

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością

AUTOREFERAT

OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Dr inż. Marek Adam Aljewicz

OLSZTYN 2018

SPIS TREŚCI

[1]. DANE OSOBOWE:.....	3
[2]. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE.....	3
[3]. DOTYCHCZASOWE ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH	4
[4]. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.).....	4
[5]. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA.....	6
[6]. PODSUMOWANIE	18
[7]. BIBLIOGRAFIA.....	19
[8]. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH.....	22
[9]. PODSUMOWANIE POZOSTAŁEGO DOROBKU NAUKOWEGO, DYDAKTYCZNEGO I ORGANIZACYJNEGO.....	26

[1]. DANE OSOBOWE:

Imię i nazwisko: Marek Adam Aljewicz

Miejsce pracy: KATEDRA MLECZARSTWA I ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ
WYDZIAŁ NAUKI O ŻYWNOŚCI
UNIwersYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE
UL. OCZAPOWSKIEGO 7; 10-719 OLSZTYN
TEL: +89 524 5179
E-mail: marek.aljewicz@uwm.edu.pl

Stanowisko: Adiunkt

[2]. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

2013 **STOPIEŃ DOKTORA NAUK ROLNICZYCH** w dyscyplinie Technologia Żywności i Żywnienia; Specjalność: Technologia Mleczarska, Biotechnologia, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko- Mazurski w Olsztynie

Tytuł dysertacji: Temat dysertacji: „Przeżywalność probiotycznej kultury *Lactobacillus rhamnosus* HN001 w serach typu szwajcarskiego, holenderskiego oraz w wyrobach seropodobnych”

Promotor: prof. dr hab. Grażyna Cichosz

2009 **TYTUŁ INŻYNIERA** w dyscyplinie Technologia Żywności i Żywnienia, w zakresie Towaroznawstwa, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Tytuł pracy inżynierskiej: „Wpływ produktów zbożowych na uwalnianie wapnia z jogurtu”

Promotor: dr hab. Krystyna Anna Skibniewska

2008 **TYTUŁ MAGISTRA INŻYNIERA** w dyscyplinie Technologia Żywności i Żywnienie; Specjalność: Biotechnologia Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Tytuł pracy magisterskiej: „Możliwość wykorzystania naturalnie ukwaszonych produktów mleczarskich jako źródło technologicznie przydatnych szczepów z rodzaju *Lactococcus* sp. i *Leuconostoc* sp.”

Promotor: dr inż. Piotr Kołakowski, praca wykonana w Danisco Biolacta Sp. z.o.o

UKOŃCZONE STUDIA PODYPLOMOWE

2012 Zarządzanie projektami badawczymi współfinansowanymi z funduszy europejskich, Wyższa Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie

2010 Zarządzanie biznesem (Master of Business Administration, Uniwersytet New Brunswick, Kanada), Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie

[3]. DOTYCHCZASOWE ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Naukowiec wizytujący

01.11.2018 – 30.04.2019 - INRA Agrocampus Ouest, Department of Animal Production, Food Science and Nutrition, Rennes, Franca

Adiunkt

01.12.2013 - do chwili obecnej - Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Asystent

01.03.2011 - 30.11.2013 - Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

[4]. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.)

TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

„Czynniki determinujące biodostępność składników mineralnych z produktów mleczarskich”

Opracowanie tworzy monotematyczny cykl, powiązanych tematycznie, publikacji obejmujących 5 prac, z czego zgodnie z wykazem MNiSW 2016, 4 ukazały się w czasopiśmie z listy A, natomiast 1 w czasopiśmie z listy B.

PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

- 1) **Aljewicz, M.**, Siemianowska, E., Cichosz, G., Tońska, E.: The effect of probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37, and *Lactobacillus acidophilus* NCFM) on the availability of minerals from Dutch-type cheese, *Journal of Dairy Science*, 2014, 97, 8, 4824-4831

MNiSW = 40; IF = 2.55; IF_{5 letni} = 2,855

■ Mój udział procentowy wynosi 70%.

- 2) **Aljewicz, M.**, Cichosz, G.: The effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on the *in vitro* availability of minerals from cheeses and cheese-like products, *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 60, 2, 841–847

MNiSW = 35; IF = 2.468; IF_{5 letni} = 3,455

■ Mój udział procentowy wynosi 80%.

- 3) **Aljewicz M.**, Tońska, E., Juśkiewicz, J., Cichosz, G.: The influence of product acidity and β -glucans isolated from various sources on the mineral composition and the mechanical and microstructural properties of the femur in growing Wistar rats, *Journal of Functional Foods*, 2018, 44, 91-200

MNiSW = 45; IF = 3,470; IF_{5 letni} = 3,767

■ Mój udział procentowy wynosi 70%.

- 4) Cichosz G., **Aljewicz M.**, Mozolewski W., Bielecka M.: Controversy over dietary sources of calcium, *Polish Journal of Natural Sciences*, 2018, 33, 2, 247–265

MNiSW = 14; IF = 0; IF_{5 letni} = 0

■ Mój udział procentowy wynosi 50%.

- 5) **Aljewicz, M.**, Polak-Juszczak L., Juśkiewicz J.: The impact of different structure of β -glucans and acidity of milk gel on the bioavailability of mineral compounds in growing rats, *Journal of Functional Foods*, 2018, 49, 214-223

MNiSW = 45; IF = 3,470; IF_{5 letni} = 3,767

■ Mój udział procentowy wynosi 70%.

Liczba punktów MNiSW w dniu publikacji: **179**

Impact Factor na dzień publikacji: **11,958**

Liczba cytowań wg Web of Science na dzień 26 października 2018: **14**

Prace dokumentujące osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów, określające ich wkład w publikacje znajdują się w załączniku 5.

[5]. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIAGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

5.1 UZASADNIENIE PODJĘTEJ TEMATYKI BADAWCZEJ

Mleko oraz produkty mleczarskie - zwłaszcza sery dojrzewające - stanowią bogate źródło związków mineralnych. Związki te występują w formie zjonizowanej, jak również w formie aglomeratów połączonych z innymi makroskładnikami mleka. Zarówno ilość, jak również wzajemne proporcje między poszczególnymi związkami mineralnymi, a składnikami mleka, wpływają na utrzymanie stanu koloidalnego, decydują o jego cechach fizykochemicznych czy aktywności biologicznej. Ze względu na zjonizowaną, bądź częściowo zjonizowaną, formę oraz obecność witaminy D₃ i K₂ związki mineralne występujące w mleku cechują się wysoką biodostępnością [Zamberlin i in. 2012; Cichosz i in. 2016]. Produkty mleczarskie, w odróżnieniu od żywności pochodzenia roślinnego, nie zawierają: fitynianów, szczawianów, kwasów uronowych czy nierozpuszczalnych frakcji błonnika pokarmowego, które istotnie ograniczają biodostępność związków mineralnych [Cichosz i in. 2018].

Związki mineralne wchodzą w skład wszystkich tkanek oraz płynów ustrojowych w organizmie człowieka, a ich zawartość wynosi ok 4%. Pomimo niewielkiej zawartości, pełnią różne funkcje w zależności od rodzaju tkanki oraz konkretnego związku mineralnego. Podobnie jak witaminy uczestniczą w funkcjach komórkowych, subkomórkowych i tkankowych, inicjują wytwarzanie hormonów oraz wpływają na przebieg procesów przemiany materii. Wpływają na: przewodzenie impulsów nerwowych, skurcze mięśni, regulację potencjału błonowego, aktywność mitochondriów, przebieg różnych reakcji enzymatycznych, a także odpowiedź immunologiczną organizmu [Siddiqui i in. 2014].

Związki mineralne klasyfikowane są jako makroelementy i mikroelementy (pierwiastki śladowe); zapotrzebowanie na nie jest odpowiednio wyższe i niższe niż 100 mg/dl. Zgodnie z powyższym kryterium do makroelementów zalicza się wapń, magnez, sód, chlor czy fosfor; natomiast do mikroelementów: potas, żelazo, miedź, cynk, mangan, molibden, fluor, chrom, kobalt, jod, selen czy siarka [Soetan i in. 2010].

Zapotrzebowanie organizmu na związki mineralne określa się jako poziom spożycia, który spełnia określone kryteria funkcjonalności, minimalizując ryzyko ich niedoboru lub nadmiaru. Kryteria funkcjonalności związków mineralnych oparte są o określone skutki biologiczne, które w skrajnych przypadkach obejmują poziom spożycia zabezpieczający organizm przed śmiercią. Ze względu na brak jednoznacznych danych, dotyczących wpływu niedoboru lub nadmiaru określonych związków mineralnych i pierwiastków śladowych, należy dążyć do poznania różnych reakcji biologicznych. Zwłaszcza tych reakcji, które obejmują choroby kliniczne definiowane przez objawy nadmiaru lub niedoboru składników odżywczych oraz stany subkliniczne określone za pomocą szczególnych procedur biochemicznych i funkcjonalnych [WHO 2004].

Ilość związków mineralnych, pobieranych przez organizm, nie jest równoważna z ich zawartością w danym produkcie spożywczym i uzależniona jest od stopnia ich uwalniania z matrycy produktu, a także od biodostępności. Terminem biodostępność (ang. bioavailability) określa się ilość spożywanego składnika, który jest wykorzystany przez ustrój w normalnych

funkcjach fizjologicznych i jest oznaczany za pomocą testów *in vivo* [Alegría i in. 2015]. Biodostępność powinna być rozpatrywana jako efekt trzech występujących po sobie etapów: strawności produktu i rozpuszczalności związku mineralnego w przewodzie pokarmowym; jego wchłaniania przez komórki jelitowe oraz transportu do krwiobiegu oraz wykorzystania w procesach metabolicznych przez określone tkanki organizmu [Etcheverry i in. 2012]. W literaturze biodostępność często utożsamiana jest z dwoma dodatkowymi terminami, tj: dostępnością biologiczną inaczej stopniem uwolnienia (*ang.* bioaccessibility) oraz bioaktywnością (*ang.* bioactivity). Dostępność biologiczna oznacza ilość danego związku mineralnego, który po uwolnieniu z matrycy produktu podczas trawienia (określonej dawki treści pokarmowej) staje się dostępny i może zostać wchłonięty przez jelito. Model ten pomija całkowicie przemiany, jakie mają miejsce podczas trawienia żywności, skutkujące przekształcaniem i uwalnianiem danego składnika z matrycy produktu. Opisuje natomiast przekształcenia, które mają na celu zmianę składnika do potencjalnie biodostępnej postaci. W niektórych modelach eksperyment odbywa się z wyłączeniem etapu wchłaniania czy transportu danego składnika przez membranę nabłonkową. Z kolei, termin bioaktywność opisuje wszystkie przemiany, jak również etapy, w których dany składnik jest transportowany, przekształcany i metabolizowany przez komórki organizmu; konsekwencją czego wywoływany jest określony efekt fizjologiczny [Etcheverry i in. 2012].

Biodostępność związków mineralnych z mleka i produktów mleczarskich jest zróżnicowana w zależności od zawartości białka, tłuszczu (w tym kwasów tłuszczowych nasyconych długo- i krótkołańcuchowych), a także kwasowości, która determinuje stopień ich jonizacji. Do najlepszych źródeł wapnia oraz innych związków mineralnych należą sery dojrzewające (ze względu na wysoką ich zawartość) oraz mleczne napoje fermentowane (ze względu na wysoki stopień jonizacji oraz obecność metabolitów zwiększających biodostępność). Biodostępność związków mineralnych z serów dojrzewających uzależniona jest od: typu sera, zawartości kwasów organicznych, obecności różnych frakcji kazeiny (α_{s1-} , α_{s2-} , oraz β -kazeiny) oraz produktów jej degradacji. Istotnym czynnikiem decydującym o biodostępności związków mineralnych z serów jest zawartość tłuszczu, a przede wszystkim skład kwasów tłuszczowych [Guéguen, Pointillart 2000; Kłobukowski 2009].

