
AUTOREFERAT

OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

DR INŻ. MICHAŁ SMOCZYŃSKI

*KATEDRA MLECZARSTWA I ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ
WYDZIAŁ NAUKI O ŻYWNOŚCI
UNIwersytet WARMIŃSKO- MAZURSKI
10-719 OLSZTYN, OCZAPOWSKIEGO 7
TEL. 89 523 32 11
E-MAIL: michal.smoczynski@uwm.edu.pl*

Olsztyn 2015

SPIS TREŚCI

I	DANE OSOBOWE.....	3
II	POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE.....	3
III	INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH.....	3
IV	WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI.....	4
	A. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA.....	4
	B. PUBLIKACJE NAUKOWE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
	C. OMÓWIENIE PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	6
V	OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH.....	16
VI	PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWO – BADAWCZEGO.....	23

I. DANE OSOBOWE

Michał Smoczyński
Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn, Polska
Tel. 89 523 32 11
e-mail: michal.smoczynski@uwm.edu.pl

II. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE - Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

- **Magister inżynier** na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka; Zakład Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydział Technologii Żywności; Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie; 1992 r.

Tytuł pracy magisterskiej:

„Pozyskiwanie i utrwalanie przez zamrożenie biopreparatu o działaniu fungistatycznym”

Promotor: dr. inż. Iwona Warmińska - Radyko

- **Doktor nauk rolniczych** w zakresie technologii żywności i żywienia; Katedra Biochemii Żywności, Wydział Nauki o Żywności; Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie; 1999 r.; praca obroniona z wyróżnieniem.

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Fraktalna charakterystyka mikrostruktury wybranych produktów żywnościowych”

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Dziuba

III. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH

1992 – 1999 r. asystent, Katedra Biochemii Żywności, Wydział Technologii Żywności, obecnie Wydział Nauki o Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie;

1999 – 2000 r. adiunkt, Katedra Biochemii Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie, obecnie Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie;

2001 – 2009 r. adiunkt, Katedra Biochemii Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie;

2009 do chwili obecnej adiunkt, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie;

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

A. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:

„Zmiany strukturalnych i biofunkcjonalnych właściwości tłuszczu mlekowego pod wpływem obróbki ciśnieniowej”

Rozprawę habilitacyjną stanowi spójny tematycznie cykl publikacji.

B. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO (AUTOR/AUTORZY, DATA WYDANIA, TYTUŁ PUBLIKACJI, WYDAWCA LUB CZASOPISMO, TOM STRONY)

1. Kielczewska K., Staniewski B., Brandt W., Czerniewicz M., **Smoczyński M.** 2011. Effect of high pressure treatment on selected properties of the milk emulsion phase. *Milchwissenschaft*, 66(3), 248-250

(IF - 0.350; punkty MNiSW – 15; ilość cytowań - 0)

2. Staniewski B., Kielczewska K., **Smoczyński M.**, Baranowska M., Czerniewicz M., Brandt W. 2012. Effect of high pressures on the composition of milk fat triacylglycerols. *Milchwissenschaft*, 67(1), 18-21

(IF - 0.279; punkty MNiSW – 15; ilość cytowań - 1)

3. **Smoczyński M.**, Staniewski B., Kielczewska K. 2012. Composition and structure of the bovine milk fat globule membrane – some nutritional and technological implications. *Food Reviews International*, 28(2), 188-202

(IF – 1.917; punkty MNiSW – 30; ilość cytowań - 4)

4. **Smoczyński M.**, Kielczewska K. 2014. Fractal and physico-chemical analysis of cow milk fat globules after lipolysis. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(3), 207-216

(IF – 0.444; punkty MNiSW – 20; ilość cytowań - 0)

5. **Smoczyński M.**, Staniewski B. 2014. Saliva-induced flocculation of milk fat globules studied by image analysis. *Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food*, Volume 2, ISSN 1314-8591, 542-548

(IF – 0; punkty MNiSW – 0; ilość cytowań - 0)

6. Staniewski B., **Smoczyński M.**, Staniewska K., Baranowska M., Kielczewska K., Żulewska J. 2015. Assessment of changes in crystallization properties of pressurized milk fat by fractal analysis. *Journal of Dairy Science*, 98, 2129-2137

(IF - 2.550; punkty MNiSW – 45; ilość cytowań - 0)

Łącznie

- Impact factor (IF) – **5.540**

(według listy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania, dla publikacji z 2014 roku, dla których IF nie został obliczony podano ostatni aktualny);

- Punkty MNiSW – **125**

(zgodnie z komunikatem z dnia 31.12.2014 w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach);

- liczba cytowań - **5**

(na dzień 28 kwietnia 2015 r. według bazy Web of Science Core Collection);

C. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

Wprowadzenie

Mleko, a w tym również tłuszcz mlekowy jest ważnym składnikiem diety człowieka. Substancje lipidowe są niezwykle złożoną grupą związków chemicznych, które oprócz dostarczania energii niezbędnej do procesów życiowych, są również podstawowym budulcem błon biologicznych oraz pełnią wiele biologicznie istotnych i nie do końca poznanych funkcji. Z tego względu dokładne rekomendacje żywieniowe dotyczące tej grupy związków pozostają nie do końca jasne i sprecyzowane [Bruce German, 2011]. Lepsze poznanie funkcji i właściwości tych związków, ich metabolizmu, biodostępności i roli w odżywianiu jest niezwykle istotne, szczególnie w świetle takich problemów zdrowotnych współczesnego społeczeństwa, jak choroby układu krążenia oraz serca, cukrzyca insulino-niezależna typu II, alergia czy otyłość.

Wymienione problemy zdrowotne jak i wzrost świadomości konsumentów spowodowały w ostatnich latach wzrost zainteresowania żywnością funkcjonalną. Również coraz większą uwagę zwraca się na żywieniowe, bioaktywne i prozdrowotne właściwości żywności i jej składników. Jednak przy projektowaniu żywności prozdrowotnej, główny nacisk kładzie się na dodawanie czy też wzbogacanie produktów najczęściej w pojedyncze bioaktywne składniki. Natomiast mało uwagi przykładą się do zachowania naturalnych, molekularnych struktur w żywności i ich wpływu na zdrowotne właściwości produktu [Argov et al, 2008]. Dzięki określonej strukturze białka w mleku, tj. występowania kazeiny w formie miceli kazeinowych, pod wpływem podpuszczki powstaje w żołądku niemowlęcia skrzep, spowalniający wydzielanie poszczególnych składników i tym samym umożliwiając ich efektywniejsze wchłanianie. W przypadku tłuszczu mlekowego również mamy do czynienia z uporządkowaną i złożoną strukturą, tym samym mogą z niej wynikać określone funkcje istotne dla organizmu.

