

AUTOREFERAT**1. Imię i Nazwisko****Joanna Berłowska****2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

2004 stopień **magistra inżyniera** w zakresie technologii fermentacji i mikrobiologii, specjalność: mikrobiologia techniczna, praca dyplomowa pt.:

„Identifizierung und Charakterisierung von Bifidobakterienisolate und ihrer prebiotischen Wachstumsstimulation“; / „Identyfikacja i charakterystyka izolatów bifidobakterii ze szczególnym uwzględnieniem stymulacji wzrostu przez oligosacharydy o charakterze prebiotycznym” wykonana w Department für Lebensmittelwissenschaften und Lebensmitteltechnologie an der Universität für Bodenkultur Wien

promotor pracy w Department für Lebensmittelwissenschaften und Lebensmitteltechnologie, Universität für Bodenkultur Wien: prof. Wolfgang Kneifel,

promotor pracy w Instytucie Technologii fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej: prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz,

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej,

2010 stopień **doktora nauk technicznych w zakresie biotechnologii**, rozprawa doktorska pt.: „Aktywność metaboliczna wybranych szczepów drożdży przemysłowych wolnych i unieruchomionych na nośnikach stałych”;

promotor pracy: Prof. dr hab. inż. Wojciech Ambroziak,

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej,

2013 dyplom ukończenia 2-semesteralnych studiów podyplomowych „Zarządzanie projektem badawczym i komercjalizacja wyników badań”,

Wydział Organizacji i Zarządzania Politechniki Łódzkiej,

2013 Certyfikat International Project Management Association Polska (IPMA Polska) nr 109/2013

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

od 03.01.2011 asystent w Zakładzie Technologii Fermentacji, Instytut Technologii
do 01.01.2012 Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka

od 02.01.2012 adiunkt w Zakładzie Technologii Fermentacji, Instytut Technologii
Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka

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 sztuk i (DDz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Cykl publikacji nt.:

BIOMASA WYSŁODKÓW BURACZANYCH JAKO SUROWIEC DO OTRZYMYWANIA WARTOŚCIOWYCH PRODUKTÓW BIOTECHNOLOGICZNYCH

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

H 1 Joanna Berłowska, Michał Binczarski, Piotr Dziugan, Agnieszka Wilkowska, Dorota Kregiel, Izabela Witońska; **Sugar beet pulp as a source of valuable biotechnological products**; chapter 13 in Advances in Biotechnology for Food Industry, Volume Fourteen in the Handbook of Food Bioengineering; 359-392, 2018, Elsevier, ISBN: 978-0-12-811443-8; **MNiSW** 2018 = **5***;

Praca przeglądowa, udział 50 %.

H 2 Joanna Berłowska, Weronika Cieciora-Włoch, Halina Kalinowska, Dorota Kregiel, Sebastian Borowski, Ewelina Pawlikowska, Michał Binczarski, Izabela Witońska; **Enzymatic conversion of sugar beet pulp: a comparison of simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation for lactic acid production**; Food Technology and Biotechnology; 2018, 56(2) – in press, doi: 10.17113/ftb.56.02.18.5390 ; **IF** 2017, 5-letni =**1.349**; **MNiSW** 2018 = **25***

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, prowadzenie procesów fermentacji mlekowej, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Weronika Cieciora-Włoch	Udział w oznaczaniu zawartości sacharydów w mediach pofermentacyjnych.	10 %
Halina Kalinowska	Hydroliza enzymatyczna biomasy wysłodków.	5 %
Dorota Kregiel	Udział w opracowaniu wyników.	5 %
Sebastian Borowski	Udział w oznaczeniu sacharydów w mediach pofermentacyjnych.	5 %
Ewelina Pawlikowska	Oznaczenia aktywności enzymów LAB.	5 %
Michał Binczarski	Udział w oznaczeniach zawartości kwasu mlekowego w mediach pofermentacyjnych.	5 %
Izabela Witońska	Udział w oznaczeniach zawartości kwasu mlekowego w mediach pofermentacyjnych.	5 %

- H 3** **Joanna Berłowska**, Katarzyna Pielech-Przybylska, Maria Balcerek, Weronika Cieciora, Sebastian Borowski, Dorota Kręgiel; **Integrated bioethanol fermentation/anaerobic digestion for valorization of sugar beet pulp**; Energies; 2017, 10 (9), 1255; 1-16, **IF** 2017, 5-letni = **2.707**; **MNiSW** 2017 = **25***;

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, oznaczenia profili wykorzystania sacharydów, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Katarzyna Pielech-Przybylska	Analiza produktów fermentacji alkoholowej, statystyczne opracowaniem danych.	10 %
Maria Balcerek	Prowadzenie procesów fermentacji alkoholowej.	10 %
Weronika Cieciora	Prowadzenie procesów fermentacji beztlenowej wywarów.	5 %
Sebastian Borowski	Przygotowaniu bilansu energetycznego procesu.	10 %
Dorota Kręgiel	Udział w opracowaniu wyników.	5 %

- H 4** **Joanna Berłowska**, Katarzyna Pielech-Przybylska, Maria Balcerek, Urszula Dziekońska-Kubczak, Piotr Patelski, Piotr Dziugan, Dorota Kręgiel; **Simultaneous saccharification and fermentation of sugar beet pulp for efficient bioethanol production**; BioMed Research International; 2016, 3154929; 1-10; **IF** 2016 = **2.134**; **IF** 2016, 5-letni = **2.149**; **MNiSW** 2016 = **25**;

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, opracowanie wyników, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu.	50 %
Katarzyna Pielech-Przybylska	Prowadzenie procesów fermentacji alkoholowej oraz oznaczeń zawartości etanolu.	15 %
Maria Balcerek	Przygotowanie biomasy i hydroliza biomasy oraz opracowanie wyników badań.	15 %
Urszula Dziekońska-Kubczak	Oznaczenia zawartości sacharydów w hydrolizatach oraz mediach pofermentacyjnych.	5 %
Piotr Patelski	Przygotowanie materiału biologicznego oraz charakterystyka chemiczna surowca.	5 %
Piotr Dziugan	Udział w oznaczeniach zawartości sacharydów w hydrolizatach oraz mediach pofermentacyjnych.	5 %
Dorota Kręgiel	Udział w prowadzeniu procesów fermentacji alkoholowej.	5 %

- H 5** **Joanna Berłowska**, Weronika Cieciera, Sebastian Borowski, Marta Magdalena Dudkiewicz, Michał Binczarski, Izabela Witońska, Anna Otlewska, Dorota Kręgiel; **Simultaneous saccharification and fermentation of sugar beet pulp with mixed bacterial cultures for lactic acid and propylene glycol production**; *Molecules*; 2016, 21 (10), 1380; 1-14; **IF** 2016 = **2.861**; **IF** 2016, 5-letni = **2.988**; **MNiSW** 2016 = **30**;

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, przeprowadzenie procesów jednoczesnej hydrolizy oraz fermentacji biomasy, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Weronika Cieciera	Udział w oznaczeniach zawartości sacharydów w mediach pofermentacyjnych.	5 %
Sebastian Borowski	Udział w oznaczeniach zawartości sacharydów w mediach pofermentacyjnych.	5 %
Marta Dudkiewicz	Uaktywnienie szczepów bakterii fermentacji mlekowej.	5 %
Michał Binczarski	Udział w wykonaniu eksperymentów związanych z reakcjami katalitycznymi.	10 %
Izabela Witońska	Udział w wykonaniu eksperymentów związanych z reakcjami katalitycznymi.	5 %
Anna Otlewska	Identyfikacja genetyczna wykorzystywanych drobnoustrojów.	5 %
Dorota Kręgiel	Udział w opracowaniu wyników.	5 %

- H 6** Michał Binczarski, **Joanna Berłowska**, Andrei Stanishevsky, Izabela Witońska; **Biologically synthesized crude calcium lactate as a substrate for propylene glycol production**; *RSC Advances*; 2016, 6 (95), 92420-92427; **IF** 2016 = **3.108**; **IF** 2016, 5-letni = **3.257**; **MNiSW** 2016 = **30**;

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, przeprowadzenie procesów jednoczesnej hydrolizy oraz fermentacji biomasy, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Michał Binczarski	Oznaczenia zawartości sacharydów oraz kwasu mlekowego w mediach pofermentacyjnych	20 %
Andrei Stanishevsky	Udział w opracowaniu wyników.	5 %
Izabela Witońska	Wykonanie eksperymentów związanych z reakcjami katalitycznymi.	15 %

- H 7** **Joanna Berłowska**, Marta Dudkiewicz-Kołodziejska, Ewelina Pawlikowska, Katarzyna Pielech-Przybylska, Maria Balcerek, Agata Czyżowska, Dorota Kręgiel; **Utilization of post-fermentation yeasts for yeast extract production by autolysis: the effect of yeast strain and saponin from *Quillaja saponaria***, Journal of Institute of Brewing; 2017, 123 (3), 396-401; **IF** 2017, 5-letni = **1.075**; **MNiSW** 2017 = **25***

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, oznaczanie zawartości białka w autolizatach, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Marta Dudkiewicz-Kołodziejska	Udział w prowadzeniu procesów autolizy drożdży.	5 %
Ewelina Pawlikowska	Udział w prowadzeniu procesów autolizy drożdży.	5 %
Katarzyna Pielech-Przybylska	Udział w oznaczeniu zawartości aminokwasów.	5 %
Maria Balcerek	Namnażanie biomasy komórek drożdży oraz prowadzenie procesów fermentacji alkoholowej.	5 %
Agata Czyżowska	Udział w oznaczeniu zawartości aminokwasów.	5 %
Dorota Kręgiel	Oznaczania wewnątrzkomórkowych profili aminokwasowych oraz udział w opracowaniu wyników.	15 %

- H 8** **Joanna Berłowska**, Marta Dudkiewicz, Dorota Kręgiel, Agata Czyżowska, Izabela Witońska; **Cell lysis induced by membrane-damaging detergent saponins from *Quillaja saponaria***; Enzyme and Microbial Technology; 2015, 75-76, 44-48; **IF** 2015 = **2.624**; **IF** 2015, 5-letni = **3.064**; **MNiSW** 2015 = **30**;

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, oznaczenia przepuszczalności komórek drożdży, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	55 %
Marta Dudkiewicz	Prowadzenie procesów autolizy komórek drożdży.	20 %
Dorota Kręgiel	Udział w opracowaniu wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu.	15 %
Agata Czyżowska	Oznaczenia zawartości aminokwasów.	5 %
Izabela Witońska	Oznaczenia zawartości polisacharydów.	5 %

- H 9** Dorota Kręgiel, **Joanna Berłowska**, Marta Dudkiewicz, Hubert Antolak, PL 226057 B1 **“Sposób otrzymywania ekstraktów z komórek drożdży”** data zgłoszenia: 15.12.2014; data udzielenia: 13.12.2016, o udzieleniu patentu ogłoszono: 30.06.2017; **MNiSW** 2016 = **25**

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Współautorstwo w koncepcji pracy, analiza zawartości białka w autolizatach, przygotowanie treści zgłoszenia oraz opracowanie wyników podanych w przykładach	35 %
Dorota Kręgiel	Współautorstwo w koncepcji pracy, przygotowanie treści zgłoszenia.	35 %
Marta Dudkiewicz	Prowadzenie procesów autolizy komórkowej	20 %
Hubert Antolak	Oznaczenia niskocząsteczkowych związków azotowych	10 %

- H10** **Joanna Berłowska**, Michał Binczarski, Marta Magdalena Dudkiewicz, Halina Kalinowska, Izabela Witońska, Andrei Stanishevsky; **A low-cost method for obtaining high-value bio-based propylene glycol from sugar beet pulp**; RSC Advances; 2015, 5(3), 2299-2304; **IF** 2015 = **3.289**; **IF** 2015, 5-letni = **3.485**; **MNiSW** 2015 = **35**

Autor	Indywidualny wkład	Udział
Joanna Berłowska	Koncepcja badań, opracowanie planu doświadczeń, przeprowadzenie procesów fermentacji mlekowej, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu. Autor korespondencyjny.	60 %
Michał Binczarski	Oznaczenia zawartości sacharydów w mediach pofermentacyjnych.	5 %
Marta M. Dudkiewicz	Analizę zawartości kwasu mlekowego w mediach pofermentacyjnych.	10 %
Halina Kalinowska	Hydrolizę enzymatyczną biomasy wyśrodków	5 %
Izabela Witońska	Wykonanie eksperymentów związanych z reakcjami katalitycznymi.	15 %
Andrei Stanishevsky	Udział w opracowaniu wyników.	5 %

Dane scjentometryczne publikacji wchodzących w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego:**Suma punktów IF *: 19.14****Suma punktów MNiSW **: 225**

* indeksy IF za lata 2017 i 2018 dla ww. czasopism nie zostały obliczone, w związku z tym do obliczeń wykorzystano 5-letni IF z roku 2016.

** lista czasopism punktowanych za rok 2017 i 2018 nie została opublikowana – przyjęto punktację z listy opublikowanej 26 stycznia 2017 za lata 2013-2016

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Zrównoważony rozwój, a w szczególności racjonalna gospodarka odpadami, stanowią jedno z wyzwań współczesnego przemysłu. Ważnym zadaniem jest takie pokierowanie produkcją wytwórczą, by zagwarantować wykorzystywanie surowców odnawialnych przy jednoczesnym zagospodarowaniu wszystkich półproduktów i produktów ubocznych. Wykorzystanie odpadów powstających na różnych etapach produkcji żywności pozwoliłoby na ekonomicznie opłacalną produkcję wielu cennych związków, rozwiązując jednocześnie problemy uciążliwości środowiskowej produkcji wytwórczej. Jedną z dróg zagospodarowania biomasy odpadowej jest wykorzystanie jej jako substratu w procesach fermentacyjnych.

W trakcie procesów produkcyjnych w przemyśle rolno-spożywczym, w tym cukrowniczym, powstaje wiele odpadów. Po przerobie 1 tony buraków pozostaje średnio 60-70 kg suchej masy wysłodków. Świeże wysłodki zawierają około 93-95% wody, co w połączeniu z ich składem chemicznym, stymulującym rozwój drobnoustrojów, czyni je materiałem wymagającym natychmiastowego zagospodarowania. Wysłodki zawierają resztki sacharozy (do 10% suchej masy), jednak większość (65-80 %) ich suchej masy stanowią polisacharydy, takie jak celuloza (22-40 % s.m.), hemicelulozy, z przewagą arabanu i galaktanu (24-32 %) i pektyna (24-32) [Finkenstadt, 2013]. Oprócz wymienionych związków wysłodki zawierają też ligninę (3-4 % s.m.) oraz związane estrowo kwasy ferulowy (0,8 % s.m.) i octowy (3,9 % s.m.). Ze względu na skład chemiczny, wysłodki są stosowane jako pasza lub komponent mieszanek paszowych, przerabiane na biogaz lub wykorzystywane jako adsorbent. Inne zagospodarowanie wysłodków jest dotychczas niewielkie [Özbaş i Özbaş, 2017].

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie czy wyśładki buraczane mogą stanowić surowiec do pozyskania podłoży fermentacyjnych oraz opracowanie pakietu powiązanych ze sobą technologii składających się na zintegrowany system procesów fermentacyjnych, biosyntezy oraz syntez cennych związków chemicznych oraz produktów biotechnologicznych: bioetanolu, biogazu, kwasu mlekowego, glikolu propylenowego oraz ekstraktu drożdżowego. Skojarzenie technologii zaprojektowano pod kątem minimalizacji ilości odpadów pochodzenia procesowego. Duży nacisk położono na integralność, wzajemne powiązania i komplementarność opracowywanych technologii.