Produkty mleczarskie mogą stanowić nośnik kultur probiotycznych. Jednak, wpływ szczepów probiotycznych obecnych w jogurtach czy serach dojrzewających, na biodostępność związków mineralnych nie jest do końca poznany. Jest to o tyle istotne, że skład (jakościowy oraz ilościowy) mikroflory dolnego odcinka przewodu pokarmowego determinuje biodostępność różnych związków mineralnych [Sazawal i in. 2010, Skrypnik, Suliburska 2017].

Kolejnym czynnikiem, decydującym o biodostępności związków mineralnych z produktów mleczarskich, jest ich kwasowość oraz ewentualna obecność dodatków funkcjonalnych [Skibniewska i in. 2010, Roohani i in. 2013; Chiavaroli i in. 2015]. W produkcji mlecznych napojów fermentowanych wykorzystywane są różnego rodzaju substancje zagęszczające w celu wytworzenia stabilnej struktury i konsystencji oraz zapewnienia stabilności przechowalniczej. Ze względu na wzrost świadomości konsumentów odnośnie do wartości odżywczej produktów spożywczych, a także ich terapeutycznego oddziaływania na organizm człowieka, producenci poszukują nowych dodatków, o prozdrowotnym lub też potencjalnie prozdrowotnym oddziaływaniu. Zastąpienie stosowanych dotychczas dodatków składnikami pochodzenia naturalnego idealnie wpisuje się w trend tzw. czystej etykiety. Poszukiwane są m.in. produkty o jak najmniejszym stopniu przetworzenia, w których poszczególne składniki

odżywcze zachowują pierwotne właściwości, a tym samym korzystne oddziaływanie. Jednocześnie, większość produktów spożywczych, w wyniku wysokiego stopnia przetworzenia, pozbawiona jest istotnych dla zdrowia składników, tj.: witamin, związków mineralnych czy błonnika.

Do dodatków funkcjonalnych, które mogą kształtować absorpcję związków mineralnych z jelita, należą m.in. β -glukany [Cloetens i in. 2012, Kanagasabapathy i in. 2013; Tian i in. 2013]. β -glukany są naturalnymi polisacharydami, występującymi w organizmach eukariotycznych i prokariotycznych. W zależności od źródła β -glukany różnią się strukturą, w związku z występowaniem i rozmieszczeniem wiązań glikozydowych. Izolowane z bakterii β -glukany składają się z łańcucha prostego, złożonego z jednostek β -D-glukopiranozowych, połączonych tylko wiązaniami glikozydowymi (1-3). Natomiast β -glukany izolowane z owsa czy grzybów, charakteryzują się większą złożonością budowy strukturalnej. Izolowane z owsa czy jęczmienia są liniowymi polisacharydami reszt D-glukopiranozowych, połączonych za pomocą dwóch wiązań β -(1-4) i β -(1-3). Z kolei, β -glukany izolowane z grzybów i drożdży zawierają główny łańcuch prosty, składający się z jednostek β -D-glukopiranozowych. Jednostki te połączone są wiązaniami (1-3) z przypadkowo rozmieszczonymi rozgałęzieniami, złożonymi z 3 jednostek β -D-glukopiranozowych, połączonych wiązaniami (1-6) [Survase i in. 2007, Stone 2009].

Ze względu na budowę cząsteczki β -glukanów są odporne na działanie endogennych enzymów trawiennych i klasyfikowane jako rozpuszczalna i nierozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego [Lam, Cheung 2013]. Bakterie kolonizujące jelito grube mogą wykorzystywać β -glukany jako źródło węgla, co skutkuje zmianą mikrobiomu jelita. Skutkiem aktywności metabolicznej mikrobiomu jest wytwarzanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych [Heimann i in. 2016, Kozak i in. 2017] oraz obniżenie pH treści jelita. W konsekwencji wzrasta stopień jonizacji związków mineralnych, a tym samym ich biodostępność [Coudray i in. 2003].

5.2 CEL I ZAKRES BADAŃ

Z uwagi na wzrost asortymentu dodatków do żywności, zmieniające się trendy żywieniowe oraz rosnące zainteresowanie konsumentów i producentów produktów mleczarskich żywnością prozdrowotną **głównym celem badań było określenie wpływu modyfikacji technologii produkcji oraz składu chemicznego i mikrobiologicznego na biodostępność związków mineralnych z produktów mleczarskich.**

Realizując główny cel badań wyznaczono poszczególne etapy, które obejmowały:

- Ocena wpływu kultur probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 oraz *Lactobacillus acidophilus* NCFM, zastosowanych w produkcji serów dojrzewających typu holenderskiego (oprócz tradycyjnych kultur starterowych), na dostępność biologiczną związków mineralnych.
- Określenie dostępności biologicznej związków mineralnych z serów dojrzewających oraz wyrobów seropodobnych (z całkowitą substytucją tłuszczu mlekowego olejem palmowym), z uwzględnieniem wpływu kultur probiotycznych (jak wyżej), a także profilu kwasów tłuszczowych.
- Porównanie metod oceny biodostępności związków mineralnych z uwzględnieniem składników żywności, stymulujących wchłanianie i dostępność wapnia (obecnych

w produktach mleczarskich) oraz ograniczających biodostępność związków mineralnych (występujących w żywności pochodzenia roślinnego).

- Porównanie parametrów biochemicznych krwi i moczu oraz przewodu pokarmowego u zwierząt żywionych ukwaszonym i nieukwaszonym żelem mlecznym. Ocena wpływu aktywności fermentacyjnej mikrobioty jelitowej na biodostępność związków mineralnych.
- Ocena wpływu struktury preparatów β -glukanu na parametry biochemiczne krwi i moczu oraz przewodu pokarmowego (jw.), aktywność fermentacyjną mikrobioty jelitowej oraz biodostępność: wapnia, magnezu, manganu, cynku, żelaza, fosforu i potasu.

Badania prowadzono przy wsparciu finansowym udzielonym przez Narodowe Centrum Nauki w postaci 3 projektów (zał. 4, **II.H.1, 3** oraz **7**).

Wpływ kultur probiotycznych (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 oraz *Lactobacillus acidophilus* NCFM) oraz substytucji tłuszczu mlekowego olejem palmowym na dostępność biologiczną związków mineralnych.

Na etapie podejmowania powyższej tematyki badawczej, dostępna literatura naukowa dostarczała wielu informacji, dotyczących dostępności biologicznej związków mineralnych z mleka i jogurtów. W literaturze przedmiotu znaleźć można było również informacje dotyczące oddziaływania kultur bakterii, w tym bakterii probiotycznych, na zmianę dostępności związków mineralnych z różnych produktów spożywczych [Henry 1995; Gueguen, Pointillart 2000; Scholz-Ahrens i in. 2007, Nalepa i in. 2012]. Natomiast opracowania naukowe dotyczące biodostępności związków mineralnych z serów dojrzewających były mniej liczne. Podobnie wiedza dotycząca wpływu składu szczepowego kultur starterowych była niewielka. Brak było również informacji na temat wpływu kultur probiotycznych na dostępność biologiczną związków mineralnych z serów dojrzewających.

W związku z powyższym podjęto badania mające na celu określenie wpływu szczepów probiotycznych: *Lb. rhamnosus* HN001 lub *Lb. acidophilus* NCFM czy *Lb. paracasei* LPC-37 na biodostępność związków mineralnych z serów dojrzewających oraz wyrobów seropodobnych (z całkowitą substytucją tłuszczu mlekowego olejem palmowym). Należy zaznaczyć, że doświadczenie zrealizowano w skali przemysłowej, co zapewniło mniejsze zróżnicowanie kwasowości i składu chemicznego serów, a tym samym większą powtarzalność uzyskanych wyników.

Rezultaty badań wykazały, że pomimo zachowania tych samych parametrów produkcji kwasowość serów dojrzewających wyprodukowanych z dodatkiem *Lb. paracasei* LPC-37 była niższa, co skutkowało zmniejszeniem retencji wapnia do serwatki oraz wyższą jego zawartością (967 mg/100g) w serze, w porównaniu do serów kontrolnych oraz doświadczalnych wyprodukowanych z *Lb. rhamnosus* HN001 oraz *Lb. acidophilus* NCFM. W przeciwieństwie do wapnia, średnia zawartość magnezu w badanych serach była porównywalna (34 mg/ 100g) i nie zależna od kwasowości produktu.

W ocenie wpływu kultur probiotycznych na dostępność biologiczną związków mineralnych wykorzystano standardowy, powszechnie akceptowalny, model trawienia (enzymatycznej hydrolizy) w warunkach *in vitro*. Wykazano, stosunkowo niską (~15%) dostępność biologiczną wapnia. Natomiast dostępność biologiczna magnezu i fosforu była wyższa

i wynosiła odpowiednio ~21% oraz ~100%. Zastosowanie *Lb. rhamnosus* HN001 skutkowało 4% wzrostem stopnia uwalniania wapnia, a *Lb. paracasei* LPC-37 aż 68% wzrostem dostępności magnezu. Zwiększenie dostępności biologicznej związków mineralnych przez kultury probiotyczne było zależne od zastosowanego szczepu, a najprawdopodobniej od aktywności proteinaz i peptydaz bakteryjnych. Powstające niskocząsteczkowe związki peptydowe, poprzez tworzenie połączeń chelatowych ze związkami mineralnymi, mogą determinować dostępność biologiczną. Z opracowań różnych autorów wiadomo, że w organizmie człowieka oddziaływanie to jest dodatkowo stymulowane poprzez wytwarzane jonoforowe peptydy, jak ramnicyna A (*Lb. rhamnosus* HN001) [Dimitrijevic i in. 2009] czy laktacyna (*Lb. acidophilus* NCFM i *Lb. paracasei* LPC37 [Altermann i in. 2005], które usprawniają funkcjonowanie kanałów jonowych w kolonocytach.

W kolejnym etapie badań oceniano wpływ substytucji tłuszczu mlekowego frakcją stearynową oleju palmowego na dostępność biologiczną związków mineralnych. W produkcji wyrobu seropodobnego typu holenderskiego zastosowano dodatek kultury probiotycznej *Lb. rhamnosus* HN001, charakteryzującej się wysoką aktywnością proteolityczną oraz przeżywalnością. Zastosowanie substytucji tłuszczu miało istotny wpływ na zawartość wapnia. Pomimo tych samych operacji jednostkowych, podczas produkcji serów i wyrobów seropodobnych, średnia zawartość wapnia, w serach dojrzewających (bezpośrednio po soleniu) wynosiła 920 mg/ 100g i była istotnie niższa w porównaniu do średniej zawartości w wyrobach seropodobnych 970 mg/ 100g. Zróżnicowanie to było spowodowane najprawdopodobniej nieznacznie wyższym pH o 0,1 wyrobów seropodobnych. Natomiast zawartość magnezu, fosforu, potasu i cynku w wyrobach seropodobnych była porównywalna z ich zawartością w serach dojrzewających i wynosiła, odpowiednio 33; 542; 74 i 3,9 mg/ 100g.