Tłuszcz występuje w mleku w formie kuleczek tłuszczowych. Są to złożone struktury o średnicy od 0,2 do 15 μm , przy czym średnia wynosi 4 μm . Wewnątrz kuleczek znajdują się głównie triacyloglicerole, które otoczone są potrójną warstwą fosfolipidowo-białkową, tzw. otoczką kuleczek tłuszczowych mleka (ang. MFGM – milk fat globule mebrane) [Keenan, 2001]. Ta potrójna warstwa lipidowa jest unikalną strukturą w biologii, a komórki nabłonkowe gruczołu mlekowego są jedynymi do tej pory znanymi komórkami, zdolnymi do

wydzielania wewnątrzcytoplazmatycznych kropelek lipidowych na zewnątrz komórki. Składniki otoczki pełnią funkcję dyspergującą, ale ich niezwykle złożony skład, może wskazywać na znacznie istotniejszą rolę w odżywianiu. W ostatnich latach rośnie ilość doniesień na temat bioaktywności składników otoczki [Fong et al, 2006; Singh, 2006; Spitsberg, 2005]. Oprócz występowania tych związków, na ich aktywność może również wpływać struktura w jakiej występują one w matrycy oraz ich wzajemne oddziaływanie.

W przypadku karmienia piersią, mleko dostarczane jest w formie nienaruszonej, wykazującej pełną aktywność biologiczną i fizjologiczną. Natomiast w przemyśle mleczarskim mleko, a tym samym tłuszcz mlekowy, podlega różnorodnym procesom technologicznym. Podczas transportu, przechowywania mleka, oraz w trakcie takich zabiegów technologicznych jak pasteryzacja, sterylizacja czy homogenizacja, następują zmiany w strukturze i składzie natywnej otoczki kuleczek tłuszczowych. W literaturze zagadnienie to określane jest mianem „uszkodzenia” otoczki kuleczek tłuszczowych [Evers, 2004].

Na strukturę otoczki kuleczki tłuszczowej w szczególnie istotny sposób wpływają takie procesy jak procesy homogenizacja czy presuryzacja, w których istotną rolę odgrywa zastosowane wysokie ciśnienie. W trakcie homogenizacji dochodzi do rozerwania kuleczek tłuszczowych. Część materiału otoczki przechodzi do plazmy mleka, natomiast pozostała powiększona powierzchnia międzyfazowa musi zostać pokryta innymi powierzchniowo czynnymi składnikami, głównie micelami kazeinowymi oraz białkami serwatkowymi [Cano Ruiz, Richter, 1997]. W wyniku tego procesu następuje nie tylko zmniejszenie rozmiarów kuleczek tłuszczowych (zwiększenie ich powierzchni), ale zmienia się również ich skład powierzchniowy.

Presuryzacja natomiast jest nietermiczną metodą utrwalania żywności. Oprócz eliminacji drobnoustrojów, metoda ta wpływa również na teksturę produktów spożywczych. Można ją stosować zarówno do mleka, jak też i bezpośrednio do tłuszczu mlekowego. W przypadku mleka wykazano istotne zmiany w układzie składników w poszczególnych fazach, wpływające między innymi na jego technologiczne właściwości, w tym na wielkość kuleczek tłuszczowych i krystalizację tłuszczu mlekowego [Huppertz et al, 2002].

W przedstawionym ciągu publikacji podjąłem się badań nad zależnościami pomiędzy strukturą a biofunkcjonalnymi właściwościami tłuszczu mlekowego. Jednym z nadrzędnych celów było określenie roli natywnej struktury tłuszczu mlekowego w odżywianiu i metabolizmie tłuszczu. W badaniach wykorzystano procesy ciśnieniowe, ponieważ wpływają one w szczególnie istotny sposób na strukturę tłuszczu mlekowego. Dodatkowymi

celami szczegółowymi mającymi umożliwić realizację zaplanowanego zadania i poszerzenie wiedzy z tego zakresu były:

- badania nad wpływem presuryzacji na właściwości fizykochemiczne i strukturalne tłuszczu mlekowego, poszukiwanie metod umożliwiających ocenę mikrostruktury tłuszczu mlekowego;
- badania nad wpływem presuryzacji na zmiany w układzie emulsyjnym mleka;
- badania nad wpływem homogenizacji mleka na zmiany w biodostępności tłuszczu mlekowego metodą *in vitro*;
- określenie zmian w układzie emulsyjnym mleka podczas procesów związanych z trawieniem tłuszczu mlekowego *in vitro* i poszukiwanie metod umożliwiających ich ocenę.

Realizację założonych celów rozpoczęto od badań nad wpływem presuryzacji na fizykochemiczne i strukturalne wyróżniki bezwodnego tłuszczu mlekowego, pozyskanego z masła ekstra. Presuryzację przeprowadzono przy czterech wartościach ciśnienia (100, 200, 300, 400 MPa) oraz przy dwóch różnych temperaturach procesu (10 i 40°C). Tego typu układ eksperymentu pozwolił na przeprowadzenie dwuczynnikowej analizy wariancji wpływu pięciu poziomów ciśnienia (łącznie z próbką nie poddaną procesowi) oraz dwóch poziomów temperatury presuryzacji. Oznaczono skład kwasów tłuszczowych i skład frakcji triacyloglicerolowej metodą chromatografii gazowej, krzywe płynięcia i topnienia wraz z efektami egzo- i endotermicznymi metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej, oraz analizę mikroskopową uzyskanych obrazów krystalizacji tłuszczu mlekowego. W przypadku obrazów mikrostruktury zastosowano analizę obrazu pozwalającą na wyznaczenie powierzchniowego wymiaru fraktalnego, jako dodatkowego parametru umożliwiającego ilościowe porównanie zmian zachodzących w obserwowanych strukturach pod wpływem presuryzacji. W przeprowadzonym badaniu statystyczna analiza wyników wykazała, że skład poszczególnych frakcji triacyloglicerolowych nie uległ zmianie w trakcie procesu presuryzacji, niezależnie od zastosowanego ciśnienia czy temperatury. Wynik ten jest zgodny z danymi literaturowymi, gdzie przyjmuje się, że wiązania kowalencyjne pozostają w zasadzie nienaruszone, przynajmniej przy zastosowaniu niewysokich temperatur w zakresie od 0-40°C [Mozhaev et al., 1994].

Badania przeprowadzone z wykorzystaniem skaningowego kalorymetru różnicowego oraz analiza statystyczna wykazały, że zastosowane w doświadczeniu warunki presuryzacji

również nie wywierały praktycznie wpływu na zmiany temperatur głównych efektów endotermicznych na krzywych topnienia badanych próbek poddanych oddziaływaniu wysokich ciśnień, i to niezależnie od wysokości ciśnienia jak i temperatury procesu. Stwierdzono natomiast istotne statystycznie niewielkie przesunięcie w stronę wyższych temperatur I efektu egzotermicznego towarzyszącego topieniu się próbek presuryzowanych w warunkach pomiaru DSC. Efekt ten, jak wskazują wyniki analizy wariancji, był przy tym zależny od wartości ciśnienia, ale nie zależał istotnie statystycznie od temperatury procesu presuryzacji. Wyniki te znalazły pewne odbicie w przeprowadzonej analizie mikroskopowej, ponieważ stwierdzono wyraźne różnice obrazów krystalizacji próbek tłuszczu mlekowego poddanych presuryzacji, w porównaniu z próbką kontrolną.

