

Załącznik 2

AUTOREFERAT

Opis dorobku i osiągnięć naukowych

Dr inż. Marta Wesołowska-Trojanowska

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Tel. (81) 4623380

e-mail: marta.wesolowska-trojanowska@up.lublin.pl

Lublin 2019

Spis treści

1. Dane personalne	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
3. Doświadczenie zawodowe	3
3.1. Dotychczasowe zatrudnienie w jednostkach naukowych	3
3.2. Staż w jednostkach naukowych zagranicznych	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2. Autor/autorzy publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa.....	4
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	6
5. Charakterystyka innych osiągnięć naukowych	27
5.1. Osiągnięcia naukowe przed doktoratem	27
5.2. Osiągnięcia naukowe po doktoracie	30
6. Podsumowanie dorobku naukowego.....	41
6.1. Wskaźniki dokonań naukowych	42
6.1.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora.....	42
6.1.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.....	42
6.2. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego	43
6.3. Zestawienie czasopism, w których opublikowano prace naukowe	43

1. Dane personalne

Imię i nazwisko: Marta Wesołowska-Trojanowska

Data urodzenia: 7 czerwiec 1970 r.

Miejsce urodzenia: Lublin, woj. lubelskie

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

2002 – doktor nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia – Akademia Rolnicza w Lublinie, tytuł rozprawy doktorskiej: „Produkcja zewnątrzkomórkowych enzymów przez mutanty *Trichoderma reesei* na serwatce i ich zastosowanie w wybranych procesach biotechnologicznych”

1995 – magister inż. technologii żywności, Akademia Rolnicza w Lublinie

3. Doświadczenie zawodowe

3.1. Dotychczasowe zatrudnienie w jednostkach naukowych

2002 - do chwili obecnej – adiunkt, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

1995 - 2002 – asystent, Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowywania

3.2. Staż w jednostkach naukowych zagranicznych

2017 (1 miesiąc) – research scientist, Lviv National Agrarian University, Dublany, Ukraina. Wykonywałam badania z zakresu mikrobiologii i biochemii.

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

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Właściwości reologiczne glutenu i jego wykorzystanie do otrzymywania biopolimerów na bazie białek serwatkowych i glinokrzemianów

4.2. Autor/autorzy publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

O.1. Wesółowska-Trojanowska M., Tomczyńska-Mleko M., Mazurkiewicz J., Kwiatkowski C., Kowalczyk K., Sołowiej B., Mleko S. Rheological properties of gluten obtained from Polish wheat cultivars. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 2014, 20(5), 1221-1226.

(IF=0 wg MNISW 10 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

O.2. Wesółowska-Trojanowska M., Tomczyńska-Mleko M., Mazurkiewicz J., Kowalczyk K., Leśniowska-Nowak J., Szafranek M., Róg S., Mleko S. Właściwości fizykochemiczne nowych rodów pszenicy o zróżnicowanej zawartości i jakości glutenu. Annales UMCS, 2014, 76-83.

(IF=0 wg MNISW 6 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu, pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy to 70%.

O.3. Kawecka-Radomska M., Tomczyńska-Mleko M., Wesółowska-Trojanowska M., Kowalczyk K., Chrzęstek M., Mleko S. Hard biodegradable biopolymer obtained from whey protein concentrate and montmorillonite. Journal of Polymers and the Environment, 2015, 23, 534-540.

(IF* = 1.969; wg MNISW 30 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

O.4. Wesółowska-Trojanowska M., Tomczyńska-Mleko M., Terpiłowski K., Kawecka-Radomska M., Mleko S. Ternary biopolymer based on wheat gluten, whey protein concentrate and montmorillonite. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2016. 26. 555-562.

(IF = 1.577; wg MNISW 20 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy to 80%.

O.5. Wesółowska-Trojanowska M., Tomczyńska-Mleko M., Kwiatkowski C., Nishinari K., Muszyński S., Mleko S. Interaction of ternary biopolymers obtained from microwave dry-heated mixtures of gluten, whey protein concentrate and kaolinite. *Food Science and Technology Research*, 2017, 23(3), 411-415.

(IF = 0,379, wg MNISW 15 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

O.6. Wesółowska-Trojanowska M., Tomczyńska-Mleko M., Terpiłowski K., Sołowiej B., Nastaj M., Mleko S. Effect of gluten on the properties of ternary biopolymers based on gluten, whey protein concentrate, and kaolinite. *European Food Research and Technology*, 2018, 244. 623-633.

(IF = Impact factor₂₀₁₇ 1.919, wg MNISW 25 pkt)

Mój wkład w tę publikację polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzenia badań, zebraniu literatury, wykonaniu badań laboratoryjnych, analizie i opracowaniu wyników, dyskusji wyników, napisaniu manuskryptu, pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

*IF - Impact Factor - zgodnie z rokiem wydania. W przypadku publikacji z 2018 roku podano IF z 2017 roku.

- Sumaryczny *Impact Factor* publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **5,844**
- Suma punktów za publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego według wykaz czasopism naukowych MNiSW, zgodnie z rokiem opublikowania: **106**

Oświadczenia współautorów prac, określające szczegółowo ich indywidualny wkład w powstanie publikacji znajdują się w **Załączniku 6**.

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

W latach 2012 – 2018 przeprowadziłam prace badawcze oraz studia literaturowe dotyczące właściwości reologicznych glutenu i jego wykorzystania do otrzymywania biopolimerów na bazie białek serwatkowych i glinokrzemianów. Uzyskane rezultaty opublikowałam w postaci cyklu prac (O.1. - O.6.), które uważam za swoje największe osiągnięcie w dotychczasowej działalności naukowej i przedkładam je jako podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Wstęp

Produkcja syntetycznych polimerów jest jedną z wiodących gałęzi przemysłu. Roczny wzrost światowej produkcji tworzyw sztucznych wynosi około 5%. Podstawowy problem stanowi fakt, iż syntetyczne tworzywa na bazie ropy naftowej nie są w stanie ulegać degradacji w środowisku naturalnym lub na składowiskach [1]. Tradycyjne materiały opakowaniowe otrzymywane z ropy naftowej są łatwe do wyprodukowania i tanie, ale nie można ich poddać recyklingowi ani składować bezpiecznie z powodu potencjalnej szkodliwej migracji dodatków. Rosnące zainteresowanie ochroną środowiska związane z egzekwowaniem prawa, kładzie większy nacisk na produkcję materiałów przyjaznych dla środowiska. Prowadzi to do opracowania nowych biopolimerów na bazie białek, węglowodanów i tłuszczów pozyskanych ze źródeł naturalnych lub rolniczych. Wartość dodaną stanowi to, iż do wytwarzanych biopolimerów stosuje się również produkty uboczne przemysłu rolnego i spożywczego. Biotworzywa z surowców białkowych mogą być stosowane w rolnictwie, ogrodnictwie, farmacji i medycynie. Otrzymywane materiały medyczne mogą mieć znaczące

zalety w stosunku do syntetycznych tworzyw sztucznych [1]. Przewiduje się, że światowa produkcja biopolimerów zwiększy się z 3,5 mln ton w 2011 r. do 12 mln ton w 2020 r. [2].

Podstawowym celem prowadzonych na świecie badań nad naturalnymi polimerami jest opracowanie produktu, który może naśladować mikrostrukturę i funkcję syntetycznego polimeru. Tworzone są całkowicie naturalne kompozyty i polimery lub mikrostruktura syntetycznych polimerów jest wzmocniana przez bioskładniki działające jako wypełniacze lub aktywne składniki matrycy. Naturalne polimery mogą nie tylko zmniejszyć degradację gleby, ale także zwiększyć jej żyzność [3]. Ostatnio biopolimery zastosowano jako nośniki pestycydów. Oprócz ich biodegradowalności i braku ekotoksyczności, łatwiej jest niż w przypadku plastików zaprojektować skład gwarantujący kontrolowane uwalnianie [4]. Spośród wszystkich źródeł rolniczych najbardziej interesującym składnikiem naturalnych biopolimerów są białka (zwierzęce: białka miofibrylarne, białka mleka, kolagen, żelatyna, albumina surowicy bydłowej, białko jedwabiu i białka roślinne: gluten, zeina, białko soi). Bioplastiki ze źródeł białkowych można wykorzystać do różnych zastosowań, w tym do matryc do immobilizacji enzymów i kontrolowanego uwalniania składników aktywnych, technologii aktywnego pakowania, wzmocnienia z włókien naturalnych, nanotechnologii, inżynierii tkankowej, opatrunków na rany i filtrów membranowych [5]. Białka roślinne są bardzo atrakcyjnym surowcem do produkcji bioplastików ze względu na ich właściwości fizykochemiczne, bogate zasoby i niski koszt. Bardzo interesujący pogląd na rolę interakcji białko-glinokrzemiany przedstawili Yu i in. [6]. Według tych autorów minerały ilaste pomogły w syntezie i ochronie biopolimerów, które ostatecznie doprowadziły do powstania życia na Ziemi.

Naturalne, organiczne składniki są oczywistymi materiałami, które należy zastosować do produkcji bioplastików. Wśród nich bardzo obiecującym materiałem jest gluten pszeniczny (WG). Pszenica jest obecnie najważniejszym zbożem na świecie. Zajmuje drugie miejsce po kukurydzy, której większość jest wykorzystywana jako pasza. Tylko w Unii Europejskiej uprawa pszenicy w sezonie 2010/11 osiągnęła 650 milionów ton [7]. Pszenica jest wyjątkowym ziarnem, ze względu na szczególne właściwości mąki. Unikalne lepkością i sprężystością właściwości ciasta z mąki pszennej pochodzą przede wszystkim z białek glutenu. Białka glutenowe znajdują się w bielmie dojrzałego ziarna pszenicy. Są one w dużym stopniu nierozpuszczalne w wodzie lub rozcieńczonych roztworach soli i składają się z monomerycznych gliadyn i polimerycznych (ekstrahowalnych i nie ekstrahowalnych) glutenin. Gluten można zdefiniować jako lepkością i sprężystością pozostałość po tym, jak ziarna skrobi i rozpuszczalne w wodzie składniki zostały wypłukane z ciasta. Gluten zawiera

w suchej masie 75-85% białka i 5-10% tłuszczów [8]. Gluten odpowiada za fizyczne właściwości ciasta, a jego jakość charakteryzuje się zazwyczaj stopniem rozciągliwości i elastyczności. Biorąc pod uwagę coraz częstsze stosowanie polepszaczy w piekarnictwie, które mają charakter utleniający, należy stosować odmiany pszenicy o silniejszym glutenie. Gluten pszenny (WG) będący produktem ubocznym przy produkcji skrobi pszennej i przemysłów bioetanolu jest dostępny w cenie około 1,3 USD/kg [1]. Po podgrzaniu białek glutenowych następuje wymiana mostków disiarczkowych prowadząca do powstania trójwymiarowych żeli [8]. Gluten pszenny jest w pełni biodegradowalny w glebie w ciągu 50 dni bez uwalniania toksycznych produktów [9]. Biomateriały z glutenu pszennego mogą być wytwarzane przy użyciu kilku metod przetwarzania, w tym ekstruzji, formowania tłocznego i odlewania roztworów. Jedną z możliwości rozszerzenia potencjalnych obszarów zastosowania jest wzmocnienie mikrostruktury za pomocą włókien biologicznych, takich jak: len, juta, orzech kokosowy i włókna pokrzywy [10]. Niedawne badania donoszą o zastosowaniu glutenu pszennego wzmocnionego włóknami konopi do wytwarzania biokompozytów o ulepszonych właściwościach mechanicznych [11]. Elastyczność i spoistość glutenu wykorzystuje się w opracowywaniu odpornych na przebijanie jadalnych filmów. Folie glutenowe mają dobre właściwości barierowe dla tlenu i dwutlenku węgla i są odpowiednio przepuszczalne dla wody [12]. Generalnie, biodegradowalne materiały oparte na białkach są wytwarzane w dwóch procesach technologicznych: technologii mokrej opartej na dyspersji białek i suchym procesie opartym na właściwościach termoplastycznych białek w warunkach niskiej wilgotności.