Cele szczegółowe oraz zakres badań obejmowały:

- **dobór warunków enzymatycznej hydrolizy wyśładków w celu pozyskania podłoży fermentacyjnych;**
- **opracowanie warunków jednoczesnego scukrzania i fermentacji etanolowej biomasy wyśładków buraczanych;**
- **opracowanie warunków jednoczesnego scukrzania i fermentacji mlekowej biomasy wyśładków buraczanych;**
- **wykazanie czy możliwe jest zagospodarowanie niezhydrolizowanej (stałej) pozostałości wyśładków buraczanych w procesach beztlenowej biosyntezy metanu;**
- **wykazanie czy możliwe jest wykorzystanie wywaru, pozyskiwanego po fermentacji etanolowej hydrolizatów wyśładków buraczanych, w procesach beztlenowej biosyntezy metanu i wodoru;**
- **dobór warunków katalitycznej redukcji pozyskanego na drodze fermentacyjnej kwasu mlekowego do glikolu propylenowego;**
- **opracowanie warunków otrzymywania lizatów z biomasy drożdży pofermentacyjnych;**
- **sprzężenie opracowanych rozwiązań – stworzenie kompleksowego modelu zagospodarowania biomasy wyśładków buraczanych spełniającego kryteria stawiane technologiom bezodpadowym (z ang. „zero waste”) wpisującymi się w obszar zielonej chemii (z ang. „green chemistry”).**

Biomasa wyśodków cukrowniczych jako surowiec do wytwarzania podłoży fermentacyjnych

Konwersja biomasy do form fermentowalnych może odbywać się metodami fizycznymi, chemicznymi i biochemicznymi. Sposób przetwarzania biomasy powinien być dostosowany do jej cech indywidualnych. Taki, nowoczesny sposób podejścia zapewniają BIORAFINERIE. Biorafinerie są koncepcją zakładów bezodpadowych, w których surowiec roślinny jest poddawany ekstrakcji, hydrolizie i konwersji do szeregu wartościowych produktów (żywność, pasza, związki chemiczne) i energii (paliwa, energia elektryczna, ciepło) [Moncada *et al.*, 2016]. Przeglądu metod obróbki wstępnej, technik scukrzania oraz kierunków zagospodarowania biomasy wyśodków buraczanych dokonałam w publikacji **H1: Berłowska J., Binczarski M., Dziugan P., Wilkowska A., Kregiel D., Witońska I.; Sugar Beet Pulp as a Source of Valuable Biotechnological Products; chapter 13 in Advances in Biotechnology for Food Industry, Volume Fourteen in the Handbook of Food Bioengineering; 359-392, 2018, Elsevier, ISBN: 978-0-12-811443-8**. W publikacji tej zaprezentowano również przesłanki do opracowania sposobu wykorzystania biomasy wyśodków buraka cukrowego jako substratu do procesów biologiczno-chemicznych oraz uzasadniono decyzję o podjęciu działań zmierzających do optymalizacji produkcji enzymatycznych hydrolizatów przydatnych jako surowiec do zintegrowanych procesów biokonwersji i biosyntezy. Opracowanie to posłużyło m.in. do przygotowania założeń projektowych oraz treści wniosku "**Biomasa wyśodków cukrowniczych jako nowy surowiec do wytwarzania podłoży fermentacyjnych**" złożonego w NCBiR w marcu 2012. Wniosek uzyskał dofinansowanie. **Projekt, którego byłam kierownikiem** realizowano w ramach Programu Badań Stosowanych od 2012.10.01 do 2016.03.31, raport końcowy został pozytywnie oceniony, a Umowę nr PBS1/B8/3/2012 uznano w dn. 27.07.2016 r za wykonaną w całości.

Realizację badań rozpoczęto od doboru komercyjnych preparatów enzymatycznych, zapewniających wysoki stopień scukrzania wyśodków buraczanych, a także doboru warunków obróbki wstępnej i enzymatycznej hydrolizy biomasy. Jako surowce do otrzymywania hydrolizatów stosowano świeże wyśodki o 19-21% zawartości suchej masy. Zaletą wyśodków jako surowca do otrzymywania hydrolizatów jest wysoki stopień rozdrobnienia oraz niska (2-3%) zawartość ligniny, która jest polimerem utrudniającym dostęp enzymów do łańcuchów celulozy

i innych polisacharydów. Z tego względu, materiał ten nie wymaga skomplikowanej obróbki chemicznej związanej z delignifikacją. Efektywności hydrolizy sprzyja natomiast rozluźnienie struktury osiągnięte poprzez parowanie lub zawieszenie biomasy we wrzącej wodzie. Łagodne warunki obróbki wstępnej przekładają się na niską zawartość inhibitorów fermentacji (takich jak furfural, 5-hydroksymetylofurfural i kwasy fenolowe) w hydrolizatach wysłodków.

Hydrolizę enzymatyczną prowadzono w stałej temperaturze (50⁰C) w czasie 20-48 godzin, po czym z hydrolizatów separowano stałą pozostałość. Ilość nierozpuszczalnej pozostałości po hydrolizie oznaczano metodą wagową, po wysuszeniu do stałej masy w temperaturze 105⁰C. We frakcji płynnej oznaczano stężenie uwolnionych monomerów cukrowych (glukozy, fruktozy, mannozy, galaktozy, arabinozy, ksylozy). W celu wyboru najefektywniejszego preparatu enzymatycznego, lub ich mieszaniny, porównano pięć komercyjnych preparatów wieloenzymowych (o aktywnościach celulolitycznej, ksylanolitycznej oraz pektynolitycznej), firmy Novozymes, takich jak Viscozyme, Ultraflo Max, Cellulosoft, NS-22086 i NS-22119. Wszystkie ze stosowanych preparatów wykazują aktywność enzymów rozkładających substancje zawarte w wysłodkach, czyli pektynę, celulozę, hemicelulozy i sacharozę. Najwyższy stopień scukrzenia uzyskano stosując mieszaninę dwu preparatów: Viscozyme i Ultraflo Max (1:1). Wysoka aktywność enzymów rozkładających pektynę (220 U/ml) oraz aktywność celulaz (20 U/mL) i ksylanaz (80 U/mL) oznaczona w mieszaninie tych preparatów pozwala na efektywne scukrzenie badanej biomasy. Dawki 0,2 mL tej mieszaniny na g s.m. pozwalały osiągać nawet 90% upłynnienie wysłodków. Wyniki badań związanych z doбором preparatu enzymatycznego oraz efektywności prowadzonych procesów hydrolizy przedstawiłam w publikacji **H2: Berłowska J., Cieciora W., Kalinowska H., Kregiel D., Borowski S., Pawlikowska E., Binczarski M., Witonska I.; Enzymatic conversion of sugar beet pulp: a comparison of simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation for lactic acid production; Food Technology and Biotechnology; 56(2), 2018 (IF₂₀₁₇, 5-letni =1.349; MNiSW₂₀₁₈ = 25*)**.

Ponieważ koszt preparatów enzymatycznych jest jednym z kluczowych czynników decydujących o ogólnych kosztach procesu hydrolizy, określono minimalną dawkę mieszaniny Viscozyme i Ultraflo Max, pozwalającą uzyskać co najmniej 80% upłynnienie biomasy. Efekt ten

uzyskano stosując po 0,03 mL każdego z preparatów/ g s.m. wyśtoków uzyskując wydajności 27% cukrów redukujących oraz 14% glukozy w przeliczeniu na suchą masę. Zmniejszenie dawki do 0,017 mL każdego z preparatów na 1 g suchej biomasy obniżało ogólną wydajność cukrów redukujących o około 50%, a także zwiększało ilość nierozpuszczalnej pozostałości po hydrolizie z około 15% do blisko 32% s.m. Dalsze obniżanie dawki enzymów powodowało, że uzysk cukrów redukujących był poniżej 10% s.m. Zatem jako najkorzystniejsze dla efektywności hydrolizy i uzasadnione ekonomicznie uznano dawki (w przeliczeniu na gram suchej masy wyśtoków) po 0,03 mL obydwu preparatów (Viscozyme i Ultraflo Max).

Niezależnie od stosunku enzym: substrat, najszybsze tempo hydrolizy (przyrost stężenia glukozy i pozostałych cukrów redukujących) było obserwowane w ciągu pierwszych 8 godzin procesu, natomiast w kolejnych godzinach tempo to było znacznie niższe, co mogło być spowodowane inhibicją enzymów przez produkty hydrolizy (mono- i disacharydy).

O przydatności enzymatycznych hydrolizatów wyśtoków do celów fermentacyjnych decyduje nie tylko ogólne stężenie cukrów redukujących, ale także ich profil. Zawartość glukozy oraz innych monosacharydów oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Waters 600S wyposażony w autosampler Waters 717 oraz detektor Light Scattering firmy Gilson, PrepELS II). Jako fazę stacjonarną zastosowano kolumnę Rezex™ z pochodnymi sulfonowanego kopolimeru styren-diwinylbenzen i Ca^{2+} w wypełnieniu. Zawartość zidentyfikowanych chromatograficznie sacharydów zweryfikowano spektrofotometrycznie z wykorzystaniem 96 – dołkowych płytek mikrotitracyjnych w aparacie Multiskan GO oraz testów enzymatycznych firmy Irlandia: test GOD-POD (glukoza) i Megazyme: K – MANGL 04/13 (glukoza, fruktoza, mannoza), K – ARG 06/12 (arabinoza, galaktoza), K – URONIC 11/12 (kwas galakturonowy), K – XYLOSE 11/12 (ksyloza), K – RAFGA (rafinoza), K – RHAM 11/12 (ramnoza). Wyniki ilościowego oznaczenia zawartości glukozy uzyskane przy użyciu obydwu metod były zgodne. Przeprowadzone analizy wskazały, że glukoza oraz galaktoza stanowiły główne produkty procesu, a ich stężenia wynosiły odpowiednio: 12-18 g/L oraz 7-18 g/L. Zawartości poszczególnych sacharydów wahały się dość znacznie z uwagi na zmienność surowca. Oprócz cukrów, w hydrolizatach wyśtoków stwierdzono również obecność większości aminokwasów

białkowych (w stężeniu rzędu kilku $\mu\text{g/mL}$), a także niewielkie pozostałości pektyny (około 2-3% w/v).

Ważnym elementem zaplanowanych przeze mnie prac było przeniesienie hydrolizy enzymatycznej z warunków laboratoryjnych (5 L) do skali ćwierć-technicznej. Do tego celu dostosowano mieszalnik wykonany ze stali kwasoodpornej o pojemność efektywnej $V = 3 \text{ m}^3$ i pojemności roboczej $V_{\text{rob}} = 2,4 \text{ m}^3$. Zbiornik wyposażony był w płaszcz grzejny, mieszadło z silnikiem elektrycznym o mocy $P_N = 1,5 \text{ kW}$. W cukrowni w Dobrzelinie (KSC S.A.) przeprowadzono 12 cykli hydrolizy, które pozwoliły uzyskać w warunkach przemysłowych hydrolizaty przydatne do celów fermentacyjnych. Wstępne próby przeniesienia skali procesu hydrolizy wskazały na konieczność modyfikacji proporcji masy wyśłodków oraz wody z uwagi na dużą powierzchnię parowania w skali ćwierćtechnicznej. Dla wybranych procesów prowadzono również mechaniczne rozdrabnianie hydrolizowanej biomasy surowca po jego wstępnym upłynnieniu (4-6 godzina procesu). W tym celu na okres 60 min uruchamiano pompę pracującą w obiegu zamkniętym. Umożliwiło to zmianę struktury biomasy z włóknistej na mułowatą, ale wiązało się z utrudnieniami w separowaniu stałej pozostałości. Zwiększenie skali procesu spowodowało nieznaczne zmiany z profilach uwalnianych sacharydów. **Uzyskane hydrolizaty wyśłodków buraczanych, wykorzystano w procesach fermentacyjnych, w celu wykazania ich przydatności do produkcji bioetanolu, biomasy drożdżowej i kwasu mlekowego.**

Fermentacja mlekowa i etanolowa hydrolizatu wyśłodków buraczanych

Proces fermentacji etanolowej hydrolizatów prowadzono z udziałem drożdży Thermosacc® Dry oraz Ethanol Red (*Saccharomyces cerevisiae*) (Fermentis – Lesaffre, Francja), w dawkach od 0,5 do 1,0 g s.m./L medium. Jako odżywkę dla drożdży stosowano $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ w ilości 0,2 g/L medium lub $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ i MgSO_4 po 0,2 g/L medium. Badania kinetyki fermentacji wykazały szybkie tempo fermentowania cukrów (głównie heksoz – glukozy, galaktozy, mannozy, fruktozy) do etanolu, czego konsekwencją było zakończenie fermentacji po ok. 2 dobach. Z uwagi na fakt, iż badane hydrolizaty zawierały oprócz heksoz również pentozy (ksyloza, arabinoza), za zasadne uznano przeprowadzenie dalszych badań z udziałem drożdży

zdolnych do fermentacji pentoz *Scheffersomyces stipitis*, *Ogataea angusta* (syn. *Pichia angusta*), *Pachysolen tannophilus*. Spośród testowanych kultur mieszanych, najbardziej dynamiczny przebieg oraz najwyższą wydajność fermentacji podłoży z hydrolizatów wysłodków buraczanych odnotowano dla drożdży Ethanol Red i *Scheffersomyces stipitis* (1:1), w ilości 1,5 g s.m./L. Za najkorzystniejsze z punktu widzenia efektywności fermentacji etanolowej uznano szczepienie sekwencyjne - rozpoczynanie fermentacji z udziałem drożdży Ethanol Red (1 g/L) oraz doszczepienie po 1,5-2 dobach drożdżami *Scheffersomyces stipitis* (0,5 g/L). Wydajność etanolu w tym przypadku liczona w stosunku do cukrów wykorzystanych w procesie fermentacji hydrolizatu z wysłodków wynosiła od 85,83% do 92,40% wydajności teoretycznej, a stopień odfermentowania kształtował się na poziomie 63 – 66%, co wskazywało, że ok. 1/3 substancji redukujących, w tym cukrów, nie zostało wykorzystane. W toku badań wykazano również możliwość zastosowania drożdży *Kluyvermyces marxianus* do intensyfikacji fermentacji heksoz, poprzez dodatek inokulum tych drożdży w odstępie 24 godzin od zaszczepienia drożdżami Ethanol-Red. W tym przypadku stężenie etanolu było wyższe, w porównaniu z próbą zaszczepioną jednocześnie ww. szczepami na początku fermentacji, o ponad 38%. Najwyższą wydajność etanolu, w stosunku do cukrów ogółem przed fermentacją, otrzymano dla wariantu, gdzie podłoże zaszczepiono drożdżami *S. cerevisiae* i doszczepiono po 24 godzinach szczepem *K. marxianus* (51,8% wydajności teoretycznej). Rezultaty prezentowanych eksperymentów szczegółowo opisałam w publikacji **H3: Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Cieciora W., Borowski S., Kręgiel D.; Integrated bioethanol fermentation/anaerobic digestion for valorization of sugar beet pulp; Energies; 2017, 10 (9), 1255, 1-16 (IF_{2017, 5-letni} = 2.707; MNiSW₂₀₁₇ = 25*)**.

Przemysłowa produkcja kwasu mlekowego odbywa się najczęściej przy użyciu szczepów bakterii fermentacji mlekowej (LAB) z rodzaju *Lactobacillus* dobieranych zależnie od surowców wyjściowych, stosowanych temperatur i reżimów technologicznych. Substratami produkcyjnymi są przeważnie surowce bogate w sacharydy takie jak: melasa, roztwory sacharozy, serwatka, ługi posiarzynowe itp. [Abdel-Rahman *et al.*, 2011]. Produkty te wzbogaca się dodatkiem kiełków słodowych lub ekstraktów z drożdży.

