatujące. Najniższą aktywność chelatującą odnotowałem w ekstrakcie na poziomie 20 mg/ml. Istotnie wyższą aktywność zaobserwowałem w ekstrakcie o niższym stężeniu (10 mg/ml) oraz przy zastosowaniu BHT w stężeniach 0,2 i 0,4 mg/ml (zał.4.II.4.28). Właściwości chelatujące mogą zależeć od udziału tanin skondensowanych w materiale roślinnym. Niska zawartość tanin w aloesie może wpływać na niską zdolność ich ekstraktów do chelatowania metali (zał.4.II.4.41). Zdolność chelatowania metali może istotnie wpływać na przebieg reakcji utleniania, stąd związki wiążące metale zaliczane są do klasy inhibitorów utleniania. Obejmują one m.in. polifenole, które mogą powodować zmniejszenie produkcji pośrednich produktów w cyklu reakcji wolnorodnikowych, w których uczestniczą jony metali, a w konsekwencji także zmniejszać ilości wytwarzanych rodników. Zdolność chelatowania ekstraktu łuski gryczanej była zależna od jego stężenia. Największe różnice zaobserwowałem w zakresie od 0,1 do 0,3 mg. Dalszy wzrost stężenia ekstraktu nie powodował istotnego wzrostu aktywności badanych próbek. Wydaje się, że wobec powyższego aktywność chelatująca ekstraktów produktów ubocznych gryki jest wysoka (zał.4.II.4.28). Zaobserwowałem wysoki potencjał antyoksydacyjny wodnego ekstraktu z aloesu w układzie emulsyjnym. Działanie ochronne w stosunku do zemulgowanego kwasu linolowego było zbliżone do syntetycznego przeciwutleniacza BHT. Wcześniej stwierdziłem niską aktywność ekstraktu do wiązania jonów żelaza, a także w układzie zarówno stabilnych rodników DPPH, jak i kationorodników ABTS, co może wynikać z rodzaju stosowanego w badaniach rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. Uzyskane wyniki wskazują na różnorodność mechanizmów działania przeciwutleniaczy zawartych w badanym materiale (zał.4.II.4.41). W przypadku ekstraktu z gryki, największą zdolność hamowania autoutleniania kwasu linolowego wykazywał ekstrakt metanolowy z łuski gryczanej, natomiast ekstrakt wodny większe działanie ochronne w stosunku do zemulgowanego kwasu linolowego niż ekstrakt acetonowy, jednak BHT najaktywniej hamował zmiany oksydacyjne w układzie emulsyjnym (zał.4.II.4.28). Polarne rozpuszczalniki organiczne posiadają wysoką zdolność ekstrakcji związków fenolowych, a co za tym idzie wysoką aktywność przeciwutleniającą ekstraktów. Zastosowanie alkoholu absolutnego do ekstrakcji pozwala

na osiągnięcie znacząco wyższej zawartości związanych związków fenolowych, a 50% etanol ekstrahuje więcej niezwiązanych związków fenolowych w porównaniu z wodą i alkoholem absolutnym (zał.4.II.4.41). W badanych ekstraktach gryczanych zawartość związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniająca były zależne od zastosowanego ekstrahenta. Największą aktywność stwierdzono dla metanolu. Polarne rozpuszczalniki organiczne były najbardziej efektywne w wymywaniu z matrycy związków fenolowych, co przekładało się na ich aktywność przeciwutleniającą. Pomimo faktu, że największe ilości związków polifenolowych ekstrahowano acetonem, największą aktywność przeciwutleniającą odnotowano dla ekstraktów metanolowych (zał.4.II.4.28).