Białka serwatkowe są bardzo popularnym funkcjonalnym składnikiem żywności. Właściwości reologiczne ich roztworów można kształtować przez proces żelowania, poprzez ogrzewanie powyżej temperatury denaturacji [13]. Koncentraty białek serwatkowych są głównymi i najcenniejszymi produktami otrzymywanymi z odpadu przy produkcji serów - serwatki. Mają doskonałą wartość odżywczą, a koszt produkcji nie jest wysoki. Przez denaturację, białka zmieniają swoją strukturę drugorzędową, trzeciorzędową i czwartorzędową. Może to być spowodowane przez czynniki termiczne lub chemiczne. W technologii żywności najpopularniejszą metodą jest ogrzewanie, ponieważ nie dodaje się żadnych substancji dodatkowych, które mogą zmienić właściwości sensoryczne produktu. Istnieje różnica między metodami podgrzewania na mokro i na sucho ze względu na różnice w możliwych interakcjach w środowisku wodnym i zmiany właściwości lepkością suchych i mokrych mieszanin. Ze względu na niską zawartość wody w proszkach, białka ogrzewane na sucho są bardziej stabilne na denaturację. W porównaniu do temperatury denaturacji białek

serwatkowych w roztworze, która jest zbliżona do 70°C, denaturacja białek w suchym izolacie wynosi około 160°C [14]. Powyżej temperatury denaturacji białka są rozfałdowane, a na powierzchni odsłonięte zostają grupy hydrofobowe i grupy sulfhydrylowe. Umożliwia to białkom tworzenie agregatów. Gulzar i in. [14] zaobserwowali, iż pomimo tego że temperatura denaturacji białek w stanie sproszkowanym była wyższa niż temperatura suchego ogrzewania, zaobserwowano już wzrost dostępności grup sulfhydrylowych początkowo ukrytych w strukturach białka. Ostatnio przeprowadzono badania nad wykorzystaniem białek serwatkowych do celów innych niż żywieniowe [15]. Niewiele jest informacji na temat produktów otrzymywanych z glutenu i białek serwatkowych. Przemysł piekarniczy wykorzystuje różne źródła białka w celu zwiększenia wartości odżywczych swoich produktów. Obróbka cieplna ma różny wpływ na poszczególne białka i ich interakcje, zwłaszcza w mieszaninach kilku białek. Wzrost ilości wiązań pomiędzy różnymi białkami można nazwać efektem ko-białkowym. Lambrech i in. [16] opracowali model służący do przewidywania potencjalnego efektu ko-białkowego w mieszaninach glutenu i białek globularnych podczas ich ogrzewania. Wykryli negatywny efekt ko-białkowy z dodatkiem lizozymu. Brak efektu zaobserwowano w przypadku dodatku do glutenu białek soi lub żółtka jaja a dodatni efekt stwierdzono dla albuminy surowicy, krwi bydlęcej, albuminy jaja kurzego, białek jaja i odtłuszczonego białka żółtka. Autorzy stwierdzili, że poziom dostępnych wolnych grup sulfhydrylowych i hydrofobowość powierzchniowa rozfałdowanych białek globularnych były odpowiedzialne za efekt ko-białkowy w mieszaninach z glutenem [16].

Innymi bardzo obiecującymi nanomateriałami stosowanymi do produkcji bioplastików są glinokrzemiany, które naturalnie występują w glebie. Wśród nich najważniejszymi są montmorylonit (MON) i kaolinit (KAO). Montmorylonit to glina di-oktaedryczna, w której dwie trzecie miejsc oktaedrycznych jest zajmowanych głównie przez trójwartościowe kationy, czyli Al^{3+} lub Fe^{3+} . Większość miejsc typu trój-oktaedrycznego zajmują dwuwartościowe kationy, głównie Mg^{2+} [17]. Montmorylonit, wykazujący strukturę smektytu, jest jednym z najczęściej stosowanych krzemianów warstwowych ze względu na dość niski koszt. Organicznie modyfikowane montmorylonity powstałe w wyniku interkalacji kationów amonowych są od dawna stosowane jako modyfikatory właściwości reologicznych i dodatki w farbách i kosmetykach oraz jako nośniki do kontrolowanego uwalniania leków i nutraceutyków [18]. Gliny montmorylonitowe są szeroko wykorzystywane do różnych zastosowań, takich jak płuczki wiertnicze, kleje, aerozole, granulowanie żywności, glinki barierowe, ziemia bieląca, katalizatory, cement, ceramika, kosmetyki, detergenty,

stabilizatory emulsji, nawozy, dodatki do żywności, farby, papier, farmaceutyki, tworzywa sztuczne, guma, klarowanie wody i adsorbenty. W ostatnich latach podejmowano próby wytwarzania różnych nanomateriałów lub biopolimerów na bazie gliniek z dodatkiem białek lub polisacharydów. Liofilizowane pianki makroporowate przygotowano z wodnej koloidalnej zawiesiny nanowłókna chitozan/guma ksantanowa/montmorylonit sodu. Zawiesina po zamrożeniu utworzyła kriożel. Ten produkt następnie wysuszono w warunkach próżni w celu uzyskania porowatych materiałów piankowych [19]. Folie nanokompozytowe z glutenu i montmorylonitu otrzymano w ekstruderze jednoślismakowym z użyciem mocznika jako zarówno środka denaturującego i plastyfikatora [20]. Materiał nanokompozytowy skrobi termoplastycznej i montmorylonitu otrzymano tradycyjną metodą wytlaczania [21]. Folie zawierające mieszaniny biopolimerów i montmorylonitu mają polepszoną wytrzymałość mechaniczną, odpowiednią przepuszczalność pary wodnej i innych gazów oraz lepszą odporność na ciepło i rozpuszczalniki. Dodanie niezmodyfikowanego MON nie wpływa na końcowy poziom biodegradacji biopolimerów na bazie glutenu [4]. Zárate-Ramírez i in. [2] badali wpływ dodawania różnych polisacharydów (mączka chleba świętojańskiego, metyloceluloza i karboksymetyloceluloza) do biodegradowalnych materiałów polimerowych na bazie glutenu. Wyniki pokazały, że przez dodanie polisacharydu następowało umiarkowane wzmocnienie struktury sieci. Türe i in. [22] wykazali, że zarówno WG, jak i MON zwiększyły absorpcję wody przez tekturę. Nośnik substancji aktywnej oparty na żelu glutenowym wzmocnionym 5% MON był skuteczny do zatrzymania i ochrony przeciwdrobnoustrojowej przez substancję czynną: karwakrol [23]. Dodanie MON do WG wytworzonych przez formowanie wtryskowe poprawiło przetwarzalność, jednorodność płytek i wytrzymałość produktów na rozciąganie [24]. Karton z powłoką składającą się z montmorylonitu wciśniętego pomiędzy dwie warstwy glutenu tworzył bardzo odporną barierę dla tlenu i pary wodnej [22]. Tunc i in. [25] otrzymali folie nanokompozytowe WG/MON. Dodatek MON doprowadził do modyfikacji struktury matrycy białkowej, co spowodowało znaczne zmniejszenie wrażliwości na wodę i zwiększenie wytrzymałości na rozciąganie. Podobne wyniki uzyskano dla filmów z matrycy glutenu pszennego i montmorylonitu interkalowanego z różnymi solami amonowymi [26].

Kaolinit jest warstwowym glinokrzemianem o wzorze chemicznym $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$. Podstawowym elementem struktury kaolinitu jest pakiet zbudowany z tetraedrycznej warstwy krzemowo-tlenowej oraz oktaedrycznej warstwy glino-tleno-wodorotlenowej. Warstwy są połączone ze sobą wiązaniami wodorowymi. Kaolinit ma heterogeny ładunek powierzchniowy i różne ładunki powierzchniowe na płaszczyźnie podstawowej

i krawędziowych. Ładunek na krawędziach kaolinitu zależy od pH roztworu z powodu protonowania/deprotonacji grup hydroksylowych, a podstawowe powierzchnie mają stały ładunek strukturalny z powodu izomorficznego podstawienia Si^{4+} przez Al^{3+} [27]. W przeciwieństwie do montmorylonitu, kaolinit jest glinką niepęczniejącą, tj. nie występuje ekspansja międzywarstwa w środowisku wodnym [28]. W literaturze nie ma publikacji na temat stosowania kaolinitu jako składnika biopolimerów na bazie glutenu i/lub białka serwatkowego.

Gluten jest złożonym układem, a jego zachowanie lepkosprężyste nie jest jeszcze w pełni poznane. Lepsza znajomość lepkosprężystego zachowania glutenu jest niezbędna do jego charakterystyki jako potencjalnego składnika biopolimerów. Do wielu empirycznych pomiarów reologicznych glutenu stosuje się takie aparaty jak: farinograf, miksograf, ekstensograf, alweograf, amylograf lub tekstuometr. Większość metod została wynaleziona do zastosowań przemysłowych, ponieważ są one łatwe do wykonania w warunkach przemysłowych. Uzyskane dane są zwykle wykorzystywane do przetwarzania ciasta i kontroli jego jakości. Wciąż nie przeprowadzono wielu badań z wykorzystaniem podstawowych metod reologicznych w celu znalezienia korelacji między wielkościami mierzonymi różnymi metodami. Na właściwości reologiczne glutenu mogą wpływać różne czynniki, takie jak: odmiana pszenicy, lokalizacja plonu, temperatura, opady, żyzność gleby i rok zbiorów [29]. Przechowywanie ziarna może pogorszyć właściwości glutenu poprzez wytwarzanie wolnych rodników, utlenianie i nieenzymatyczną glikozylację, co może prowadzić do fragmentacji lub sieciowania białek, tłuszczów i cukrów [30]. Właściwości reologiczne glutenu determinują jego zastosowanie jako środka tworzącego teksturę. W literaturze nie ma artykułów na temat biopolimerów otrzymywanych z glutenu, białka serwatkowego i glinokrzemianów. Wszystkie te komponenty są stosunkowo tanie i wszystkie dość szybko ulegają biodegradacji w glebie. Produkty biodegradacji są przyjazne dla środowiska. Możliwości zastosowania tych biopolimerów mogą być szerokie: od nośników substancji aktywnych i rusztowań tkankowych, po materiały opakowaniowe i biodegradowalne bioceramiki. Celem badań było uzyskanie tego rodzaju materiałów przy użyciu nieagresywnych metod, takich jak żelowanie i suszenie, a także poprzez nową metodę przetwarzania: promieniowanie mikrofalowe. Wymaga ono mniejszego nakładu energii i krótszego czasu przetwarzania. Promieniowanie mikrofalowe przez 5 minut może być równie skuteczne, jak tradycyjne ogrzewanie w temperaturze 120°C przez 60 minut [31].