Pierwszym etapem prowadzonych przeze mnie badań związanych z fermentacją mlekową, była selekcja szczepów zdolnych do wzrostu w hydrolizatach z wyśodków buraczanych. Przetestowanych zostało ponad dwadzieścia szczepów bakterii fermentacji mlekowej wyizolowanych ze środowiska hydrolizatu wyśodków buraczanych oraz biomasy kiszonki trawy. Wyselekcjonowane izolaty środowiskowe zostały zidentyfikowane metodami molekularnymi na podstawie sekwencjonowania genu 16S rRNA. Sekwencje nukleotydowe genu 16S rRNA zostały zdeponowane w bazie danych NCBI GenBank pod numerami dostępowymi: KT751284 (*Lactobacillus plantarum* AXD), KT751285 (*Lactobacillus plantarum* AX-G), KT751286 (*Lactobacillus plantarum* HII), KT751287 (*Lactobacillus plantarum* R). Badania prowadzono także z wykorzystaniem dziewięciu szczepów kolekcyjnych (z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów oraz American Type Culture Collection): *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* PCM 490, *Lactobacillus acidophilus* PCM 2510, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* PCM 2611, *Lactobacillus gasseri* PCM 2500, *Lactococcus lactis* PCM 2379, *Lactococcus lactis* PCM 476, *Lactobacillus brevis* PCM 488, *Lactobacillus casei* PCM 2639, *Lactobacillus plantarum* PCM 2675, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014.

Analiza zawartości związków azotowych w otrzymywanych hydrolizatach wyśodków buraczanych wskazała niewielkie ich stężenia. Suplementacja składnikami bogatymi w te związki, szczególnie ekstraktem drożdżowym, w znaczącym stopniu poprawiała efektywność prowadzonych procesów fermentacji. Dodatek substancji mineralnych do testowanego podłoża podnosił wydajność biosyntezy kwasu mlekowego o kolejne 8-10%. Duże znaczenie dla efektywności procesu miała również eliminacja zjawiska inhibicji produktowej poprzez dodatek CaCO₃. Produktywność jonów mleczanowych na podłożu suplementowanym ekstraktem drożdżowym wynosiła od 11,9 do 14,1 g/L zależnie od szczepu (średnio 13,2 g/L), natomiast w podłożu z dodatkiem wszystkich niecukrowych składników (peptonu, ekstraktu wołowego, ekstraktu drożdżowego, octanu sodu, cytrynianu amonu, siarczanu magnezu, siarczanu manganu, wodorofosforanu dipotasu) podłoża De Man Rogosa Sharpe (zalecanego do hodowli LAB) wartość ta była zaledwie o 1-2 g wyższa i wynosiła od 12,9 do 18,3 g/L (średnio 15 g/L). Analiza składu mediów pofermentacyjnych wskazywała jednak na brak wykorzystania przez bakterie ksylozy, arabinozy i galaktozy. Wyniki powyżej omawianych badań zaprezentowałam

w publikacji H2: **Berłowska J., Cieciora W., Kalinowska H., Kregiel D., Borowski S., Pawlikowska E., Binczarski M., Witonska I.; Enzymatic conversion of sugar beet pulp: a comparison of simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation for lactic acid production; Food Technology and Biotechnology; 56(2), 2018 (IF_{2017, 5-letni} =1.349; MNiSW₂₀₁₈ = 25*)**.

Selekcja szczepów przydatnych do fermentacji hydrolizatu z wysłodków buraczanych, charakteryzujących się szerokim profilem wykorzystania sacharydów w testowanym medium, prowadzona była zatem ze szczególnym uwzględnieniem uzdolnień bakterii do metabolizowania tych sacharydów. Testy asymilacyjne i fermentacyjne prowadzone były w pożywkach modelowych, gdzie badane sacharydy stanowiły jedyne źródło węgla oraz w hydrolizacie z wysłodków o wystandardyzowanych stężeniach sacharydów. W toku tych badań wytypowano 5 szczepów, w tym dwa izolaty własne: *Lactobacillus plantarum* AXD, *Lactobacillus plantarum* AXG, i 3 szczepy kolekcyjne: *Lactobacillus brevis* PCM 488, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus plantarum* PCM 2675, efektywnie metabolizujących galaktozę oraz arabinozę, o dużym potencjale do wykorzystania w dalszych etapach badawczych.

Procesy jednoczesnego scukrzania i fermentacji alkoholowej biomasy wysłodków buraczanych

Zwiększenie końcowego stopnia scukrzania wysłodków na drodze procesu dwustopniowej hydrolizy, w której nierozpuszczalna pozostałość po pierwszym etapie była poddawana kolejnemu procesowi scukrzania w tych samych warunkach (przy dawkach preparatów enzymatycznych 0,03 mL/g s.m), pozwoliły podnieść efektywność hydrolizy do 85%. Wydłużenie czasu hydrolizy nie dało zadowalających wyników. Inhibicja enzymów rozkładających celulozę i inne polisacharydy przez uwalniane cukry stanowi jeden z głównych, opisywanych w literaturze problemów, napotykanych podczas biokonwersji surowców ligninocelulozowych [Wang *et al.*, 2015]. Rozwiązaniem umożliwiającym zwiększenie stopnia biokonwersji może być prowadzenie jednoczesnych procesów scukrzania i fermentacji (SSF – Simultaneous Saccharification and Fermentation), tak by uwalniane przez enzymy monosacharydy były metabolizowane przez drobnoustroje. Z tego właśnie powodu

przeprowadziłam optymalizację procesów równoczesnej hydrolizy biomasy wysłodków buraczanych oraz fermentacji etanolowej. W tych warunkach uzyskałam lepszy stopień wykorzystania sacharydów wysłodków buraczanych przy stosunkowo niskich dawkach enzymów, co zaprezentowałam w publikacji **H2: Berłowska J., Cieciora W., Kalinowska H., Kregiel D., Borowski S., Pawlikowska E., Binczarski M., Witonska I.; Enzymatic conversion of sugar beet pulp: a comparison of simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation for lactic acid production; Food Technology and Biotechnology; 56(2), 2018 (IF_{2017, 5-letni} = 1.349; MNiSW₂₀₁₈ = 25*)**. Wyniki badań nad możliwością jednoczesnego scukrzania wysłodków fermentacji etanolowej przedstawiłam w publikacji **H4: Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Dziekońska-Kubczak U., Patelski P., Dziugan P., Kręgiel D.; Simultaneous saccharification and fermentation of sugar beet pulp for efficient bioethanol production; BioMed Research International; 2016, 3154929 (IF₂₀₁₆ = 2.134; IF_{2016, 5-letni} = 2.149; MNiSW₂₀₁₆ = 25)**.

W procesie fermentacji etanolowej typu SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation), uzysk etanolu ze 100 kg wysłodków świeżych (o zawartości s. masy 23%) był niski i wynosił maksymalnie ok. 3,8 l alkoholu 100% v/v. Zasadnym było zatem dążenie do poprawy efektywności wykorzystania surowca poprzez zastosowanie rozwiązań typu SSF (Simultaneous saccharification and fermentation). Takie postępowanie technologiczne ogranicza czas przeznaczony na hydrolizę polisacharydów obecnych w wysłodkach i w efekcie skraca całkowity czas procesu - od przygotowania surowca wyjściowego do uzyskania produktu finalnego. W badaniach zastosowano dawki enzymów litycznych od 0,01 do 0,07 mL/g s.m. podłoża składającego się z wysłodków i wody (medium o zawartości ok. 12% s.m.). Biomasa wysłodków buraczanych zawieszano w wodzie lub w 2% (w/w) roztworze kwasu siarkowego oraz poddawano autoklawowaniu, bądź działaniu ultradźwięków. Podobnie jak w eksperymentach typu SHF, proces inicjowany był z udziałem drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*, następnie po pierwszej dobie, podłoża zaszczepiano drożdżami *Scheffersomyces stipitis*. Uzyskane wyniki zaprezentowałam w artykule **H7: Berłowska J., Dudkiewicz-Kołodziejska M., Pawlikowska E., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Czyżowska A., Kręgiel D.; Utilization of post-fermentation yeasts for yeast extract production by autolysis: the effect of yeast**

strain and saponin from *Quillaja saponaria*, Journal of Institute of Brewing; 2017, 123 (3), 396-401 (IF_{2017, 5-letni} = 1.075; MNiSW₂₀₁₇ = 25*).

Wykazano, że 30 min. oddziaływanie podwyższonej temperatury na biomasę wysłodków zawieszonych w 2% roztworze kwasu siarkowego spowodowało znaczącą poprawę efektywności hydrolizy enzymatycznej (dawki enzymów po 0,02 ml/g s.m.), przy czym 6-godzinna hydroliza wstępna (preinkubacja) powodowała zmianę własności reologicznych medium, a po zakończeniu fermentacji stopień wykorzystania glukozy wynosił około 93%, zaś ksyloza była wykorzystana w ok. 76%, a ubytek arabinozy i ramnozy, wynosił od 3 do 5%. Stężenie etanolu po 72 godzinach fermentacji, w próbie kontrolnej (bez preinkubacji) wynosiło 14,3±0,6 g/L, podczas gdy przy zastosowaniu 6-godzinnej wstępnej hydrolizy wartość ta wzrastała do 16,7±0,5 g/L. Wydłużanie czasu wstępnej obróbki enzymatycznej, przed wprowadzeniem drożdży, nie powodowało jednak dalszej poprawy efektywności fermentacji. Natomiast poprzedzenie obróbki enzymatycznej biomasy, wstępną obróbką ciśnieniowo-termiczną w 2% (w/w) roztworze H₂SO₄ (30 min), znalazło odzwierciedlenie w wykorzystaniu heksoz (glukoza, fruktoza, galaktoza) na poziomie 90,3±5,2%, ksylozy na poziomie 87,2±3,9%. Stężenie etanolu było bardzo wysokie i osiągnęło wartość 26,9±1,2 g/L, zaś wydajność fermentacji liczona na podstawie wzoru $WF = (E/C_f \times 0,51) \times 100\%$ (w którym E - stężenie etanolu w podłożu fermentacyjnym, C_f – sumaryczne stężenie cukrów podlegających fermentacji, tj. glukozy, fruktozy, galaktozy i ksylozy), osiągnęła poziom 86,5±2,1% wydajności teoretycznej. Wykazano ponadto możliwość uzyskania zbliżonych wyników fermentacji przy zastosowaniu dwukrotnie niższych dawek enzymów (po 0,015 mL/g s.m.) z zastosowaniem 6-godzinnej hydrolizy wstępnej.

Wykazano również, że w celu zwiększenia wartości odżywczej podłoża fermentacyjnego, można stosować dodatek brzezki melasowej (10-12°B_{lg}) w ilości 10-15% v/v. Wprowadzone z melasą sole mineralne wpływały stymulująco na aktywność fermentacyjną drożdży, co pozwoliło uzyskać wzrost stopnia odfermentowania z jednoczesnym skróceniem czasu prowadzenia procesu do ok. 55 godzin. **Na podstawie uzyskanych wyników oszacowano, iż ze 100 kg wysłodków buraczanych można uzyskać 6,8±0,3 kg etanolu (8,6±0,4 L).** Uzyskane wyniki poddano weryfikacji w skali ćwierćtechnicznej w minigorzelni będącej na wyposażeniu Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ. Jako substrat do procesu fermentacji

stosowano podłoże przygotowane z wysłodków zawieszonych w 2% (w/w) kwasie siarkowym, poddane kolejno obróbce ciśnieniowo-termicznej oraz hydrolizie enzymatycznej preparatami Viscozyme oraz Ultraflo Max, w dawkach po 0,015 mL/g s.m., z zastosowaniem 6-godzinnej prehydrolizy. Destylacja spirytusu przeprowadzona została z wykorzystaniem instalacji destylacyjnej dwukolumnowej. Analizy odfermentowanego medium potwierdziły obserwacje odnotowane dla eksperymentów prowadzonych w skali laboratoryjnej. Uzyskany destylat odznaczał się zgodną z wymaganiami Polskiej Normy PN-A79523:2002 „Destylat rolniczy” zawartością alkoholu (mocą) na poziomie 90% v/v oraz stężeniem aldehydów nie przekraczającym 0,3 g/L alkoholu 100% v/v. **Wydajności te można uznać za zadawalające w świetle założeń, przewidujących wykorzystanie nadwyżki wysłodków w pracującym przy cukrowni zakładzie produkcji etanolu, wykorzystującym głównie melas i soki cukrowicze.**

Podsumowując można stwierdzić, iż otrzymywanie etanolu w procesie jednoczesnego scukrzania i fermentacji biomasy wysłodków buraczanych, przy zastosowaniu ustalonych parametrów prowadzenia procesu oraz odpowiednich ras drożdży zdolnych do fermentacji uwalnianych substratów cukrowych, może być efektywnym sposobem zagospodarowania tych odpadów.

Jednoczesna hydroliza biomasy lignocelulozowej i fermentacja etanolowa uwalnianych cukrów sprzyja również w wielu przypadkach minimalizowaniu efektu represji katabolicznej, kiedy poprzez obecność glukozy hamowane są procesy wykorzystania pozostałych źródeł węgla. Efektywnym rozwiązaniem pozwalającym unikać tego zjawiska jest również zastosowanie kultur mieszanych o różnych profilach asymilacyjnych. Fakt ten potwierdziły eksperymenty przeprowadzone z udziałem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* oraz *Scheffersomyces stipitis*. Wyniki tych badań zaprezentowano w publikacji **H3: Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Cieciora W., Borowski S., Kręgiel D.; Integrated bioethanol fermentation/anaerobic digestion for valorization of sugar beet pulp; Energies; 2017, 10 (9), 1255, 1-16 (IF_{2017, 5-letni} = 2.707; MNiSW₂₀₁₇ = 25*)**.

Procesy jednoczesnego scukrzania i fermentacji mlekowej biomasy wyśtoków buraczanych

Podobne rozwiązanie zastosowano w przypadku fermentacji mlekowej. Na podstawie profili wykorzystania sacharydów wytypowano pary szczepów LAB z rodzajów *Lactobacillus* oraz *Lactococcus* przydatne w procesach fermentacyjnych, stosując system inokulacji sekwencyjnej. W pierwszym etapie hydrolizat szczepiono mikroorganizmem wykorzystującym głównie heksozy (*Lactococcus lactis* PCM 2379, *Lactobacillus acidophilus* PCM 2510, *Lactobacillus plantarum* HII, *Lactobacillus delbrueckii* PCM 490, *Lactobacillus plantarum* R). W drugim etapie do środowiska wprowadzano szczep zdolny do fermentacji pentoz (*Lactobacillus plantarum* AXD, *Lactobacillus plantarum* AXG, *Lactobacillus brevis* PCM 488, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 lub *Lactobacillus plantarum* PCM 2675). Rozwiązanie to pozwoliło na uzyskanie lepszego stopnia odfermentowania uwolnionych podczas hydrolizy cukrów.