Wykazano ponadto, że zastosowanie substytucji tłuszczu skutkowało wzrostem: dostępności wapnia, magnezu i cynku (odpowiednio o 4,5; 77,4 i 37,5%) oraz spadkiem dostępności fosforu (o 15,5%) z dojrzałych wyrobów seropodobnych, w porównaniu do serów. Należy zaznaczyć, że dostępność biologiczna ulegała zmianie wraz z upływem czasu dojrzewania oraz magazynowania serów i wyrobów seropodobnych. Przeprowadzone na tym etapie badania, jak również opracowania naukowe innych autorów dowodzą, że dostępność biologiczna związków mineralnych zależy przede wszystkim od profilu kwasów tłuszczowych i w mniejszym stopniu od zawartości tłuszczu. Niska dostępność wapnia i magnezu z badanych produktów spowodowana była wysoką zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych, głównie palmitynowego oraz stearynowego. Długołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe mogą zaabsorbować do 60% zjonizowanej formy wapnia, tworząc z nim mydła, które nie są trawione w organizmie człowieka [Bronner, Pansu 1999]. Będące przedmiotem badań sery oraz wyroby seropodobne różniły się składem kwasów tłuszczowych. Analiza wyników uzyskanych z wykorzystaniem chromatografii gazowej wykazała wyższą (~6%) zawartość kwasu stearynowego (C18:0) oraz niższą (~7%) kwasu palmitynowego (C16:0) w serach dojrzewających, w porównaniu do wyrobów seropodobnych. Jest to o tyle istotne, że wraz ze wzrastającą ilością atomów węgla w cząsteczce kwasu – wzrasta również ilość wiązanych związków mineralnych. Zarówno w badaniach własnych, jak też w opracowaniach innych autorów wykazano, że kompleksowanie dwuwartościowych kationów nie zachodzi w równym stopniu i jest zróżnicowane dla poszczególnych jonów. Innym, równie istotnym czynnikiem wpływającym na dostępność biologiczną związków mineralnych jest ich wzajemny stosunek wagowy. Skutkiem wyższej

zawartości wapnia (niż magnezu) w serach oraz w wyrobach seropodobnych było wytwarzanie nierozpuszczalnych kompleksów w pierwszej kolejności z wapniem, a następnie z magnezem. Dodatkowo, ze względu na wysoką zawartość fosforu, w badanych produktach możliwe było także powstawanie nierozpuszczalnych kompleksów wapń-magnez-fosfor [Brick i in. 1995]. Należy zaznaczyć, że wyższa dostępność jonów wapnia i magnezu z wyrobów seropodobnych, w porównaniu do serów dojrzewających, mogła być spowodowana, zróżnicowaniem w zawartości kwasów C16:0 i C18:0, a także odmiennym rozmieszczeniem ww. kwasów w cząsteczkach triacylogliceroli.

Wyniki badań świadczą, że również oddziaływanie kultur bakteryjnych na stopień dostępności związków mineralnych było uzależnione od profilu kwasów tłuszczowych w produkcie. Uzyskane rezultaty badań dowodzą również, że aktywność peptydolityczna, zastosowanej kultury może być hamowana poprzez zwiększenie zawartości kwasu linolowego, pochodzącego z oleju palmowego. Skutkiem tego jest zmniejszenie zawartości niskocząsteczkowych związków azotowych [Ando i in. 2004]. Jednak, w celu określenia dokładnego mechanizmu oddziaływania omawiane zagadnienie wymaga dalszych szczegółowych badań z użyciem innych kultur bakterii.

Osiągnięciem naukowym w badaniach przedstawionych w publikacji (zał. 4, **I.1**) i (zał. 4, **I.2**) jest wykazanie istotnego wpływu kultur probiotycznych na wzrost dostępności biologicznej, wapnia i magnezu z serów dojrzewających. Substytucja tłuszczu mlekowego olejem palmowym, skutkuje zwiększeniem dostępności biologicznej jonów wapnia, magnezu i cynku oraz zmniejszeniem dostępności jonów fosforu. Wykazano również, że zmiana profilu kwasów tłuszczowych może być istotnym czynnikiem determinującym aktywność proteinaz i peptydaz bakteryjnych, które wpływając na stopień degradacji parakazeiny, w pośredni sposób wpływają na dostępność biologiczną związków mineralnych.

Porównanie metod oceny biodostępności związków mineralnych oraz czynników determinujących ich biodostępność z żywności.

Ze względu na podejmowane, przez różne środowiska, próby zdyskredytowania mleka i produktów mleczarskich (jako najlepszego źródła biodostępnego wapnia w diecie człowieka) dokonano porównania biodostępności wapnia z różnych produktów spożywczych. Korzystając z przedmiotowej literatury wykazano, że pokrycie zapotrzebowania na wapń jest istotne w profilaktyce chorób dietozależnych. Wapń reguluje metabolizm lipidów i węglowodanów, zapobiega otyłości oraz insulinooporności. Ponadto zmniejsza ryzyko nadciśnienia, choroby niedokrwiennej serca, kamicy nerkowej i nowotworów jelita grubego. Wykazano, że pokrycie zapotrzebowania na wapń w większym stopniu zależne jest od jego biodostępności niż od ilości w diecie. Na wzrost absorpcji wapnia wpływają: wysoka podaż białka, bioaktywne peptydy, krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe, witamina D₃ i K₂ [Kerstetter i in. 2005]. Większa biodostępność wapnia z jogurtów i twarogów jest konsekwencją wysokiego stopnia jego jonizacji. Natomiast produkty roślinne, również te o wysokiej zawartości wapnia (warzywa, orzechy, zboża, owoce), nie zawierają witamin, które regulują jego metabolizm. W dodatku są źródłem składników

(błonnik, fityniany, szczawiany kwasy uronowe) ograniczających wchłanianie związków mineralnych.

Zagadnieniu biodostępności związków mineralnych poświęcono wiele różnych publikacji naukowych; bardzo często tematyka ta jest również poruszana w ramach grupy INFOGEST. Przez lata opracowano i udoskonalono różne metody badań modelowych *in vitro*, których głównym celem jest jak najwierniejsze odwzorowanie przemian zachodzących w przewodzie pokarmowym. Jednak w zależności od zastosowanej metody, uzyskiwane wyniki bardzo często są odmienne. Większość opracowań naukowych dotyczy oceny dostępności biologicznej i/lub biodostępności pojedynczych składników. W opracowaniach tych pomijane są interakcje poszczególnych związków mineralnych ze składnikami matrycy produktu, w aspekcie oddziaływania procesów technologicznych. Konsekwencją tego może być wzrost lub zmniejszenie biodostępności badanego składnika.

Jednocześnie brak jest danych nt. wpływu zastosowanej metody analitycznej na wyniki dotyczące biodostępności związków mineralnych z tego samego produktu. Dlatego też, w kolejnym etapie badań, porównano wyniki dotyczące biodostępności związków mineralnych z pełnotłustego jogurtu uzyskane z zastosowaniem metody referencyjnej (*in vivo*) oraz 3 metod alternatywnych *in vitro*. Wykazano, że wyniki dot. biodostępności z modelu *in vivo* były istotnie wyższe niż z modeli *in vitro*. Analiza wariancji wykazała istotny ($p < 0.001$) wpływ zastosowanej metody *in vitro* do oznaczania dostępności biologicznej. Wykorzystanie linii komórkowych Caco-2 i HT-29 skutkowało najniższym (zazwyczaj nieprzekraczającym 5%) stopniem dostępności biologicznej badanych związków mineralnych. Natomiast zastosowanie klasycznego modelu *in vitro* skutkowało istotnie wyższą dostępnością biologiczną, która w przypadku wapnia, magnezu, cynku, potasu czy fosforu wynosiła odpowiednio: 11, 10, 38, 32 i 30%. W badaniach wykazano niedoskonałość stosowanych aktualnie tanich modeli *in vitro*.

Następstwem publikacji (zał. 4, **I.4**) oraz prezentacji (zał. 4, **III.B.5**) było wykazanie, że produkty mleczarskie, w porównaniu do produktów pochodzenia roślinnego, stanowią znacznie lepsze źródło związków mineralnych, o wysokim stopniu dostępności biologicznej. Wykazano również, że dostępność biologiczna związków mineralnych istotnie zależy od rodzaju zastosowanej metody badawczej. Stosując metody *in vitro* uzyskiwano niższe wyniki dot. dostępności biologicznej, w porównaniu do modelu *in vivo*. Podkreślić należy, że żadna z metod *in vitro* nie odzwierciedla wszystkich reakcji fizjologicznych zachodzących w organizmie, które determinują rzeczywistą biodostępność związków mineralnych. W związku z powyższym za celowe uznano przeprowadzenie eksperymentu żywieniowego *in vivo* w kolejnym etapie badań.

Ocena wpływu kwasowości treści pokarmowej oraz struktury preparatów β -glukanu na: parametry biochemiczne krwi i moczu oraz przewodu pokarmowego, a także aktywność fermentacyjną mikroflory jelitowej i biodostępność związków mineralnych.

Ze względu na obecność wiązania glikozydowego, łączącego cząsteczki glukozy, β -glukany są odporne na działanie enzymów trawiennych. Jednak liczne szczepy bakterii, wchodzących w skład mikrobiomu jelita grubego, wytwarzają enzymy hydrolizujące ww. wiązanie, dzięki czemu mogą wykorzystywać β -glukany jako źródło węgla. Skutkuje to zmianą

ilościowego i jakościowego składu mikrobiomu jelita. Efektem aktywności metabolicznej mikrobiomu jest wytwarzanie m.in. krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz obniżenie pH treści jelita [Heimann i in. 2016]. Wyznacznikiem aktywności fermentacyjnej mikrobioty jest zawartość oraz aktywność fekalnej α - i β -glukozydazy oraz α - i β -galaktozydazy.

β -glukany wykazują szereg prozdrowotnych właściwości; ich obecność w diecie może zmniejszyć zachorowalność na dietozależne choroby takie jak: hiperinsulinemia, hiperlipidemia, hipercholesterolemia, nadciśnienie, nowotwory oraz osłabiona odpowiedź immunologiczna [Gibiński 2008]. Wykazano, że im bardziej złożona budowa β -glukanu, tym większy potencjalny efekt prozdrowotny [Rahar i in. 2011]. W kilku opracowaniach naukowych opisano wpływ preparatów β -glukanu na parametry biochemiczne krwi i moczu oraz mikrobiom. Jednak porównanie rezultatów badań różnych autorów jest praktycznie niemożliwe, ze względu na używanie preparatów o odmiennej strukturze i koncentracji, w dodatku stosowanych w różnych ilościach. Ponadto, informacje dotyczące wpływu matrycy na biodostępność związków mineralnych z konkretnych produktów spożywczych, są nieliczne.

W związku z powyższym, celem badań przedstawionych w publikacji (zał. 4, I.3) była ocena wpływu suplementacji standardowej diety szczurów ukwaszonymi i nieukwaszonymi żelami mlecznymi, z dodatkiem wysokooczyszczonych preparatów β -glukanu (o odmiennej strukturze), na aktywność fermentacyjną mikrobioty jelitowej, parametry przewodu pokarmowego, aktywność enzymów fekalnych, a w konsekwencji na biodostępność związków mineralnych.

Przeprowadzono 28 dniowy eksperyment z wykorzystaniem 64 szczurów Wistar. Oprócz standardowej karmy zwierzęta otrzymywały nieukwaszony (pH= 6,6) lub ukwaszony (pH = 4,5-4,6) żel mleczny z dodatkiem, rozgałęzionych β -glukanów, izolowanych z owsa (*Avena sativa* L.) i grzybów (*Sclerotium glaucum*) oraz β -glukanów o strukturze liniowej, izolowanych z bakterii (*Agrobacterium bio-bar*).