W kolejnym eksperymencie wykazałem, że dodatek wodnego ekstraktu z łuski gryczanej i syntetycznego przeciwutleniacza BHT do wieprzowego mięsa mielonego istotnie zmniejsza obecność nadtlenków w porównaniu z próbką kontrolną. Jednak kinetyka tych zmian w czasie przechowywania nie jest jednorodna. W wyniku koncentracji dużych ilości nadtlenków rozpoczyna się ich rozpad, co powoduje zrywanie łańcuchów kwasów tłuszczowych. Produktami tego rozpadu jest szereg związków o mniejszej masie cząsteczkowej, tj. aldehydów, ketonów, węglowodorów, kwasów, alkoholi i innych lotnych substancji, które w wysokich stężeniach powodują zmiany sensoryczne utlenionego tłuszczu (zał.4.II.4.18). Po 60 oraz 120 dniach przechowywania stwierdziłem maksymalne wartości nadtlenków odpowiednio w pulpetach z dodatkiem ekstraktu z łuski oraz w próbkach zawierających BHT. Po 6-miesięcznym okresie przechowywania pulpety z ekstraktem z łuski gryczanej charakteryzowały się niższą zawartością nadtlenków w porównaniu z próbą kontrolną. Skuteczność antyoksydacyjna BHT zarówno w początkowej fazie, jak i po 180 dniach przechowywania jest identyczna z próbą zawierającą ekstrakt z łuski gryczanej. Po 60 dniach przechowywania próbka z dodatkiem BHT miała najniższe stężenie nadtlenków, jednak wartość ta była tylko nieznacznie niższa w porównaniu do próby z ekstraktem gryczanym. Po 120 dniach stwierdziłem istotnie niższą zawartość nadtlenków w próbce z ekstraktem z łuski gryki, natomiast próbka z BHT nie różniła się istotnie pod względem zawartości nadtlenków od próby kontrolnej. Biorąc pod uwagę zdolność ekstraktu z łuski do kontrolowania stężenia nadtlenków wynika, że jest on korzystniejszym dodatkiem przeciwutleniającym do mięsa mielonego. Naturalne przeciwutleniacze zawarte w gryce mogą z powodzeniem zastąpić te syntetyczne. Ekstrakt z gryki jako produkt naturalny może być stosowany w większych dawkach, co przekłada się na dłuższy okres przydatności do spożycia przechowywanych produktów mięsnych

(zał.4.II.4.18). W drugim etapie oceniłem wpływ czasu przechowywania na stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) powstających jako produkty uboczne peroksydacji lipidów. Dodatek ekstraktu z łuski gryczanej oraz BHT istotnie obniża TBARS w porównaniu z próbą kontrolną. Najniższą wartość TBARS stwierdziłem dla pulpetów z dodatkiem ekstraktu z łuski gryczanej. Podobnie jak w przypadku powstałych nadlenków, kinetyka tych zmian w czasie przechowywania ma charakter niejednorodny. Podczas przechowywania wtórne produkty utleniania mogą się rozpadać lub reagować z innymi związkami obecnymi w żywności, takimi jak białka lub aminokwasy. Stwierdziłem, że po 6 miesiącach przechowywania zawartość TBARS dla próbek zawierających ekstrakt łuski gryczanej była niższa od tych z dodatkiem BHT (zał.4.II.4.18). Próbki z BHT charakteryzowały się wyższym poziomem TBARS niż próby z ekstraktem gryczanym. Decydującymi czynnikami wpływającymi na aktywność ekstraktu z łuski gryki jest jego aktywność wychwytywania wolnych rodników DPPH, wyższa niż w przypadku BHT, oraz zdolność chelatowania jonów metali. Wykazałem silną korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych, a poszczególnymi polifenolami, wśród których oznaczono: kwas 3,4-dihydroksybenzoesowy, kwas 4-hydroksybenzoesowy, kwas galusowy, kwas izowanilowy i kwas p-kumarowy oraz flawonoidy: izoorientynę, kwercetynę, 3-d-glukozyd kwercetyny, rutynę i witeksynę.