Wykazano również wpływ początkowego stężenia sacharydów na efektywność procesu fermentacji mlekowej. Zależnie od czasu pre-hydrolizy wyśtoków (4, 10 oraz 16 godzin) obserwowano różny stopień uwolnienia glukozy (od 18 do 29 g/L), arabinozy (od 1,5 do 3,5 g/L), galaktozy (od 2,2 do 5,2 g/L) oraz rafinozy (od 2,5 do 16,2 g/L), do środowiska hydrolizatu. We wszystkich wariantach uwolniona podczas obróbki wstępnej glukoza i fruktoza były wykorzystywane przez monokultury bakterii fermentacji mlekowej w pierwszym etapie procesu. Równolegle obserwowano gromadzenie się w medium galaktozy i arabinozy. Wydajność biosyntezy kwasu mlekowego różniła się nieznacznie, przy czym najlepsze rezultaty odnotowano w przypadku procesów prowadzonych po 10-godzinnej hydrolizie wstępnej wyśtoków. Największy stopień odfermentowania niewykorzystanych w pierwszym etapie sacharydów uzyskano po wprowadzeniu drugiego (komplementarnego) szczepu bakteryjnego. Wydajność procesu hydrolizy monitorowano mierząc ilość upłynnionego hydrolizatu, a uwzględniając te wartości oraz stężenia jonów mleczanowych wyznaczono wydajności fermentacji w przeliczeniu na suchą masę zastosowanego substratu. Wartości te mieściły się w przedziale 0,39 – 0,55 g/g surowca, co stanowi poziom raportowany również w innych badaniach. Wydajności kwasu mlekowego syntezowanego z różnego typu biomasy lignocelulozowej (m.in. słomy kukurydzianej, słomy pszennej, otrąb ryżowych, otrąb pszennych, wyśtoków jabłkowych czy

wyłoków pomidorowych) mieszczą się zwykle w granicach od 0,28 do 0,99 g kwasu mlekowego/g substratu [Cui *et al.*, 2011; Nguyen *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015;].

Wyniki moich badań przedstawiłam w publikacji **H5: Berłowska J., Cieciora W., Borowski S., Dudkiewicz M.M., Binczarski M., Witońska I., Otlewska A., Kręgiel D.; Simultaneous saccharification and fermentation of sugar beet pulp with mixed bacterial cultures for lactic acid and propylene glycol production; *Molecules*; 2016, 21 (10), 1380 (IF₂₀₁₆ = 2.861; IF_{2016, 5-letni} = 2.988; MNiSW₂₀₁₆ = 30).**

Dla procesów jednoczesnego scukrzania oraz fermentacji mlekowej (SSF) biomasy wyłoków buraczanych określono minimalną dawkę stosowanych enzymów umożliwiającą prowadzenie procesu. Najwyższą efektywność biosyntezy kwasu mlekowego uzyskano przy zastosowaniu dawek 0,03 i 0,017 mL enzymu/g s.m. wyłoków i charakteryzowały się nią procesy prowadzone z udziałem szczepów: *Lactobacillus plantarum* H11 i *Lactobacillus brevis* 488 oraz *Lactobacillus delbrueckii* 490 i *Lactobacillus plantarum* 8014. Przy zastosowaniu szczepów *Lactobacillus plantarum* H11 i *Lactobacillus brevis* 488, jako kultury mieszanej, ostatecznie uzyskano wydajność kwasu mlekowego na poziomie ok. 39 g/L. W przypadku *Lactobacillus delbrueckii* 490 i *Lactobacillus plantarum* 8014 wartość ta była porównywalna i wyniosła 37,60 g/L, jednakże uzyskano ją przy zastosowaniu wyższej dawki (0,03 mL/g s.m.) preparatów enzymatycznych. Nie zawsze jednak większa dawka enzymu, a co za tym idzie zwiększenie puli łatwo dostępnych cukrów, powodowała zwiększenie efektywności syntezy kwasu mlekowego. Dla monokultur szczepów *Lactobacillus plantarum* R, *Lactococcus lactis* 2379 odnotowano większe stężenia jonów mleczanowych przy zmniejszonych (prawie o połowę) dawkach enzymów. Wyniki te zaprezentowano w publikacji **H2: Berłowska J., Cieciora W., Kalinowska H., Kręgiel D., Borowski S., Pawlikowska E., Binczarski M., Witońska I.; Enzymatic conversion of sugar beet pulp: a comparison of simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation for lactic acid production; *Food Technology and Biotechnology*; 56(2), 2018 (IF_{2017, 5-letni} = 1.349; MNiSW₂₀₁₈ = 25*).** Wydajność prowadzonych procesów uzależniona była także od sezonowej zmienności składu chemicznego wyłoków buraczanych i wynosiła od 35,2 do 58,5 g kw. mlekowego/L. Wyniki odnotowane dla procesów charakteryzujących się najwyższymi wydajnościami zaprezentowano w publikacji **H6: Binczarski**

M., Berłowska J., Stanishevsky A., Witońska I.; Biologically synthesized crude calcium lactate as a substrate for propylene glycol production; RSC Advances; 2016, 6 (95), 92420-92427 (IF₂₀₁₆ = 3.108; IF_{2016, 5-letni} = 3.257; MNiSW₂₀₁₆ = 30).

W wyniku przeprowadzonych prac stwierdziłam, że produkcja kwasu mlekowego prowadzona przez wyselekcjonowane szczepy bakteryjne w układzie SSF stanowi korzystną alternatywę dla konwencjonalnych 2-etapowych procesów: enzymatycznej hydrolizy oraz fermentacji mlekowej. W przypadku wszystkich procesów prowadzonych w tym układzie z wykorzystaniem kultur mieszanych charakterystyczne było zjawisko metabolizowania arabinozy, galaktozy oraz rafinozy w drugim etapie fermentacyjnym. Dzięki stopniowej hydrolizie wyśódków w trakcie fermentacji ograniczono rozwój zakażeń, ograniczono zużycie energii oraz dokonano poprawy bilansu masowego procesu.

Sprzężenie procesów biosyntezy etanolu oraz kwasu mlekowego z komplementarnymi technologiami zagospodarowania i konwersji odpadów oraz produktów pośrednich powstających podczas hydrolizy wyśódków buraczanych oraz procesów fermentacyjnych

Jednym z podstawowych celów zaplanowanych przeze mnie badań było opracowanie rozwiązań umożliwiających zagospodarowanie pełne produktów ubocznych oraz odcieków powstających podczas przetwarzania biomasy wyśódków, co spełnia kryteria zrównoważonego rozwoju oraz wymagania stawiane nowoczesnym biorafineriom.

Produktem ubocznym powstającym po zakończeniu fermentacji alkoholowej jest wywar zawierający nieodfermentowane związki oraz produkty dezintegracji termicznej biomasy drożdży. Szczególnym przypadkiem są wywary powstające po biosyntezie etanolu II-generacji prowadzonej z wykorzystaniem hydrolizatów lignocelulozowych, których profil cukrowych jest zazwyczaj bardziej złożony w porównaniu z podłożami stosowanymi w rozwiązaniach konwencjonalnych. Najczęstszym problemem jest brak odfermentowania niektórych cukrów, szczególnie pentoz [Patel *et al.*, 2015].

Profil cukrowy wywarów pozyskanych po fermentacji etanolowej hydrolizatu z wysłodków buraczanych przedstawiłam w publikacji **H3: Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Cieciora W., Borowski S., Kręgiel D.; Integrated bioethanol fermentation/anaerobic digestion for valorization of sugar beet pulp; Energies; 2017, 10 (9), 1255, 1-16 (IF_{2017, 5-letni} = 2.707; MNiSW₂₀₁₇ = 25*)**. W medium tym odnotowano stężenia arabinozy, galaktozy, ramnozy na poziomie od 5,5 do 8 g/L oraz rafinozy od 12 do 15 g/L. Wykazano przydatność wywaru jako substratu do procesów metanogenezy i biosyntezy wodoru oraz możliwość sprzężenia procesów tych z hydrolizą biomasy i fermentacji etanolowej. Jako substratów do procesów biologicznych użyto stałej pozostałości po hydrolizie biomasy wysłodków, wywaru otrzymanego po fermentacji etanolowej oraz hydrolizatu wysłodków buraczanych. Procesy te prowadzone były w warunkach statycznych na stanowisku badawczym obejmującym zbiorniki o pojemności czynnej 1 dm³ umieszczone w komorach termostatowych zapewniających stałą temperaturę 35⁰C. Zbiorniki połączone były z układem naczyń do kontroli ilości oraz składu wydzielanego biogazu. Jako inokulum wykorzystano mieszane osady ściekowe z Grupowej Oczyszczalni Ścieków w Łodzi. W przypadku biosyntezy wodoru osady poddano obróbce termicznej w 80⁰C przez 1.5 godziny przy pH=5,5. Największą ilość wodoru - 252 dm³ H₂/kg suchej masy organicznej (s.m.o.) uzyskano w przypadku wywaru, podczas gdy wykorzystanie hydrolizatu pozwalało odnotować 229 dm³/kg s.m.o, a stałej pozostałości tylko 150 dm³ H₂/kg. Porównywalne ilości wodoru otrzymane przy wykorzystaniu hydrolizatu i wywaru, przy znacząco wyższej zawartości monosacharydów w tym pierwszym medium, wynikać może z większej zawartości w wywarze związków pochodzących z biomasy drożdżowej, w tym azotu oraz fosforu. Uzysk metanu przy zastosowaniu wywaru jako substratu był 200 razy wyższy niż w przypadku hydrolizatu. **Można więc wnioskować, iż proces fermentacji etanolowej stanowi efektywny sposób obróbki wstępnej (ang. pretreatment) dla procesów metanogenezy. Fakt ten potwierdza również bilans energetyczny przedstawiony w publikacji H3: Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Cieciora W., Borowski S., Kręgiel D.; Integrated bioethanol fermentation/anaerobic digestion for valorization of sugar beet pulp; Energies; 2017, 10 (9), 1255, 1-16 (IF_{2017, 5-letni} = 2.707; MNiSW₂₀₁₇ = 25*)**.

Jednym z alternatywnych rozwiązań zwiększających efektywność ekonomiczną bioetanolowni, szczególnie w przypadku niewielkich zakładów, jest separacja biomasy drożdży pofermentacyjnych. Dzięki zawartości dużych ilości łatwo przyswajalnych składników budulcowych, energetycznych i regulujących, biomasa drożdży może być wykorzystywana jako środek spożywczy. Komórki drożdży stanowią źródło wielu aminokwasów (waliny, tyrozyny, tryptofanu, treoniny, fenyloalaniny, metioniny, lizyny, leucyny, izoleucyny, histydyny, cystyny, argininy, kwasu asparaginowego, alaniny), soli mineralnych (kobaltu, manganu, molibdenu, cynku, miedzi, żelaza, wapnia, fosforu, sodu, selenu, chromu, cyny), witamin (choliny, inozytolu, biotyny, kwasu foliowego, kwasu para-aminobenzoowego, niacyny, kwasu pantotenowego, pirydoksyny, ryboflawiny, tiaminy), ponadto nukleoprotein, sacharydów oraz tłuszczów [Shurson, 2018]. Cechują się zatem dużą wartością odżywczą, co w umiejętny sposób może być wykorzystane w profilaktyce wielu chorób oraz produkcji środków spożywczych specjalnego przeznaczenia. Ekstrakty drożdżowe mogą mieć szerokie zastosowanie jako uzupełnienie diety oraz naturalne wzmacniacze aromatu i smaku.

W celu uzyskania ekstraktów, do lizy komórek stosowano nietoksyczną substancję o właściwościach powierzchniowo-czynnych, nie wpływającą na aktywność proteaz, dopuszczoną w EU jako składnik wielu produktów spożywczych i pasz - naturalną saponinę z kory południowoamerykańskiego mydłokrzewu *Quillaja saponaria*. Saponinę tę stosuje się powszechnie jako substancję pianotwórczą i emulgującą w produkcji aromatyzowanych napojów bezalkoholowych i niskoalkoholowych napojów jabłkowych typu cydr w ilości 200 mg/L w przeliczeniu na bezwodny ekstrakt [FAO UN, 2017.].

Kontrola postępu procesu lizy komórkowej prowadzona była z wykorzystaniem technik mikroskopowych (mikroskopii świetlnej i fluorescencyjnej z analizą obrazu) oraz multiparametrycznej oceny stopnia autolizy przy użyciu aparatu Muse® Cell Analyzer. Proces autolizy kontrolowano również oceniając suchą masę i popiół metodą wagową, poziom uwolnionych niskocząsteczkowych związków azotowych (FAN), profil aminokwasowy (metoda Pico Tag), azot amonowy (metoda Nesslera), białek (metodą FTIR w systemie Direct Detect®), stężenia sacharydów, tj. beta-glukanu, mannanu, glukozy i mannozy (metodami enzymatycznymi Megazyme).

Wyniki w/w analiz przedstawiłam w publikacjach **H7: Berłowska J., Dudkiewicz-Kołodziejska M., Pawlikowska E., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Czyżowska A., Kręgiel D.; Utilization of post-fermentation yeasts for yeast extract production by autolysis: the effect of yeast strain and saponin from *Quillaja saponaria*, Journal of Institute of Brewing; 2017, 123 (3), 396-401 (IF_{2017, 5-letni} = 1.075; MNiSW₂₀₁₇ = 25*)** i w publikacji **H8: Berłowska J., Dudkiewicz M., Kręgiel D., Czyżowska A., Witońska I.; Cell lysis induced by membrane-damaging detergent saponins from *Quillaja saponaria*; Enzyme and Microbial Technology; 2015, 75-76, 44-48 (IF₂₀₁₅ = 2.624; IF_{2015, 5-letni} = 3.064; MNiSW₂₀₁₅ = 30).**

Badania związane z ustaleniem warunków procesowych prowadzone były zarówno z wykorzystaniem monokultur szczepów drożdży jak i populacji mieszanych. Proces autolizy indukowanej obecnością środka powierzchniowo-czynnego odniesiono do metod opartych o wykorzystanie klasycznych induktorów: 5% roztwór chlorku sodu, 5% etanol. Substancje te stosowano oddzielnie lub łącząc je w różnych kombinacjach. Przeprowadzone badania wykazały, iż dodatek saponiny z *Quillaja saponaria* (0,08%) pozwolił na intensyfikację procesu autolizy wszystkich badanych szczepów zarówno monokultur jak i wchodzących w skład kultur mieszanych. Obserwacje mikroskopowe wskazywały na znaczne zmiany w przepuszczalności membran komórkowych przy jednoczesnym zachowaniu kształtu i integralności komórek.

Efektywność uwaniania związków azotowych z komórek *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red (Lessafre), *Kluyveromyces marxianus* LOCK 0026, *Kluyveromyces marxianus* NCYC 179, *Scheffersomyces stipitis* NCYC 1541 i *Pichia angusta* NCYC 495 zależna była nie tylko od gatunku lecz również szczepu drożdży. Saponiny *Q. saponaria* wykazywały zróżnicowane działanie lityczne. Największą zawartość białek stwierdzono w autolizatach drożdży *K. marxianus* NCYC, natomiast w autolizatach *S. stipitis* i *S. cerevisiae* poziom białka był ponad 10 razy niższy. Przeprowadzono również badania dotyczące porównania spektrum aminokwasów wewnątrzkomórkowych oraz uwalnianych podczas kontrolowanej lizy komórek drożdży pofermentacyjnych oraz udowodniono, iż pozyskane lizaty mogą stanowić dobre źródło aminokwasów egzogennych. Zawartość tych cennych związków wynosiła 29% dla *S. cerevisiae* i 40% dla *K. marxianus* (LOCK 0026). Najwyższe stężenia leucyny, waliny i fenyloalaniny stwierdzono w autolizatach *K. marxianus* (LOCK 0026). Lizaty *S. stipitis* charakteryzowały się

wysoką zawartością leucyny, treoniny i lizyny. Największą zawartość metioniny natomiast charakteryzował się autolizat *K. marxianus* (NCYC 179).