W badaniach wykazano, że ilość spożywanej karmy oraz efektywność jej wykorzystania uzależniona była od kwasowości produktu oraz struktury β -glukanu. Wzbogacenie diety jogurtem z dodatkiem β -glukanów skutkowało zwiększonym spożyciem pokarmu oraz lepszą efektywnością jego wykorzystania. W porównaniu do szczurów żywionych żelami kontrolnymi, u zwierząt żywionych jogurtem stwierdzono istotny wzrost wagi ciała. Wykazano poza tym, że średnia waga tkanki jelita ślepego szczurów żywionych jogurtem była o 6% wyższa niż szczurów żywionych nieukwaszonymi żelami mlecznymi. Przyrost wagi szczurów żywionych dietą standardową, wzbogaconą o ukwaszone żele mleczne z dodatkiem β -glukanów, sugeruje ich stymulujący wpływ na poprawę wykorzystania składników odżywczych, częściowo zhydrolizowanych dzięki aktywności enzymów bakteryjnych. Skutkiem obecności kultur jogurtowych (*Lactobacillus dulbrecki* ssp. *bulgaricus* oraz *Streptococcus thermophilus*) była większa aktywność kwasząca mikrobiomu jelita. W dodatku główne metabolity fermentacji mlekowej (kwas mlekowy i octowy) stymulowały perystaltykę jelit.

W kolejnym etapie badań oceniono wpływ β -glukanów na ilościowy oraz jakościowy skład mikrobiomu. W ocenie ilościowego składu mikrobiomu uwzględniono liczebność bakterii beztlenowych ogółem; pałeczek *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*; laseczek *Clostridium*; paciorkowców *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus* oraz gronkowców *Staphylococcus* i drożdży. W ocenie jakościowego składu mikrobiomu wykorzystano techniki analityczne nowej generacji, polegające na rozdziale

elektroforetycznym w gradiencie czynnika denaturującego (PCR-DGGE) oraz metagenomowym sekwencjonowaniu DNA bakterii.

W badaniach wykazano, że zarówno ilościowy jak też jakościowy skład mikrobiomu jelita szczurów w istotnym stopniu zależał od struktury β -glukanu. Porównywano ogólną liczebność bakterii beztlenowych, która w odchodach szczurów żywionych jogurtem i żelem mlecznym wynosiła odpowiednio log 9,98 CFU/g i log 8,94 CFU/g. Jednak istotny wzrost liczebności bakterii, w porównaniu do grup kontrolnych, stwierdzono tylko w odchodach szczurów żywionych (1-3)(1-6)- β -glukanem. Struktura preparatu była istotnym ($p=0,045$) czynnikiem kształtującym kwasowość treści jelita szczurów. Wykazano również istotny wpływ kwasowości żelu mlecznego ($p<0,001$) oraz struktury β -glukanu ($p=0,026$) na stężenie amoniaku. Stwierdzono istotny wpływ struktury β -glukanu na zmianę stężenia SCFA (ang: short-chain fatty acids (SCFA), tj. octanu ($p=0,02$), propionianu ($p<0,001$) oraz maślanu ($p=0,03$), w treści jelita ślepego. Również poziom gnilnych SCFA (ang. putrefractive SCFAs (PSCFAs), definiowanych jako suma kwasu *izo*-masłowego, *izo*-walerianowego i walerianowego, zależna była w istotnym stopniu od struktury β -glukanu, a w mniejszym stopniu od kwasowości. Zastosowanie dodatku (1-3)(1-4)- β -glukanu do jogurtu skutkowało 25% zwiększeniem ($p<0.05$), natomiast do nieukwaszonego 7,5% zmniejszeniem, stężenia PSCFAs. Należy podkreślić, że w przypadku szczurów żywionych dietami z nieukwaszonym żelem mlecznym, wpływ poszczególnych glukanów na zawartość PSCFAs był odmienny. Wykazano, że zastosowanie β -glukanów skutkowało zmniejszeniem zawartości octanu oraz maślanu, który w 60-70% jest zużywany na potrzeby energetyczne organizmu. Szczury o niższej zawartości maślanu w treści jelita, charakteryzowały się niższym współczynnikiem przyrostu masy ciała. Jednakże, ze względu na niskie (ok. 10%) wykorzystanie SCFA przez organizm zwierząt potwierdzenie funkcji maślanu, octanu czy propionianu jako źródła energii wymaga dalszych szczegółowych badań.

Jednak niższe pH oraz wyższa zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych nie zawsze koreluje z wysoką liczebnością mikrobiomu. Potwierdzeniem tego są wyniki uzyskane u szczurów żywionych (1-3)(1-4)- β -glukanem, u których stwierdzono najniższą liczebność bakterii beztlenowych i wyższą zawartość SCFA. Aktywność metaboliczna bakterii uzależniona jest również od struktury przestrzennej β -glukanu oraz matrycy, w której go dostarczano. Interesujący jest fakt, że żele z dodatkiem (1-3)(1-6)- β -glukanu, pomimo stymulacji wzrostu bakterii, nie powodowały istotnej zmiany pH treści jelita. Było to najprawdopodobniej konsekwencją syntetyzowania mniejszej ilości octanu i propionianu oraz większej ilości maślanu, który wykorzystywany jest przez kolonocyty, jako łatwo dostępne źródło energii. Z rezultatów badań wynika, że również peptydy oraz wolne aminokwasy (uwalniane w związku z proteolizą białek) działały stymulująco na mikroflorę przewodu pokarmowego szczurów.

Wyznacznikiem aktywności fermentacyjnej mikrobioty, w szczególności bakterii kwasu mlekowego, jest zawartość a także aktywność fekalnej α - i β -glukozydazy oraz α - i β -galaktozydazy. Rezultaty dwuczynnikowej analizy wariancji wykazały, że w ostatnim dniu eksperymentu żywieniowego, zarówno kwasowość produktu jak też struktura β -glukanu w istotnym ($p<0.001$) stopniu determinowała aktywność ww. enzymów. Wykazano, że zastosowanie β -glukanów w diecie szczurów (niezależnie od kwasowości żelu mlecznego) skutkowało istotnym zmniejszeniem aktywności β -glukuronidazy, która bierze udział w syntezie wielu związków kancerogennych w jelicie [Nowak, Libudzisz 2008]. Wzrost aktywności α - i β -galaktozydazy u szczurów żywionych jogurtem z β -glukanami był konsekwencją wzrostu

liczebności *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp. i *Enterococcus* sp. oraz spadku liczebności *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp. *Staphylococcus* sp. i *Eubacterium* sp.. Należy zwrócić uwagę, że struktura żelu mlecznego zapewniała wysoką przeżywalność *Streptococcus thermophilus*, co wpływa na zwiększenie aktywności α - i β -galaktozydazy [Alvaro i in. 2007]. Dodatkowo, zmiana mikrobiomu stymuluje ekspresję genów odpowiedzialnych za syntezę α -glukozydazy [Nishimura i in. 2016]. Na uwagę zasługuje fakt, że u szczurów żywionych (1-3)(1-6)- β -glukanem stwierdzono spadek aktywności większości enzymów (z wyjątkiem α -glukozydazy) i jednocześnie znaczny spadek ilości SCFA. Najprawdopodobniej było to konsekwencją odmiennych cech reologicznych żelu mlecznego oraz zmiany ładunków wiązania pomiędzy β -glukanem, wodą i micelą kazeinową. Heliksalne ułożenie łańcucha β -glukanu w żelu oraz wyższa siła jonowa wiązań pomiędzy cząsteczkami β -glukanu a kazeiną była najprawdopodobniej dodatkowym czynnikiem barierowym dla enzymów bakteryjnych.

Analiza wyników dowiodła, że zastosowanie jogurtu z β -glukanami w żywieniu szczurów skutkowało istotnym spadkiem poziomu cholesterolu ogółem w osoczu krwi. Redukcja cholesterolu spowodowana była wyższą zawartością kwasu propionowego w jelicie, który ogranicza syntezę i wydzielenie lipoprotein do krwi [Lin i in. 1995] oraz najprawdopodobniej zwiększoną absorpcją lipoprotein przez cząsteczki β -glukanu. O prawidłowości przemian metabolicznych i bezpieczeństwie dodatków do żywności świadczy poziom enzymów wątrobowych, takich jak: aminotransferaza asparaginowa (AST), aminotransferaza alaninowa (ALT) czy alkaiczna fosfataza (ALP) w osoczu krwi szczurów. Zawartość ALP w osoczu jest jednym z ważniejszych wskaźników metabolizmu tkanki kostnej. W badaniach wykazano ścisłą zależność pomiędzy kwasowością żelu mlecznego, a podatnością na złamanie kości udowej szczurów. Z opracowań innych autorów wynika, że zastosowanie dodatku inuliny do diety szczurów skutkowało nie tylko zmianą mikrobiomu oraz ilości SCFA, ale także wzrostem ALP. Wskazuje to na intensyfikację procesów kościotwórczych, z jednoczesnym ograniczeniem wydzielania biomarkerów świadczących o resorpcji kości [Bueno-Vargas i in. 2016].

Skutkiem niższej zawartości błonnika w diecie szczurów, żywionych dietą kontrolną, było większe zakwaszenie organizmu. W celu utrzymania równowagi kwasowo-zasadowej oraz usunięcia niezmetylizowanych anionów białkowych, nerki zwiększają poziom filtracji kłębuszkowej. W przeprowadzonych badaniach wykazano istotny ($p < 0,05$) wpływ struktury β -glukanu, jak również kwasowości produktu, na zmniejszenie poziomu kreatyniny w moczu. Podobnie stężenie mocznika w moczu zależne było od kwasowości ($p = 0,079$) żelu mlecznego oraz struktury β -glukanów ($p < 0,001$). U szczurów żywionych (1-3)(1-4)- β -glukanem i (1-3)- β -glukanem stwierdzono spadek stężenia mocznika w moczu, odpowiednio o 38 i 22%.

Struktura β -glukanu, podobnie jak kwasowość żelu mlecznego w istotnym ($p < 0,001$) stopniu determinowała biodostępność wapnia. Zastosowanie rozgałęzionego (1-3)(1-4)- oraz (1-3)(1-6)- β -glukanu w jogurcie skutkowało istotnie wyższą biodostępnością wapnia w porównaniu do (1-3)- β -glukanu o strukturze liniowej. Zastosowanie w żywieniu szczurów jogurtu z dodatkiem (1-3)(1-4)- β -glukanu skutkowało ok 13% wzrostem biodostępności wapnia, w porównaniu do żelu kontrolnego. Wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy biodostępnością wapnia a zawartością kwasu walerianowego ($r = 0,320$) i suchą masą treści jelita ($r = 0,277$) u wszystkich zwierząt doświadczalnych. Biodostępność wzrastała proporcjonalnie do zawartości produktów przemiany białek (amoniak), ale tylko u szczurów żywionych preparatem o rozgałęzionej strukturze. Średnia zawartość wapnia we krwi szczurów żywionych jogurtami wynosiła 125 mg/kg

i była o 6% wyższa, w porównaniu do żywienia nieukwaszonym żelem mlecznym. Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji wykazały, że biodostępność magnezu nie zależała od struktury β -glukanów ($p=0,09$), ale istotnie ($p=0,012$) zależała od kwasowości żelu mlecznego. Należy zaznaczyć, że suplementacja diety jogurtem, ze względu na obecność kwasu mlekowego, powinna stymulować biodostępność wapnia i magnezu, w porównaniu do suplementacji żelem nieukwaszonym. Jednak nieukwaszony żel zawiera więcej laktozy, która ulega fermentacji w jelicie, co zwiększa biodostępność związków mineralnych. Ponadto, obecny w jelicie: amoniak, octan, propionian czy maślan aktywują kanały jonowe, zwiększają stężenie protonów w komórkach nabłonka jelitowego. Efektem tego jest zwiększony przepływ jonów wapnia oraz magnezu przez śluzówkę jelita do krwi [Trinidad i in. 1993, Leonhard-Marek i in. 1998].