Wyniki i dyskusja

Doświadczenia polowe w uprawie pszenicy jarej przeprowadzono w latach 2010-2012 (O.1.). Badaniem objęto 4 odmiany pszenicy jarej. Ziarno przechowywano w kontrolowanych warunkach w spichlerzu w zakresie temperatur 10-20°C przez okres 3, 15 lub 27 miesięcy. Poza dwiema odmianami zebranymi w 2012 r. nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zawartości wody i całkowitej zawartości białka w ziarnie. Zaobserwowano, że gluten o mniejszej rozpląwalności charakteryzował się większą elastycznością. Gluten o wyższej rozciągliwości charakteryzował się większą rozpląwalnością po przetrzymywaniu w piecu w 30°C przez 60 min. Próbkę glutenu poddano jednoosiowemu testowi rozciągania, który jest jedną z najstarszych i najpowszechniej stosowanych metod testowania ciasta pszennego. We wszystkich przypadkach zaobserwowano zjawisko umocnienia odkształceniowego. Nicolas i in. [32] sugerowali, że coraz szybszy wzrost naprężenia przy rozciąganiu do pęknięcia odzwierciedla to, że dochodzi do coraz większego splątania pomiędzy włóknami glutenu. Maksymalna siła rozciągająca różniła się dla różnych odmian i lat zbiorów. Dla odmiany Zadra nie stwierdzono znaczących zmian maksymalnej siły rozciągania. Maksymalna siła rozciągająca jest związana z wiązaniami wodorowym zarówno wewnątrz podjednostek białek o dużej masie cząsteczkowej, jak i pomiędzy nimi [33]. Wiązania pomiędzy cząsteczkami białek glutenu wpływają na jego właściwości lepkosprężyste. Gluten jest bardzo dobrym materiałem do fundamentalnej charakterystyki reologicznej, ponieważ liniowy obszar jego lepkosprężystości jest wydłużony do 10%, podczas gdy granica liniowej lepkosprężystości ciasta jest wyjątkowo niska (0,2%) [34]. W naszych badaniach granica liniowej lepkosprężystości była pomiędzy 5,76% a 8,97%. Gluten zachowywał się jak elastyczny materiał o wartościach modułów zachowawczych 2-4 razy wyższych niż moduły stratności. Gluten należy postrzegać jako rodzaj żelu koloidalnego lub cząsteczkowego będącego siecią utworzoną przez agregację cząstek połączonych przez wiązania wodorowe i oddziaływania hydrofobowe [34]. Zaobserwowano wzrost modułów zachowawczych i stratności wraz z częstotliwością, przy równoczesnym wzroście tangensa kąta fazowego. Drgania o wyższej częstotliwości dostarczały więcej energii do próbek i następowało prawdopodobnie pękanie niektórych wiązań między cząsteczkami białek, ponieważ obserwowano spadek składowej elastyczności w stosunku do składowej lepkości. Jest to zgodne z osłabieniem odkształceniowym obserwowanym w początkowej fazie rozciągania glutenu. Zanotowano różnice w modułach zachowawczych zmierzonych przy 10 Hz dla różnych odmian i lat zbiorów (czasu przechowywania). Lepkość glutenu mierzono za pomocą

urządzenia ultradźwiękowego. Końcówkę magnetostrykcyjnego przetwornika umieszczano w próbce glutenu i następowało tłumienie fal ultradźwiękowych. Metoda ta nie była wcześniej stosowana do pomiarów właściwości reologicznych glutenu. Dokonywano pomiarów jako iloczynów lepkości dynamicznej i gęstości (dalej stosuję skrótowo wyrażenie "lepkość ultradźwiękowa"). Skorelowano ją z innymi pomiarami reologicznymi: maksymalną siłą rozciągającą i modułem zachowawczym G' mierzonym przy 10 Hz. Stwierdzono korelację liniową między lepkością ultradźwiękową a maksymalną siłą rozciągającą ($R^2=0,82$). Próbkę glutenu o większej lepkości ultradźwiękowej reagowały z większą odpornością na siły rozciągające, wytwarzając wyższe wartości siły rozciągającej. Podobnie gluten charakteryzujący się wyższymi wartościami lepkości był bardziej elastyczny, ponieważ silną korelację liniową ($R^2 = 0,89$) stwierdzono między lepkością a modułem zachowawczym. Obie metody są metodami małych odkształceń. W pomiarach oscylacyjnych naprężenia stosowane nie mają wpływu na charakterystykę reologiczną badanego materiału, ponieważ pomiary są wykonywane w liniowym obszarze lepkosprężystości. Ocena właściwości lepkosprężystych ciasta z mąki pszennej i glutenu może być bardzo istotna, ponieważ wpływają one na zachowanie się ciasta podczas przetwarzania i wpływają na interakcje między składnikami ciasta [35]. Wszystkie podstawowe metody reologiczne stosowane do badania glutenu dały wyniki zgodne z podstawowymi pomiarami elastyczności glutenu przeprowadzonymi zgodnie z metodą Polskiej Normy. Próbkę o lepszej elastyczności miały wyższą lepkość, maksymalną siłą rozciągającą i moduł zachowawczy.

Zasadniczo w tych badaniach (O.1.) stwierdzono, że istnieją znaczne różnice we właściwościach reologicznych glutenu uzyskanego z tych samych odmian pszenicy w różnych latach zbioru. Prawdopodobnie warunki środowiskowe, na jakie napotkały rośliny podczas dojrzwania ziarna, wpłynęły na te różnice. Gluten zachowywał się jak materiał sprężysty podobny do żelu wykazującego tendencję do zmniejszania się składowej elastycznej w stosunku do składowej lepkiej przy wyższych częstotliwościach, co mogłoby sugerować pękanie niektórych wiązań. Podstawowe metody reologiczne mogą zapewnić lepszą znajomość lepkosprężystego zachowania glutenu, co może poprawić kontrolę jakości ciasta.

W innej pracy (O.2.) zbadano właściwości reologiczne glutenu otrzymanego z polskich rodów pszenicy zebranych w 2010, 2011 i 2012 roku. Analiza wykazała, że większość badanych rodów pszenicy charakteryzowała się silnym glutenem. W próbie rozciągania próbki zachowywały się jak materiał elastyczny. Zaobserwowano w przybliżeniu liniowy wzrost siły. Natomiast w drugiej części wykresu krzywa rozciągania nieznacznie się

podnosiła, co potwierdza wcześniej obserwowane (O.1.) zjawisko umocnienia odkształceniowego. Zjawisko to wpływa na właściwości ciasta i pomaga zatrzymać bąbelki gazów [36]. Gluten zachowywał się jak substancja ze znaczną przewagą właściwości sprężystych nad lepkiemi. Przy wyższych częstotliwościach występował relatywnie wyższy wzrost modułów stratności w porównaniu z modułami zachowawczymi. Ten sam efekt stwierdzono w poprzednim badaniu (O.1.). Santos i in. [37] zaobserwowali również podobne zjawisko. Moduły zachowawcze zarejestrowane przy 10 Hz korelowały z wartościami maksymalnej siły zanotowanej podczas rozciągania próbki na dystansie 50 mm (O.2.). Stwierdzono liniową korelację między tymi wartościami ($R^2 = 0,94$). Występowanie takiej zależności nie jest oczywiste, ponieważ w przypadku pomiarów wartość modułu, wielkość ta jest mierzona przy małych odkształceniach, gdzie próbka poddawana jest odkształceniom w zakresie liniowej lepkośćsprężystości, natomiast w przypadku rozciągania próbki są nieodwracalnie zdeformowane. Prawdopodobnie jednak w obu przypadkach stopień usieciowania białek glutenowych odpowiada za te właściwości reologiczne. Bardziej usieciowane białko jest bardziej elastyczne (wyższa wartość modułu zachowawczego), a podczas testu rozciągania, sieciowanie powoduje większą odporność próbki, i większe siły są potrzebne do jej odkształcenia.

W pierwszym badaniu (O.3.) dotyczącym produkcji biopolimerów zastosowano tylko dwa składniki: koncentrat białka serwatkowego i montmorylonit. W literaturze nie ma badań dotyczących uzyskania materiałów nanokompozytowych białko/montmorylonit przy użyciu łagodnych warunków ogrzewania. Nie ma również publikacji na temat biopolimerów otrzymywanych z mieszanin gliniek i białek serwatkowych. Ideą tego badania było stworzenie metody włączenia montmorylonitu do matrycy żelowej białka i uzyskania materiału nanopolimerowego. Zakładano, że otrzymany biopolimer nie będzie elastyczny, a gluten będzie potrzebny w następnych badaniach, ale mniej złożony bioplastik obejmujący tylko dwa składniki musiał być wcześniej przebadany. Dyspersje koncentratu białek serwatkowych (6,0; 7,0; 8,0; 9,0 i 10,0% w/w) bez lub z 5% montmorylonitu wytworzono przez uwodnienie w wodzie destylowanej za pomocą mieszadła magnetycznego. Dyspersje ogrzewano w łaźni wodnej przez 30 min. w 80°C. Po ogrzaniu próbki natychmiast schłodzono zimną wodą wodociągową przez 15 minut. Niektóre próbki suszono w łagodnych warunkach: w szafce termostatycznej przez 48 godzin w temperaturze 35°C. Zwiększenie stężenia białka w niesuszonych próbkach powodowało wzrost wartości modułów. Dodanie 5% MON do matrycy żelowej białka serwatkowego spowodowało również wzrost wartości modułów. Wartości modułów zachowawczych były dla wszystkich badanych próbek kilkakrotnie