Podwyższenie ciśnienia presuryzacji jak i wyższa temperatura wpłynęły na zróżnicowanie powierzchni. Jednak werbalny opis tego typu struktur niesie ze sobą ryzyko nieobiektywności i często trudno jest jednoznacznie opisać tego typu struktury. Z tego powodu do analizy mikrostruktury zastosowano analizę obrazu prowadzącą do wyznaczenia wymiaru fraktalnego. Przy ciśnieniach presuryzacji 200 i 300 MPa i temperaturze 10°C uzyskano najwyższe wartości wymiarów fraktalnych dla tłuszczu. Wyższa temperatura (40°C) mogła wpłynąć na upłynnienie części tłuszczu, i jako bardziej podatna na powierzchniowe deformacje kształtu pod wpływem ciśnienia, wpłynęła na zmniejszenie postrzępienia linii brzegowej obserwowanych kształtów i wygładzenie ich konturów. Tak wyznaczony wymiar fraktalny może być dodatkowym wyróżnikiem umożliwiającym szerszą charakterystykę i zróżnicowanie właściwości strukturalnych tłuszczu mlekowego. Tego typu podejście może być również zastosowane do badań nad możliwościami kształtowania jego cech użytkowych, istotnych ze względów technologicznych. Wyniki te zawarte są w **publikacjach 2 i 6**.

Następne badania dotyczyły presuryzacji tłuszczu mlekowego w formie natywnej, globularnej, właściwej dla mleka. Badano wpływ wysokiego ciśnienia (w zakresie od 200 do 1000 MPa, co 200 MPa) przy czasach oddziaływania 15, 25 i 35 minut na wybrane właściwości fazy emulsyjnej i koloidalnej mleka o zawartości tłuszczu 3.5 %. Zmiany w wielkości kuleczek tłuszczowych oznaczone zostały za pomocą analizy obrazu wykonanej przy użyciu mikroskopu optycznego, kamery i monitora. Pozwoliło to na obliczenie średniej arytmetycznej średnicy kuleczek, objętościowo-powierzchniowej średnicy kuleczek (tzw. średnicy Sautera) oraz powierzchni tłuszczu w 1 cm³ mleka. Następnie w badanych próbkach oddzielono za pomocą wirowania fazę emulsyjną od plazmy mleka. W otrzymanych fazach oznaczano zawartość tłuszczu i białka, w celu oznaczenia ilości białka związanego z tłuszczem mlekowym.

Uzyskane wyniki wykazały, że obróbka wysokim ciśnieniem wpłynęła w pewnym stopniu na fazę emulsyjną mleka. Zaobserwowano nieznaczną deformację kuleczek tłuszczowych, pojawienie się małej liczby powiększonych kuleczek (możliwa koalescencja kuleczek tłuszczowych) oraz występowanie kuleczek w formie zlepionej (flokulacja). Dane z analizy obrazu wykazały nieznaczny wzrost średniej arytmetycznej średnicy kuleczek oraz wyraźniejszy wzrost średnicy Sautera (wskazuje na większą niejednorodność rozmiarów kuleczek), przy jednoczesnym spadku powierzchni kuleczek tłuszczowych. Jednak zmiany te były statystycznie istotne dopiero przy ciśnieniu powyżej 800 MPa. Równolegle w badanych próbach zachodziły niewielkie, jednak statystycznie istotne zmiany w układzie koloidalnym mleka. Zaobserwowano zależny od ciśnienia i czasu wzrost ilości białek plazmy zaadsorbowanych na kuleczkach tłuszczowych. Adsorpcja ta może wpłynąć na wzrost gęstości kuleczek tłuszczowych i tym samym zmniejszenie zjawiska podstoju tłuszczu. Stosunek białek koagulujących do rozpuszczalnych przy pH 4.6 również wzrósł wraz ze wzrostem stosowanego ciśnienia. Może to wynikać częściowo z asocjacji zdenaturowanej β -laktoglobuliny (najbardziej wrażliwej na oddziaływanie wysokiego ciśnienia) z micelami kazeinowymi. Wyniki te zawarte zostały w **publikacji 1**.

Jak wskazują wyniki uzyskane w omówionych powyżej publikacjach obróbka metodą wysokich ciśnień wywołuje pewne zmiany w strukturze presuryzowanego tłuszczu mlekowego, zarówno w formie stałej jak i globularnej. Jednak w przypadku bezwodnego tłuszczu mlekowego trudno jest mówić o zmianach w natywnej strukturze i tym samym rola struktury z żywieniowego punktu widzenia jest mniej istotna. Natomiast w przypadku formy globularnej występują zmiany w natywnej strukturze otoczki kuleczki tłuszczowej. Zmiany te mogą mieć wpływ na biologiczną aktywność i tym samym żywieniowe czy też biofunkcjonalne właściwości natywnej struktury kuleczki. Skłoniło mnie to do przestudiowania dostępnej literatury poruszającej tą tematykę. Owocem tego było powstanie publikacji przeglądowej z tego zakresu. Podjęto się w niej (**publikacja 3**) przedyskutowania w oparciu o aktualny stan wiedzy zależności pomiędzy strukturą otoczki kuleczek tłuszczowych mleka (ze szczególnym uwzględnieniem natywnej otoczki) a biologicznymi i biofunkcjonalnymi właściwościami tłuszczu mlekowego. W pracy omówione zostały między innymi składniki otoczki kuleczek tłuszczowych mleka (zarówno białka jak i fosfolipidy), zagadnienia związane ze strukturą i rolą natywnej otoczki kuleczki tłuszczowej mleka, powstawanie wewnątrzcytoplazmatycznych kropelek lipidowych, biologiczne i prozdrowotne właściwości jej składników. Przedyskutowano również potencjalny wpływ procesów technologicznych na bioaktywność składników otoczki. W pracy zacytowano 85

anglojęzycznych pozycji literaturowych (praktycznie niedostępna literatura z tego zakresu w języku polskim).