Wyniki zrealizowanych badań wskazują na istotną rolę β -glukanów w zwiększeniu biodostępności cynku ($p=0,001$), żelaza ($p<0,001$) oraz manganu ($p=0,004$). Średnia biodostępność cynku, z różnych produktów spożywczych, wynosi ok 50% [WHO/FAO; 2004]. Wg opracowań WHO/FAO [2004] oraz Bel-Serrat, i in. [2014] jeżeli stosunek P: Zn jest wyższy od 15 to biodostępność cynku powinna ulec istotnemu zmniejszeniu do ok 30%. Należy zwrócić uwagę, że w przeciwieństwie do ww. opracowań, w stosowanej w żywieniu szczurów diecie, pomimo istotnie wyższego stosunku P:Zn biodostępność cynku wynosiła aż 80%. Najprawdopodobniej było to następstwem przeprowadzenia eksperymentu na szczurach w intensywnej fazie wzrostu, podczas której cynk jest bardziej efektywnie absorbowany i metabolizowany. Ocena biodostępności cynku jest trudniejsza (niż innych związków mineralnych) ze względu na jego transport pasywny przez komórki enterocytów [Roohani i in. 2013].

Z opracowań różnych autorów wynika, że wysoka biodostępność żelaza (70-80%) była najprawdopodobniej związana z procesami erytropoezy, zachodzącymi w czasie intensywnego wzrostu szczurów [Reece, 2015]. Istotnie wyższa (średnio o 10%) biodostępność żelaza z jogurtów mogła być następstwem transcytozy [García-Nebot i in. 2013], a także obecności fosfokazeinianu żelaza ($b\text{-CN}(1-25)4\text{P}$) wytworzonego, w pierwszej kolejności, z β -kazeiny przez enzymy peptydolityczne *Lb. dubreckeri* [Kibangu i in. 2005]. Dodatkowo transport pierwotny żelaza, zachodzący przy udziale enterocytów może zostać zintensyfikowany na skutek długotrwałego suplementowania prebiotykiem, np. β -glukanem. Wykazano również, że biodostępność fosforu nie była istotnie zależna od kwasowości produktu i zastosowanego β -glukanu. Była jednak wysoka (ok. 83%), co wynikało z zastosowania dodatku do diety standardowej żeli mlecznych bogatych w kazeinę. Brak istotnego wpływu β -glukanów na biodostępność fosforu był konsekwencją ich budowy chemicznej. W zrealizowanych badaniach nie stwierdzono istotnego wpływu β -glukanów na biodostępność potasu. Wyższa (nie istotna statystycznie) biodostępność z jogurtów mogła być następstwem jonizacji i zwiększonej jego rozpuszczalności. Potas jest dobrze rozpuszczalny, jego absorpcja zachodzi w górnej [Stone i in. 2016], podczas gdy hydroliza β -glukanów w dolnej części przewodu pokarmowego. Tłumaczy to brak istotnego wpływu β -glukanów na biodostępność potasu.

Z uwagi na fakt, że ilość zaabsorbowanego składnika mineralnego nie jest równoważna z jego wykorzystaniem przez organizm, w kolejnym etapie badań skoncentrowano się na analizie kości udowej szczurów. Wykazano, że zawartość wapnia w kościach zależna była przede wszystkim od kwasowości produktu ($p<0,05$), a w mniejszym stopniu od stopnia rozgałęzienia cząsteczki β -glukanu. W przeciwieństwie do zwierząt żywionych jogurtem, u szczurów

żywionych żelem mlecznym z dodatkiem β -glukanów stwierdzono istotnie niższą zawartość wapnia w kości udowej. Ponadto wykazano, że kości szczurów żywionych dietą standardową z dodatkiem żeli mlecznych z β -glukanami charakteryzowały się większą wytrzymałością. Średnia zawartość fosforu, była porównywalna i wynosiła 126,43 mg/g kości. Wykazano wyższy stosunek wapnia do fosforu w kościach udowych szczurów żywionych jogurtem, w porównaniu do żywienia żelami mlecznymi. Skutkiem niskiej wartości współczynnika Ca/P (1.89) u szczurów żywionych żelem mlecznym z (1-3)(1-6)- β -glukanem była odpowiednio niska ($F_{\max}=7,80\pm 0,29$ kg) siła potrzebna do przełamania kości udowej. Natomiast większa ($F_{\max}=12,35\pm 0,33$ kg) wytrzymałość mechaniczna kości udowej szczurów żywionych jogurtem z (1-3)(1-4)- β -glukanem była konsekwencją lepszej proporcji Ca/P (2.23). Stwierdzono również, że obok wapnia i fosforu jednym z kluczowych czynników, decydujących o parametrach mechanicznych tkanki kostnej, jest zawartość cynku. W kościach szczurów żywionych jogurtem z (1-3)(1-6)- β -glukanem stwierdzono wyższą o ok 10% zawartość cynku oraz wyższą o 33% siłę potrzebną do przełamania kości udowej, w porównaniu do zwierząt żywionych żelem mlecznym z tym samym β -glukanem. Zależność ta wynika także z wzajemnego stosunku molowego Ca/P – w badanej grupie był on wysoki i wynosił 2.12. Zrealizowane badania wykazały, że szerokość, grubość oraz waga kości udowej szczurów zależna była od zastosowanego preparatu β -glukanu oraz kwasowości produktu.

Dodatkowo, skutkiem zmian zawartości poszczególnych związków mineralnych w kościach była odmienna ich mikrostruktura. Wyniki badań potwierdzają zależność pomiędzy ilością, wielkością i kształtem porów, strukturą beleczkową oraz nasadą kości dłuższej (w okolicy strefy przekształcania kości udowej zwartej), a właściwościami mechanicznymi kości udowej. U zwierząt żywionych jogurtem zaobserwowano mniejszą ilość porów, co skutkowało wyższą siłą potrzebną do przełamania kości, w porównaniu do kości zwierząt żywionych żelem mlecznym. Mniejsza porowatość kości udowej i większa jej wytrzymałość mechaniczna najprawdopodobniej była konsekwencją wbudowania się jonów cynku, magnezu czy sodu do hydroksypapatytu [Dorozhkin 2007; Matsunaga i in.2010]. Zdaniem różnych autorów porowatość kości tylko w 46-76% tłumaczy ich właściwości mechaniczne [McCalden i in.1993; Yeni i in.1998]. Dlatego w celu potwierdzenia przyjętych założeń przeprowadzono analizę korelacji, która wykazała występowanie istotnej ujemnej zależności pomiędzy siłą potrzebną do przełamania kości a zawartością wapnia i cynku w grupie szczurów żywionych jogurtem ($r = - 0,420$) oraz zawartością wapnia i fosforu w grupie szczurów żywionych żelem mlecznym ($r = - 0,489$). W grupie szczurów żywionych żelem mlecznym wykazano ponadto, że ww. parametr zależy od kwasowości treści jelita ($r = 0,577$) oraz wzajemnego stosunku wapnia i magnezu ($r = 0,659$; $p < 0,05$).

Wyniki badań przedstawionych w pracy (zał. 4, **I.3** i **5**) oraz podczas konferencji (zał. 4, **III.B.1**, **6** i **7**) dowodzą, że zarówno struktura β -glukanu, jak też kwasowość żelu mlecznego (aczkolwiek w mniejszym stopniu) determinuje efekty fizjologiczne. Najlepsze wykorzystanie składników pokarmowych zapewniała dieta suplementowana (1-3)(1-4)- β -glukanem o rozgałęzionej strukturze. Natomiast najmniejsze wykorzystanie składników stwierdzono przy zastosowaniu dodatku (1-3)- β -glukanu o liniowej strukturze. Żywienie zwierząt jogurtami z dodatkiem β -glukanów skutkowało lepszym wykorzystaniem składników odżywczych, korzystną zmianą mikrobiomu jelita. Wytwarzanie w jelitach krótkołańcuchowych nasyconych

kwasów tłuszczowych było stymulowane poprzez obecne w jogurcie kultury starterowe. Zastosowanie w żywieniu szczurów żeli mlecznych z dodatkiem β -glukanów wpływało na zwiększenie aktywności enzymów bakteryjnych oraz parametry biochemiczne krwi i moczu. Istotnym czynnikiem determinującym biodostępność: wapnia, manganu, cynku i żelaza była kwasowość żelu, ze względu na zwiększoną rozpuszczalność związków mineralnych. W badaniach wykazano, że obecność β -glukanu o liniowej i rozgałęzionej strukturze w diecie szczurów skutkuje zmianą składu mineralnego, mikrostruktury oraz wytrzymałości mechanicznej kości udowych. Optymalny skład mineralny, a w konsekwencji wysoką wytrzymałość mechaniczną kości udowej stwierdzono u szczurów żywionych (1-3)(1-4)- β -glukanem o rozgałęzionej strukturze.

[6]. PODSUMOWANIE

Efektom badań, realizowanych w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego nad biodostępnością związków mineralnych z produktów mleczarskich, jest stwierdzenie, że:

- Zastosowanie w produkcji serów dojrzewających typu holenderskiego kultur probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 oraz *Lactobacillus acidophilus* NCFM (oprócz tradycyjnych kultur starterowych) skutkuje intensyfikacją przemian proteolitycznych, a w konsekwencji wzrostem dostępności biologicznej magnezu, potasu i w mniejszym stopniu wapnia.
- Dostępność biologiczna związków mineralnych determinowana jest nie tylko przez kulturę probiotyczną, ale także profil kwasów tłuszczowych. Konsekwencją substytucji tłuszczu mlekowego olejem palmowym (o niższej zawartości kwasów C16:0 i C18:0) była wyższa dostępność jonów wapnia, magnezu i cynku z wyrobów seropodobnych, w porównaniu do serów dojrzewających.
- Wyniki dotyczące oceny biodostępności związków mineralnych (z tych samych produktów) uzyskiwane z zastosowaniem metod *in vivo* i *in vitro*, były istotnie zróżnicowane. Najwyższe wyniki stwierdzono przy zastosowaniu metody *in vivo*. Istotnie niższe wyniki stwierdzono przy zastosowaniu metod *in vitro*, m.in. z wykorzystaniem linii komórkowych Caco-2 i HT-29. W badaniach wykazano, że biodostępność związków mineralnych z jogurtów była większa niż z serów dojrzewających, ze względu na niższą zawartość tłuszczu oraz wyższą kwasowość. Mimo to, sery są najlepszym źródłem wapnia w diecie, dzięki jego wysokiej zawartości oraz obecności witaminy D3 i K2.
- Następstwem żywienia szczurów ukwaszonym żelem mlecznym były większe przyrosty wagi zwierząt i jednocześnie wzrost biodostępności wapnia, magnezu i żelaza. Konsekwencją powyższego była większa zawartość wapnia oraz wyższa wytrzymałość mechaniczna kości udowej u szczurów żywionych m.in. jogurtem.
- Zastosowanie β -glukanów jako dodatków funkcjonalnych w produkcji mlecznych napojów (fermentowanych i niefermentowanych) skutkuje: zmianą mikrobiomu jelita grubego, wzrostem syntezy krótkołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych, zwiększeniem kwasowości treści jelita, polepszeniem parametrów biochemicznych krwi i moczu, a w konsekwencji wzrostem biodostępności związków mineralnych. Biodostępność

związków mineralnych była wyższa w przypadku stosowania β -glukanów o rozgałęzionej strukturze niż z β -glukanów o strukturze liniowej.

Osiągnięcie naukowe polega również na wykazaniu, że β -glukany zastosowane w wyrobie produktów mleczarskich, ze względu na stymulowanie biodostępności związków mineralnych, stanowią znacznie lepszą alternatywę niż karagen czy maltodekstryna, stosowane powszechnie w produkcji mlecznych napojów fermentowanych. Konsumpcja 4 g (w przeliczeniu na człowieka o masie 65 kg) czystej formy β -glukanów może skutkować zmianą składu mineralnego, mikrostruktury oraz wytrzymałości mechanicznej kości.