wyższe niż wartości modułów stratności. We wszystkich przypadkach $\text{tg}\delta$ był mniejszy niż 1 i większy niż 0,1. Otrzymane biopolimery można scharakteryzować jako słabe żele, ponieważ prezentują strukturę pomiędzy stężonym biopolimerem ($\text{tg}\delta > 1$) i żelem chemicznym ($\text{tg}\delta < 0,1$) [38]. Zwiększone stężenie białka i dodatek montmorylonitu zmniejszyły czas relaksacji wiązań. Przy 6% białka stężenia obserwowano najwyższe wartości $\text{tg}\delta$. Było to prawdopodobnie spowodowane rozluźnieniem sił międzycząsteczkowych w matrycy żelowej [39]. Fukushima i in. [40] zaobserwowali, że dodatek glinok prowadzi do zwiększenia modułu sprężystości. Zostało to przypisane wzmocnionemu działaniu zdyspergowanych wypełniaczy, które mogą utrudniać ruchliwość łańcuchów polimerowych w fazie amorficznej. Stwierdzono korelację wykładniczą pomiędzy stężeniem białka a iloczynem lepkości dynamicznej i gęstości mierzonej za pomocą wiskozymetru ultradźwiękowego. Wzrost stężenia białka powodował wzrost wartości siły potrzebnej do przebiccia wysuszonej próbki. Prawidłowość ta nie była tak regularna, jak w przypadku metod małego odkształcenia. Wyższe stężenie białka i dodatek MON spowodowały większe upakowanie struktury żelu i większe prawdopodobieństwo interakcji, co skutkuje lepszymi właściwościami reologicznymi mierzonymi przy użyciu metod małych odkształceń. Większe upakowanie polimeru może powodować wyższą nieregularność w mikrostrukturze ze słabszymi obszarami, co powoduje propagację pęknięć. Dodanie MON generalnie spowodowało wzmocnienie struktury, a materiał był bardziej odporny na przebiccie. Maksymalna siła przebiccia została odnotowana dla biopolimerów otrzymanych przy stężeniu 7 i 8% białka, a wartość wynosiła około 80 N. Badany materiał porównano z próbkami badanymi taką samą metodą. Winkler i Margerison [41] ocenili właściwości mechaniczne racic bydlęcych za pomocą testu przebijania przy użyciu trzpienia o średnicy 2 mm - takiego samego, co w naszych badaniach. Maksymalna zaobserwowana przez badaczy odporność na przebiccie wynosiła około 25 N. Oznacza to, że twardość uzyskanego wysuszonego biopolimeru WPC/MON była ponad 3 razy wyższa niż twardość racic bydlęcych (O.3.).

Gładki przełom obserwowany dla otrzymanych biopolimerów był zgodny z mikrostrukturą otrzymanych żeli WPC/MON. Dodatek MON spowodował zmiany w mikrostrukturze żelu białkowego serwatki, który stał się bardziej drobnoziarnisty. Glinokrzemiany są dobrymi adsorbentami jonów metali z roztworów wodnych, ze względu na ich wysoką zdolność wymiany kationów i wysoką powierzchnię właściwą związaną z ich małymi wielkościami cząstek [42]. Montmorylonit ma ładunek ujemny netto równy 0,8 jednostki na komórkę elementarną, co powoduje, iż jest dobrym jonowym adsorbentem [43]. W przypadku naszych

próbek zaobserwowano wydłużone struktury o długości około 500 nm i szerokości 150 nm. Cadene i in. [44] zaobserwowano średnie wymiary dla naturalnego i syntetycznego MON o długości odpowiednio 320-400 nm i 250 nm szerokości oraz 200-250 nm długości i 120 nm szerokości. Okrągłe krawędzie kryształów montmorylonitu są prawdopodobnie wynikiem pewnych interakcji z cząsteczkami białek (O.3.). Dane z dyfrakcji rentgenowskiej dla kompleksów białko-kaolinit wykazały, że cząsteczki białka nie były interkalowane w strukturze mineralnej, ale unieruchomione na powierzchniach zewnętrznych i krawędziach kaolinitu [44]. Nie przeprowadzono podobnych badań dla biopolimerów MON/białko w celu porównania wyników. W naszych badaniach na mikrostrukturę biopolimeru glinka/białko miały prawdopodobnie wpływ oddziaływania elektrostatyczne, chociaż należy również wziąć pod uwagę efekty steryczne [45].

Podsumowując, nasze badania (O.3.) pokazały prostą metodę tworzenia biopolimerów mieszanych z białek serwatkowych i montmorylonitu poprzez otrzymywanie mieszanych żeli przez ogrzewanie i ich utwardzenie przez odparowanie wody. Dodanie MON generalnie wzmocniło strukturę, a materiał był bardziej lepkosprężysty i odporny na przebicie. Dodatek MON spowodował zmiany w mikrostrukturze żelu białkowego, który stał się bardziej drobnoziarnisty. Było to prawdopodobnie spowodowane przez adsorpcję jonów przez MON. Suszenie żeli WPC/MON spowodowało powstanie bardzo twardego materiału. Otrzymane biopolimery są naturalne, ponieważ po użyciu w glebie, białko zostanie zhydrolizowane przez enzymy pochodzenia mikrobiologicznego, a montmorylonit powróci do gleby. Oczywiście, niesuszony/suszony biopolimer może mieć wiele różnych zastosowań. Może być stosowany jako nośnik składników aktywnych lub tkankowe rusztowanie w ciele ludzkim, materiał opakowaniowy lub nośnik nawozu o przedłużonym działaniu.

Biopolimery otrzymane na bazie białek serwatkowych i montmorylonitu otrzymano jako żele indukowane pod wpływem ogrzewania, utwardzone przez odparowanie wody (O.3.). Otrzymano bardzo twarde biopolimery, ale nie były one tak elastyczne, aby można było uzyskać z nich dowolny kształt. Celem następnego badania (O.4.) było wytworzenie materiału, który naśladowałby materiały ceramiczne, takie jak na przykład do produkcji ceramiki. Doniczki z gliny, chociaż nie obciążają chemicznie środowiska, są obciążeniem dla gleby, ponieważ są praktycznie nierozkładalne i mogą być wydobywane po upływie tysięcy lat. Zwiększenie stężenia glutenu w biopolimerach trójskładnikowych spowodowało wzrost wartości modułów (O.4.). Gluten jest w badanym trójskładnikowym biopolimerze głównym składnikiem wpływającym na właściwości reologiczne. Zwiększenie zawartości glutenu powoduje bardziej upakowaną mikrostrukturę usieciowaną przy użyciu gluteniny i gliadyny.

Wzrost modułu zachowawczego wraz ze wzrostem stężenia glutenu obrazuje powstawanie silniejszej, elastycznej matrycy żelowej. Dodanie 7% MON i 5% WPC do glutenu spowodowało wzrost modułu zachowawczego w zależności od stężenia glutenu (od 3,5 do 7,8 razy). Wszystkie badane żele zachowywały się jak słabe żele fizyczne, ponieważ wartości modułów zachowawczych były kilkakrotnie wyższe niż modułów stratności. Wzrost częstotliwości powodował wzrost wartości modułów. Zwiększona częstotliwość powodowała, że materiał miał mniej czasu na relaksację i zachowywał się jako bardziej elastyczny. Badany materiał scharakteryzowano jako żele fizyczne, ponieważ tangens kąta fazowego przy wszystkich zmierzonych częstotliwościach mieścił się w zakresie 0,1-1,0. Zwiększone wartości modułów wraz z dodatkiem MON i WPC były prawdopodobnie spowodowane wpływem MON, który zmniejszył ruchliwość łańcuchów glutenowych. Możliwe były również interakcje pomiędzy białkami glutenu i serwatkowymi [46]. W białkach glutenu podczas ogrzewania mogą powstawać wiązania disiarczkowe, które prowadzą do utworzenia trójwymiarowej matrycy. Podobne wiązania powstają pomiędzy glutenem a białkami serwatkowymi, co doprowadziło do powstania biopolimeru o dużym module zachowawczym. Wzrost stężenia glutenu spowodował wzrost lepkości. Związek między stężeniem glutenu a lepkością ultradźwiękową dopasowano do krzywych wykładniczych ($R^2=0,92-0,98$). W przypadku biopolimerów trójskładnikowych zwiększone stężenie glutenu powoduje szybszy wzrost lepkości ultradźwiękowej niż w przypadku samych żeli glutenowych. Wyraźnie widać większą wartość wykładnika we wzorze krzywej wykładniczej dla trójskładnikowych biopolimerów niż dla żeli glutenowych (O.4.). Istnieje silna liniowa korelacja pomiędzy wartościami lepkości ultradźwiękowej a wartościami modułów G' i G'' . Można to wyrazić jako: lepkość ultradźwiękowa = $0,0278 G' + 148,56$ ($R^2=0,922$) i lepkość ultradźwiękowa = $0,0859 G'' + 150,06$ ($R^2=0,927$). Przeprowadzono test siły przebicia próbki suszonego trójskładnikowego biopolimeru uzyskanego przy 25% glutenu. Na krzywej odległość - siła występują dwa piki spowodowane pęknięciem powierzchni (pierwszy) i zniszczeniem próbki. Przebicie trójskładnikowego wysuszonego biopolimeru ujawniło pęknięcia na powierzchni, co sugerowałoby, że pierwszy pik powstał w wyniku pęknięcia powierzchni biopolimeru. Wzrost stężenia glutenu powodował wzrost siły przebicia. Maksymalna wartość siły przebicia materiału o grubości 2 mm przebijanego trzpieniem o średnicy 2 mm wynosiła 187 N, czyli znacznie więcej niż twardość biopolimeru WPC/MON uzyskanego w poprzednich badaniach (80 N) (O.3.). Dodanie MON i WPC do glutenu wzmocniło strukturę bioplastiku. Türe i in. [22] podali, że dodanie MON do glutenu pszennego prowadzi do poprawy mechanicznych, barierowych i termicznych właściwości

filmów. Wprowadzenie cząstek krzemionki w matrycy glutenu z pszenicy prowadziło do lepszych właściwości fizycznych, mierzonych 3-punktowym zginaniem. Mikrostrukturalne obrazy SEM wykazały gładką i zwartą mikrostrukturę, co jest zgodne z silnymi właściwościami mechanicznymi badanego materiału (O.4.). Wykonano skaningową mikroskopię elektronową powierzchni trójskładnikowego biopolimeru z mapowaniem elementów. Metoda ta służy do wizualizacji regionów o wyższym stężeniu określonego pierwiastka. Wszystkie pierwiastki w układzie okresowym z liczbą atomową wyższą od tlenu można zidentyfikować przez mapowanie. Jest to metoda jakościowa pokazująca rozkład pierwiastków w próbce. W przypadku trójskładnikowych biopolimerów regiony o wyższym stężeniu białka (gluten i WPC) zmapowano dla węgla a regiony o wyższym stężeniu MON zmapowano dla krzemu. Aby udowodnić, że regiony bogate w białka były ubogie w MON, porównano negatywy zdjęć z mapowania węglowego z pozytywnym zdjęciem dla mapowania krzemu. Zdjęcia pokazały, że białka stworzyły biopolimerową matrycę z zanurzonym w niej montmorylonitem w postaci owalnych aglomeratów. Wykazano wcześniej dobre rozproszenie domen krzemoorganicznych w matrycy polimeru organicznego [47]. Mieszane polimery glutenowe i WPC mogą zajmować przestrzeń międzywarstwową glinki, powodując zmianę odległości tej przestrzeni. Rozległe badania strukturalne, obejmujące techniki rozpraszania promieni rentgenowskich (WAXS i SAXS) oraz techniki mikroskopii elektronowej (TEM), wykazały, że adsorpcja białek powoduje, że MON złuszcza się w podobny sposób jak w eksfoliowanych nanokompozytach krzemianowych z warstwą polimeru [48]. Prawdopodobnie istnieje synergetyczna adsorpcja białek na powierzchni gliny. Potrzebne są przyszłe badania z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych, transmisyjnej mikroskopii elektronowej, rozpraszania promieni X o małym kącie oraz dyfuzyjnej spektroskopii falowej, aby wyjaśnić, w jaki sposób łańcuchy białkowe glutenu / białka WPC są wbudowane w strukturę gliny. Skaningowa mikroskopia elektronowa wykazała obecność włókien w matrycy biopolimerowej (O.4.). Średnica włókien wynosiła około 7 μm . Podobne włókna obserwowano metodą mikroskopii fluorescencyjnej w proszku glutenu stosowanym do otrzymywania biopolimerów. Niewielkie rozmiary włókien i morfologia ziarniaka sugerują, że włókna mogą pochodzić z bródki ziarniaka pszenicy.