Przeprowadzone badania nie potwierdzają wysokiej aktywności przeciwutleniającej wodnego ekstraktu z aloesu w badanych modelach. Działanie preparatów z aloesu może wynikać z zastosowania różnych metod ekstrakcji związków fenolowych, użytego rozpuszczalnika oraz części rośliny, z której pobrano próbkę (skórka, liście aloesu, żel aloesowy). Specyficzne właściwości wyrobów przemysłu mięsnego wymagają od producentów zapewnienia nie tylko odpowiedniej jakości sensorycznej, ale także bezpieczeństwa zdrowotnego oferowanego asortymentu. Trwają poszukiwania nowych źródeł substancji zapobiegających pogarszaniu się właściwości użytkowych i sensorycznych produktów spożywczych na skutek utleniania lipidów, a głównym celem tych dodatków jest wydłużenie okresu przydatności do spożycia produktów spożywczych. Może to prowadzić do wykorzystania produktów ubocznych bogatych w związki bioaktywne. Uzyskane wyniki wskazują na jednoznaczny hamujący wpływ ekstraktu z łuski gryki na przebieg autoutleniania lipidów w układach modelowych oraz produktach mięsnych, co uzasadnia zastosowanie tego dodatku przez producentów w przyszłości. Wykazałem znaczny potencjał gryki jako źródło przeciwutleniaczy o wysokiej aktywności,

dlatego wodne ekstrakty gryczane mogą zastąpić ich syntetyczne odpowiedniki, a biorąc pod uwagę bezpieczeństwo ich użycia, można je dodawać w większych dawkach w celu zapewnienia porównywalnego działania antyoksydacyjnego (zał.4.II.4.18, zał.4.II.4.28, zał.4.II.4.41). Opisywana powyżej tematyka badawcza w dużym zakresie nawiązuje do eksperymentów opisujących czynniki kształtujące zawartość substancji przeciwutleniających, co zostało zaprezentowane na licznych konferencjach (zał.4.II.7.10, zał.4.II.7.15, zał.4.II.7.17, zał.4.II.7.21, zał.4.II.7.27) oraz opisane w wielu publikacjach (zał. 4.II.4.2, zał. 4.II.4.3, zał. 4.II.4.13, zał.4.II.4.16, zał.4.II.4.18, zał.4.II.4.22, zał.4.II.4.25, zał.4.II.4.28, zał.4.II.4.34, zał.4.II.4.37, zał.4.II.4.41, zał.4.II.4.44, zał.4.II.4.54).

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

5.1. Od marca 2014 roku zostałem zatrudniony w Katedrze Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Podjęcie współpracy z ośrodkiem medycznym umożliwiło mi prowadzenie badań interdyscyplinarnych, czego efektem są liczne publikacje naukowe, między innymi (zał.4.II.4.8, zał.4.II.4.9, zał.4.II.4.10, zał.4.II.4.14, zał.4.II.4.15, zał.4.II.4.17, zał.4.II.4.20, zał.4.II.4.21):

5.1.1. **Dziejcz Krzysztof**, Kurek Szymon, Mildner-Szkudlarz Sylwia, Kreft Ivan, Walkowiak Jarosław. Fatty acids profile, sterols, tocopherol and squalene content in Fagopyrum tataricum seed milling fractions. Journal of Cereal Science, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103118>. (IF: 3,616; IF5: 3,891).

5.1.2. Górecka Danuta, Wawrzyniak Agata, Jędrusek-Golińska Anna, **Dziejcz Krzysztof**, Hamułka Jadwiga, Kowalczewski Przemysław Łukasz, Walkowiak Jarosław. Lycopene in tomatoes and tomato products. Open Chemistry, 2020, 18, 752-756. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0050>. (IF: 1,554; IF5: 1,800).

5.1.3. Górecka Danuta, Komolka Patrycja, **Dziejcz Krzysztof**, Walkowiak Jarosław. The Influence of Thermal Processing of Fruit and Vegetables on Their Glycaemic Index. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2020, 74, 205-212. 10.5604/01.3001.0014.2493. (IF: 0,270; IF5: 1,224).