Wyniki badań dowodzą, że β -glukany powinny być uwzględniane przy opracowywaniu strategii żywieniowej, mającej na celu stymulację ekosystemu jelitowego oraz biodostępności związków mineralnych. Uzyskana wiedza jest istotna zarówno dla dietetyków, jak też konsumentów poszukujących produktów spożywczych, atrakcyjnych pod względem jakości sensorycznej a zwłaszcza prozdrowotnej.

[7]. BIBLIOGRAFIA

- Alegria, A., Garcia-Llatas, G., Cilla, A.: Static Digestion Models: General Introduction. In: Verhoeckx, K., Cotte, P., López-Expósito, I., et al., editors. *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models*. Springer, 2015, Chapter 1
- Aljewicz, M., Tońska, E., Juśkiewicz, J., Cichosz, G.: The influence of product acidity and beta-glucans isolated from various sources on the mineral composition and the mechanical and microstructural properties of the femur in growing Wistar rats, *Journal of Functional Foods*, 2018, 44, 191-200
- Altermann, E., Russell, W.M., Azcarate-Peril, M.A., Barrangou, R., BBuck, .L., McAuliffe, O., Souther, N., Dobson, A., Duong, T., Callanan, M., Lick, S., Hamrick, A., Cano R., Klaenhammer. T.R., Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102, 3906-3912
- Alvaro, E., Andrieux, C., Rochet V., Rigottier-Gois L., Lepercq P., Sutren M., Galan P., Duval Y., Juste C., Dore, J.: Composition and metabolism of the intestinal microbiota in consumers and non-consumers of yogurt, *British Journal of Nutrition*, 2007, 97, 126-133
- Ando, H., Watabe, H., Valencia, J.C., Yasumoto, K., Furumura, M., Funasaka, Y., Oka, M., Ichihashi, M., Hearing, V.J.: Fatty acids regulate pigmentation via proteasomal degradation of tyrosinase: a new aspect of ubiquitin-proteasome function, *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279, 15, 15427–15433
- Bel-Serrat, S., Stammers, A.S., Warthon-Medina M., Moran, V.H, Iglesia-Altaba, I., Hermoso, M., Moreno, L.A., Lowe, N.M.: Factors that affect zinc bioavailability and losses in adult and elderly populations., *Nutrition Reviews*, 2014, 72, 5, 334–352
- Brink, E. J., Haddeman, E., Fouw, N. J., Weststrate, J. A.: Positional distribution of stearic acid and oleic acid in a triacylglycerol and dietary calcium concentration determines the apparent absorption of these fatty acids in rats, *Journal of Nutrition*, 1995, 125, 9, 2379–2387
- Bronner, F., Pansu D.: Nutritional aspects of calcium absorption, *Journal of Nutrition*, 1999, 129, 1, 9-12
- Bueno-Vargas, P., Manzano M., Diaz-Castro J., López-Aliaga I., Rueda R., López-Pedrosa J.M.: Maternal Dietary Supplementation with Oligofructose-Enriched Inulin in Gestating/Lactating Rats Preserves Maternal Bone and Improves Bone Microarchitecture in Their Offspring, *PLoS One*, 2016, 11, 4, e0154120

- Chiavaroli, L., Mirrahimi, A., Sievenpiper, J.L., Jenkins, D.J., Darling, P.B.: Dietary fiber effects in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2015, 69, 761–768.
- Cichosz, G., Cieczot H.: *Żywieniowy fenomen mleka*. 2013, Zakład Poligraficzny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.
- Cloetens, L., Ulmius, M., Johansson-Persson, A., Akesson, B., Onning, G.: Role of dietary beta-glucans in the prevention of the metabolic syndrome. *Nutrition Reviews*, 2012, 70, 8: 444-58.
- Coudray, C., Tressol, J.C., Gueux, E., Rayssiguier, Y.: Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption of calcium and magnesium in rats, *European Journal of Nutrition*, 2003, 42, 91–8
- Dimitrijević, R., Stojanović M., Zivković, I., Petersen, A., Jankov, R. M., Dimitrijević, L., Gavrović-Jankulović. M.: The identification of a low molecular mass bacteriocin, rhamnosin A, produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain 68, *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107, 6, 2108–2115
- Drouault, S., Anba, J., Corthier, G.: *Streptococcus thermophiles* is able to produce a β -galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice, *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68, 938 – 941
- Etcheverry, P., Grusak, M.A., Fleige, L.E.: Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E., *Frontiers in Physiology*, 2012, 3:1–21
- García-Nebot, M.J., Barberá, R. & Alegría A.: Iron and zinc bioavailability in Caco-2 cells: influence of caseinophosphopeptides. *Food Chemistry*, 2013, 1, 138, 2-3, 1298-303
- Gibiński, M.: β -glukany owsa jako składnik żywności funkcjonalnej, *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2008, 57, 15-29
- Guéguen, L., A. Pointillart.: The bioavailability of dietary calcium. *Journal of the American College of Nutrition*. 2000, 19, 2: 119-136.
- Heimann. E., Nyman, M., Pålbrink, A.K., Lindkvist-Petersson, K., Degerman, E.: Branched short-chain fatty acids modulate glucose and lipid metabolism in primary adipocytes, *Adipocyte*, 2016, 5, 4, 359–68
- Henry, P.R.: Magnesium bioavailability, w Ammerman, C.B., D.H. Baker, A.J. Lewis: *Bioavailability of Nutrients For Animals Amino Acids, Minerals and Vitamins*, 1995, Academic Press
- Izydorczyk, M. S., Dexter, J. E.: Barley β -glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products: a review, *Food Research International*, 2008, 41, 850-868
- Kanagasabapathy, G., Malek, S.N., Mahmood, A.A., Chua, K.H., Vikineswary, S., Kuppusamy, U.R.: Beta-Glucan-Rich Extract from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer Prevents Obesity and Oxidative Stress in C57BL/6J Mice Fed on a High-Fat Diet, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 5, 185-259
- Kibangou, I. B., Bouhallab, S., Henry, G., Bureau, F., Allouche, S., Blais, A., Guérin, P., Arhan, P., Bouglé, D. L.: Milk proteins and iron absorption: Contrasting effects of different caseinophosphopeptides, *Pediatric Research*, 2005, 58, 731–734
- Kłobukowski, J., Modzelewska-Kapitula M., Kornacki. K.: Calcium bioavailability from diets based on white cheese containing probiotics or synbiotics in short-time study in rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2009, 8, 7: 933-936.
- Krupa-Kozak, U., Markiewicz, L.H., Lamparski, G., Juśkiewicz, J.: Administration of Inulin-Supplemented Gluten-Free Diet Modified Calcium Absorption and Caecal Microbiota in Rats in a Calcium-Dependent Manner, *Nutrients*, 2017, 9, 702
- Lam, K.L, Cheung, P.CH.K.: Non-digestible long chain beta-glucans as novel prebiotics. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2013, 2, 1, 45-64

- Lazaridou ,A., Biliaderis, C.G., Izydorczyk, M.S.: Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels, *Food Hydrocolloids*, 2003, 17, 693-712
- Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., Micha-Screttas, M., Steele, B.R.: A comparative study on structure-function relations of mixedlinkage (1/3)(1/4) linear beta-D-glucans, *Food Hydrocolloids*, 2004, 18, 837-855
- Leonhard-Marek, S., Gabel, G., Martens, H.: Effects of short chain fatty acids and carbon dioxide on magnesium transport across sheep rumen epithelium. *Exp. Physiol. Experimental Physiology*, 1998, 83, 155-164
- Lin, Y., Vonk, R.J., Slooff, M.J., Kuipers, F., Smit, M.J.: Differences in propionate-induced inhibition of cholesterol and triacylglycerol synthesis between human and rat hepatocytes in primary culture, *British Journal of Nutrition*, 1995, 74, 2, 197-207
- Matsunaga, K., Murata, H., Mizoguchi, T., Nakahira, A.: Mechanism of incorporation of zinc into hydroxyapatite, *Acta Biomaterialia*, 2010, 6, 6, 2289-2293
- McCalden, R. W., McGeough, J. A., Barker, M. B.: Age-related changes in the tensile properties of cortical bone. The relative importance of changes in porosity, mineralization, and microstructure, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1993, 75, 8, 1193-1205
- Nalepa, B., Siemianowska, E., Skibniewska, K.A.: Influence of *Bifidobacterium bifidum* on release of minerals from bread with differing bran content, *Journal of Toxicology Environmental Health A*, 2012, 75, 1-5
- Nishimura, N., Tanabe, H., Yamamoto, T.: Somaltodextrin, a highly branched α -glucan, increases rat colonic H₂ production as well as indigestible dextrin, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2016, 80, 3, 554-63.
- Nowak, A., Libudzisz, Z.: Carcinogenic activity of intestinal microorganisms. *Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 6, 25–39
- Reece, W.O.: The composition and functions of blood. W: Reece, W.O., Erickson, H.H., Goff, J.P. & Uemura, E.E. (2015) ed. *Dukes' physiology of domestic animals*. 13th. Ames: John Wiley & Sons, Incorporated, pp. 114–136.
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., Schulin R.: Zinc and its importance for human health: An integrative review, *Journal of Research in Medical Sciences*, 2013, 18, 2, 144–157
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., Schulin, R.: Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci. Journal of Research in Medical Sciences*, 2013, 18, 2, 144–157.
- Sazawal, S., Dhingra, U., Hiremath, G., Sarkar, A., Dhingra, P., Dutta, A., et al.: Effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 and prebiotic oligosaccharide added to milk on iron status, anemia, and growth among children 1 to 4 years old, *The Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2010, 51, 3, 341-346
- Scholz-Ahrens, K.E, Peter, A., Berit, M. Petra, W.: Prebiotics, Probiotics and Synbiotics Affect Mineral Absorption, Bone Mineral Content and Bone Structure. *Journal of Nutrition*, 2007, 137, 3, 838-846
- Siddiqui, K., Bawazeer, N., Joy, S.S.: Variation in Macro and Trace Elements in Progression of Type 2 Diabetes, *The Scientific World Journal*, 2014
- Skibniewska, K.A. , Zakrzewski, J., Siemianowska, E., Polak-Juszczak, L., Aljewicz, M.: Calcium Availability From Yogurt by Itself or Yogurt-Cereal-Containing Products, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2010, 73: 17, 1150 — 1154
- Skrypnik, K., Suliburska J.: Association between the gut microbiota and mineral metabolism, *Journal of Science of Food and Agriculture*, 2018, 98, 2449-2460
- Soetan, K.O., Olaiya, C.O., Oyewole, O.E.: The importance of mineral elements for humans, domestic animals, and plants—a review. *African Journal of Food Science*, 2010, 4, 200–222
- Stone, B.A.: Chemistry of β -glucans, w Bacic, A., Fincher, G.B., Stone, B.A.: *Chemistry, Biochemistry, and Biology of 1-3 Beta Glucans and Related polysaccharides*, 2009, Elsevier, USA.