Podsumowując, suszenie mieszanek glutenu pszenicznego/koncentratu białka serwatkowego /montmorylonitu przez odparowanie wody jest dobrym sposobem uzyskania bardzo twardych biopolimerów. Zwiększone wartości modułów z dodawaniem MON i WPC do glutenu były prawdopodobnie spowodowane wzmacniającym efektem MON, który zmniejszał ruchliwość łańcuchów glutenowych i zwiększał możliwe interakcje między białkami glutenu

i serwatkowymi poprzez wymianę dwusiarczkową. Przy odpowiednim stężeniu składników otrzymane żele były bardzo plastyczne i łatwo można było uzyskać odpowiedni kształt. Można je stosować do produkcji ceramiki ulegającej biodegradacji (np. doniczek do kwiatów) o właściwościach mechanicznych podobnych do nierozkładalnych produktów z gliny. Uzyskane biopolimery są w pełni biodegradowalne. Białka są hydrolizowane przez naturalne proteazy wytwarzane przez mikroorganizmy w glebie, a montmorylonit jest składnikiem gleby.

W poprzednich badaniach uzyskano biopolimery oparte na koncentracie białka serwatkowego i montmorylonicie (O.3.), a także glutenu, koncentratu białka serwatkowego i montmorylonicie (O.4.). W kolejnym badaniu (O.5.) zastosowano inny glinokrzemian. Opracowano trójskładnikowy biopolimer na bazie glutenu, koncentratu białka serwatkowego i kaolinitu. Kaolinit jest warstwowym glinokrzemianem o wzorze chemicznym $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$. W porównaniu do montmorylonitu, kaolinit jest niepęczniejącym glinokrzemianem [28]. Mieszaninę sproszkowanego glutenu, koncentratu białka serwatkowego i kaolinitu ogrzewano na sucho mikrofalami, przed wytworzeniem końcowych dyspersji. Następnie dyspersję ogrzewano w łaźni wodnej przez 30 min. w 80 °C.

W przypadku niesuszonych biopolimerów największe wartości modułu zachowawczego i stratności zmierzono przy 30 s ogrzewania mikrofalami. Przy dłuższym czasie suchego ogrzewania uzyskano mniej sztywną matrycę biopolimerową. Taką samą optymalną wartość czasu napromieniowania zaobserwowano dla wartości lepkości zmierzonych za pomocą wiskozymetru ultradźwiękowego. Występowała korelacja liniowa między modułem zachowawczym przy 10 Hz i lepkością dynamiczną x gęstość dla biopolimerów otrzymanych przy różnych czasach ogrzewania mieszaniny proszków ($R^2=0,69$). Silna liniowa korelacja między wartościami lepkości ultradźwiękowej a wartościami modułów G' i G'' została odnotowana również w poprzednim badaniu (O.4.). Biopolimery suszono w szafce termostatycznej przez 24 godziny w temperaturze pokojowej 45°C. Ich teksturę oceniano za pomocą testu przebijania. Można było zauważyć na podstawie kształtu krzywej przebijania, że próbka przedstawia twardy, dość jednorodny i elastyczny materiał, ponieważ była bliska liniowej zależności siły wraz z odległością. Po przebiciu do około połowy grubości próbki, materiał pękał. Największą twardość odnotowano dla biopolimerów otrzymanych z proszków napromieniowanych przez 30 s. Jest to zgodne z wartościami modułów i wartości lepkości ultradźwiękowej. Na zdjęciach SEM, kaolinit jest postrzegany jako jaśniejsze cząstki o ostrych krawędziach. Włókna obecne w matrycy biopolimerowej są prawdopodobnie włóknami bródki ziarniaka pszenicy obserwowanymi również w poprzednim badaniu (O.4.).

Dla badanych próbek przeprowadzono mapowanie S, O i C. Przedstawia ono dobrą dyspersję cząstek kaolinitu i białek. Porównanie zdjęć SEM uzyskanych dla różnych czasów napromieniowania nie wykazało większych różnic w mikrostrukturze biopolimerów. Barral i in. [45] badali interakcje pomiędzy białkami serwatkowymi i kaolinitem poprzez eksperymenty adsorpcji-desorpcji przeprowadzane w punkcie izoelektrycznym (IEP) białek i przy pH 7. Stwierdzili, że kaolinit jest silnym adsorbentem dla białek o maksymalnej zdolności adsorpcji w IEP. Dane dyfrakcji rentgenowskiej dla kompleksów białko-kaolinit wykazały, że cząsteczki białka nie były interkalowane w strukturze mineralnej, ale unieruchomione na powierzchniach zewnętrznych i krawędziach kaolinitu. Białko prawdopodobnie adsorbuje się na podłożu kaolinitu po stronie tlenku glinu [28]. Pomiar w podczerwieni w transformacji Fouriera wykazały brak wiązania wodorowego między powierzchniami kaolinitu i białek serwatkowych, a adsorpcję białek wyjaśniono interakcjami elektrostatycznymi i efektami sterycznymi [45]. Zhang i in. [49] badali wpływ ogrzewania na sucho na enzymatyczną hydrolizę i strukturę glutenu pszennego. Metoda FTIR wykazała zmiany struktury drugorzędowej poprzez zwiększenie zawartości struktur β i jednocześnie zniknięcie struktury nieuporządkowanej. W ogrzewanym na sucho glutenie stwierdzono zniszczenie struktur trzeciorzędowych, co zostało wykazane przez wzrost zawartości grup sulfhydrylowych i zmniejszenie zdolności hydratacyjnej. Wysoka temperatura proszków spowodowana ogrzewaniem mikrofalowym może prowadzić do różnych reakcji chemicznych: deamidacji, hydrolizy, odwodnienia i agregacji [14]. Wewnątrzcząsteczkowe i międzycząsteczkowe wiązania, które są odpowiedzialne za agregację, mogą wzmacniać lub osłabiać matrycę białka żelowego, w zależności od równowagi pomiędzy tymi dwoma typami wiązań poprzecznych. Wzrost oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych prowadzi do struktury przypominającej koagulację, w porównaniu do silnej matrycy żelowej, gdy występują siły bardziej zrównoważone. Jest to prawdopodobnie przyczyną zaobserwowanego optymalnego czasu suchego ogrzewania na właściwości reologiczne otrzymanych biopolimerów (O.5.). W czasie ogrzewania mikrofalowego powyżej 30 sekund ekspozycja grup funkcjonalnych była zbyt silna, co prowadziło do silnych wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań koagulujących. Gulzar i in. [50] zauważyli, że siła żelu i zdolność zatrzymywania wody w białkach ogrzewanym na sucho ulegały poprawie do pewnego maksymalnego punktu, a następnie zaczęły się one zmniejszać z powodu nadmiernej denaturacji/agregacji białek serwatkowych prowadzącej do powstawania nierozpuszczalnych agregatów. W procesie wytwarzania bioplastiku białka glutenu pszennego są podgrzewane w temperaturze 80-170°C. Wyższe temperatury prowadzą do wysoce usieciowanej struktury, która negatywnie wpływa

na właściwości biotworzyw [51]. Ten sam efekt prawdopodobnie obserwowano dla mieszanek białek serwatkowych i glutenu (O.5). Większość białek serwatkowych i glutenu zawiera mostki disiarczkowe i grupy sulfhydrylowe odpowiedzialne za tego rodzaju zachowanie.

Niepęczniący charakter glinokrzemianu - kaolinitu, bez zjawiska rozszerzalności międzywarstw w wodzie [28], może wpływać na właściwości powierzchniowe otrzymanego biopolimeru. Tak więc w kolejnej publikacji (O.6.) więcej uwagi poświęcono właściwościom powierzchniowym uzyskanych biopolimerów. Do wyjaśnienia wpływu stężenia glutenu na właściwości powierzchniowe otrzymanych biopolimerów wykorzystano badania kątów zwilżania powierzchni przez ciecze, chropowatości powierzchni i analizę przy użyciu rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów (XPS). Ten rodzaj połączonych badań powierzchni został po raz pierwszy zastosowany w badaniach biopolimerów. Nie istnieją podobne prace w literaturze światowej. Kąty zwilżania zmierzono na trójskładnikowych płytkach biopolimerowych (WG/WPC/KAO) o stężeniu glutenu 20-30%. W przypadku niższego stężenia glutenu, ciecze wnikały w powierzchnię biopolimeru. W celu określenia zwilżalności płytek biopolimerowych, określono wartości kąta stępującego i zstępującego dla wody, formamidu i diiodometanu. Woda jest cieczą, która oddziałuje z powierzchnią zarówno w sposób dyspersyjny, jak i polarny, a diiodometan oddziałuje z powierzchnią tylko w sposób dyspersyjny. Kąty zwilżania formamidem są pomiędzy kątami dla wody i diiodometanu. Wraz ze wzrostem stężenia glutenu powierzchnia staje się bardziej hydrofilowa, a kąt zwilżania dla wody zmniejsza się z $86,9 \pm 1,0^\circ$ dla powierzchni o 20% stężeniu glutenu do $37,9 \pm 3,8^\circ$ dla powierzchni z 30% stężeniem glutenu (O.6.). Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku niepolarnego diiodometanu. Kąt zwilżania zmierzony na powierzchni biopolimeru trójskładnikowego z glutenem 20% wynosi około $38,5 \pm 3,3^\circ$ i wzrasta do $62,2 \pm 1,3^\circ$ dla powierzchni o zawartości 30% glutenu. Zwilżalność powierzchni jest wynikiem wielu czynników: obecności grup funkcyjnych na powierzchni, topografii powierzchni, warunków w komorze pomiarowej. W przypadku składu powierzchni, pomiar XPS wykazał, że zwiększenie zawartości glutenu w biopolimerze zmniejszyło zawartość węgla na powierzchni. Węgiel występował na powierzchni jako grupy C-C i C-H i we wszystkich przypadkach jest to ponad 50% całej zawartości (O.6.). Obecność węgla w tej postaci zmieniała się wraz ze wzrostem stężenia glutenu. Grupy te są hydrofobowe, a spadek hydrofobowości powierzchni został potwierdzony przez kąty zwilżania dla wody (O.6.). Jednocześnie wraz ze wzrostem zawartości glutenu wzrastała ilość węgla w postaci grup C=O. Grupa ta jest hydrofilowa. Biorąc pod uwagę skład powierzchni uzyskany przy użyciu