5.1.4. **Dziejcz Krzysztof**, Górecka Danuta, Szwengiel Artur, Michniewicz Jan, Walkowiak Jarosław. Interactions between Faecal Bacteria, Bile Acids and

Components of Tomato Pomace. *Food Science and Biotechnology*, 2019, 28, 649-655. DOI: -. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0527-6>. (IF: 1,513; IF 5: 1,421).

5.1.5. **Dziejcz Krzysztof**, Górecka Danuta, Szwengiel Artur, Olejnik Anna, Rychlik Joanna, Kreft Ivan, Drożdżyńska Agnieszka, Walkowiak Jarosław. The cytotoxic effect of artificially digested buckwheat products on HT-29 human colon cancer cells. *Journal of Cereal Science*, 2018, 83, 68-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.020>. (IF: 2,452; IF5: 2,988).

5.1.6. **Dziejcz Krzysztof**, Górecka Danuta, Szwengiel Artur, Sulewska Hanna, Kreft Ivan, Walkowiak Jarosław. The content of dietary fiber and polyphenols in morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 2018, 73, 82-88. DOI: 10.1007/s11130-018-0659-0 (IF: 2,598; IF5: 2,921).

5.1.7. **Dziejcz Krzysztof**, Szwengiel Artur, Górecka Danuta, Kaczkowska Joanna, Drożdżyńska Agnieszka, Gujska Elżbieta, Walkowiak Jarosław. Effect of Wheat Dietary Fiber Particle Size during Digestion In Vitro on Bile Acid, Faecal Bacteria and Short-Chain Fatty Acid Content. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71, 151-157, 2016, DOI: 10.1007/s11130-016-0537-6. (IF: 2,368; IF5: 2,718).

5.1.8. **Dziejcz Krzysztof**, Szwengiel Artur, Górecka Danuta, Rudzińska Magdalena, Korczak Józef, Walkowiak Jarosław. The effect of processing on the phytosterols content in buckwheat groats and by-products. *Journal of Cereal Science*, 2016, 69, 25-31, DOI: 10.1016/j.jcs.2016.02.003 (IF 2,223; IF5: 2,9).

Powyższe osiągnięcia publikacyjne zostały wyróżnione:

- Listem gratulacyjnym Rektora Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu za wyróżniające osiągnięcia naukowe w roku 2018.
- Listem gratulacyjnym Rektora Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu za wyróżniające osiągnięcia naukowe w roku 2019.

Mój dorobek naukowy, łącznie z pracami uwzględnionymi w cyklu publikacji powiązanych tematycznie stanowiących osiągnięcie naukowe obejmuje:

- autorstwo lub współautorstwo 53 oryginalnych prac naukowo-badawczych (36 z bazy JCR),
- 6 prac przeglądowych,
- 2 monografie naukowe,

- 27 komunikatów naukowych.

Suma punktów według listy MEiN (MNiSW) za publikacje naukowe łącznie z osiągnięciem, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **1730*/310** pkt., IF:77,326.**

Łączna suma punktów prac wchodzących w skład osiągnięcia wynosi 480 pkt., IF 14,227.

Wszystkie szczegółowe informacje odczytane wykazu opublikowanych prac naukowych przedstawiłem w załączniku 4.

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

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne:

Pracę dydaktyczną rozpocząłem w 2006 roku podczas studiów doktoranckich i była ona kontynuowana na kilku uczelniach państwowych oraz prywatnych, tj.:

6.1.1. Katedra Technologii Żywności i Żywnienia w ramach studiów doktoranckich w latach 2006-2007. Realizowałem ćwiczenia dla studentów następujących kierunków: **Technologia Żywności i Żywnienia, Dietetyka** oraz **Ekonomika Gospodarki Żywnościowej** w ramach przedmiotów: „Technologia Gastronomiczna”, „Technologia Produkcji Potraw” oraz „Towaroznawstwo Żywności”.