- Stone, M.S., Martyn, L., Weaver, C.M.: Potassium Intake, Bioavailability, Hypertension, and Glucose Control, *Nutrients*, 2016, 8, 444
- Survase, S.A., Saudagar, P.S., Bajaj, J.B., Singhal, R.S.: Scleroglucan: fermentative production, downstream processing and applications, *Food Technology and Biotechnology*, 2007, 45, 2, 107–118
- Survase, S.A., Saudagar, P.S., Bajaj, J.B., Singhal, R.S.: Scleroglucan: fermentative production, downstream processing and applications, *Food Technology and Biotechnology*, 2007, 45, 2, 107–118
- Tian, J., Ma, J., Ma, K., Guo, H., Baidoo, S.E., Zhang, Y., Yan, J., Lu, L., Xu, H., Wang, S.: β -Glucan enhances antitumor immune responses by regulating differentiation and function of monocytic myeloid-derived suppressor cells, *European Journal of Immunology*, 2013, 43, 5, 1220-30
- Trinidad, P. T., Wolever, T. M. S., Thompson, L. U.: Interactive effects of Ca and short chain fatty acid on absorption in the distal colon of man, *Nutrition Research*, 1993, 13, 417-425
- WHO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition, World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004, Bangkok, Second edition
- Yeni, Y.N., Brown, C.U., Norman, T.L.: Influence of bone composition and apparent density on fracture toughness of the human femur and tibia. *Bone*. 1998, 22, 79–84
- Zamberlin, Š., Antunac, N., Havranek, J., Samaržija, D.: Mineralni sastav mlijeka I mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo*, 2012, 62: 111-125

[8].OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Opis działalności naukowo-badawczej podczas studiów wyższych

Pierwsze zainteresowania naukowe dotyczyły izolacji technologicznie przydatnych bakterii mlekowych z naturalnie ukwaszonych produktów mleczarskich pozyskanych z różnych regionów Europy i Azji (Kazachstan, Ukraina, Turcja, Łotwa, Rosja, Litwa). Po wstępnej identyfikacji wyizolowanych szczepów bakterii oceniono ich przydatność technologiczną. Skomponowano kilka wieloszczepowych kultur starterowych do produkcji napojów fermentowanych, a także twarogów. W badaniach wykazano, że naturalnie ukwaszone mleko oraz produkty z niego otrzymywane, niezależnie od kraju pochodzenia, są źródłem technologicznie przydatnych szczepów *Lactococcus* ssp. oraz *Leuconostoc* ssp.. Wyniki badań zamieszczono w pracy magisterskiej pt. ”Możliwość wykorzystania naturalnie ukwaszonych produktów mleczarskich jako źródło technologicznie przydatnych szczepów z rodzaju *Lactococcus* sp. i *Leuconostoc* sp.” [2008]. Uzyskane wyniki prezentowano podczas konferencji (zał. 4, **II.L.5**) i (zał. 4, **III.B.15**).

Oprócz ww. tematyki uczestniczyłem w badaniach nad oceną dostępności biologicznej związków mineralnych z produktów mleczarskich. Badania te realizowano pod kierunkiem dr hab. Krystyny Skibniewskiej, prof. UWM w Katedrze Towaroznawstwa i Badań Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Głównym celem badań było określenie wpływu dodatku produktów zbożowych do jogurtu na dostępność biologiczną wapnia. W badaniach wykazano, że zastosowanie dodatku produktów zbożowych skutkowało istotnym (od 28,5 do 77,9 %) zmniejszeniem dostępności biologicznej wapnia. Wyniki badań zamieszczono w pracy inżynierskiej [2008 r.], opublikowano w *Journal of Toxicology and Environmental Health* (zał. 4, **II.A.16**) prezentowano podczas konferencji (zał. 4, **III.B.23** i **24**). W ramach tego doświadczenia dokonano modyfikacji dotychczas stosowanej metody oceny dostępności

biologicznej związków mineralnych. Wyniki zaprezentowano na dwóch konferencjach naukowych (zał. 4, **III.B.11** i **13**).

Opis działalności naukowo-badawczej podczas studium doktoranckiego

Studia doktoranckie na Wydziale Nauki o Żywności, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (UWM) w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością rozpocząłem października 2008 r. Pod kierunkiem prof. dr hab. Grażyny Cichosz podjąłem badania, których celem było określenie przeżywalności probiotycznych kultur *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM oraz *Lactobacillus paracasei* LPC-37 w serach typu szwajcarskiego, holenderskiego oraz w wyrobach seropodobnych. Badania realizowane były z środków pozyskanych w ramach 2 projektów badawczych (zał. 4, **II. I. 3** i **7**) oraz 2 stypendiów (zał. 4, **II.I. 4** i **5**) finansowanych ze środków Narodowego Centrum Nauki oraz Europejskiego Funduszu Społecznego. Ze względu na zapewnienie powtarzalności wyników badań oraz potencjalną ich aplikacyjność, wszystkie etapy doświadczenia prowadzono w warunkach przemysłowych.

W pierwszym etapie badań dokonano modyfikacji podłoża do ilościowego oznaczania *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* oraz *Lactobacillus paracasei*. Wyizolowane szczepy identyfikowano z wykorzystaniem techniki PCR (z ang. polymerase chain reaction). Stwierdzono wysoką przeżywalność ww. szczepów podczas dojrzewania i magazynowania, przy czym zmiany ich liczebności uzależnione były od produktu oraz rodzaju zastosowanej kultury. Wykazano, że zastosowanie kultur probiotycznych w produkcji serów i wyrobów seropodobnych dojrzewających, skutkuje nieznacznym (odpowiednio 0,8% i 1,6%) wzrostem wydatku sera. Natomiast zastosowanie substytucji tłuszczu mlekowego skutkuje około 5% zmniejszeniem ilości kultur probiotycznych przechodzących do serwatki. Podczas magazynowania, liczebność kultury probiotycznej w serach uległa niewielkiej redukcji, natomiast w wyrobach seropodobnych niewielkiemu wzrostowi. Skutkiem zastosowania szczepów probiotycznych było: zwiększenie liczebności mezofilnych paciorkowców mlekowych, i ograniczenie wzrostu pałeczek *Propionibacterium* sp. w serach typu szwajcarskiego oraz stymulacja szczepów fermentujących cytryniany w serach, w których zastosowano *Lb. acidophilus* NCFM. Wykazano również hamujący wpływ szczepów probiotycznych na liczebność bakterii z grupy coli, *Clostridium perfringens* i *Cl. tirobutyricum*, a także brak istotnego wpływu na liczebność *Enterococcus* ssp. Natomiast zmiany liczebności drożdży i pleśni zależały od zastosowanego szczepu.

Przeprowadzone badania dowiodły, że ograniczenie wzrostu niestarterowych pałeczek mlekowych (NSLAB) i zastąpienie ich szczepami probiotycznymi umożliwia ukierunkowanie proteolizy i peptydolizy podczas dojrzewania serów. Dzięki temu możliwa jest produkcja serów o odmiennych cechach sensorycznych.

Równolegle z badaniami dotyczącymi przeżywalności, oceniano wpływ kultury *Lactobacillus rhamnosus* HN001 na degradację parakazeiny podczas dojrzewania i magazynowania serów i wyrobów seropodobnych. Wykazano, że zastosowanie kultury *Lactobacillus* sp. skutkowało nieistotnym statystycznie zwiększeniem dynamiki proteolizy (większe przyrosty zawartości N-rozpuszczalnego i N-niebiałkowego), a także peptydolizy (większe przyrosty zawartości N-aminokwasowego). Zastosowanie *Lactobacillus rhamnosus* HN001 w dużo większym stopniu niż *Lactobacillus acidophilus* NCFM lub *Lactobacillus*

paracasei LPC-37 skutkowało poprawą oczkowania sera oraz wytworzeniem bardziej intensywniejszego aromatu, charakterystycznego dla serów długo dojrzewających. Przeprowadzone badania dowiodły, że ograniczenie wzrostu niestarterowych pałeczek mlekowych (NSLAB) i zastąpienie ich szczepami probiotycznymi umożliwi ukierunkowanie proteolizy i peptydolizy podczas dojrzewania serów.

W badaniach wykazano, że sery dojrzewające oraz wyroby seropodobne mogą być dobrym nośnikiem kultur probiotycznych. Ponadto zastosowanie dodatku kultur probiotycznych może skutkować intensyfikacją przemian biochemicznych, a w konsekwencji skróceniem czasu dojrzewania sera lub wyrobu seropodobnego.

Wyniki powyższych badań zamieszczono w dysertacji **„Przeżywalność probiotycznej kultury *Lactobacillus rhamnosus* HN001 w serach typu szwajcarskiego, holenderskiego oraz w wyrobach seropodobnych”** [2013 r.]. Decyzją Rady Wydziału Nauki o Żywności uzyskałem stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie Technologia Żywności i Żywienia, specjalności: technologia mleczarska, biotechnologia. Praca dysertacyjna została wyróżniona przez ww. Radę Wydziału.

Uczestniczyłem w badaniach dotyczących zastosowania owadów - larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor* L.) jako alternatywy dla obecnie spożywanych produktów spożywczych. W badaniach uwzględniono podstawowy skład chemiczny larw (zawartość białka, związków mineralnych, profil kwasów tłuszczowych, jak również możliwości zastosowania sproszkowanych larw w produkcji różnych produktów spożywczych. Efektem badań była publikacja w *Agricultural Sciences* (zał. 4, **II.A.9**).

Wyniki dysertacji oraz pozostałych badań prowadzonych w tym okresie opublikowano w (zał. 4, **II.A.1; II.A.4; II.A.6-8; II.A.14-15; II.A.17**), prezentowano podczas konferencji (zał. 4, **II.L. 2, 4 i 6**) oraz (zał. 4, **III.B. 8,10, 12, 14, 16, 17 i 22**) o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Niezależnie od powyższego jestem współautorem kilku opracowań przeglądowych dotyczących prozdrowotnych właściwości tłuszczu mlekowego, konsekwencji stosowania oleju palmowego oraz syropu glukozowo-fruktozowego (zał. 4, **II.A.10; II.C.3, 4, 6 i 8**), możliwości substytucji tłuszczu mlekowego olejem roślinnym (zał. 4, **II.A.13 i II.C.8**), prawa żywnościowego (zał. 4, **II.C.7, 10-12**) możliwości wzbogacania produktów mleczarskich w wapń czy magnez (**II.A.11**), aktywności wody jako parametru kształtującego jakość serów (zał. 4, **II.A.12**), a także wpływu sposobu żywienia krów na zawartość antyoksydantów w mleku (zał. 4, **II.C.1-2**).

Opis działalności naukowo-badawczej po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, UWM w Olsztynie. Niezależnie od prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (pkt 5.2), realizowałem badania mające na celu określenie:

- możliwości zastosowania wyłoków owocowych oraz ziarna orkiszu w produkcji cukierniczej,
- wpływu struktury i stężenia β -glukanu oraz kwasowości na: cechy reologiczne oraz mikrostrukturę produktów mleczarskich,
- wpływu β -glukanów na mikrobiom jelita szczurów oraz ekspresję genów i aktywność enzymów antyoksydacyjnych.

Możliwości zastosowania wyłoków owocowych oraz ziarna orkisz w produkcji cukierniczej

Współuczestniczyłem w realizacji projektu pt. „Badania nad opracowaniem optymalnej technologii produkcji wyrobów cukierniczych na bazie mąki ze starych gatunków pszenic z wykorzystaniem pozostałości z przetwórstwa owocowego”, finansowego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Głównym celem badań było określenie maksymalnego dodatku wyłoków, (powstałych po produkcji soków owocowych) do ciastek, bez pogorszenia ich jakości sensorycznej oraz stabilności przechowalniczej. W badaniach wykazano, że twardość ciastek istotnie zależy od rodzaju zastosowanej mąki oraz ilości dodatku wyłoków. Zastosowanie mąki z samopsy z dodatkiem wyłoków z aronii oraz 30% dodatek wyłoków z truskawek skutkowało istotnym wzrostem twardości ciastek. Podobną zależność stwierdzono w wyniku zastosowania 20 i 30% dodatku wyłoków z aronii do ciastek otrzymanych z orkisz ozimego i jarego. Natomiast zastosowanie mąki płaskurki skutkowało otrzymaniem ciastek o najniższej twardości (zał. 4, **II.A.3**).