Jak wspomniano wcześniej bardziej znaczące zmiany w strukturze kuleczki tłuszczowej zachodzą pod wpływem homogenizacji. Gwałtowny wzrost prędkości przepływu z jednoczesnym spadkiem ciśnienia powoduje rozerwanie kuleczek tłuszczowych. Oprócz tego w przeciwieństwie do presuryzacji, proces homogenizacji jest powszechnie stosowany w produkcji mleka spożywczego czy też śmietanki spozywczej. Stąd potencjalnie większe znaczenie tego procesu w aspekcie żywieniowym. Z tych względów w dalszych badaniach modelowych zastosowano homogenizację i skupiono się na roli natywnej otoczki kuleczki tłuszczowej mleka w procesie trawienia tłuszczu mlekowego. W tym celu w przeprowadzonych badaniach zastosowano metodę trawienia tłuszczu mlekowego w warunkach *in vitro*. Celem tych badań było określenie wpływu zmian w otoczce kuleczek tłuszczowych na biodostępność tłuszczu mlekowego, poprzez oznaczenie szybkości uwalniania kwasów tłuszczowych przez lipazę, wpływu soli żółciowych na ten proces oraz ocenę zmian zachodzących w układzie emulsji w trakcie procesu lipolizy.

W trakcie przeprowadzonych badań porównano kuleczki tłuszczowe z mleka surowego, homogenizowanego i homogenizowanego z dodatkiem fosfatydylocholiny. Dodatek fosfolipidu przed homogenizacją zastosowano w celu wytworzenia otoczki o odmiennych właściwościach, ponieważ ze względu na swoje właściwości powinien łatwiej wbudować się w nowo wytworzoną w trakcie homogenizacji powierzchnię międzyfazową na powierzchni kuleczek tłuszczowych mleka. Uzyskane wyniki potwierdziły uzyskanie w tym wypadku otoczki o odmiennych właściwościach. Otoczka ta spowodowała spowolnienie procesu lipolizy w obecności soli żółciowych w porównaniu do mleka homogenizowanego. Obecność soli żółciowych wpłynęła na znaczne zintensyfikowanie procesu lipolizy dla wszystkich próbek mleka. W przypadku mleka surowego i nieobecności soli żółciowych ilość uwolnionych kwasów tłuszczowych była najmniejsza (ca. 14.5 $\mu\text{mol/ml}$ po 1 godzinie, co odpowiada ok. 10% tłuszczu), co głównie związane jest z dużo mniejszą dostępną powierzchnią międzyfazową i hamującym działaniem natywnej otoczki na proces lipolizy. Jednak w obecności soli żółciowych ilość uwolnionych kwasów tłuszczowych z mleka surowego była na poziomie mleka homogenizowanego z dodatkiem fosfolipidu (odpowiednio 57.7 i 60.0 $\mu\text{mol/ml}$ po 1 godzinie dla mleka surowego i homogenizowanego z dodatkiem fosfolipidu). Dla mleka homogenizowanego uzyskano większą ilość uwolnionych kwasów tłuszczowych (71.4 $\mu\text{mol/ml}$ po 1 godzinie). W przypadku mleka homogenizowanego w wytworzeniu nowo powstałej powierzchni międzyfazowej brały głównie udział kazeina

i białka serwatkowe, i jako takie były łatwiejsze do usunięcia z tej powierzchni przez sole żółciowe. W przypadku mleka homogenizowanego z dodatkiem fosfatydylocholiny, obecny w trakcie homogenizacji fosfolipid wziął udział w wytworzeniu nowej powierzchni międzyfazowej, tym samym stosunek fosfolipidów do białek w tej powierzchni mógł być zbliżony do ich ilości w mleku surowym, co potwierdziły uzyskane wyniki ilości uwolnionych kwasów tłuszczowych. Wskazuje to na istotną rolę natywnej struktury otoczki w procesie trawienia tłuszczu mlekowego, która w nieobecności soli żółciowych chroni przed niepożądaną lipolizą, natomiast przy ich obecności umożliwia efektywny rozkład triacylogliceroli pod wpływem lipazy. W mleku z dodanym fosfolipidem efekt chroniący przed niepożądaną lipolizą nie występował.

Zmianom enzymatycznym zachodzącym podczas lipolizy towarzyszyły procesy flokulacji, lub też koalescencji. Obserwowane zmiany w układzie emulsji przebiegały podobnie dla wszystkich próbek mleka i były proporcjonalne do uzyskanych wyników lipolizy. Różniły się jedynie wielkością powstających agregatów, które były proporcjonalne do rozmiarów kuleczek tłuszczowych prowadzących do ich powstania. Podczas pomiarów rozkładu wielkości cząstek metodą dyfrakcji laserowej występują siły ścinające, wynikające z mieszania próbki, zatem delikatne oddziaływania między kuleczkami tłuszczowymi mogą ulec zniszczeniu, co może prowadzić do niewłaściwych wyników. Dlatego w celu oceny stopnia flokulacji zaproponowano dodatkową metodę analizy obrazu, umożliwiającą wykrycie delikatnych zmian w układzie emulsji. Metoda ta może być przydatną alternatywą lub też uzupełnieniem badań dotyczących rozkładu wielkości cząstek w układach emulsyjnych. Wyniki tych badań zostały zawarte w **publikacji 4**.

Jednym z istotnych elementów układu trawiennego jest ślina. Jest ona złożonym płynem biologicznym, zawierającym szereg różnych białek, elektrolitów, składników organicznych oraz wodę, pełniącym różnorodne funkcje poprzez oddziaływanie ze spożytym pokarmem [van Aken et al., 2007]. Pod wpływem występujących w ślinie mucyn następować mogą zmiany w emulsji prowadzące do flokulacji kuleczek tłuszczowych a nawet ich koalescencji [Silletti et al, 2007]. Zmiany te w istotny sposób mogą wpływać na dalsze procesy trawienne w tym procesy enzymatyczne zachodzące pod wpływem lipazy. Stąd celem kolejnych badań było określenie różnic w interakcjach pomiędzy otoczką kuleczek tłuszczowych w formie natywnej i homogenizowanej a śliną. Do badania zmian w układzie emulsyjnym pod wpływem śliny zastosowano metodę dyfrakcji laserowej oraz metodę analizy obrazu układu emulsyjnego.