6.1.2. Katedra Dietetyki Wyższej Szkoły Zawodowej w Koninie: W latach 2014-2017 zostałem zatrudniony na stanowisku starszego wykładowcy na Wydziale Kultury Fizycznej i Ochrony Zdrowia. Czynnie uczestniczyłem w organizacji zajęć dla studentów pierwszego stopnia kierunku „**Dietetyka**”, gdzie prowadziłem zajęcia dydaktyczne z przedmiotów: „Żywnienie człowieka”, „Analiza i ocena jakości żywności” oraz „Towaroznawstwo produktów spożywczych”. Pod moim kierunkiem powstało 15 prac licencjackich.

6.1.3. Uni-Terra Poznań – Uczelnia Wyższa: w latach 2017-2019, zatrudniony na stanowisku wykładowcy w ramach umowy zlecenie. Byłem zaangażowany w organizację oraz prowadzenie ćwiczeń i wykładów dla studentów studiów licencjackich, prowadzonych w trybie niestacjonarnym, dla kierunku **Dietetyka** (Chemia żywności).

6.1.4. Wyższa Szkoła Zdrowia, Urody i Edukacji w Poznaniu: od 2018 roku jestem zatrudniony na stanowisku wykładowcy w ramach umowy zlecenie. Czynnie

uczestniczę w organizacji ćwiczeń oraz wykładów dla studentów pierwszego i drugiego stopnia realizowanych na kierunkach: **Dietetyka** (Bromatologia; Higiena, toksykologia i bezpieczeństwo żywności, Technologia żywności) i **Kosmetologia** (Suplementacja w gerontologii oraz Żywnienie w chorobach metabolicznych). Pod moim kierunkiem powstało 10 prac magisterskich oraz 2 prace licencjackie.

6.1.5. Wyższa Szkoła Edukacji i Terapii: od 2021 roku jestem zatrudniony na stanowisku wykładowcy w ramach umowy zlecenie i odpowiadam za organizację i prowadzenie zajęć dla studentów studiów licencjackich i magisterskich, prowadzonych w trybie studiów zaocznych oraz dziennych na kierunku **Kosmetologia** (Sensoryka i środki zapachowe, Dietetyka w profilaktyce zdrowia).

Od 2017 roku zatrudniony jestem na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu na stanowisku adiunkta w Katedrze Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Pracowni Chemii i Technologii Zbóż. Czynnie uczestniczę w przygotowaniu oraz realizacji ćwiczeń i wykładów dla kierunków:

- **Jakość i Bezpieczeństwo Żywności** (Surowce pochodzenia roślinnego, Technologiczne uwarunkowania jakości produktów pochodzenia roślinnego, Techniki pakowania i przechowywania żywności),
- **Dietetyka** (Żywność nowej generacji, Przechowalnictwo żywności),
- **Technologia Żywności i Żywnienia** (Surowce żywnościowe, Kierunki rozwoju przetwórstwa i analityki żywności, Przetwórstwo surowców roślinnych, Przechowalnictwo i opakowalnictwo żywności, Pracownia specjalizacyjna, Innowacyjność w przetwórstwie żywności, Technologia żywności w j. angielskim).

Ponadto:

- zajmuję się opracowywaniem i uaktualnianiem instrukcji oraz protokołów dotyczących poszczególnych ćwiczeń laboratoryjnych;
- jestem zaangażowany w prowadzenie zajęć w formie wykładów i ćwiczeń dla studentów studiów anglojęzycznych w ramach kierunku **Technologia Żywności i Żywnienia** w ramach przedmiotów: Advanced food processing and preservation, Research methods in food science, Comprehension in food processing and human nutrition.