XPS, można wnioskować, że przy wzrastającym stężeniu glutenu właściwości hydrofobowe powierzchni powinny się zmniejszać. Potwierdzają to kąty zwilżania dla wody. Jak już wspomniano, zwilżalność powierzchni zależy od wielu czynników, ale dwa są najważniejsze: obecność grup funkcjonalnych na powierzchni i topografia tej powierzchni. Wszystkie powierzchnie otrzymanych biopolimerów należy uznać za chropowate. Jednakże chropowatość ta jest różna dla różnych stężeń glutenu. W przypadku powierzchni o stężeniu glutenu 20% występuje hierarchiczna struktura chropowatości. "Hierarchiczna struktura" to termin używany w naukach o powierzchni [52]. Oznacza on, że powierzchnia składa się z chropowatości w skali mikro oraz nano. Na przykład powierzchnia może być szorstka w mikroskali, ale składa się ze wzgórz i dolin o gładkiej powierzchni. Profile boczne uzyskane z profilometru ujawniają tego rodzaju strukturę (O.6.). Na profilu bocznym widać główną strukturę mikrochropowatości. Nie zdominowały go wzgórza i doliny o mikrostrukturze nano chropowatości znanej z superhydrofobowości [53, 54], jednak powierzchnia biopolimeru jest hydrofilowa, a szorstka struktura może jedynie zwiększyć wartość kąta zwilżania wodą. Bez obecności hydrofobowych grup funkcyjnych na powierzchni nie można uzyskać właściwości superhydrofobowych [55]. Gdy stężenie glutenu wzrosło do 25%, można było zauważyć również strukturę hierarchiczną, jednak w tej strukturze chropowatość nano ma inny kształt (O.6.). Składa się z głębokich i wąskich otworów. Ta część chropowatości nie może być dostępna dla kropli wody. W rezultacie woda wchodzi w interakcje bardziej z mikrochropowatością powierzchni, która występuje w przypadku powierzchni biopolimeru glutenowego 20%, a kąt zwilżania wodą spada do $46,3 \pm 2,6^\circ$. Przy najwyższym stężeniu glutenu (30%) struktura chropowatości powierzchni jest przeważnie w mikroskali. Woda może penetrować ten rodzaj chropowatości i pomimo obecności niektórych hydrofobowych grup funkcyjnych, kąt zwilżania wodą jest mały. W przypadku diiodometanu ciecz ta może penetrować powierzchnię i pomimo zmian chropowatości, zmniejsza się zawartość grup niepolarnych na powierzchni, co powoduje wzrost kątów zwilżania dla diiodometanu. Pozorna energia swobodna została obliczona przy użyciu równowagowych kątów zwilżania i dwóch podejść [56]. Ze względu na zmianę składu powierzchni i jej chropowatości pozorna swobodna energia powierzchniowa wzrasta wraz ze wzrostem stężenia glutenu. Pozorną swobodną energię powierzchniową można zdefiniować jako nadmiar energii na powierzchni badanego materiału w porównaniu do całości materiału. W przypadku badanych biopolimerów wartość ta jest ważna, ponieważ jeśli znana jest wartość energii, można przewidzieć interakcje między materiałem a jego nośnikiem. W przypadku opisanych polimerów wartość energii jest ważna dla oddziaływań pomiędzy np.

bioceramiką uzyskaną z tego materiału i jej zawartością. Nasze obliczenia pozornej swobodnej energii powierzchniowej były niezależne od zastosowanego podejścia. Poprzez spadek zawartości niepolarnych grup funkcyjnych maleją wartości składowej dyspersyjnej energii. Obserwowaliśmy również wzrost polarności powierzchni, ponieważ wzrosła wartość obu parametrów polarnych (O.6.). Na zdjęciach SEM kaolinit jest widoczny na powierzchni trójskładnikowych biopolimerów jako wystające ostre krawędzie. Podobną wielkość cząstek kaolinitu obserwował Mackinnon i in. [57]. W przypadku trójskładnikowego biopolimeru zaobserwowano warstwy z interkolacją i złuszczeniem w porównaniu z biopolimerem otrzymanym bez kaolinitu (O.6.).

Zastosowania otrzymanych trójskładnikowych biopolimerów mogą być bardzo różne w zależności od tego, czy zastosowany materiał był w stanie mokrym, czy suchym. Biopolimery te są jadalne i mogą być nawet używane jako nośnik różnych aktywnych składników w ludzkim ciele. Same glinokrzemiany są stosowane w wielu aplikacjach farmaceutycznych i kosmetycznych [58]. Są one używane przez człowieka od czasów prehistorycznych do celów terapeutycznych, takich jak leczenie ran, łagodzenie podrażnień lub leczenie zaburzeń żołądkowo-jelitowych. Obecnie są one również stosowane jako naturalne środki do zapobiegania i leczenia pewnych patologii skóry, stanów zapalnych, dyslokacji i stłuczeń. Glinokrzemiany posiadają zdolność neutralizowania nadkwasowości żołądka. Ostatnio naturalne glinokrzemiany zostały użyte do usunięcia wolnych kwasów tłuszczowych z zużytego oleju jadalnego [59]. W ten sposób możliwe jest przedłużenie czasu stosowania zużytego oleju do innych celów użytkowych, a tym samym czas jego ostatecznej utylizacji zostanie oddalony. Głównym celem technologicznym badań (O.6.) było uzyskanie biodegradowalnej bioceramiki. Zasadniczo, mokre żele glutenowe były bardzo elastyczne i nie można było uzyskać pożądanego kształtu. Po wysuszeniu uzyskany materiał był bardzo koherentny i przy wyższym stężeniu glutenu - wyjątkowo silny. Dodatek kaolinitu rozluźnił strukturę żelu, ale nie było również możliwe uzyskanie odpowiedniego kształtu. Lepszy efekt zaobserwowano dla mieszanin glutenu i WPC. Najlepsze właściwości plastyczne dla uzyskania wymaganego kształtu zaobserwowano dla trójskładnikowych biopolimerów (O.6.). Różnica w możliwości uzyskania odpowiedniego kształtu zależała od stężeniu glutenu. Najlepsze właściwości plastyczne i najlepszy kształt otrzymano dla trójskładnikowego biopolimeru o stężeniu glutenu 15%.

Podsumowując, każdy składnik ma inny wpływ na ostateczne właściwości plastyczne biopolimeru. Gluten zwiększa elastyczność i spójność żelu, a końcowy wysuszony produkt jest bardziej zwięzły i twardszy. WPC sprawia, że biopolimer jest spójny, jednak elastyczność

zmniejsza się, a kształt jest o wiele łatwiejszy do formowania. Kaolinit dodany do glutenu rozluźnia mikrostrukturę, jednakże bioplastik nie jest wystarczająco spójny, aby go ukształtować. Składnik ten jest jednakże konieczny, ponieważ o wiele łatwiej jest suszyć żele glutenowe z dodatkiem glinokrzemianów. Gluten bez kaolinitu ma tendencję do szybkiego wysychania, tworząc silną i spójną powierzchnię, która jest wilgotna wewnątrz. Ten rodzaj powierzchni powoduje, że woda zawarta w żelu jest niemożliwa do usunięcia. Połączenie wszystkich trzech składników pozwoliło uzyskać materiał o właściwościach plastycznych podobnych do naturalnej gliny. Te badania (O.6.) charakteryzujące właściwości powierzchniowe mogą być ważne dla przyszłych badań nad adhezją różnych materiałów do powierzchni biopolimerów. Obniżenie przyczepności będzie wpływać na obniżenie strat ekonomicznych i ułatwiać procedurę czyszczenia. Może również być ważne w przypadku zjawiska przyczepności gleby zawierającej enzymy zewnątrzkomórkowe, co może wpływać na proces biodegradacji biopolimerów.

Literatura

1. Sharma S, Luzinov I (2012) *J Polym Environ* 20:681–689
2. Zárate-Ramírez LS, Romerob A, Bengoecheab C, Partalc P, Guerrerob A (2011) *Carbohydr Polym* 112:24-31
3. Gupta P, Nabak KK (2015) *Polym Eng & Sci* 55:485-498
4. Chevillard A, Angellier-Coussy H, Guillard V, Gontard N, Gastaldi E (2012) *Polym Degrad & Stab* 97:2060-2068
5. Gómez-Martínez D, Partal P, Martínez I, Gallegos C (2013) *Industr Crops & Prod* 43: 704-710
6. Yu WH, Li N, Tong DS, Zhou CH, Lin C X (C), and Xu CY (2013) *Appl Clay Sci* 80-81:443-452
7. Michalska-Klimczak B (2011) *Świat Zbóż* 16:17-19
8. Angellier-Coussy H, Torres-Giner S, Morel MH, Gontard N, Gastaldi E (2008) *J Appl Polym Sci* 107:487-496
9. Patni N, Yadava P, Agarwal A, Maroo V (2014) *Rev Chem Eng* 30:421-430
10. Wretfors C, Cho SW, Hedenqvist M S, Marttila S, Nimmermark S, Johansson E (2009) *J Polym Environ* 17:259-266
11. Muneer F, Johansson E, Hedenqvist MS, Gällstedt M, Newson WR (2014) *Bio Res* 9:

- 5246-5261
12. Jagadeesh D, Jeevan Prasad Reddy D, Varada Rajulu A (2011) *J Polym Environ* 19: 248-253
 13. Tomczyńska-Mleko M (2012) *Milchwissenschaft* 67:443-446
 14. Gulzar M, Bouhallab S, Jeantet R, Schuck P, and Croguennec T (2011) *Food Chem* 129:110-116
 15. Tomczyńska-Mleko M, Terpiłowski K, Mleko S (2015) *Food Hydrocoll* 49:232-239
 16. Lambrecht MA, Rombouts I, De Ketelaere B, Delcour JA (2016) *Food Chem* 221:1158-1167
 17. Hayati-Ashtiani M (2012) *Particulate Sci and Technol* 30:553-564
 18. Floody MC, Theng BKG, Reyes P, Mora ML (2009) *Clay Miner* 44:161-176
 19. Liu HH, Nakagawa K, Chaudhary D, Asakuma Y, Tade MO (2011) *Chem Eng Res Des* 89:2356-2364
 20. Ture H, Blomfeldt TOJ, Gallstedt M, Hedenqvist MS (2012) *J Polym Environ* 20:1038-1045
 21. Zhang Y, Liu Q, Hrymak A, Han JH (2013) *J Polym Environ* 21:122-131
 22. Türe H, Blomfeldt TOJ, Gällstedt M, Hedenqvist MS (2012) *J Polym Environ* 20:1038-1045
 23. Mascheroni E, Chalier P, Gontard N, Gastaldi E (2010) *Food Hydrocoll* 24:406-413
 24. Choa SW, Gallstedt M, Johansson E, Hedenqvist MS (2011) *Inter J Biol Macromol* 48:146-153
 25. Tunc S, Angellier H, Cahyana Y, Chalier P, Gontard N, Gastaldi E (2007) *J Membr Sci* 289:159-168
 26. Guilherme MR, Mattoso LHC, Gontard N, Guilbert S, Gastaldi E (2010) *Appl Sci Manuf* 41:375-382
 27. Barral S, Villa-Garcia MA, Rendueles M, Diaz M (2008) *Acta Mater* 56:2784-2790
 28. Andersen A, Reardon PN, Chacon SS, Qafoku NP, Washton NM, and Kleber M (2016) *Langmuir* 32:6194-6209
 29. Marinciu C, (2007) *Rom Agric Res* 24:17-25
 30. McDonald MB (1999) *Seed Sci Techn* 27:177-237
 31. Khan NA, Booker H, and Yu P (2015) *J Agr Food Chem* 63:1057-1066
 32. Nicolas Y, Smit RJM, van Aalst H, Esselink FJ, Weegels PL, Agterof WGM (2003) *Cereal Chem* 80:371-377
 33. Tatham AS, and Shewry PR (2008) Rubber elasticity and wheat gluten proteins