Wykazano, iż zastosowanie saponiny jako niekonwencjonalnego induktora autolizy skutkowało wzrostem stężenia cennych substancji odżywczych: białek i aminokwasów. Takie nowe zastosowanie saponiny zostało objęte ochroną Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej **H9: Kręgiel D., Berłowska J., Dudkiewicz M., Antolak H., PL 226057 B1 “Sposób otrzymywania ekstraktów z komórek drożdży” data zgłoszenia: 15.12.2014; data udzielenia: 13.12. 2016, o udzieleniu patentu ogłoszono: 30.06.2017).**

Lizaty otrzymane opracowaną metodą mogą stanowić cenne źródło aminokwasów, w tym egzogennych. Zwłaszcza bezsolne lizaty drożdży uzupełnione saponinami o udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych, mogą znaleźć szeroką gamę zastosowań jako składniki żywności funkcjonalnej i napojów. Metodę stosować można do drożdży pochodzących bezpośrednio z procesów propagacji.

Biorafinerie są często zakładami w których otrzymuje się związki zaliczane do tak zwanych „platform chemicals”. Produkcja kwasów organicznych na drodze fermentacji jest obiecującym kierunkiem pozyskiwania półproduktów dla przemysłu chemicznego z odnawialnych źródeł węgla. Kwasy organiczne cechuje wysoka reaktywność wynikająca z obecności grup funkcyjnych, przez co stanowią cenny reagent dla przemysłu chemicznego. Do najważniejszych produktów, możliwych do otrzymania na drodze transformacji katalitycznej kwasu mlekowego, należy glikol polipropylenowy. W wyniku katalitycznej redukcji kwasu mlekowego w niewielkich ilościach mogą powstawać także gazowe i ciekłe produkty uboczne, takie jak: metan, etan, propan, propanol, izopropanol, aldehyd mlekowy.

Opracowana droga syntezy jest zgodna z zasadami „zielonej chemii” i nie wymaga zbyt skomplikowanej instalacji. Kataliza heterogeniczna, pozwala bowiem na ograniczenie ilości lub uniknięcie konieczności stosowania rozpuszczalników organicznych.

W ramach prac eksperymentalnych zespołu, którym kierowałam, uzyskany na drodze fermentacyjnej kwas mlekowy poddany został katalitycznej redukcji do glikolu polietylenowego. Do procesu kierowano media pofermentacyjne, w których oprócz kwasu mlekowego znajdowały

się także niewykorzystane cukry, które należało usunąć przed rozpoczęciem katalitycznej redukcji kwasu mlekowego. Przeprowadzane analizy wskazały wyraźnie na adsorpcję cukrów na powierzchni węgla, jako nośnika katalizatorów rutenowych i hamowanie procesu redukcji katalitycznej poprzez blokowanie centrów aktywnych katalizatora. Związanie cukrów, a także innych substancji organicznych zawierających heteroatomy azotu, np. aminokwasów, za pomocą węgla aktywnego przed rozpoczęciem procesu katalitycznego, pozwoliło na efektywną konwersję kwasu mlekowego w glikol propylenowy na katalizatorach rutenowych. Doboru warunków prowadzenia procesu dokonano, wykorzystując komercyjny katalizator: 5%Ru/C (Sigma-Aldrich, CAS-260180-25. Za najlepsze warunki do prowadzenia procesu uznano: temp. $T=130\text{ }^{\circ}\text{C}$, ciśnienie $p_{\text{H}_2}=35\text{ bar}$, stężenie kwasu mlekowego $C=0,5\text{ mol/L}$, czas $t=4\text{ godziny}$, szybkość obrotów mieszadła $\text{rpm}=300\text{ obr/min}$, masa katalizatora $m_{\text{cat}}=0,5\text{ g}$, objętość próby $V=25\text{ mL}$. Zastosowanie takich warunków pozwala na otrzymanie glikolu propylenowego z wydajnością 39,28 %. Szczegółowe wyniki przeprowadzonych eksperymentów przedstawiłam w publikacji **H10: Berłowska J., Binczarski M., Dudkiewicz M.M., Kalinowska H., Witońska I., Stanishevsky A.; A low-cost method for obtaining high-value bio-based propylene glycol from sugar beet pulp; RSC Advances; 2015, 5(3), 2299-2304 (IF₂₀₁₅ = 3.289; IF_{2015, 5-letni} = 3.485; MNiSW₂₀₁₅ = 35).**

Ze względu na zdecydowane zwiększenie wydajności procesów fermentacji mlekowej w obecności CaCO_3 w kolejnym etapie badań, określono przydatność mleczanu wapnia jako bio-surowca do produkcji glikolu propylenowego. W tym celu wykonano badania aktywności układów rutenowych w reakcji redukcji wodnego roztworu mleczanu wapnia ($C = 0,1\text{ M}$, niższe stężenie mleczanu względem ustalonego stężenia kwasu mlekowego wynikało ze słabej rozpuszczalności mleczanu w wodzie) i stwierdzono, że proces taki nie zachodzi w ustalonych warunkach ciśnienia i temperatury. Dopiero po zakwaszeniu roztworu kwasem mineralnym (HCl , H_2SO_4) i uwolnieniu kwasu mlekowego, możliwa była katalityczna konwersja kwasu mlekowego do glikolu propylenowego. Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że z punktu widzenia otrzymywania wysokiej wydajności glikolu propylenowego z próbek biologicznych zawierających mleczan wapnia, należy je wstępnie zakwaszyć przed reakcjami katalitycznymi do $\text{pH} = 2\div 3$, przy czym korzystne jest użycie kwasu siarkowego (VI).

W publikacji **H6: Binczarski M., Berłowska J., Stanishevsky A., Witońska I.; Biologically synthesized crude calcium lactate as a substrate for propylene glycol production; RSC Advances; 2016, 6 (95), 92420-92427 (IF₂₀₁₆ = 3.108; IF_{2016, 5-letni} = 3.257; MNiSW₂₀₁₆ = 30)** zestawiono wyniki procesów redukcji próbek biologicznych zawierających mleczan wapnia (dla przykładu zestawiono wyniki dla próbek otrzymanych po zaszczepieniu podłoża bakteriami *Lactococcus lactis* PCM 2379, *Lactobacillus plantarum* AXD) po wstępnym oczyszczeniu na węglu aktywnym i zakwaszeniu H₂SO₄.

Opracowana metodyka postępowania z próbkami biologicznymi pozwala na uzyskiwanie wydajności glikolu propylenowego zbliżonych z wydajnościami tego produktu w przypadku użycia 0,5 M wodnego roztworu komercyjnego kwasu mlekowego.

surowce odpowiednio do otrzymywania lizatów komórkowych oraz do procesów biosyntezy metanu i wodoru.

Podkreślić należy jednak fakt, iż większą wydajnością charakteryzują się procesy jednoczesnego scukrzania i fermentacji. Skojarzona z bioetanolownią biogazownia może wykorzystywać również szlamy (stałą pozostałość) po hydrolizie wyśłodków buraczanych. Lizaty komórek drożdży stanowić mogą natomiast suplement hydrolizatu wyśłodkowego wykorzystywanego w fermentacji mlekowej.

Kwas mlekowy syntezowany na drodze biologicznej może być redukowany do glikolu propylenowego. Do gamy produktów pozyskiwanych z biomasy wyśłodków buraczanych w skojarzonych procesach biologiczno-chemicznych zaliczyć więc można: etanol, metan, wodór, lizaty komórkowe, kwas mlekowy oraz glikol propylenowy.

Zaproponowane rozwiązanie wpisuje się w koncepcję zielonej chemii zakładającej projektowanie i przeprowadzanie procesów w taki sposób, by minimalizować zagrożenia dla środowiska naturalnego. Wykorzystywanie surowców odnawialnych pozwala przede wszystkim zaoszczędzić surowce kopalne i ograniczyć niekorzystne dla środowiska konsekwencje ich przerobu. Działania oparte na założeniach zielonej chemii polegają bowiem na zastosowaniu alternatywnych dróg syntezy związków chemicznych oraz zastosowaniu takich **warunków procesowych, które zwiększają selektywność i zmniejszają ilość odpadów.**

Literatura

1. Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, Sonomoto K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits, *Journal of Biotechnology*, 2011, 156(4), 286-301.
2. Cui F, Li Y, Wan C. Lactic acid production from corn stover using mixed cultures of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus brevis*, *Bioresource Technology*, 2011, 102, 1831–1836.
3. Finkenstadt VL. A Review on the complete utilization of the sugarbeet, *Sugar Tech*, 2013, 16(4), 339–346.
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 61st JECFA. Quillaja Extracts. <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-additives/detail/en/c/476/http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/61/QUILLAIA.pdf> (dostęp 20 grudnia 2017).
5. Moncada JB, Aristizábal VM, Cardona CAA., 2016. Design strategies for sustainable biorefineries, *Biochemical Engineering Journal*, 2016, 116, 122–134.
6. Nguyen CM, Choi GJ, Choi YH, Jang KS, Kima, JC. D- and L-lactic acid production from fresh sweet potato through simultaneous saccharification and fermentation, *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 81, 40–46.
7. Özbaş KE, Özbaş ÖÖ. Sugar beet pulp as biomass. *Zuckerindustrie*, 2016, 142(1), 29-32.
8. Patel H, Chapla D, Shah A. Bioconversion of pretreated sugarcane bagasse using enzymatic and acid followed by enzymatic hydrolysis approaches for bioethanol production, *Renewable Energy*, 2017, 109, 323–331.
9. Shurson GC. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods, *Animal Feed Science and Technology*, 2018, 235, 60-76.
10. Wang Y, Tashiro Y, Sonomoto K. Fermentative production of lactic acid from renewable materials: Recent achievements, prospects, and limits, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 119, 10-8.

Za najważniejsze osiągnięcia przedstawionych prac badawczych uważam wykazanie, iż:

1. Zastosowanie mieszaniny enzymów o aktywnościach celulolitycznej, ksylanolitycznej oraz pektynolitycznej pozwala na skuteczną depolimeryzację biomasy wyśódków buraczanych i otrzymanie hydrolizatu przydatnego w procesach biosyntezy etanolu, kwasu mlekowego, metanu i wodoru.
2. Zastosowanie mieszanych kultur drożdży gorzelnicznych, przy zachowaniu sekwencyjnego sposobu inokulacji, pozwala na efektywną fermentację etanolową sacharydów uwolnionych podczas enzymatycznej hydrolizy biomasy wyśódków, przy czym większą efektywnością charakteryzują się procesy jednoczesnej hydrolizy i fermentacji.
3. Dla odfermentowania arabinozy niewykorzystanej w procesie fermentacji etanolowej prowadzonej z udziałem *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red konieczne jest wprowadzenie do środowiska *Scheffersomyces stipitis* (syn. *Pichia stipitis*) LOCK 0047 po 24 godzinach procesu.
4. Otrzymywanie etanolu w procesie jednoczesnego scukrzania i fermentacji biomasy wyśódków buraczanych, przy zastosowaniu ustalonych parametrów prowadzenia procesu oraz odpowiednich ras drożdży zdolnych do fermentacji uwalnianych substratów cukrowych, może być efektywnym sposobem zagospodarowania tych odpadów.
5. Zastosowanie mieszanych kultur bakterii fermentacji mlekowej, zdolnych do fermentacji heksoz oraz pentoz, przy zachowaniu sekwencyjnego sposobu inokulacji, pozwala na prowadzenie fermentacji mlekowej sacharydów uwolnionych podczas enzymatycznej hydrolizy biomasy wyśódków, przy czym większą efektywnością charakteryzują się procesy jednoczesnej hydrolizy i fermentacji;
6. Do pełnej fermentacji mlekowej sacharydów uwalnianych z biomasy wyśódków buraczanych konieczny jest dobór odpowiednich szczepów zdolnych nie tylko do fermentacji glukozy i fruktozy, ale również galaktozy i arabinozy. Te trudno fermentowalne sacharydy wykorzystywane są przez wyselekcjonowane szczepy bakterii fermentacji mlekowej: *Lactobacillus plantarum* AXD, *Lactobacillus plantarum* AXG, *Lactobacillus brevis* PCM 488, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus plantarum* PCM 2675 po uprzednim odfermentowaniu glukozy.

7. Produkcja kwasu mlekowego prowadzona przez wyselekcjonowane szczepy bakteryjne w układzie jednoczesnej hydrolizy i fermentacji stanowi korzystną alternatywę dla konwencjonalnych 2-etapowych procesów: enzymatycznej hydrolizy oraz fermentacji mlekowej.
8. Hydrolizat wysłodków buraczanych oraz niewykorzystane w procesie fermentacji etanolowej składniki hydrolizatu wysłodkowego przechodzące do wywaru stanowią efektywny substrat do procesów biosyntezy wodoru i metanu prowadzonych przez drobnoustroje pochodzące z mieszanych osadów ściekowych (poddanych wstępnej obróbce termicznej w przypadku biosyntezy wodoru). Również stała pozostałość po enzymatycznej depolimeryzacji wysłodków buraczanych, stanowić może substrat do procesów beztlenowej biosyntezy metanu.
9. Kwas mlekowy pozyskany na drodze fermentacji hydrolizatu z wysłodków buraczanych stanowi efektywny substrat dla katalitycznej redukcji do glikolu propylenowego prowadzonej z wykorzystaniem komercyjnego katalizatora 5%Ru/C.
10. Zastosowanie saponiny z kory południowoamerykańskiego drzewa *Quillaja saponaria* jako niekonwencjonalnego induktora autolizy komórek drożdży, szczególnie *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red (Lessafre) oraz *Kluyveromyces marxianus* NCYC skutkuje wzrostem stężenia cennych substancji odżywczych: białek i aminokwasów w uzyskanych lizatach. Lizaty otrzymane opracowaną metodą mogą stanowić cenne źródło aminokwasów, w tym egzogennych. Zwłaszcza bezsolne lizaty drożdży uzupełnione saponinami, mogą znaleźć szeroką gamę zastosowań jako składniki żywności funkcjonalnej i napojów.
11. Biomasa wysłodków buraczanych może być zagospodarowana w systemie zintegrowanych procesów biologicznych i chemicznych, które są podstawą funkcjonowania biorafinerii. Sprzężenie komplementarnych technologii minimalizuje ilość powstających odpadów, a ich waloryzacja daje możliwość pozyskania szerokiej gamy bio-produktów: etanolu, kwasu mlekowego, wodoru, metanu, glikolu propylenowego oraz lizatów komórkowych. Rozwiązanie takie odpowiada pozwala otrzymywać tzw. "green chemicals", na które to produkty zapotrzebowanie ciągle wzrasta.

25. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Prowadzone przeze mnie prace badawcze mieszczą się w następujących obszarach tematycznych:

- I. Aktywność fermentacyjna, metaboliczna oraz stan fizjologiczny komórek drożdży stosowanych w procesach przemysłowych
- II. Unieruchamianie drożdży przemysłowych w celu prowadzenia procesów fermentacyjnych
- III. Biofilmy oraz agregaty komórkowe - analiza oraz strategie zapobiegania ich formowaniu
- IV. Zagospodarowanie biomasy roślinnej w skojarzonych procesach biologicznych i chemicznych
- V. Naturalne suplementy w produkcji żywności
- VI. Naturalne środki powierzchniowo-czynne w przemyśle spożywczym i biotechnologii

Aktywność fermentacyjna, metaboliczna oraz stan fizjologiczny komórek drożdży stosowanych w procesach przemysłowych

W latach 2006 - 2011 prowadziłam badania zmierzające do kompleksowej oceny aktywności metabolicznej komórek drożdży browarniczych. Ocena stanu fizjologicznego uwzględniała przede wszystkim wpływ czynników stresowych związanych z procesem adaptacji środowiskowej. Dla tak złożonego układu biologicznego, jakim jest komórka, wiązało się to z koniecznością monitorowania co najmniej kilku parametrów jednocześnie. Za podstawę oceny witalności komórek drożdży: przyjęto kontrolę w warunkach *in situ* aktywności dwóch enzymów tj. dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) oraz dekarboksylazy pirogronianowej (PDC) charakterystycznych dla dwóch wiodących szlaków metabolicznych – przemiany glukozy do kwasów w cyklu Krebsa i do etanolu w procesie fermentacji alkoholowej. Istotnymi wskaźnikami oceny aktywności komórek drożdży były również: integralność membran cytoplazmatycznych, poziom ATP komórkowego, zawartość sacharydów zapasowych, takich jak glikogen i trehaloza, efektywność procesów fermentacji alkoholowej, rozumianej jako zdolność do biosyntezy

etanolu oraz profil fermentacyjnych produktów ubocznych, a także zdolność do biokonwersji barwnika fluorescencyjnego FUN 1 (jodku 2-chloro-4-(2,3-dihydro-3-metylo-(benzo-1,3-tiazol-2-ilo)-metylideno)-1-fenylocholinowego), którego przekształcona forma gromadzona jest w wakuolach aktywnych metabolicznie komórek. Obserwowane wzajemne powiązania i korelacje pomiędzy wartościami poszczególnych parametrów pozwoliły nie tylko określić aktywność i stan badanej populacji drożdżowej, ale również specyfikę i charakter uzdolnień fermentacyjnych, przyporządkować wstępnie szczep do określonej grupy lub rasy oraz ocenić jego przydatność technologiczną. Ocena aktywności metabolicznej drożdży ma duży aspekt praktyczny, a wykonane badania mają bliski związek z praktyką produkcyjną.