- sprawowałem opiekę naukową nad studentami realizującymi **prace inżynierskie i magisterskie** na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu, na kierunku Technologia Żywności i Żywienie Człowieka (5 prac mgr w tym jedna anglojęzyczna, 6 prac licencjackich) oraz na kierunku Dietetyka (1 praca magisterska, 1 praca licencjacka) w trybie studiów stacjonarnych i dziennych.
- recenzowałem prace dyplomowe realizowane na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu (15 prac magisterskich oraz ponad 20 prac licencjackich);
- zajęcia dydaktyczne realizowałem w wymiarze przekraczającym wymagane pensum o około 10%;
- w latach 2020-2022 uczestniczyłem w programie wsparcia dla kadry dydaktycznej "PKD - Program Podnoszenia Kompetencji Dydaktycznych Kadry Uczelni" prowadzonego projektu „Najlepsi z natury! Zintegrowany Program Rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu” (POWR.03.05.00-00-Z218/17), w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój. W ramach programu odbyłem miesięczny staż dydaktyczny na Uniwersytecie w Potchefstroom, Republika Południowej Afryki oraz podnosiłem swoje kompetencje dydaktyczne uczestnicząc w szkoleniach psychologicznych oraz statystycznych organizowanych w ramach projektu.

W latach 2011-2021 byłem promotorem łącznie 16 prac magisterskich oraz 24 prac licencjackich. Recenzowałem 15 prac magisterskich oraz ponad 20 prac licencjackich.

6.2. Osiągnięcia organizacyjne:

Obok pracy naukowej uczestniczyłem w działalności organizacyjnej zarówno Katedry Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, jak również Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu oraz innych uczelni. Do najważniejszych aktywności zaliczam:

- 6.2.1. Członek Komisji ds. Nagród, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu: 01.2022-04.2023.
- 6.2.2. Członek Rady Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 14.12.2017-19.09.2019.
- 6.2.3. Czynne uczestnictwo w projekcie „FANTASTIC NIGHT – open the doors to your neighbour scientist” 7. Program Ramowy Unii Europejskiej. Promocja

uczelni w ramach V Edycji Nocy Naukowców na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, Poznań, 27.09.2013.

6.2.4. Czynne uczestnictwo w projekcie „EURONIGHT - European Researchers Night – Scientist and Researchers uncovered” 7. Program Ramowy Unii Europejskiej. Promocja uczelni w ramach IV Edycji Nocy Naukowców na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, Poznań, 28.09.2012.

6.2.5. Udział w organizacji III warsztatów edukacyjnych „Piękno-Umysł-Żywnie” kierowanych dla Poznanianek przez Wyższą Szkołę Zdrowia Urody i Edukacji, wygłoszono wykład: „Błonnik pokarmowy – hamulec apetytu, naturalny spalacz tłuszczów”, Poznań, 28.05.2012.

6.2.6. Czynne uczestnictwo w projekcie „GREATNIGHT – Let’s Gather Together with Researchers at One Night” 7. Program Ramowy Unii Europejskiej. Promocja uczelni w ramach III Edycji Nocy Naukowców na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, Poznań, 23.09.2011.

6.2.7. Udział w organizacji „V edycja Technologia Żywności”, Poznań, 28.06.2011.

6.2.8. Czynne uczestnictwo w projekcie „RESNIGHT – Revealing the real faces of Researchers in Wielkopolska” 7. Program Ramowy Unii Europejskiej. Promocja uczelni w ramach II Edycji Nocy Naukowców na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, Poznań 28.09.2010.

6.2.9. Udział w organizacji „VI edycja Technologia Żywności”, Poznań, 12.05.2010.

6.2.10. Czynne uczestnictwo w projekcie „POZNIGHT-Researchers Night in Wielkopolska 2009”. 7. Program Ramowy Unii Europejskiej. Promocja uczelni w ramach I Edycji Nocy Naukowców na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, Poznań, 25.09.2009.