Brałem również udział w badaniach mających na celu określenie właściwości fizycznych i mechanicznych ziarna orkiszowego odmiany Schwabenkorn oraz ziarna pszenicy zwyczajnej (Korweta). Rezultaty badań zostały przedstawione w publikacji (zał. 4, **II.A.2 i 5**).

Wpływ odmiennej struktury i stężenia β -glukanu oraz kwasowości na: cechy reologiczne, mikrostrukturę produktów mleczarskich.

Efektom zainteresowań związanych z dodatkami funkcjonalnymi do żywności, jak również produkcją żywności o potencjalnie prozdrowotnym oddziaływaniu na zdrowie człowieka było podjęcie badań dotyczących wpływu trzech, różniących się pod względem struktury przestrzennej, wysokooczyszczonych preparatów β -glukanów izolowanych z bakterii (*Agrobacterium radiobacter*), owsa (*Avena sativa*) oraz grzybów (*Sclerotinia sclerotiorum*) m.in. na mikrostrukturę, teksturę, a w konsekwencji cechy reologiczne produktów mleczarskich. Badania finansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu „Wpływ beta-glukanów na cechy reologiczne oraz biodostępność związków mineralnych z produktów mleczarskich” (zał. 4, **II.H.1**), którego byłem kierownikiem.

Wstępna analiza danych reologicznych obejmująca charakterystykę: mikroreologiczną żeli [z wykorzystaniem technologii dynamicznego, wielokrotnego rozpraszania światła (MS-DWS)] lepkości i krzywych płynięcia (z wykorzystaniem reometru dynamicznego) wykazała, że dodatek β -glukanów do żeli mlecznych skutkowało istotnymi zmianami parametrów reologicznych tychże żeli. Wartość średniego kwadratu przesunięcia cząstek (MSD; ang. Mean Square Displacement) w żelu istotnie zależała od struktury oraz stężenia zastosowanego preparatu. Wykazano m.in., że właściwości lepkosprężyste żeli ulegają wzrostowi wraz ze wzrostem stężenia preparatu w mleku. Dla wszystkich próbek przebieg zmian w module zachowawczym (G') oraz współczynnika strat (G'') był podobny. Stwierdzono, m.in. wyższą lepkość i elastyczność oraz wyższą częstotliwością odkształceń w żelach, w których zastosowano (1-3)- i (1-3/1-6)- β -glukan. Wykazano również, że zastosowanie (1-3)- i (1-3/1-6)- β -glukanu skutkowało otrzymaniem pseudoplastycznego żelu

zagęszczonego ścinaniem, a zastosowanie (1-3/1-4)- β -glukanu rozrzedzanego ścinaniem. β -glukany wpływały na istotne obniżenie synerezy żelu mlecznego. Zastosowanie techniki skaningowej mikroskopii elektronowej wykazało, że β -glukan w mleku może tworzyć charakterystyczne struktury żelowe, które istotnie zmieniają cechy tekstualne (twardość, elastyczność i adhezyjność) i wpływają na późniejszą akceptowalność produktu.

Wstępna analiza wyników umożliwia stwierdzenie, że cechy sensoryczne jogurtu mogą zostać poprawione poprzez zastąpienie powszechnie wykorzystywanych stabilizatorów β -glukanem. Jednakże korzystny wpływ β -glukanu jest ściśle uzależniony od jego struktury i stężenia. Wstępne rezultaty badań prezentowano podczas konferencji (zał. 4, **III.B. 2 i 3**). Wyniki badań, nad zastosowaniem β -glukanów w produkcji mlecznych napojów fermentowanych, były podstawą zgłoszenia patentowego **P. 418827** – Sposób wytwarzania prozdrowotnych mlecznych napojów fermentowanych (Aljewicz M., Baranowska M.).

Wpływ struktury β -glukanu oraz kwasowości produktu na mikrobiom jelita szczurów oraz ekspresję genów i aktywność enzymów antyoksydacyjnych

W badaniach realizowanych we współpracy z Katedrą Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wykazano, że struktura β -glukanu w dużo większym stopniu niż kwasowość żelu wpływa na zmiany ilościowe i jakościowe mikrobiomu. Zastosowanie β -glukanów skutkowało istotnym spadkiem liczebności *Bacteroides* w jelicie. Ponadto zastosowanie preparatów β -glukanów o strukturze (1-3)- i (1-3/1-6) skutkowało istotnym zmniejszeniem liczebności *Staphylococcus* ssp.

W dalszej części badań realizowanych w Katedrze Anatomii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (z wykorzystaniem techniki RT-PCR (z ang. Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) wykazano, że struktura β -glukanów jest istotnym czynnikiem wpływającym na ekspresję genów odpowiedzialnych za wytwarzanie peroksydazy glutationowej (GPX), reduktazy glutationowo-dwusiarczkowej (GRS) oraz dysmutazy nadtlenkowej (SOD 1 i 2) w nerkach.

Niezależnie od powyższego podjęto badania nt. wpływu β -glukanów na aktywność enzymów antyoksydacyjnych GSH-zależnych. Badania (realizowane w Katedrze Biochemii, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego) dotyczą aktywności peroksydazy glutationowej (GSHPx) oraz reduktazy glutationowej (GSHR) w różnych narządach (mózg, serce, płuca, wątroba, nerki) szczurów doświadczalnych.

[9]. PODSUMOWANIE POZOSTAŁEGO DOROBKU NAUKOWEGO, DYDAKTYCZNEGO I ORGANIZACYJNEGO

Podsumowując swój dorobek naukowy, oświadczam, że byłem **kierownikiem i głównym wykonawcą** w 7 projektach badawczych (MNiSW, NCN, POKL) oraz **wykonawcą** w 1 projekcie finansowanym przez MRiRW. Podczas pracy naukowej odbyłem **2 staże w renomowanych zagranicznych ośrodkach naukowych** (Uniwersytet Stanforda i Uniwersytet Gallaudett), **1 krajowy** (Uniwersytet Rolniczy w Krakowie) oraz **2 naukowo-wdrożeniowe** w przedsiębiorstwach z województwa warmińsko-mazurskiego. Od 1 listopada jestem zatrudniony na stanowisku naukowym w INRA Agrocampus Ouest. Jestem **autorem** łącznie 34 publikacji (11 indeksowanych w bazie JCR). W 16 publikacjach jestem twórcą koncepcji pracy, głównym wykonawcą, redaktorem i autorem korespondencyjnym. Dodatkowo, jestem **współautorem 1 zgłoszenia patentowego**.

Osiem z 13 publikacji, w którym jestem pierwszym autorem, opublikowano w renomowanych czasopismach naukowych znajdujących się w pierwszym kwartyle międzynarodowej klasyfikacji czasopism w danej dziedzinie naukowej. **Rezultaty** moich badań **były prezentowane na konferencjach polskich i zagranicznych** (Nowa Zelandia, Anglia, Irlandia, Stany Zjednoczone Ameryki, Kanada, Czechy, Włochy i Francja). Regularnie pełnię funkcję **recenzenta w renomowanych, międzynarodowych, czasopismach naukowych**. Efektem mojej pracy jest wykonanie 15 recenzji manuskryptów publikacji dla 4 czasopism naukowych zamieszczonych na liście JCR oraz jednej monografii.

Moje zainteresowania naukowe rozwijam dzięki **aktywnej współpracy z otoczeniem naukowym** m.in. z: Teagasc Food Research Centre; Shriram Center for Bioengineering and Chemical Engineering, Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Morskim Instytutem Badawczym, Uniwersytetami Przyrodniczymi we Wrocławiu i w Poznaniu, czy też Instytutem Rozrodu i Badań Żywności Państwowej Akademii Nauk w Olsztynie.

Rozwój naukowy jest również wspierany dzięki **aktywnej współpracy z otoczeniem gospodarczym**, dla którego wykonałem m.in. 2 opinie o innowacyjności w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Warmińsko-Mazurskiego na lata 2014-2020.

Ponadto jestem **promotorem pomocniczym w otwartym przewodzie doktorskim** mgr inż. Katarzyny Ambroziak, pt: „Zastosowanie wysokociśnieniowej homogenizacji w kształtowaniu wybranych parametrów mlecznych napojów niefermentowanych na bazie maślanki”.

Moja działalność naukowa została dostrzeżona, efektem czego było otrzymanie **stypendium ministra dla wybitnych młodych naukowców, 5 nagród** oraz **3 wyróżnień**.

Z racji zajmowanego stanowiska w jednostce macierzystej, istotnym obszarem mojej działalności pozostaje **aktywność dydaktyczna**. Uczestniczę w realizacji przedmiotów z zakresu: Technologii Informacyjnej, szeroko pojętej Technologii mleczarskiej oraz Bezpieczeństwa zdrowotnego żywności i Kreatywnego myślenia. W czasie mojego zatrudnienia prowadziłem zajęcia dla studentów Wydziału Nauki o Żywności oraz Wydziału Bioinżynierii Zwierząt łącznie na 6 kierunkach studiów oraz na 1 kierunku zamawianym. **Opracowałem i prowadziłem wykłady** z 1 przedmiotu oraz **ćwiczenia** z 11 przedmiotów dla studentów różnych kierunków studiów. **Wypromowałem** 12 dyplomantów. Od 2015 pełnię **funkcję opiekuna studentów I^o i II^o** studiów stacjonarnych i niestacjonarnych kierunku Technologia Żywności i Żywnienie.

Moja **aktywność organizacyjna** związana jest przede wszystkim z **pracą społeczną na rzecz Wydziału**, jak również **Uczelni**. Byłem członkiem Rady Wydziału Nauki o Żywności,

Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz Członkiem Odwoławczej Komisji Stypendialnej.

Aktualnie jestem członkiem zespołu ds. promocji Wydziału, administratorem strony internetowej Wydziału Nauki o Żywności oraz Katedry Mleczarstwa i Zarządzania Jakością. Ponadto, jestem członkiem: Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (od 2012 pełnię funkcję Członka Zarządu Oddziału Olsztyn), Krajowego Stowarzyszenia Mleczarzy, Stowarzyszenia TOP500 Innovators oraz międzynarodowej grupy podejmującej tematykę trawienia oraz biodostępności składników odżywczych INFOGEST.

W przeszłości byłem członkiem komitetu organizacyjnego XVI Sesji Naukowej, Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ „Ewolucja żywności”, która odbyła się w Olsztynie oraz brałem aktywny udział w organizacji: międzynarodowego konkursu sensorycznego produktów mleczarskich, którego organizatorem jest Europejskie Stowarzyszenie Nauczycieli Mleczarstwa EUROPEL (European Association of Dairy Teachers), Festiwalu Serów i Twarogów Polskiego Mleczarstwa w Olsztynie, a także Olsztyńskich Dni Nauki i Sztuki.

[10]. WARTOŚĆ NAUKOWA DOROBKU PUBLIKACYJNEGO

Wartość naukowa dorobku publikacyjnego do dnia 26 października 2018 roku wynosi:

- Liczba cytowań według bazy Web of Science: **40**, Scopus: **60**; Google scholar: **150**
- Indeks Hirscha według bazy Web of Science: **4**; Scopus: **5**

Tabela 1 Liczbowe zestawienie dorobku naukowego

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji		Punkty MNiSW*	IF**
	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora		
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	1	10	335	21.102
Publikacje w czasopismach recenzowanych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	8	4	137	1.834
Rozdziały w monografiach				
Redakcja monografii		1		
Publikacje niepunktowane	12			
Komunikaty naukowe w j. angielskim	6	8		
Komunikaty naukowe w j. polskim	13	2		
Zgłoszenia patentowe		1		
Niepublikowane opinie, raporty i sprawozdania	8	8		
RAZEM	48	34	472	22.936
RAZEM	82			
Punkty MNiSW*	95	337		

* wg Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 9 grudnia 2016 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach

** Współczynnik Impakt Faktor (IF) zgodnie z rokiem opublikowania