Badania finansowano w ramach grantu promotorskiego (MNil) „Aktywność metaboliczna wybranych szczepów drożdży przemysłowych wolnych i unieruchomionych na nośnikach stałych”, którego byłam głównym wykonawcą, a efektem pogłębiania wiedzy z tego zakresu jest osiem artykułów opublikowanych w języku angielskim (w tym pięć w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym IF = 8.97) oraz dwa w polskojęzycznych specjalistycznych czasopismach branżowych.

Wybrane publikacje w w/w obszarze:

	IF / MNIŚW
1. <u>Berłowska J., Kręgiel D., Klimek L., Orzeszyna B., Ambroziak W.</u> ; Novel yeast cell dehydrogenase activity assay <i>in situ</i> ; Polish Journal of Microbiology; 2006, 2, 127-131;	9 pkt.
2. Szubzda B., Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Mazurek B., Adamowska M., Ambroziak W.; Dielectric properties of biological structures exemplified on yeast cells; Scientific Papers of the Institute of Electrical Engineering Fundamentals of the Wrocław University of Technology, 2007, No 6, Conference 19, 230-234. ISSN 0324-9441;	
3. Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Ambroziak W.; Succinate dehydrogenase activity assay <i>in situ</i> with blue tetrazolium salt in crabtree-positive <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain; Food Technology and Biotechnology, 2008, 46 (4), 376–381;	1.273 / 27 pkt.
4. <u>Berłowska J., Kręgiel D., Ambroziak W.</u> ; Pyruvate decarboxylase activity assay <i>in situ</i> of different industrial yeast strains; Food Technology and Biotechnology, 2009, 47 (1), 96-100;	0.976 / 27 pkt.
5. Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> ; Evaluation of yeast cell vitality and culture heterogeneity using fluorescent dyes; Biotechnology and Food Science, 2009, 73, 5-14;	2 pkt.
6. Kręgiel D., <u>Berłowska J., Szubzda B.</u> ; Novel permittivity test for determination of yeast surface charge and flocculation abilities; Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2012, 39, 1881-1886;	2.321 / 25 pkt.

- | | | |
|-----|--|----------------------------|
| 7. | <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D., Ambroziak W.; Physiological tests for yeast brewery cells immobilized on modified chamotte carrier; Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology; 2013, 104 (5), 703-714; | 2.137 /
20 pkt. |
| 8. | <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D.; Cz I: Drożdże browarnicze i ocena ich aktywności; Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny; 2014, 04, 36-38; | 5 pkt. |
| 9. | <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D.; Cz II: Drożdże browarnicze i ocena ich aktywności; Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny; 2014, 05, 4-6; | 5 pkt. |
| 10. | <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D., Rajkowska K.; Biodiversity of brewery yeast strains and their fermentative activities; Yeast, 2015, 32 (1), 289-300; | 2.259 /
20 pkt. |

Unieruchamianie drożdży przemysłowych w celu prowadzenia procesów fermentacyjnych

Równoległe z pracami dotyczącymi oceny aktywności fermentacyjnej komórek drożdży przemysłowych prowadziłam badania dotyczące technik immobilizacji drożdży przemysłowych. Ta grupa drobnoustrojów pozostawała bowiem nadal w obszarze moich zainteresowań. Badania były prowadzone w ramach międzynarodowego projektu badawczego STREP PROJECT NMP3-CT-2003-504937 „PERCERAMICS - Multifunctional percolated nanostructured ceramics fabricated from hydroxylapatite” (2004-2007) finansowanego w ramach szóstego programu ramowego (6FP), oraz grantu realizowanego we współpracy z Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN (Łódź) N205 129935 „Modyfikacja powierzchni materiałów nieorganicznych celem nadania im własności adhezyjnych lub antyadhezyjnych dla drobnoustrojów” (2008-2011) finansowanego przez KBN, w których byłam wykonawcą.

Celem prowadzonych badań było opracowanie rozwiązań umożliwiających prowadzenie fermentacji głównej brzezki browarniczej z udziałem komórek unieruchomionych. Komórki wyselekcjonowanych szczepów immobilizowano w matrycy alginianowej oraz na powierzchni nośników stałych hydroksyapatytowych, ceramicznych, natiwnych oraz o powierzchni modyfikowanej siloksanami. Zadowolający wzrost efektywności adhezji odnotowałam dla grup 3-(3-amino-2-hydroksy-1-propoksy)propylodimetoksysilanowych wiązanych kowalencyjnie na powierzchni nośników ceramicznych wykonanych z glinki szamotowej. Uzyskane w ten sposób układy wykorzystałam w procesach fermentacyjnych brzezki browarniczej. W ocenie porównawczej procesów fermentacji prowadzonych z udziałem komórek wolnych

i unieruchomionych czas przebiegu procesu oraz ilość wydzielonego ditlenku węgla były zdecydowanie korzystniejsze dla komórek immobilizowanych, szczególnie w przypadku browarniczych szczepów drożdży dolnej fermentacji. Proces ten charakteryzował się o 20 % krótszym czasem przebiegu. Fakt ten tłumaczyć można występowaniem wyższego stopnia „upakowania” drobnoustrojów na nośniku i większej sumarycznej gęstości komórek w jednostce objętości fermentowanego medium.

Efektom pogłębiania wiedzy z tego zakresu są cztery artykuły opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej (o łącznym **IF = 7.05**), a opracowane metody umieruchamiania komórek drożdży na nośnikach ceramicznych zostały ochronione dwoma patentami przez Łotewski Urząd Patentowy.

Wybrane publikacje w w/w obszarze:

	IF / MNIŚW
11. Kręgiel D., Berłowska J., Ambroziak W.; Adhesion of yeast cells to different porous supports, stability of cell-carrier systems and formation of volatile by-products; World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28: 3399-3408;	1.262 / 20 pkt.
12. <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D., Ambroziak W.; Enhancing adhesion of yeast brewery strains to chamotte carriers through aminosilane surface modification; World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29: 1307-1316;	1.353 / 20 pkt.
13. Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Ambroziak W.; Growth and metabolic activity of conventional and non-conventional yeasts immobilized in foamed alginate; Enzyme and Microbial Technology, 2013, 53 (4): 229-234;	2.966 / 30 pkt.
14. Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> ; Effect of quaternary ammonium silane coating on adhesive immobilization of industrial yeasts; Chemical Papers, 2014, 68 (3): 308-315;	1.468 / 20 pkt.

Patenty:

Patent LV 13632 B (Łotwa) “Panemiens mikroorganismu imobilizacijai uz neseja” (“Method of Microorganisms Immobilization on the Carrier”) Int.Cl C12N11/14. Rapoport A., Dehtjar J., Ambroziak W., Borovikova D., Kokina A., Kręgiel D., Diowksz A., Kordialik-Bogacka E., <u>Berłowska J.</u> , Kozioł G.	25 pkt.
Patent LV 13633 B (Łotwa) “Panemiens mikroorganismu imobilizacijai uz neseja” (“Method of Microorganisms Immobilization on the Carrier”) Int.Cl C12N11/14. Rapoport A., Dehtjar J., Ambroziak W., Borovikova D., Kokina A., Kręgiel D., Diowksz A., Kordialik-Bogacka E., <u>Berłowska J.</u> , Kozioł G.	25 pkt.

Biofilmy oraz agregaty komórkowe - analiza oraz strategie zapobiegania formowania

Tworzenie konsorcjów komórek stanowi skuteczną strategię adaptacyjną, obejmującą głównie ochronę przed niekorzystnymi czynnikami środowiskowymi. Mikroorganizmy, które występują w naturalnych środowiskach wodnych wykształciły mechanizmy tworzenia aglomeratów oraz osiadania na różnych powierzchniach i tworzenia biofilmów. Taka forma bytowania drobnoustrojów stwarza im możliwość łatwiejszego dostępu do składników odżywczych, a także chroni komórki przed niekorzystnym wpływem szkodliwych czynników środowiskowych. Badania prowadzone w ramach wcześniej wspomnianego grantu „PERCERAMICS” pogłębiły moje zainteresowania związane z mechanizmami oraz czynnikami warunkującymi osadzanie się drobnoustrojów na powierzchniach abiotycznych. Prowadzone przeze mnie badania dotyczyły tworzenia aglomeratów komórkowych zarówno przez komórki drożdży jak i bakterii. Podjęłam prace związane z opracowywaniem rozwiązań przeciwdziałających tym zjawiskom. W ramach badań finansowanych przez NCN (grant N205 129935 „Modyfikacja powierzchni materiałów nieorganicznych celem nadania im własności adhezyjnych lub antyadhezyjnych dla drobnoustrojów”) w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN modyfikowano powierzchnie polichloru winylu oraz elastomerów silikonowych w kierunku uzyskania właściwości antyadhezyjnych i bio-bójczych. Aktywność biologiczną innowacyjnych materiałów potwierdzono natomiast w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ w ramach badań których byłam wykonawcą. Największą redukcję ilości adherujących do powierzchni materiału komórek odnotowałam w przypadku elastomeru silikonowego (siloksanu) z wbudowanymi grupami chlorku N,N-dimetylo-N-n-oktylamoniopropylu.

Podobny charakter – poszukiwań materiałów o właściwościach antyadhezyjnych, miały badania, które prowadziłam w ramach stażu, jaki odbywałam w Centrum Wdrożeniowo Innowacyjnym (CWI) sp. z o.o. w Łodzi. Przedsiębiorstwo to jest właścicielem patentu P 190343 „Sposób otrzymywania stabilnej siarki polimerycznej do produkcji betonów siarkowych i zabezpieczania odpadów”. Polimer wytworzony w/w sposobem był przedmiotem prowadzonych przeze mnie badań, w których odnotowałam jego odporność na powstawanie

biofilmów mikroflory wodnej (m.in. bakterii z rodzaju *Pseudomonas*). Rezultatem przeprowadzonych w CWI sp. z o.o. prac był również wniosek aplikacyjny „Opracowanie i przygotowanie do wdrożenia technologii wytwarzania siarkobetonów w oparciu o produkty odpadowe z energetyki i przemysłu petrochemicznego” (NCBR i NFOŚiGW, program GEKON – Generator Koncepcji Ekologicznych), którego jestem współautorem. Wniosek uzyskał finansowanie, a przeprowadzone w ramach projektu (w latach 2015-2016) badania potwierdziły odporność kompozytów polimeru siarkowego (z różnego rodzaju wypełnieniami, m.in. pyłami pochodzącymi z elektrociepłowni) na korozję biologiczną.

Efektym pogłębiania wiedzy z tego zakresu jest rozdział w książce, dwa artykuły opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej (o łącznym IF = 2.82) oraz dwa w polskojęzycznych specjalistycznych czasopismach branżowych.

Wybrane publikacje w w/w obszarze:

	IF / MNIŚW
15. <u>Berłowska J., Otlewska A., Kręgiel D.</u> ; Komórki bakterii tworzące biofilmy w systemach wodnych; <i>Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski</i> ; 2013, 11-12, 57-60;	
16. Otlewska A., <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D.; Komórki VBNC – nowe wyzwanie dla nowoczesnej mikrobiologii; <i>Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski</i> ; 2013, 7-8, 28-33	
17. Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Mizerska U., Fortuniak W., Chojnowski J., Ambroziak W.; Chemical modification of polyvinyl chloride and silicone elastomer in inhibiting adhesion of <i>Aeromonas hydrophila</i> ; <i>World Journal of Microbiology & Biotechnology</i> ; 2013, 29, 1197-1206;	1.353 / 20 pkt.
18. Kręgiel D., Otlewska A., <u>Berłowska J.</u> , Rygala A., Antolak H., Guz-Regner K., Szubert K., Wiglusz M., Juzwa W., Patan P.; Badania mikrobiologiczne; <i>Analityka wód i ścieków - wybrane zagadnienia</i> ; 2017, ISSN: 978-83-61190-98-1, 6, 129-167;	4 pkt.
19. Kręgiel D., James S.A., Rygala A., <u>Berłowska J.</u> , Antolak H., Pawlikowska E.; Consortia formed by yeasts and acetic acid bacteria <i>Asaia spp.</i> in soft drinks; <i>Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology</i> , 2018, 111(3), 373-383.	1.879* / 20 pkt.

Zagospodarowanie biomasy roślinnej w skojarzonych procesach biologicznych i chemicznych

Od roku 2012 rozwijana przeze mnie tematyka dotyczyła także wykorzystania odpadowych materiałów roślinnych w procesach biotechnologicznych i chemicznych. Prace te finansowane były w ramach realizacji dwóch projektów NCBiR Programu Badań Stosowanych: „Biomasa wyśtoków cukrowniczych jako nowy surowiec do wytwarzania podłoży fermentacyjnych” (2012-2016), którego byłam kierownikiem oraz BIOSTRATEG „Przetwarzanie biomasy odpadowej w skojarzonych procesach biologiczno-chemicznych” (2016-2019), którego jestem kierownikiem naukowym.

Materiał badawczy stanowił bardzo zróżnicowany pod względem chemicznym surowiec, począwszy od odpadowych surowców skrobiowych, po bogate w celulozę lub pektyny wyśtoki buraczane, do materiałów typowo lignocelulozowych, jakim są liście buraczane i młóto browarne. Konwersję biomasy prowadzono w kierunku pozyskiwania szeregu produktów: m.in. białka SCP (Single Cell Protein), biogazu, kwasu mlekowego, furfuralu i jego pochodnych.

Procesy biologiczne

W badaniach dotyczących otrzymywania SCP wykorzystano szczepy drożdży pochodzące z Kolekcji ŁOCK 105 oraz kolekcji Zakładu Technologii Spirytusu i Drożdży Instytutu Technologii Fermentacji Mikrobiologii PŁ: *Trichosporon cutaneum* Ł0254, *Candida utilis* Ł0021, *Candida tropicalis* Ł0005, *Candida tropicalis* Ł0007, *Candida guilliermondi* ATCC 6260, *Pichia stipitis* Ł047, *Pichia stipitis* Ł048 oraz hydrolizaty wyśtoków buraczanych. Hodowle prowadzono w kolbach, w warunkach wstrząsanych oraz w fermentorze laboratoryjnym. W warunkach hodowli prowadzonej w fermentorze wydajność konwersji sacharydów na biomasę drożdży oraz na białko ogółem wynosiła odpowiednio 38,9% oraz 21% w stosunku do substancji redukujących, obecnych w hydrolizacie przed hodowlą.