6.2.11. Elektor z ramienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu uprawniony do wyboru członków Rady głównej Szkolnictwa Wyższego X kadencji, Poznań, 29.09. 2009.

6.3. Popularyzacja nauki i sztuki

6.3.1. Prowadzenie sekcji „Wiadomości dietetyczne” dla czasopisma Food Forum w latach 2018-2020.

6.3.2. Wykład popularno-naukowy dla „Stowarzyszenia Wychowanków Gimnazjum i Liceum im. Ks. Piotra Skargi” w ramach Uniwersytetu Trzeciego Wieku, Szamotuły 12.11.2019.

- 6.3.3. Wykład popularno-naukowy dla „Stowarzyszenia Wychowanków Gimnazjum i Liceum im. Ks. Piotra Skargi” w ramach Uniwersytetu Trzeciego wieku, Szamotuły 28.11.2017.
- 6.3.4. Czynny udział w akcji pt. Miesiąc Zdrowia: przeprowadzenie wykładu z zakresu promocji zdrowego stylu życia i odżywiania dla uczniów II Liceum Ogólnokształcącego im. K. K. Baczyńskiego w Koninie, Konin, 27.04.2016.

7. Inne informacje, dotyczące kariery zawodowej.

- 7.1. Szkolenie dla ekspertów projektu Innovation Coach „Metodyka Design Thinking jako narzędzie wspierające rozwój innowacji”, Warszawa, 15.11.2022.
- 7.2. Nagroda za najlepszą prezentację ustną podczas III Konferencji Naukowej „Nauka o Zbożach, Osiągnięcia i Perspektywy”, Lublin, 22-23.09.2022.
- 7.3. Nagroda zespołowa III stopnia za oryginalne i twórcze osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami naukowymi, Poznań, 2021 r.
- 7.4. Świadczenia w ramach wolontariatu na rzecz walki z koronawirusem w Laboratorium Mikrobiologii i Parazytologii Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Poznaniu, Poznań, 08.04-31.05.2020.
- 7.5. Aktywne wspieranie działań Wielkopolskiej Jednostki Wojewódzkiej Towarzystwa Pomocy Głuchoniewidomym, Poznań, 2016-2017.
- 7.6. Wyróżnienie w konkursie prac posterowych podczas “International Conference on Food Factors”, Taipei, Tajwan, 20-23.11.2011.
- 7.7. Wyróżnienie w konkursie prac posterowych podczas VII Konferencja Naukowa z cyklu: „Jakość i Bezpieczeństwo Żywności”. Kształtowanie Jakości Żywnościowej w Procesach Technologicznych, Warszawa, 3-4.12.2009.

Pełna lista moich osiągnięć naukowych znajduje się w Załączniku 4 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego. W tabeli 1 zestawiono dorobek publikacyjny przed i po uzyskaniu stopnia doktora, a w tabeli 2 znajduje się zestawienie publikacji naukowych.

Tabela 1. Zestawienie dorobku publikacyjnego przed i po uzyskaniu stopnia doktora.

	Liczba publikacji	Liczba punktów
--	-------------------	----------------

Dorobek publikacyjny	Przed uzyskaniem stopnie doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	MNiSW ₂₀₁₇	IF***
Publikacje naukowe				
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie JCR	6	30	1700*/398**	77,326
Publikacje naukowe w czasopismach nie-uwzględnione w bazie JCR w roku wydania	12	11	-/63**	-
Monografie	2		-/-	-

*Punkty za publikacje od 2018 roku przyznano zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31 lipca 2019 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów, **punkty za publikacje naliczono zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych, z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach, ***punkty zgodne z rokiem wydania publikacji.