Uzyskane wyniki dostarczyły ilościowej charakterystyki procesu flokulacji. Stwierdzono, że proces flokulacji pod wpływem śliny zachodził intensywniej w przypadku natywnych kuleczek tłuszczowych mleka, niż dla kuleczek o zmienionej powierzchni międzyfazowej w mleku homogenizowanym, co może wskazywać na pewne dopasowanie natywnej kuleczki do oddziaływań ze śliną. Pomimo różnic w wielkościach kuleczek tłuszczowych, ich flokulacja prowadziła do uzyskania podobnej wielkości agregatów. Uzyskana wielkość (średnio ok. 50 μm) może być wynikiem balansu pomiędzy siłami wiążącymi, a siłami powodującymi destabilizację zbyt dużych agregatów. Proces flokulacji ulegał nieznacznemu cofnięciu po 5 minutach, co potwierdzono obiema metodami badawczymi. Ponieważ na powierzchni kuleczek tłuszczowych występuje potencjał ujemny (-12 - -20 mV), może to wskazywać na mechanizm flokulacji poprzez tzw. wyczerpanie (depletion process). Istotną rolę mogą tu odgrywać ujemnie naładowane cząsteczki białka mucyny występujące zarówno w ślinie jak i na powierzchni kuleczek tłuszczowych. Ich występowanie może być też związane ze wspomnianym wcześniej cofnięciem procesu flokulacji. Uzyskane wyniki wskazały na istotną rolę zarówno stężenia śliny, jak i mechanicznego oddziaływania na wzajemne interakcje pomiędzy kuleczkami tłuszczowymi a śliną. Zastosowana metoda analizy obrazu stanowi unikalne podejście, mogące dostarczyć nowych, szerszych jak i komplementarnych informacji na temat obserwowanych procesów. Wyniki te zawarte są w **publikacji 5**.

Podsumowując, nadrzędnym celem przeprowadzonych badań było wskazanie na potencjalnie istotną rolę natywnej struktury tłuszczu mlekowego i zależności między strukturą a jego biofunkcjonalnymi właściwościami. Presuryzacja wpływa na mikrostrukturę zarówno tłuszczu mlekowego w formie stałej jak i globularnej. Jednak istotniejsze zmiany dla natywnej struktury zachodzą pod wpływem homogenizacji. Wykazane różnice w oddziaływaniach z elementami układu trawiennego pomiędzy natywnymi kuleczkami, a zmienionymi w wyniku homogenizacji, wskazują na potencjalne możliwości do lepszego wykorzystania właściwości tłuszczu mlekowego. Ponieważ mleko ewoluowało razem z człowiekiem i wiele z jego właściwości pozostaje wciąż niepoznanych, dalsze badania z tego zakresu mogą pozwolić na lepsze odżywianie i wykorzystanie tych właściwości jako nutraceutyków.

Do głównych osiągnięć przeprowadzonych badań można zaliczyć:

- wykazanie wpływu presuryzacji tłuszczu mlekowego na zmiany przebiegu krzywych krystalizacji w odniesieniu do I efektu egzotermicznego. Zastosowanie analizy obrazu w ilościowej charakterystyce obrazów krystalizacji próbek tłuszczu;
- wykazanie zmian w układzie emulsyjnym i koloidalnym presuryzowanych próbek mleka;
- wykazanie różnic w oddziaływaniach natywnych i homogenizowanych kuleczek tłuszczowych z elementami układu trawiennego;
- potwierdzenie wpływu dostępnej powierzchni międzyfazowej oraz istotnej roli natywnej otoczki kuleczek tłuszczowych mleka na biodostępność tłuszczu mlekowego;
- wykazanie i potwierdzenie roli soli żółciowych, fosfolipidów i śliny w trakcie procesu trawienia substancji lipidowych;
- zastosowanie analizy obrazu do ilościowej oceny stopnia flokulacji czy też zmian w układach emulsyjnych;
- wykazanie istotnej roli zarówno stężenia jak i mechanicznego oddziaływania na wzajemne interakcje pomiędzy kuleczkami tłuszczowymi a śliną.

Literatura:

- Argov N., Lemay D.G, German J.B. Milk Fat Globule Structure and Function: Nanoscience Comes to Milk Production. Trends Food Sci Tech 2008, 19, 617-623.
- Bruce German J. Dietary lipids from an evolutionary perspective: sources, structures and functions. Matern Child Nutr 2011, 7, 2-16.
- Cano Ruiz M.E., Richter R.L. Effect of homogenization pressure on the milk fat globule membrane proteins. J Dairy Sci 1997, 80(11), 2732–2739.
- Evers J.M. The Milk Fat Globule Membrane - Methodologies for Measuring Milk Fat Globule (Membrane) Damage. Int Dairy J 2004, 14, 747-760.
- Fong B.Y., Norris C.S., MacGibbon A.K.H. Protein and Lipid Composition of Bovine Milk-Fat-Globule Membrane. Int Dairy J 2007, 17, 275-288.

- Huppertz T., Kelly A.L., Fox P.F. Effect of high pressure on constituents and properties of milk. *Int Dairy J* 2002, 12, 561-572.
- Keenan T.W. Milk Lipid Globules and their Surrounding Membrane: A Brief History and Perspectives for Future Research. *J Mammary Gland Biol* 2001, 6(3), 365-371.
- Mozhaev V., Heremans K., Frank J., Masson P., Balny C. Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications. *Trends Biotechnol* 1994, 12, 493-501.
- Silletti E., Vingerhoeds M.H., Norde W., van Aken G.A. The role of electrostatics in saliva-induced emulsion flocculation. *Food Hydrocolloid* 2007, 21, 596-606.
- Singh H. The Milk Fat Globule Membrane - A Biophysical System for Food Applications. *Curr Opin Colloid In* 2006, 11, 154-163.
- Spitsberg V.L. Bovine Milk Fat Globule Membrane as a Potential Nutraceutical. *J Dairy Sci* 2005, 88(7), 2289-2294.
- Van Aken G.A., Vingerhoeds M.H., de Hoog E.H.A. Food colloids under oral conditions. *Curr Opin Colloid In* 2007, 12, 251-262.

V. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO – BADAWCZYCH

A. BIOSYNTeza, METABOLIZM I WŁAŚCIWOŚCI STRUKTURALNE TŁUSZCZU MLEKOWEGO

Skład mleka w tym i tłuszczu mlekowego jest niezwykle złożony. Dzieci karmione mlekiem matki, w porównaniu do karmionych mlekiem modyfikowanym wykazują mniejszą podatność na szereg chorób takich jak np.: biegunka, infekcje układu oddechowego i moczowego, astma, martwicze zapalenie jelit, celiakia czy cukrzyca typu I. Stąd rola składników mleka w dużym stopniu wykracza poza funkcje typowo żywieniowe. Pomimo że właściwości biologiczne determinowane są w dużej mierze poprzez strukturę, to w dalszym ciągu niewiele wiadomo o biologicznej roli natywnej kuleczki tłuszczowej, w tym jej otoczki, na mechanizmy regulujące np. trawienie i wchłanianie składników lipidowych przez organizm, czy też o jej wpływie na inne obszary funkcjonowania organizmu takie jak fizjologia układu pokarmowego, właściwa struktura kosmków jelitowych, funkcjonowanie układu immunologicznego czy też właściwy skład flory bakteryjnej jelita. Sprawne zarządzanie substancjami hydrofobowymi w hydrofilowym środowisku komórki, w tym ich biosynteza i metabolizm, wymaga specyficznych mechanizmów ściśle związanych i wynikających z natury i strukturalnych właściwości związków lipidowych.