34. Springer New York:83-94
35. Lefebvre J, Pruska-Kędzior A, Kędzior Z, Lavenant L (2003) *J Cereal Sci* 38:257-267
36. Upadhyay R, Ghosal D, and Mehra A (2012) *J Food Eng* 109:104-113
37. van Vliet T, Janssen AM, Bloksma AH, and Walstra P (1992) *J Texture St* 23:439-460
38. Santos DMJ, Monteiro SR, and da Silva JAL (2005) *Europ Food Res and Technol* 221: 398-405
39. Dolz M, Hernandez MJ, Delegido J (2006) *J Appl Polym Sci* 102:897-903
40. Lucey JA, Tamehana M, Singh H, Munro PA (2000) *J Dairy Res* 67:415-427
41. Fukushima K, Rasyida A, Yang M-Ch (2013) *J Polym Res* 20:302
42. Winkler B, Margerison JK (2012) *J Dairy Sci* 95:1714-1728
43. Abollino O, Giacomino A, Malandrino M, Mentasti E (2008) *Appl Clay Sci* 38:227-236
44. Bhattacharyya KG, Gupta SS (2008) *Adv Colloid Interf Sci* 140:114-131
45. Cadene A, Durand-Vidal S, Turq P, Brendle J (2005) *J Colloid Interf Sci* 285:719-730
46. Barral S, Villa-Garcia MA, Rendueles M, Diaz M (2008) *Acta Mater* 56:2784-2790
47. Mallahpour S, Dinari M (2012) *J Inorg Organomet Polym* 22:929
48. Kiersnowski A, Serwaczak M, Kulaga E, Futoma-Koloch B, Kwiatkowski R, Doroszkiewicz W, Pigłowski (2009) *J Appl Clay Sci* 44:225-229
49. Zhang H, Claver IP, Li Q, Zhu K, Peng W, and Zhou H (2012) *Food Technol Biotechnol* 50:53-58
50. Gulzar M, Lechevalier V, Bouhallab S, and Croguennec T (2012) *J Food Eng* 112:296-303
51. Ullsten NH, Cho S-W, Spenser G, Gallstedt M, Johansson E, and Hedenqvist MS (2009) *Biomacromolecules* 10:479-488
52. Gao N, Yan YY, Chen XY, Mee DJ (2011) *Mater Lett* 65:2902-2905
53. Khojasteh D, Kazerooni M, Salarian S, Kamali R (2016) *J Ind Eng Chem* 42:1-14
54. Terpiłowski K (2017) *Superhydrophobic surfaces and coatings: Investigations and insights*. Nova Science Publishers Hauppauge
55. Drelich J, Chibowski E, Meng DD, Terpiłowski K (2011) *Soft Matter* 7:9804-9828
56. Terpiłowski K, Rymuszka D, Hołysz L, Ilnicki M (2017) *Surf Interface Anal* 49:647-653
57. Mackinnon IDR, Uwins PJR, Yago A, Page D (1993) *Clay Mineral* 41:613-623
58. López-Galindo A, Viseras C (2004) *Interface Sci and Technol* 1:267-289
59. Dobrnjac S, Dobrnjac M, Skundric JP, Vasiljevic L, Blagojevic S, Sandic Z (2019) *Experimental and Numerical Investigations in Materials Science and Engineering. CNNTech 2018 Lecture Notes in Networks and Systems vol 54* Springer New York

5. Charakterystyka innych osiągnięć naukowych

5.1. Osiągnięcia naukowe przed doktoratem

Na początku moich zainteresowań naukowych jako doktorantka kontynuowałam badania zawarte w mojej pracy magisterskiej, a dotyczyły one wykorzystania serwatki do produkcji celulaz przez mutanty *Trichoderma reesei*. Hodowle szczepów *Trichoderma reesei* M-7, 18/15 i 18/14 prowadziłam początkowo w pożywce Mandels-Weber stosując jako źródło węgla laktozę w stężeniu 0.5%, 0.75% i 1%, a w następnej serii obok laktozy dodawałam kwas mlekowy w ilości 0,05%, 0,1% i 0,2%, ponieważ jest on obecny w serwatce. W dalszej części badań stosowałam serwatkę kwasową w takiej ilości, żeby stężenie laktozy wynosiło 1%. Podłoża szczepiłam zawiesiną zarodników w ilości $1,6-1,8 \times 10^4$. Hodowle grzybów prowadziłam przez 14 dób w kolbach stożkowych na wytrząsarce w temperaturze 27°C, pobierając, począwszy od 4-tej doby próbki cieczy hodowlanych, w których oznaczałam pH i aktywności endo-β-1,4-glukanazy. Uzyskane wyniki wskazały na znaczne obniżenie pH z 5,0 do 3,0-4,0 jednostek w kombinacji z 0,5% laktozy i 0,05% kwasu mlekowego. Natomiast, gdy zawartość laktozy i kwasu mlekowego była większa pH środowiska wzrastało wyraźnie osiągając wartość 6,0-6,5 jednostek w 13-tej dobie. Aktywność endo-β-1,4-glukanazy początkowo utrzymywała się na stałym poziomie (8 jednostek aktywności), ale w 10-tej dobie wzrastała o około 3 jednostki (0,5% laktozy + 0,05% kwasu mlekowego). W przypadku większej zawartości laktozy i kwasu mlekowego aktywności CMC-azy osiągały maksymalne wielkości już w 7-mej dobie (11-12 jednostek). Po wprowadzeniu do hodowli serwatki kwasowej wyniki aktywności były 3-krotnie niższe. Porównanie badanych szczepów wykazało najwyższe aktywności CMC-azy w hodowli szczepu *Trichoderma reesei* 18/15 podczas, gdy w pozostałych wyniki były podobne (II.D.2)

Prowadziłam również doświadczenia dotyczące produkcji celulaz przez mutanty *Trichoderma reesei* na laktozie i serwatce. Celem niniejszej pracy była selekcja mutantu *Trichoderma reesei* do produkcji celulaz na laktozie jako głównym źródle węgla, stosując w oddzielnych hodowlach laktozę chemicznie czystą i zawartą w serwatce. Do badań wykorzystywałam 3 mutanty, tj.: *Trichoderma reesei* M-7, *Trichoderma reesei* Rut C-30, *Trichoderma reesei* VTT-D-78085. Hodowlę prowadziłam dwuetapowo w bioreaktorze o pojemności 5 l firmy New Brunswick – Bioflo III metodą okresową, a po wyczerpaniu się źródła węgla w podłożu metodą ciągłą. Warunki hodowli były następujące: temperatura 27°C, napowietrzanie 0,5 l/l x min, obroty mieszadła: 250 obr./min, inokulum 10% objętości

pożywki, szybkość zasilania 80 ml/l x doba. Hodowlę okresową prowadzono na pożywce Mandels-Weber z 4% dodatkiem laktozy, a po wyczerpaniu źródła węgla zasilano w sposób β -ciągły pożywką zawierającą 4% laktozy lub nierozcieńczoną serwatką. W filtratach pochodowlanych oznaczano aktywności: FPU, ksylanaz, aryl- β -glukozydazy, chitynazy, laminaryny, proteaz i zawartości białka. W wyniku hodowli okresowej *Trichoderma reesei* M-7 uzyskano aktywności celulaz FPU 2,06 jednostek i aktywności te wahały się wokół tej wartości podczas hodowli ciągłej. Natomiast zasilanie hodowli serwatką powodowało w początkowej fazie utrzymywanie się podobnych aktywności FPU w płynie pochodowlanym. Jednak po kilkunastu dobach aktywności FPU, ksylanaz, aryl- β -glukozydazy, filtratów pochodowlanych były coraz niższe, natomiast stwierdzono wzrastające ilości cukrów redukujących, a grzybnia stopniowo ulegała lizie. Jedynie aktywność proteolityczna filtratów pochodowlanych była coraz wyższa (II.D.3.).

Celem kolejnej publikacji (II.D.4.) było zbadanie wpływu nowych induktorów enzymów celulolitycznych pochodnych laktozy: kwasu laktobionowego i laktulozy na syntezę celulaz, ksylanaz, proteaz i β -galaktozydazy. Do badań używałam mutantu M-7 *Trichoderma reesei* i pochodzące od niego mutanty charakteryzujące się obniżoną zdolnością do produkcji enzymów proteolitycznych. Indukcję mutantów prowadziłam przy udziale promieniowania UV i nitrozoguanidyny, a selekcję na podłożu agarowym z 1% mieszanin induktorów z laktozą (0.5% : 0,5%). Aktywności wszystkich enzymów oznaczanych w filtratach pochodowlanych mutantów były niższe od mutantu wyjściowego *Trichoderma reesei*. Aktywności celulolityczne niskoproteazowych mutantów uzyskane podczas hodowli w obecności laktozy i laktulozy stanowiły od 31% do 60% aktywności mutantu wyjściowego M-7. W przypadku hodowli tych mutantów na podłożu zawierającym 1% mieszaninę laktozy i kwasu laktobionowego aktywności celulolityczne stanowiły od 36% do 73,5% aktywności mutantu M-7 w tych samych warunkach. W niektórych przypadkach stwierdziłam prawie 30-krotne obniżenie aktywności proteolitycznej mutantów w stosunku do hodowli mutantu wyjściowego w obecności mieszanin laktozy z kwasem laktobionowym i laktulozą. Laktuloza obecna w podłożu była znacznie wolniej metabolizowana przez mutanty o obniżonej zdolności do produkcji proteaz. Jeszcze w 12-tej dobie oznaczono w zależności od mutantu od 0,355 do 0,51 mg/ml laktulozy w cieczach pochodowlanych. Wysokie stężenia laktulozy były skorelowane z bardzo niskimi aktywnościami enzymu β -galaktozydazy. Do następnego etapu badań wybrano mutantu M-7-5 charakteryzującego się wysokimi aktywnościami enzymatycznymi celulaz i ksylanaz, przy niskich aktywnościach proteolitycznych. Przeprowadziłam hodowlę ciągłą mutantu w obecności 1% mieszanin laktozy z kwasem

laktobionowym (0,5% : 0,5%) w dwóch temperaturach: 26 i 34°C. Aktywności celulolityczne podczas hodowli ciągłej były podobne do oznaczonych podczas hodowli mutantu M-7-5 w 26°C. Aktywności celulolityczne przy temperaturze hodowli 34°C były nieznacznie podwyższone.