Jako substraty do procesów metanogenezy stosowano szlamy powstające po hydrolizie enzymatycznej i odwodnieniu. Szlamy te stosowane były jako mono-substraty lub jako składnik mieszaniny szlamów z osadami ściekowymi lub pomiotem kurzym. W pierwszym przypadku widoczny był deficyt związków biogenych (głównie azotu i fosforu). Zawartość tych związków

przy zastosowaniu mieszaniny surowców była wysoka, co również uzasadniało konieczność łączenia szlamów z substratem bogatym w azot i fosfor. Badania prowadzone były na stanowisku obejmującym reaktory o pojemności 3 dm³ każdy, połączone ze zbiornikami biogazu. Codzienne odprowadzanie i doprowadzanie materiału do fermentacji odbywało się przy wykorzystaniu pompy perystaltycznej. Oprócz ilości biogazu została oceniona stabilność procesu w czasie odpowiadającym co najmniej 5 wymianom zawartości komór fermentacyjnych. Wszystkie badane procesy charakteryzowały się wysoką stabilnością, o czym świadczy wartość pH wynosząca od 7,0 do 7,3 oraz zawartość lotnych kwasów tłuszczowych nie przekraczająca 2000 g/m³. W żadnej z przeprowadzonych serii badawczych nie stwierdzono inhibicji metanogenezy przez amoniak. Wyniki ko-fermentacji szlamów z pomiotem kurzym były zbliżone do tych uzyskanych podczas ko-fermentacji szlamów z osadami, a optymalne mieszaniny zawierały 50% udział szlamów oraz 50% udział pomiotu.

Skojarzone procesy biologiczno-chemiczne

W ramach prac realizowanych w projekcie „Przetwarzanie biomasy odpadowej w skojarzonych procesach biologiczno-chemicznych” przebadano ponad 20 rodzajów biomasy odpadowej z przemysłu rolnego (m.in. wyśładki buraczane, świeże a także poddane procesom mrożenia, kiszenia i peletyzowania, liście buraczane: świeże, mrożone, suszone i kiszone) oraz sektora komunalnego (liście i gałęzie). Celem podjętych prac badawczych było wskazanie efektywnych kierunków zagospodarowania biomasy roślinnej, uwzględniając charakter surowca, oraz warunki obróbki wstępnej, a następnie wykorzystanie pozyskanych hydrolizatów w procesach biologicznej oraz chemicznej konwersji uzyskując określone spektrum produktów: furfural oraz jego pochodne (m.in. alkohol tetrahydrofurfurylowy), a także kwas mlekowy lub SCP (biomasę bakterii fermentacji mlekowej czy drożdży).

W badaniach wstępnych stosowano ujednoliczoną procedurę hydrolizy kwasowej biomasy: rozdrobnioną mechanicznie i wysuszoną do stałej masy biomasę, zadawano nadmiarem 25% H₂SO₄ (stosując proporcję 1:5) ogrzewano w układzie do destylacji prostej w temperaturze wrzenia. W destylacie określano zawartość furfuralu za pomocą techniki GC-FID, kontrolując skład jakościowy hydrolizatu za pomocą GC-MS. Proces hydrolizy kwasowej

zoptymalizowano dla młóta browarnianego, dla którego stwierdzano najwyższe wydajności furfuralu w destylatach. Ustalono, że najwyższe wydajności furfuralu w stosunku do suchej masy w surowcu otrzymuje się wykorzystując kwas siarkowy (VI). Kwas ten można zastąpić kwasem solnym o takim samym stężeniu jonów wodorowych w roztworze bez istotnych strat wydajności, jednakże pozostałość po hydrolizie jest trudniejsza w dalszej obróbce. Określono, ponadto, wpływ stopnia rozdrobnienia, długości namaczania suchego surowca, wstępnej obróbki mikrofalowej oraz ultradźwiękowej namoczonego surowca na wydajność furfuralu. Pozostałość po destylacji odmywano wodą dejonizowaną, neutralizowano CaCO_3 i badano na zawartość cukrów prostych.

Badania wykonane z wykorzystaniem biomasy odpadowej przemysłu cukrowniczego, wskazują wyraźnie na fakt, że w celu uzyskania dużej ilości produktów chemicznych (np. furfuralu), procesy należy prowadzić w silnie kwasowym środowisku (5% H_2SO_4) i wysokiej temperaturze (140°C). Podniesienie temperatury powyżej 150°C prowadzi do znacznego zgazowania próbki. Z punktu widzenia otrzymywania hydrolizatów, które mogłyby znaleźć zastosowanie jako podłoża fermentacyjne, korzystne jest prowadzenie procesu w podwyższonej temperaturze (130-140°C), bez użycia kwasu siarkowego (VI) lub przy jego niskiej zawartości (0,5-2%) i w długim czasie (2-6 godzin). Kwasowa obróbka biomasy odpadowej przemysłu cukrowniczego prowadziła do uwalniania głównie galaktozy, arabinozy oraz mannozy. Biomase świeżych liści buraczanych poddawano również hydrolizie enzymatycznej stosując preparaty o aktywnościach celulolitycznych, ksylanolitycznych oraz pektynolitycznych: Celluosoft 1,5 L, Vicozyme, Ultroflo Max, AlternaFuel 200P, CeluStar XL, Accellerase 1500 oraz termohydrolizę. Na pozyskanych podłożach prowadzono hodowle z wykorzystaniem wyselekcjonowanych szczepów bakterii fermentacji mlekowych, zarówno kolekcyjnych jak i izolatów środowiskowych.

Efektom przeprowadzonych badań z tego zakresu są dwa rozdziały w książce oraz sześć artykułów opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej (o łącznym IF = 20.4).

Wybrane publikacje w w/w obszarze:		IF / MNIŚW
20.	Pielech-Przybylska K., <u>Berłowska J.</u> , Balcerek M., Patelski P., Kalinowska H., Dziugan P.; Fermentacja alkoholowa hydrolizatów z wyśtoków buraka cukrowego; Technologia produkcji i bezpieczeństwo żywności; 2014, ISBN 978-83-937001-3-4, 43-53;	4 pkt.
21.	<u>Berłowska J.</u> , Balcerek M., Pielech-Przybylska K., Patelski P., Kalinowska H., Dziugan P., Przybylak P.; Dobór drożdży do fermentacji hydrolizatów z wyśtoków buraka cukrowego; Technologia produkcji i bezpieczeństwo żywności; 2014, ISBN 978-83-937001-3-4, 17-30;	4 pkt.
22.	Lesiak M., Binczarski M., Karski S., Maniukiewicz W., Rogowski J., Szubiakiewicz E., <u>Berłowska J.</u> , Dziugan P., Witońska I.; Hydrogenation of furfural over Pd–Cu/Al ₂ O ₃ catalysts. The role of interaction between palladium and copper on determining catalytic properties; Journal of Molecular Catalysis A: Chemical; 2014, 395, 337–348;	3.615 / 30 pkt.
23.	Patelski P., <u>Berłowska J.</u> , Dziugan P., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Urszula Dziekońska, Kalinowska H.; Utilisation of sugar beet bagasse for the biosynthesis of yeast SCP; Journal of Food Engineering; 2015, 167, 8118, 32-37;	3.199 / 40 pkt.
24.	Borowski S., Kucner M., Czyżowska A., <u>Berłowska J.</u> ; Co-digestion of poultry manure and residues from enzymatic saccharification and dewatering of sugar beet pulp; Renewable Energy; 2016, 99, 492-500;	4.357 / 30 pkt.
25.	Modelska M., <u>Berłowska J.</u> , Kręgiel D., Cieciora W., Antolak H., Tomaszewska J., Binczarski M., Szubiakiewicz E., Witońska I.; Concept for recycling waste biomass from the sugar industry for chemical and biotechnological purposes; Molecules; 2017; 22 (9), 1544; 1-26.	2.988* / 30 pkt.
26.	Rogowski J., Andrzejczuk M., <u>Berłowska J.</u> , Binczarski M., Kręgiel D., Kubiak A., Modelska M., Szubiakiewicz E., Stanishevsky A., Tomaszewska J., Witonska I.A., WxC-β-SiC nanocomposite catalysts used in aqueous phase hydrogenation of furfural, Molecules, 2017, 22(11), 2033; 1-18.	2.988* / 30 pkt
27.	Tomaszewska J., Dariusz Bieliński, Binczarski M., <u>Berłowska J.</u> , Dziugan P., Piotrowski J., Stanishevsky A., Witońska I., Products of sugar beet processing as raw materials for chemicals and biodegradable polymers, RSC Advances, 2018, 8(6), 3161-3177.	3.257* / 35 pkt

Naturalne suplementy w produkcji żywności

Prowadzone przeze mnie prace związane z zagospodarowaniem surowców roślinnych skierowane były również w kierunku pozyskiwania związków o szczególnym znaczeniu dla przemysłu spożywczego i napojowego.

Prace w/w obszarze tematycznym wykonywałam m.in. w ramach projektu INNOTECH (NCBiR) „Opracowanie technologii wytwarzania syropów cukrowych z buraka cukrowego jako substytutu cukru białego dla wybranych zastosowań w przemyśle spożywczym” (w którym pełniłam funkcję wykonawcy). W soku gęstym znajdują się pożądane związki biologicznie czynne, takie jak biotyna i kwas foliowy, a także witamina B6 i pozostałość kwasu

pantotenowego, które nie ulegają zniszczeniu w czasie poszczególnych stadiów produkcyjnych w cukrowni. Sok gęsty charakteryzuje się jednak brązowym zabarwieniem (karmel, melanoidy, melaniny, kompleksy pirokatechinowo-żelazowe) oraz specyficznym zapachem (geosminy, aldehydy, ketony, furany, lotne kwasy organiczne, wanilina, itd.) i zawartością szkodliwych związków niecukrowych, np. α -aminokwasów, betainy, kwasu asparaginowego, kwasu glutaminowego czy saponin, które ze względu na swoje właściwości obniżają jakość syropu. W toku badań opracowano warunki usuwania substancji dyskwalifikujących jego stosowanie w przemyśle spożywczym, poprzez wykorzystanie porowatych adsorbentów. Wytwarzanie syropu buraczanego (produktu oczyszczania soku gęstego), możliwe jest bez konieczności wykonania istotnych modyfikacji procesu technologicznego wytwarzania cukru z buraka cukrowego, a jedynie dobudowania prostej instalacji do oczyszczania soku gęstego. Moja uwaga skierowana była szczególnie na określenie możliwości wykorzystania nowego syropu sacharozowego. Wykazano, iż produkt ten może być stosowany jako dodatek do napojów (bezalkoholowych i alkoholowych), soków i nektarów warzywnych, dżemów, powideł, konfitur, a także sosów, ketchupów, i wielu produktów cukierniczych.

W okresie 01.12 2013 – 31.05.2014 odbyłam staż przemysłowy w Sulimar sp. z o. o. w Piotrkowie Trybunalskim. Celem przeprowadzonych przeze mnie badań było opracowanie receptury napoju funkcjonalnego. Cennym innowacyjnym rozwiązaniem, proponowanym w ramach projektu stażowego było wykorzystanie naturalnych właściwości soków z rodzimych owoców, stwarzających barierę antydrobnoustrojową, hamujących wzrost patogenów oraz zapewniających dodatkowe korzyści zdrowotne. Przeprowadzono m.in. badania właściwości soku żurawinowego w stosunku do mikroorganizmów zanieczyszczających napoje bezalkoholowe oraz dobrano poziom suplementacji napoju funkcjonalnego sokiem z żurawiny. Opracowany skład napoju przyczynia się do poprawy stabilności higienicznej linii produkcyjnej.

Kontynuacją współpracy z Sulimar sp. z o. o. była wspólna realizacja projektu "Bon na innowacje dla MŚP" (POIR.02.03.02-10-0001/15, PROGRAM OPERACYJNY INTELIGENTNY ROZWÓJ 2014-2020, oś priorytetowa 2; Wsparcie otoczenia i potencjału przedsiębiorstw do prowadzenia działalności B+R+I działanie; 2.3 Proinnowacyjne usługi dla przedsiębiorstw) „Opracowanie sposobu pozyskania substancji aktywnych z odpadów spożywczych oraz

technologii produkcji bezalkoholowych napojów funkcjonalnych”. Przedmiotem badań było opracowanie innowacyjnego sposobu pozyskania błonnika pokarmowego oraz aminokwasów, w tym aminokwasów rozgałęzionych BCAA (branched-chain amino acids), z odpadów browarniczych, a następnie wykorzystanie tych składników w funkcjonalnym napoju bezalkoholowym o prozdrowotnych właściwościach. Zakres prac w których brałam udział obejmował opracowanie sposobu pozyskania błonnika z młóta i aminokwasów z gęstwy drożdżowej, analizę składników oraz sposobu praktycznego ich przechowywania. Efektem działań jest zdefiniowany sposób otrzymywania ekstraktów drożdżowych z gęstwy drożdży browarniczych. Sposób ten jest znacznie korzystniejszy od powszechnie znanych metod ze względu na prostotę realizacji, nietoksyczność dla środowiska i skrócenie czasu prowadzenia procesu, co z kolei przekłada się na korzyści ekonomiczne dla przedsiębiorstwa. W kolejnym kroku opracowano technologię implementacji pozyskanych ekstraktów do napoju funkcjonalnego oraz określono warunki pasteryzacji i rozlewu, pozwalające na zachowanie wszystkich jego właściwości odżywczych. Efektem tych działań była pełna receptura napoju oraz blokowy schemat produkcji napoju. Obecnie trwają prace przygotowawcze w zakładzie zmierzające do wdrożenia produkcji opracowanego wyrobu.

Prace prowadzone we współpracy z firmą Sulimar sp. z o.o. miały charakter praktyczny a uzyskane wyniki chronione są umową (zapisy o zachowaniu poufności). Dlatego też moja atywność publikacyjna w tym zakresie miała charakter jedynie popularno-nakowy, efektem czego jest pięć artykułów w specjalistycznych czasopismach branżowych.

Wybrane publikacje w w/w obszarze:

MNiSW

28. Binczarski M., Witońska I., Berłowska J., Dziugan P., Piotrowski J.; Słodzenie soków sokiem z buraków; *Agro Przemysł*; 2013, 1/2013, 66-69;
29. Dudkiewicz M., Berłowska J., Kregiel D.; Oznaczanie białek metodą FTIR w produktach spożywczych i biotechnologicznych - cz. 1, *Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski*; 2015, 7-8, 55-60;
30. Dudkiewicz M., Berłowska J., Kregiel D.; Oznaczanie białek metodą FTIR w produktach spożywczych i biotechnologicznych - cz. 2, *Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski*; 2015, 9-10, 44-49;

31. Dudkiewicz M., Berłowska J., Kręgiel D.; Analiza białek i aminokwasów w środkach spożywczych i suplementach diety; Przemysł Spożywczy; 2015, 69 (2), 28-33; **5 pkt.**
32. Dudkiewicz M., Berłowska J., Kręgiel D.; Metody analizy aminokwasów w produktach biotechnologicznych; Laboratorium-Przegląd Ogólnopolski; 2016, 5-6, 7-12;

Naturalne środki powierzchniowo-czynne w przemyśle spożywczym i biotechnologii

Badania dotyczące wykorzystania biomasy buraka cukrowego w procesach fermentacyjnych rozszerzono o aspekty związane z obecnością saponin w tych środowiskach. Saponiny buraczane, znajdują się głównie pod naskórkiem korzenia buraczanego i stanowią osłonę buraka przed działaniem drobnoustrojów. Saponiny buraka cukrowego nie stanowią jednak zagrożenia dla ludzi, gdyż trudno wchłaniają się z przewodu pokarmowego. Jednakże, po przedostaniu się do krwioobiegu powodują hemolizę krwinek czerwonych oraz wywierają niekorzystny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. Związki te należą do trójterpenów. Do tej pory określono osiem struktur takich związków obecnych w korzeniu buraka, zawierających szkielet pięciu skondensowanych pierścieni, odpowiadający sapogenie, połączony wiązaniem glikozydowym z cukrowcem kwasowym, np. kwasem glukuronowym. Sapogeninami są związki należące do grupy β -amiryn, głównie jest to kwas oleanolowy. Wodne roztwory saponin charakteryzują się niskim napięciem powierzchniowym, co powoduje silne pienienie. Ponadto saponiny nie rozpuszczają się w środowisku kwaśnym, co jest przyczyną wytrącania się osadów pogarszających właściwości organoleptyczne produktów płynnych, np. zmętnienie lub wytrącenie osadu z napoju.