W powstałych pracach przeglądowych podjęto się omówienia tych złożonych mechanizmów w kontekście natywnej struktury kuleczki tłuszczowej mleka. W publikacji (poz. II.A.4.) usystematyzowano nomenklaturę oraz scharakteryzowano główne białkowe składniki otoczki kuleczki tłuszczowej, do których zaliczają się: mucyna 1, dehydrogenaza/oskrydaza ksantynowa (XDH/XO), mucyna 15, CD 36, butyrofilina, adipofilina, laktadheryna (PAS 6/7), białko wiążące kwasy tłuszczowe (FABP). Biorąc one udział w stabilizacji struktury, jednak coraz większa ilość doniesień na temat ich bioaktywności wskazuje na potencjalnie szerszy zakres oddziaływania i bardziej złożoną rolę w otoczce kuleczki tłuszczowej mleka. W pracy omówione zostały ich budowa i właściwości strukturalne, jednak główny nacisk położony został na ich właściwości biologiczne.

Celem publikacji (poz. II.A.5.) było omówienie aktualnego stanu wiedzy na temat regulacji oraz kluczowych etapów biosyntezy tłuszczu mlekowego w gruczole mlekowym. Znajomość tych zagadnień jest niezbędna w celu świadomego modyfikowania i doskonalenia właściwości technologicznych oraz żywieniowych mleka i produktów mleczarskich. Tym bardziej, że wraz z rozwojem inżynierii genetycznej, komórki gruczołu mlekowego ze względu na swoją wyjątkową wydajność, są brane pod uwagę jako potencjalne bioreaktory do

produkcji różnorodnych białek. W pracy omówiono główne zagadnienia związane z funkcjonowaniem i regulacją biosyntezy mleka w gruczole mlekowym, w tym rolę prolaktyny i oksytocyny, głównych hormonów odpowiedzialnych za produkcję i wydzielanie mleka podczas okresu laktacji. Następnie omówiono procesy związane z regulacją oraz biosyntezą tłuszczu i substancji lipidowych na poziomie komórkowym. Wskazano na potencjalnie kluczowe białka regulatorowe (takie jak SREBP, INSIG1 i PPAR γ) i mechanizmy regulujące poziom substancji lipidowych w komórce jak i poszczególne etapy biosyntezy tłuszczu mlekowego, w tym rolę lipazy lipoproteinowej w tym procesie. Kolejno omówione zostały procesy związane z formowaniem wewnątrzcytoplazmatycznych kropelek lipidowych i ich wydzielaniem na zewnątrz komórki.

W kolejnej pracy (poz. II.A.6.) skupiono się na strukturalnych właściwościach natywnej kuleczki tłuszczowych mleka. Głównym celem było zwrócenie uwagi na złożoność struktury kuleczki tłuszczowej mleka. Przedyskutowane zostały potencjalne implikacje wynikające z budowy kuleczki oraz przedstawiono schematy powstawania potrójnej warstwy lipidowej oraz schemat struktury otoczki kuleczki tłuszczowej mleka. Wiele mechanizmów związanych z powstawaniem, budową i rolą w otocze elementów strukturalnych, takich jak np. rafty lipidowe pozostaje nie do końca wyjaśnionych. Budowa otoczki kuleczki tłuszczowej mleka sugeruje, że nie tylko skład i zawartość bioaktywnych substancji decyduje o prozdrowotnym charakterze, ale też struktura w jakiej występują one w matrycy.

Kolejna publikacja z tej tematyki jest obecnie w recenzji w czasopiśmie Polish Journal of Natural Science. W ramach tej tematyki powstały w sumie cztery publikacje. We wszystkich czterech publikacjach byłem głównym autorem, autorem korespondencyjnym, a we dwóch jedynym autorem publikacji.

B. ZASTOSOWANIE ANALIZY OBRAZU DO CHARAKTERYSTYKI MIKROSTRUKTURY PRODUKTÓW SYPKICH ORAZ INNYCH PRODUKTÓW ŻYWNOŚCIOWYCH

Badania z tego zakresu stanowią kontynuację badań prowadzonych przeze mnie w trakcie przygotowywania pracy doktorskiej. Opracowana przeze mnie metoda analizy obrazu połączona z wyznaczeniem powierzchniowego wymiaru fraktalnego D_L przedstawiona została w publikacji (poz. II.A.2.). W pracy badano wpływ składu chemicznego oraz metody produkcji preparatów kazeinowych na ich mikrostrukturę. Badane preparaty obejmowały kazeinę kwasową, kazeiniany sodu, wapnia i potasu uzyskane metodą rozpyłową oraz ekstrudowane z roztworów wodorotlenku oraz węgla. Oznaczenia obejmowały skład

chemiczny (woda, tłuszcz, białko i popiół), skład białkowy oznaczony metodą elektroforezy SDS-PAGE, mikroskopię skaningową oraz komputerową analizę obrazu. Po przekształceniu mikrofotografii badanych preparatów w obrazu binarne, poddano je analizie polegającej na pomiarze obwodu i powierzchni pojedynczych cząstek kazeinianów. Na wykresie logarytmicznej zależności obwodu od powierzchni uzyskano linię prostą. Z nachylenia prostej obliczono wymiar fraktalny charakteryzujący stopień rozbudowania powierzchni charakterystyczny dla danego preparatu. Wysokie uzyskane wartości współczynników determinacji (od 0.841 do 0.956) wskazują na właściwe dopasowanie modelu matematycznego do uzyskanych wyników. Uzyskane wartości powierzchniowych wymiarów fraktalnych dla badanych preparatów zawierały się w przedziale od 1.044 do 1.434. Wyższy wymiar fraktalny wskazywał na bardziej nieregularną powierzchnię preparatu, co może przekładać się na odmienne właściwości funkcjonalne. Tego typu podejście umożliwia porównanie właściwości mikrostruktury, często trudnej do słownego opisu, za pomocą liczb.

W pracy (poz. II.D.3.) przedstawiono charakterystykę mikrostruktury produktów żywnościowych opartą na komputerowej analizie obrazu tych produktów uzyskanych za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego. Analizę połączono z wyznaczeniem powierzchniowego wymiaru fraktalnego konturów badanych struktur. Wykazano, że prezentowaną metodę można zastosować do jakościowej charakterystyki mikrostruktury produktów żywnościowych, głównie do badania stopnia rozwinięcia powierzchni materiałów sypkich. Materiały biologiczne ze względu na ich złożoność mogą być analizowane z zastosowaniem tej metody tylko w ograniczonym zakresie. Analiza fraktalna, w wielu przypadkach, może być dodatkowym narzędziem do: charakterystyki struktury preparatów, określania mechanizmu reakcji agregacji lub dezagregacji, optymalizacji procesów technologicznych, wyznaczania korelacji pomiędzy opisywaną za pomocą wymiaru fraktalnego mikrostrukturą hydrokoloidów a ich właściwościami funkcjonalnymi.