Tabela 2. Zestawienie publikacji naukowych

Nazwa czasopisma	Liczba publikacji	Rok publikacji	Ilość punktów MNiSW	IF	Suma punktów	
					MNiSW */**	Impact Factor***
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie JCR						
Foods	1	2022 (1)	100	5,561	100/-	5,561
Journal of Cereal Science	3	2020 (1)	140	3,616	280/35	8,291
		2018 (1)	140	2,452		
		2016 (1)	35	2,223		
Plant Foods for Human Nutrition	4	2019 (1)	70	2,901	140/70	9,843
		2018 (1)	70	2,598		
		2016 (1)	35	2,368		
		2014 (1)	35	1,976		
Molecules	3	2022 (1)	140	4,927	420/-	14,781
		2021 (2)	280	9,854		
Food Chemistry	2	2022 (1)	200	6,443	200/40	10,972
		2016 (1)	40	4,529		

Digestive and Liver Disease	1	2021 (1)	100	5,165	100/-	5,165
Biomolecules	1	2021 (1)	100	6,064	100/-	6,064
Open Chemistry	1	2020 (1)	70	1,554	70/-	1,554
Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej	1	2020 (1)	40	0,270	40/-	0,270
Breeding Science	1	2020 (1)	70	2,086	70/-	2,086
Zemdirbyste-Agriculture	1	2019 (1)	40	0,833	40/-	0,833
Food Science and Biotechnology	1	2019 (1)	40	1,513	40/-	1,513
Polish Journal of Food and Nutrition Sciences	1	2018 (1)	100	1,514	100/-	1,514
Journal of Food Science	1	2017 (1)	30	2,018	30/-	2,018
Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria	6	2016 (1) 2012 (3) 2010 (1) 2009 (1)	15 27 9 -	-	-/51	-
Czech Journal of Food sciences	1	2015 (1)	20	0,728	-/20	0,728
Food and Function	1	2015 (1)	30	2,686	-/30	2,686
Italian Journal of Food Sciences	1	2014 (1)	15	0,285	-/15	0,285
Food Research International	1	2012 (1)	40	3,005	-/40	3,005
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość	4	2010 (1) 2009 (1) 2008 (2)	9 - -	0,157	-/9	0,157
Suma	36	-	-	-	1730*/310**	77,326***
Publikacje naukowe w czasopismach nie uwzględnione w bazie JCR w roku wydania						
Chinese Traditional and Herbal Drugs	1	2021 (1)	-	-	-	-
Przemysł Spożywczy	3	2018 (1) 2017 (1) 2015 (1)	- 12 12	-	-/24	-

Problemy Higieny Epidemiologii	3	2017 (1) 2014 (1) 2011 (1)	9 7 6	-	-/22	-
Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu	1	2017 (1)	9	-	-/9	-
Nauka. Przyroda. Technologie	4	2016 (1) 2010 (3)	9 18	-	-/27	-
Współczesne Trendy w Kształtowaniu Jakości Żywności	1	2016 (1)	-	-	-	-
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość	2	2015 (1) 2010 (1)	13 9	-	-/22	-
Bromatologia i Chemia Toksykologiczna	3	2014 (1) 2011 (1) 2009 (1)	5 - -	-	-/5	-
Zeszyty Naukowe UE w Poznaniu	2	2011 (2)	-	-	-	-
Current Trends in Commodity Science. Food Quality	1	2010 (1)	-	-	-	-
Aparatura Badawcza i Dydaktyczna	1	2010 (1)	6	-	-/6	-
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	1	2010 (1)	6	-	-/6	-
Suma	23				-/121	-
Monografie						
Studia Doktoranckie	1	2011 (1)	-	-	-	-
Polskie Towarzystwo Technologów Żywności	1	2010 (1)	-	-	-	-
Suma	2	-	-	-	-	-

*Punkty za publikacje od 2018 roku przyznano zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31 lipca 2019 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów.

**Punkty za publikacje naliczono zgodnie z komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych, z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach.

***Punkty zgodne z rokiem wydania publikacji.

.....
(podpis wnioskodawcy)