Badania nad rolą saponin prowadzono dwukierunkowo: w celu usuwania tych związków ze środowisk fermentacyjnych (poprzez zastosowanie metod adsorpcyjnych) oraz sprawdzeniu aktywności biologicznej pozyskanych frakcji. W plan badań włączono również określenie aktywności biologicznej ekstraktu z kory mydłokrzewu *Quillaja saponaria*. Preparat ten dopuszczony jest do kontaktu z żywnością i stosowany jako dodatek do napojów. Saponina z *Quillaja saponaria* jest naturalnym środkiem powierzchniowo-czynnym o dużym powinowactwie do steroli znajdujących się w membranie cytoplazmatycznej komórek drobnoustrojów. Jest substancją czynną posiadającą status GRAS (generally recognized as safe)

o udokumentowanych właściwościach antydrobnoustrojowych i antyadhezyjnych. W ramach przeprowadzonych prac zbadano efekt synergistycznego działania saponin oraz rutynowo stosowanych środków dezynfekcyjnych. Udowodniono, iż wstępne traktowanie odkażanych powierzchni roztworami saponin skutkuje obniżeniem wymaganych stężeń środków dezynfekcyjnych. Zjawisko to tłumaczyć można permeabilizacją membran komórkowych drobnoustrojów zanieczyszczających, a co za tym idzie większą penetracją dezynfektanta (biocydu). Procesowi płukania roztworem saponin z *Quillaja saponaria* (o stężeniu 0,1 ÷ 1 % wagowych i temperaturze od 5 do 30°C) powinno poddawać się powierzchnie przed dezynfekcją w czasie od 0,5 godz do 2 godz, a następnie przepłukać wodą i zastosować właściwy środek dezynfekcyjny. Szczególnymi walorami opracowanego rozwiązania, którego jestem współautorem są korzyści ekonomiczne oraz środowiskowe związane z zmniejszeniem zużycia środków dezynfekcyjnych. Nowe zastosowanie saponiny z *Quillaja saponaria* zostało zgłoszone do ochrony w Urzędzie Patentowym Rzeczypospoliej Polskiej. Efektem pogłębiania wiedzy z tego zakresu są również rozdział w książce, rozdział w monografii oraz artykuł o **IF_{5-letni} = 1.913***.

Wybrane publikacje w w/w obszarze:

- | | | |
|-----|---|---------------------------|
| 33. | Kucner M., Binczarski M., <u>Berłowska J.</u> , Bolin Z., Dziugan P., Modelska M., Witońska I.; Optimization of the adsorption/desorption over active carbon processes of saponins present in <i>Beta vulgaris</i> ; Innovative ecological preservatives preparations with natural substances of plant origin; 2014, ISBN 978-83-63929-28-2, 27-34; | 5 pkt. |
| 34. | Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Witońska I., Antolak H., Proestos Ch., Babic M., Babic L., Zhang B.; Saponin-based, biological-active surfactants from plants; Application and characterization of surfactants; 2017, InTech, 2017, chapter 6; doi.org/10.5772/68062; | 5 pkt. |
| 35. | Antolak H., Mizerska U., <u>Berłowska J.</u> , Otlewska A., Kręgiel D., <i>Quillaja saponaria</i> saponins with potential to enhance the effectiveness of disinfection processes in the beverage industry. Applied Sciences; 2018, 8, 368, 1-12. | 1.913*/
25 pkt |

Zgłoszenie patentowe:

- | | |
|---|---------------|
| Kręgiel D., <u>Berłowska J.</u> , Antolak H., "Sposób dezynfekcji chemicznej", zgłoszenie patentowe wniesione dnia 12.10.2017 z numerem P. 423143 | 2 pkt. |
|---|---------------|

PODSUMOWANIE

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie **52 prace (39 w języku angielskim oraz 13 w języku polskim)**, tym **47 po uzyskaniu stopnia doktora**. Prace doświadczalne opublikowane zostały w formie 30 artykułów recenzowanych w czasopismach zagranicznych i krajowych (**26 w czasopismach z listy filadelfijskiej**). Ponadto jestem również autorką 1 pracy przeglądowej w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, 10 publikacji popularno-naukowych, 5 rozdziałów w książkach, 3 rozdziałów w monografiach, 3 patentów, 1 zgłoszenia patentowego, 5 publikacji Conference Proceedings oraz 99 referatów i doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Prace publikowałam w następujących czasopismach anglojęzycznych:

Renewable Energy (IF _{2016, 5-letni} = 4.825)	1
Journal of Molecular Catalysis A-Chemical (IF _{2016, 5-letni} = 3.979)	1
Journal of Food Engineering (IF _{2016, 5-letni} = 3.585)	1
RSC Advances (IF _{2016, 5-letni} = 3.257)	3
Molecules (IF _{2016, 5-letni} = 2.988)	3
Enzyme and Microbial Technology (IF _{2016, 5-letni} = 2.962)	2
Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology (IF _{2016, 5-letni} = 2.8)	1
Energies (IF _{2016, 5-letni} = 3.257)	1
BioMed Research International (IF _{2016, 5-letni} = 2.578)	1
Applied Sciences (IF _{2016, 5-letni} = 1.913)	1
Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology (IF _{2016, 5-letni} = 1.879)	2
Yeast (IF _{2016, 5-letni} = 1.836)	1
World Journal of Microbiology and Biotechnology (IF _{2016, 5-letni} = 1.818)	3
Food Technology and Biotechnology (IF _{2016, 5-letni} = 1.349)	3
Chemical Papers (IF _{2016, 5-letni} = 1.194)	1
Journal of Intitute of Brewing (IF _{2016, 5-letni} = 1.075)	1
Polish Journal of Microbiology (IF _{2016, 5-letni} = 0.938)	1
Biotechnology and Food Science	2
Journal on Processing and Energy in Agriculture	1

oraz wydawanych w języku polskim:

Przemysł Fermentacyjny i Owocowo - Warzywny	2
Przemysł Spożywczy	1
Laboratorium Przegląd Ogólnopolski	5
Agro-Przemysł	1

Prace prezentowane w wyżej wymienionych publikacjach prowadziłam zarówno w **jednostkach naukowych polskich** (Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej Politechniki Łódzkiej) i **zagranicznych** (Universität für Bodenkultur, Institut für Milchforschung und Bakteriologie – staż 6-miesięczny, University of Novi Sad, Agricultural Faculty, Department of Agricultural Engineering - 2 tygodnie) jak i w **jednostkach przemysłowych** (w cukrowni Dobrzelin KSC S.A., w Centrum Wdrożeniowo-Innowacyjnym sp. z o. o – staż 6-miesięczny; w SULIMAR sp. z o. o – staż 6-miesięczny).

W latach 2011-2018 prowadziłam również działalność dydaktyczną oraz organizacyjną.

Działalność organizacyjna i prace eksperckie

Od roku 2012 pełnię rolę **pełnomocnika dziekana ds. Transferu technologii**.

Jako pełnomocnik dziekana ds. Transferu technologii opiekuję się i kieruję pracami związanymi z wprowadzaniem danych do modułu "Patenty i Dokonania" w systemie POL-on.

Ponadto jako pełnomocnik pracowałam (w latach 2012- 2016) w międzywydziałowym zespole powołanym przez prorektora ds. Innowacji PŁ - prof. dr hab. inż. Piotra Kulę. Prace zespołu skupiły się na budowie aktualnej oferty technologicznej Uczelni, która jest chwili obecnej dostępna na stronie internetowej PŁ. Rezultatem prac zespołu jest powstanie zaktualizowanej (względem uchwały senatu z 2013) treści Regulaminu zarządzania prawami własności intelektualnej oraz zasad komercjalizacji wyników badań naukowych i prac rozwojowych w Politechnice Łódzkiej (Uchwała Nr 3/2015 Senatu Politechniki Łódzkiej z dnia 25 lutego 2015 r).

Od rozpoczęcia pracy w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ podejmowałam realiację ekspertyz oraz prac analitycznych i badawczych zleconych przez jednostki gospodarcze głównie z przemysłu fermentacyjnego takie jak: Vin-kon S.A., SULIMAR sp. z o o, The Brasil, Jan Olbracht Browar Staromiejski, Grupa Żywiec S.A., Browar w Elblągu, DOCTOR BREW Sp. z o.o, Drukarnia Offsetowa WOWO sp. z o.o.

Od roku 2014 wykonałam 14 recenzji oryginalnych artykułów naukowych w następujących czasopismach: Journal of Chemical Technology & Biotechnology, Journal on Processing and Energy in Agriculture, Food and Bioproducts Processing, Pharmaceutical Biology, Scientific Reports, Molecules, Fermentation, Energy.

W latach 2014, 2015 byłam również członkiem Organizing Committees of XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium (3-5 wrzesień, 2014, Łódź, Polska) oraz International Scientific Committee of 2nd International Conference of Food and Biosystems Engineering FaBE 2015 (28-31 maj 2015, Mykonos, Grecja).

W roku 2017 czynnie uczestniczyłam w tworzeniu nowego laboratorium badawczego, w którym toczą się obecnie prace realizowane w ramach projektu BIOSTRATEG „Przetwarzanie biomasy odpadowej w skojarzonych procesach biologiczno-chemicznych”. Cztery, dotąd niewykorzystywane pomieszczenie, zostały wyremontowane a laboratorium wyposażone m.in. w komorę lamminarną, autoklaw, 4 inkubatory mikroskop z możliwością prowadzenia obserwacji w świetle fluorescencyjnym i odbitym oraz z możliwością rejestracji obrazu, refraktometr cyfrowy, gęstościomierz oscylacyjny, spektrofotometr UV-Vis Prove 600, analizator zawartości białka Direct Detect a także czytnik mikroplątek MultiScan Go.

Działalność dydaktyczna i popularyzatorska

W ramach działalności dydaktycznej do chwili obecnej prowadziłam zajęcia dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, Kolegium Towaroznawstwa, Centrum Kształcenia Międzynarodowego oraz Wydziału Organizacji i Zarządzania Politechniki Łódzkiej. Obejmowały one zarówno wykłady jak i zajęcia laboratoryjne na studiach stacjonarnych i niestacjonarnych pierwszego i drugiego stopnia. Szczegółowy opis realizowanych zadań dydaktycznych przedstawiłam w Załączniku 4.

Opracowałam treści oraz prowadziłam lub prowadzę następujące zajęcia dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ: **Procesy fermentacyjne** (wykład i laboratorium) dla kierunków Biotechnologia oraz Biotechnologia Środowiska, **Technologia przemysłu fermentacyjnego** (wykład specjalizacyjny), **Technologia napojów alkoholowych** (wykład), **Technologia piwowarstwa** (laboratorium), **Wina i piwa świata** (laboratorium fakultatywne), **Laboratorium specjalizacyjne** (laboratorium) dla kierunku Biotechnologia; **Innowacyjne technologie produktów fermentowanych** (laboratorium fakultatywne) dla kierunku Biogospodarka, **Technologia biokonwersji** (wykład i laboratorium) dla kierunku Biotechnologia Środowiska, oraz **Technologia fermentowanych produktów spożywczych** (wykład i laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka; dla studentów Centrum Kształcenia Międzynarodowego: **Industrial Fermentation Technology** (wycieczka technologiczna); dla studentów Kolegium Towaroznawstwa: Technologie przemysłu fermentacyjnego (wykład i laboratorium), dla studentów Wydziału Organizacji i Zarządzania Politechniki Łódzkiej: **Biotechnologia Żywności** (wykład i laboratorium) dla kierunku Zarządzanie i Inżynieria Produkcji.

Od roku akademickiego 2011/12 łączna liczba prowadzonych przeze mnie zajęć wykładowych systematycznie wzrastała od 15 do 90 godzin w roku 2015/16. W chwili obecnej jestem kierownikiem dwóch przedmiotów: Technologia przemysłu fermentacyjnego oraz Biotechnologia żywności.

W latach 2011 – 2014 byłem opiekunem roku studiów stacjonarnych pierwszego stopnia dla studentów kierunku Biotechnologia.

W latach 2012-2018 byłem opiekunem **19 prac dyplomowych na studiach I stopnia oraz 16 prac dyplomowych magisterskich**, na kierunku Biotechnologia.

Od 2015 roku **jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr inż. Michała Binczarskiego**. W latach 2015-2016 oraz 2016-2018 sprawowałam również opiekę naukową nad doktorantkami Martą Dudkiewicz oraz Weroniką Cieciorą.

Na moją działalność popularyzatorską składają się również **zajęcia dla dzieci i młodzieży szkół podstawowych i średnich** prowadzone w formie warsztatowej (w ramach inicjatywy „Dzrwi zawsze otwarte”) oraz szkolenia dla przedstawicieli przemysłu.

Moja działalność dydaktyczna została wyróżniona **nagrodami Rektora PŁ** za pracę na rzecz Wydziału oraz osiągnięcia **w działalności dydaktyczno-wychowawczej** (w latach 2011, 2012, 2013), oraz **nagrodami Rektora PŁ** za pracę na rzecz Wydziału oraz **osiągnięcia w działalności dydaktyczno-wychowawczej i naukowej** (w latach 2014, 2015, 2016).

Posumowanie danych scjentometrycznych dotyczących mojego dorobku naukowego przedstawiłam w tabeli poniżej:

Sumaryczny Impact Factor wszystkich prac (zgodnie z rokiem opublikowania).*	60.71
Sumaryczny Impact Factor prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora (zgodnie z rokiem opublikowania).*	58.46
Sumaryczny Impact Factor publikacji nie będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.*	41.56
Sumaryczna ilość punktów zgodnie z kryteriami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanymi w komunikatach Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych (zgodnie z rokiem opublikowania) dla wszystkich publikacji.**	846
Sumaryczna ilość punktów zgodnie z kryteriami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanymi w komunikatach Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych (zgodnie z rokiem opublikowania) dla publikacji opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora.**	727
Sumaryczna ilość punktów zgodnie z kryteriami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanymi w komunikatach Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych (zgodnie z rokiem opublikowania) dla publikacji nie będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.**	587
Index Hirscha według Web of Science	8
Index Hirscha według Scopus	9
Liczba cytowań według Web of Science (bez autocytowań)	145 (106)
Liczba cytowań według Scopus (bez autocytowań)	168 (107)

*Indeksy IF za lata 2017 i 2018 nie zostały obliczone. Do obliczeń przedstawionych w tabeli dla publikacji, które ukazały się w latach 2017 i 2018, wykorzystano więc wartości 5-letnich IF₂₀₁₆ (wskazane w wykazie dorobku).

**Lista czasopism punktowanych za rok 2017 i 2018 nie została opublikowana. Do obliczeń przedstawionych w tabeli dla publikacji, które ukazały się w latach 2017 i 2018, przyjęto więc punktację z listy opublikowanej 26 stycznia 2017 za lata 2013-2016.