Badania powierzchniowych właściwości preparatów białkowych kontynuowano z wykorzystaniem preparatów β -laktoglobuliny uzyskanych z retentatu serwatkowego poprzez a) wysalanie kwasowym roztworem NaCl (30% NaCl, pH 2.0); b) usunięcie α -laktoglobuliny w łagodnych warunkach (55°C/30 min, pH 3.9); c) usunięcie α -laktoglobuliny przy użyciu 6% roztworu TCA (20°C/40 min). Badane preparaty poddano następnie liofilizacji. Pozostałość α -laktoglobuliny sprawdzono elektroforetycznie i nie przekraczała ona 0.2%. Komputerowa analiza obrazu połączona z wyznaczeniem powierzchniowego wymiaru fraktalnego nie wykazała różnic w stopniu rozbudowania powierzchni badanych preparatów. W przeprowadzonym badaniu wymiary fraktalne nie

różniły się. Tym samym zastosowana metoda izolacji badanego preparatu nie wpłynęła na stopień rozbudowania ich powierzchni (poz. II.D.4.).

W dalszym toku badań porównano właściwości strukturalne preparatów β -laktoglobuliny uzyskanych z mleka krowiego i koziego (poz. II.A.3.). Preparaty te uzyskane były z retentatu serwatki poprzez wysalanie 30% roztworem NaCl (pH 2.0). Po rozpuszczeniu w wodzie i dializie poddano je liofilizacji. W preparatach oznaczono zawartość suchej masy, azotu całkowitego, rozpuszczalnego w 12% TCA, wapnia, magnezu, sodu i potasu. Preparaty poddano analizie obrazu. Wyższy powierzchniowy wymiar fraktalny uzyskano dla β -laktoglobuliny uzyskanej z mleka koziego. Wykazano też różnice w wielkości uzyskanych cząstek preparatów. Mogło to wpłynąć na wyniki analizy obrazu, ponieważ mniejsze cząstki mogą charakteryzować się większą odpornością na ścieranie i wygładzanie konturów w trakcie procesów technologicznych. Różnica ta może też wynikać z odrębnych mechanizmów agregacji krowiej i koziej β -laktoglobuliny, co może być istotne z technologicznego punktu widzenia.

Właściwości powierzchniowe mikrostruktury badanych preparatów i ich powierzchniowy wymiar fraktalny mogą być istotnym czynnikiem wpływającym na właściwości funkcjonalne. Z tego względu porównano emulgujące właściwości preparatów β -laktoglobuliny, otrzymanych z retentatu serwatki podpuszczkowej dwoma różnymi metodami (poz. II.D.5.). Przygotowano emulsje oleju sojowego przy różnym pH (5.0, 6.0, 7.0) i stężeniu β -laktoglobuliny (0.5, 1.0 i 2.0 %). Przygotowane preparaty uzyskanych emulsji obserwowano w mikroskopie świetlnym i poddano analizie obrazu. Na tej podstawie obliczono średnicę Sautera. Wykazano różnice w wielkości kropelek tłuszczowych w badanych emulsjach. Wraz ze wzrostem stężenia białka oraz pH średnica uzyskanych kropelek w emulsjach zmalała. Badane preparaty charakteryzowały się wartościami powierzchniowego wymiaru fraktalnego na bardzo zbliżonym poziomie, stąd nie wykazano zależności pomiędzy właściwościami emulgującymi a wymiarem fraktalnym. W tym przypadku właściwości emulgujące zależały tylko od metody przygotowania danego preparatu β -laktoglobuliny.

C. BADANIA DOTYCZĄCE WPŁYWU EZGOPOLISACHARYDÓW NA STRUKTURALNE WŁAŚCIWOŚCI JOGURTÓW

Badania (poz. II.A.7.) dotyczyły możliwości zastosowania kultur bakteryjnych cechujących się produkcją egzopolisacharydów (EPS) w produkcji jogurtu oraz ich wpływu

na właściwości strukturalne produktu w trakcie przechowywania. W badaniu zastosowano trzy różne szczepionki bakteryjne różniące się ilością produkowanych egzopolisacharydów oraz aktywnością ukwaszającą. W trakcie 28-dniowego okresu przechowywania oznaczano synerezę, właściwości reologiczne oraz zmiany w mikrostrukturze.

Jogurty przygotowane ze szczepionki produkującej znaczne ilości EPS charakteryzowały się wyższymi wartościami lepkości, większą pętlą histerezy oraz mniejszą synerezą. Analiza obrazów mikrostruktury badanych jogurtów pozwoliła na ocenę zmian strukturalnych zachodzących w trakcie ich przechowywania. W pracy uzyskano statystycznie istotne zależności pomiędzy wymiarem fraktalnym a synerezą i powierzchnią pętli histerezy. Zależności te kształtowały się odmiennie dla próbek jogurtu uzyskanych z użyciem szczepionek produkujących EPS w porównaniu do próbek uzyskanych ze szczepionki nie produkującej EPS. W pracy przedyskutowano możliwe mechanizmy zmian strukturalnych zachodzące w trakcie przechowywania, oraz wskazano na prawdopodobnie odmienny charakter tych zmian w przypadku obecności EPS. Pomimo znacznej zmienności składu produkowanych EPS mogą one być stosowane w produkcji ukwaszonych produktów o nowych, odmiennych cechach sensorycznych oraz do poprawy właściwości fizycznych produktów mlecznych.

D. ZASTOSOWANIE METODY ANALIZY OBRAZU DO BADAŃ NAD PROCESAMI KOAGULACJI ŚCIEKÓW

Znajomość metod analizy obrazu zaowocowała moim uczestnictwem jako wykonawca, w projekcie badawczym pn.: „Improving wastewater treatment with better phosphorus recovery”, realizowanym w ramach programu Polsko-Norweskiej Współpracy Badawczej. W badaniach tych z powodzeniem zastosowana została opracowana przeze mnie metoda analizy obrazu. Wynikiem tej współpracy na chwilę obecną są trzy prace badawcze.

Badania (poz. II.A.8.) dotyczyły mechanizmu procesu oraz wpływu chemicznej koagulacji-flokulacji oraz elektrokoagulacji na strukturę tworzących się agregatów. Materiał badawczy stanowiły osady otrzymane z czterech typów ścieków syntetycznych zawierających cztery różne czerwone barwniki. Badane osady uzyskano w procesie chemicznej koagulacji i elektrokoagulacji tych ścieków. Grupę 32 różnych osadów poddano analizie mikroskopowej, a następnie analizie obrazu połączonej z wyznaczeniem powierzchniowego wymiaru fraktalnego D_p . Wymiar ten następnie poddano ekstrapolacji do objętościowego wymiaru fraktalnego D_v . Wymiar objętościowy zastosowano do opisu agregatów w powstałych

osadach. Wykazano, że agregaty uzyskane przez koagulację z wykorzystaniem koagulantu glinowego charakteryzowały się wyższymi wartościami D_p wymiaru fraktalnego w porównaniu do agregatów otrzymanych przy zastosowaniu koagulantu żelazowego. Nie zaobserwowano samoistnej koagulacji barwnika, a do destabilizacji układu koloidalnego zawierającego barwnik wymagana była obecność jonów fosforanowych w układzie. W pracy przedstawiono graficzną symulację struktury agregatów powstałych na koloidalnych micelach $[Al(OH)_3]$ i $[Fe(OH)_3]$. Symulowane struktury ułatwiły: a) określenie mechanizmu procesu flokulacji ścieków, b) prognozowanie skuteczności separacji osadu od ścieków oczyszczonych, a także c) określenie wydajności procesu dehydratacji tych osadów. Uzyskane wyniki sorpcji fosforanów, usunięcia badanych barwników w trakcie flokulacji oraz wyniki analizy obrazu i graficznej symulacji potwierdziły główną rolę mechanizmu agregacji ograniczonego dyfuzją (DLCA *diffusion limited cluster-cluster aggregation model*) w procesie agregacji-flokulacji osadów ściekowych. Z dystrybucji rozmiarów uzyskanych agregatów i ich wymiarów fraktalnych oszacowano, że główne frakcje uzyskanych agregatów zawierały odpowiednio 5685 i 2096 jednostek $[Al(OH)_3]$ i $[Fe(OH)_3]$ na pojedynczy agregat. Uzyskane wysokie współczynniki determinacji wskazały samopodobieństwo uzyskanych agregatów i potwierdziły poprawność dopasowania modelu matematycznego do uzyskanej bazy danych.

W pracy (poz. II.A.9.) badaniom poddano ścieki naturalne pobrane z oczyszczalni ścieków w Reszlu. Ścieki miejskie w Reszlu oczyszczane są metoda mechaniczną i biologiczną, co zapewnia aktualne wymagania w zakresie chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT), biologicznego zapotrzebowania tlenu (BZT) oraz zawiesin. Z kolei usunięcie fosforanów kształtuje się na poziomie tylko 50 % i nie spełnia oczekiwanych w najbliższym czasie wymogów. Stąd w pracy badano wpływ koagulacji solami glinu i żelaza(III) oraz elektrokoagulacji na elektrodach glinowych na podwyższenie skuteczności usunięcia fosforanów z odpływu tej oczyszczalni. Powszechnie wiadomo, że Istotnym czynnikiem wpływającym na efektywność procesu jest odpowiednia dawka koagulantu, istotna również ze względów ekonomicznych. Osad powstały w wyniku koagulacji, bądź elektrokoagulacji stanowi swego rodzaju ślad przeprowadzonego procesu oczyszczania ścieków. Stąd agregaty uzyskane w procesie koagulacji tych ścieków miejskich rejestrowano i fotografowano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego, a następnie uzyskane mikrofotografie poddano analizie obrazu.

Okazało się, że agregaty uzyskane w obecności jonów glinu charakteryzowały się wyższymi wartościami wymiaru fraktalnego aniżeli te uzyskane w obecności jonów

żelaza(III). 50%-owe usunięcie fosforanów osiągnięto już przy niskich stosunkach Al:P i Fe:P. Dalej w pracy przedyskutowano mechanizm procesów agregacji-flokulacji zachodzących podczas oczyszczania naturalnych ścieków miejskich. Biorąc pod uwagę różnice w strukturze agregatów uzyskanych w tej grupie badań, zasugerowano tu istotną rolę procesów związanych z adsorpcją i neutralizacją ładunku podczas tzw. koagulacji szybkiej i skrytej po wprowadzeniu do układu wstępnie spolimeryzowanego koagulantu glinowego, a także proces dyfuzji cząstek oraz „zmiatania” agregatów podczas dyfuzji oraz sedymentacji osadu powstałego w rezultacie elektrokoagulacji recyrkulacyjnej badanych ścieków.

W pracy (poz. II.A.10) prowadzono badania zmierzające do zaproponowania zależności pomiędzy warunkami prowadzenia koagulacji ścieków, a strukturą tak uzyskanych aglomeratów. Analizie poddano pięć rodzajów osadów ściekowych: dwa otrzymane metodą koagulacji chemicznej ścieków naturalnych, jeden uzyskany metodą elektrokoagulacji ścieków naturalnych oraz dwa uzyskane metodą elektrokoagulacji ścieków syntetycznych zawierających barwniki czerwone. Oznaczono następujące parametry fizykochemiczne badanych ścieków: pH, mętność, zawiesiny oraz absorbancję przy 455 nm. Obrazy mikrostruktury otrzymanych osadów ściekowych poddano analizie obrazu. Wyznaczono wymiar fraktalny charakteryzujący badaną powierzchnię ścieków. Wartość wymiaru fraktalnego może dobrze odzwierciedlać mechanizm koagulacji oraz skuteczność „zmiatania” innych cząstek w trakcie flokulacji. Wielkość rozmiaru fraktalnego D może wynikać z szybkości sedymentacji badanego osadu. Wyznaczone D jest wskaźnikiem zdolności danego osadu do odwodnienia, zarówno na prasie filtracyjnej, jak i z użyciem wirówki.

Dalej w pracy tzw. powierzchniowy wymiar fraktalny ekstrapolowano do wymiaru objętościowego. Znając rozmiary powstałych cząstek i wymiar fraktalny D oszacowano ilość jednostek Al i Fe tworzących agregaty w procesach koagulacji odpowiedzialnych za powstanie badanego osadu. Po raz kolejny wykazano tu, że jony fosforanowe są niezbędne do destabilizacji układu koloid-barwnik.

VI. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWO – BADAWCZEGO

Kategoria	Liczba publikacji	IF ¹	Punkty MNiSW ²
Oryginalne prace twórcze przed uzyskaniem stopnia doktora			
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports	1	0.626	15
Publikacje w czasopismach recenzowanych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	2	-	10
Oryginalne prace twórcze po uzyskaniu stopnia doktora			
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports	14	14.433	330
Publikacje w czasopismach recenzowanych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	4	-	15
Prace popularno – naukowe	3	-	-
Referaty, komunikaty i doniesienia naukowe na konferencjach krajowych i międzynarodowych			
Przed uzyskaniem stopnia doktora	9	-	-
Po uzyskaniu stopnia doktora	8	-	-
Razem	41	15.059	370

¹ Impact factor - według listy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania, dla publikacji z 2014 roku, dla których IF nie został obliczony podano ostatni aktualny

² Punkty MNiSW - zgodnie z komunikatem z dnia 31.12.2014 w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach

Smoczyński Michał