W tym czasie opublikowałam jedną pracę przeglądową dotyczącą produkcji grzybowych i bakteryjnych celulaz wolnych od ksylanaz. Celulazy wolne od ksylanaz są wykorzystywane do miazgi Kraft i w przemyśle spożywczym. Enzym ten jest obecnie używany w procesie wybielania jako alternatywa wybielania opartego na chlorze. Te uwolnione substancje chloroorganiczne są niebezpieczne dla ludzi i kosztowne w wyeliminowaniu ich ze środowiska. W przemyśle spożywczym celulazy te są wykorzystywane do zamiany ksylanu w ksylozę i oligosacharydy. Ponadto enzymy te znajdują zastosowanie w polepszaniu jakości wypiekowych chleba, klarowności piwa lub soku oraz maceracji warzyw. Na podstawie zebranej literatury stwierdzono syntezę celulaz wolnych od ksylanaz przez różne mikroorganizmy (grzyby i bakterie) osiągniętą przez użycie dzikich mutantów i genetycznie zmodyfikowanych gatunków. Oprócz zastosowania technologii genowej w kształtowaniu ksylanaz, produkcja celulaz wolnych od ksylanaz ogólnie jest funkcją istniejącego systemu kontroli wygenerowania konkretnego szczepu przez dostępność induktorów i substratów jak również zmiany warunków biotechnologicznych. Jednakże dalsze badania są potrzebne do dokładnego wyjaśnienia regulacji na poziomie molekularnym w celu ścisłej kontroli kierunku ich syntezy. Poza tym wysiłki powinny być skierowane w kierunku poszukiwania hiper lub termofilnych organizmów tolerujących alkalia, które są zdolne do produkcji wysoce termostabilnych celulaz wolnych od ksylanaz. W dalszej kolejności to może obniżyć koszty ich zastosowania w produkcji pulpy i w przemyśle spożywczym. Ponadto syntezę celulaz wolną od ksylanaz pozbawioną proteaz lub zawierającą niskie aktywności proteaz można zastosować w przemyśle piekarniczym (II.B.1)

W roku 2000 zajęłam się tematyką żywieniową i wspólnie z dr Agnieszką Malik opublikowałam 2 prace z tego zakresu (II.D.5 i II.D.6). Pierwsza publikacja dotyczyła oceny spożycia podstawowych składników odżywczych i energii przez studentów. Natomiast druga praca przedstawiała ocenę racji obiadowych podawanych w szkołach podstawowych Świdnika. Badania racji obiadowych przeprowadzono w 1997 roku w dwóch szkołach podstawowych Świdnika koło Lublina, pobierając losowo jeden raz w miesiącu obiad złożony z zupy i drugiego dania. Stwierdzono, że średnia wartość energetyczna posiłków wynosiła 2,4 MJ (567,6 kcal). Przyjmując, że obiad powinien pokryć 35-40% dziennej podaży energii, otrzymany wynik należy uznać za niezadawalający. Na podstawie uzyskanych wyników

ustalono, że porcje szkolnych obiadów cechuje niższa od zaleceń zawartość białka, węglowodanów i tłuszczów. Zawartość białka wynosiła średnio 17,5 g, co stanowiło 56,5% pokrycia normy (w przeliczeniu na posiłek obiadowy), zaś ilość węglowodanów kształtowała się na poziomie 64,1 g i pokrywała zalecaną normę w 41,8%. Także ilość tłuszczów kształtowała się poniżej zaleceń średnio o 20,5% i wynosiła 22,9 g. Należy mieć nadzieję, że brakujące ilości składników pokarmowych i energii są uzupełniane w posiłkach spożywanych w domu.

Równocześnie kontynuowałam badania z biotechnologii, które stały się podstawą do napisania mojej dysertacji doktorskiej pod tytułem „Produkcja zewnątrzkomórkowych enzymów przez mutanty *Trichoderma reesei* na serwatce i ich zastosowanie w wybranych procesach biotechnologicznych”, którą obroniłam w 2002 roku przed Wysoką Radą Wydziału Agrobiotechnologii Akademii Rolniczej w Lublinie. Promotorem mojej pracy doktorskiej był prof. dr hab. Zdzisław Targoński z Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, w której ja również pracowałam. Otrzymałam stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie „Technologia żywności i żywienia człowieka” w specjalności „biotechnologia”.

5.2. Osiągnięcia naukowe po doktoracie

Wyniki otrzymane w doktoracie opublikowałam w postaci 6 prac naukowych zamieszczonych w czasopismach z listy B Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (II.B.2., II.B.3., II.B.4., II.B.7., II.B.8., II.B.9.).

W pierwszej publikacji (II.B.2) porównałam produkcję wybranych enzymów zewnątrzkomórkowych przez *Trichoderma reesei* M-7 na dwóch podłożach, tzn. słodkiej serwatce zawierającej 4% laktozy i czystej laktozie, również w stężeniu 4% i dowiodłam, że aktywności celulaz określone metodą FPU różniły się na niekorzyść serwatki. Odwrotne rezultaty odnotowałam w przypadku pozostałych enzymów, tzn. aktywności proteaz, laminarynaz i chitynaz były wyższe na serwatce niż na laktozie. Ponadto stwierdziłam, że stężenie kwasu mlekowego w podłożu hodowlanym nie miało dużego wpływu na aktywności celulolityczne FP-azy filtratów i to niezależnie od pH podłoża wyjściowego. Jedną z przyczyn niskiej aktywności celulolitycznej i ksylanolitycznej filtratów otrzymanych po hodowli *Trichoderma reesei* M-7 na serwatce mogła być nadmierna produkcja proteaz, powodujących proteolizę celulaz i ksylanaz. Ponadto kwasowość nierozcieńczonej serwatki wynosząca poniżej pH 5,5 hamowała rozwój grzybni *Trichoderma reesei* M-7. Zastosowanie serwatki do

produkcji celulaz i ksylanaz przez *Trichoderma reesei* wymaga identyfikacji przyczyn uzyskiwania niskich aktywności enzymatycznych supernatantów i stosownych modyfikacji składu serwatki. Z powyższych badań wyciągnęłam następujące wnioski. Z dwóch testowanych podłoży hodowlanych dla *Trichoderma reesei* M-7 lepsze pod względem produkcji celulaz okazało się podłoże Mandels-Weber, zawierające czystą laktozę w stężeniu 4%. Natomiast na podłożu, które stanowiła słodka serwatka z dodatkiem siarczanu amonowego, uzyskano wyższe aktywności proteaz, laminarynazy i chitynazy, przy niskich aktywnościach celulaz i ksylanaz. Kwasowość nierozcieńczonej serwatki wynosząca poniżej wartości pH 5,0 działała inhibicyjnie na wzrost *Trichoderma reesei* M-7. Szybkie namnożenie badanej grzybni obserwowano wówczas, gdy pH serwatki wynosiło powyżej 5,5. Rozcieńczenie serwatki, zwłaszcza 3-krotne i większe w istotny sposób przyspieszało czas namnażania się grzybni *Trichoderma reesei* M-7, co świadczy o obecności inhibitorów wzrostu w serwatce. Stężenie kwasu mlekowego do 0,5% w podłożu hodowlanym nie miało większego wpływu na produkcję celulaz i ksylanaz przez *Trichoderma reesei* M-7 w porównaniu do podłoża bez obecności tego kwasu.

W drugim artykule porównałam produkcję enzymów zewnątrzkomórkowych przez mutanty *Trichoderma reesei* RUT-C30, *Trichoderma reesei* 18/14, *Trichoderma reesei* 18/15 użyte do hodowli ciągłych na podłożu z nierozcieńczoną serwatką wzbogaconą w sole mineralne. Najwyższe aktywności celulaz oznaczone metodą FPU i ksylanaz wykazywały filtraty po hodowli ciągłej *Trichoderma reesei* 18/15 przy niskich aktywnościach proteaz. Mutanty *Trichoderma reesei* RUT-C30, *Trichoderma reesei* 18/14 i *Trichoderma reesei* 18/15 użyte do hodowli ciągłych na podłożu z serwatką produkowały zróżnicowane ilości enzymów zewnątrzkomórkowych, przy czym najwyższe aktywności FPU i ksylanaz wykazywały filtraty po hodowli ciągłej *Trichoderma reesei* 18/15 przy niskich aktywnościach proteaz. W filtratach pochodzących z hodowli badanych szczepów *Trichoderma reesei* stwierdziłam aktywności enzymów litycznych, tj. laminarynazy, chitynazy i proteaz, które mogą powodować procesy lityczne grzybni i wpływać na jej zdolność do namnażania się i produkcję enzymów zewnątrzkomórkowych. Obecność znaczących ilości enzymów proteolitycznych w płynach hodowlanych może powodować degradację białek enzymatycznych, przez co obniżać ich aktywności enzymatyczne (II.B.3).

W kolejnej publikacji dokonano selekcji 9 niskoproteazowych mutantów *Trichoderma reesei* M-7 do produkcji enzymów zewnątrzkomórkowych na podłożu z nierozcieńczoną serwatką wzbogaconą w sole mineralne. Hodowle fermentorowe prowadzono metodą ciągłą w bioreaktorze Bioflo III firmy New Brunswick Scientific Co. Inc. o pojemności roboczej

5 dm³. Stwierdzono odwrotnie proporcjonalne zależności pomiędzy produkcją celulaz i ksylanaz a proteaz w hodowlach niskoproteazowych mutantów *Trichoderma reesei* M-7 (M-7.6, M-7.8, M-7.10). Hodowla ciągła niskoproteazowego mutantu *Trichoderma reesei* M-7.10 na nierozcieńczonej serwatce wzbogaconej w (NH₄)₂SO₄ i MgSO₄ x 7H₂O odznaczała się największą aktywnością celulolityczną (0,983 j. FPU) w 17. dobie, natomiast aktywnością ksylanolityczną 2,081 μmol/ml min. w 13 dobie (II.B.4).

Celem badań w następnym artykule (II.B.5.) było określenie właściwości reologicznych, teksturalnych i sensorycznych napowietrzonych serków twarogowych. Określono zawartość frakcji powietrznej serków, zmierzono ich lepkość przy użyciu lepkościomierza ultradźwiękowego, przeprowadzono profilową analizę tekstury oraz analizę sensoryczną. Napowietrzone serki twarogowe pod względem właściwości reologicznych zachowywały się jak słabe żele. Bardziej napowietrzone serki charakteryzowały się mniejszą lepkością, mniejszymi wartościami modułu zachowawczego G' i wielkości te były skorelowane. Wraz ze wzrostem zawartości powietrza zaobserwowano spadek spoistości i adhezyjności serków. Parametry tekstury wyznaczone za pomocą profilowej analizy tekstury charakteryzowały się podobnymi tendencjami zmian do parametrów otrzymanych przy użyciu analizy sensorycznej.

Wykorzystanie serwatki w procesach biotechnologicznych opisałam w kolejnej publikacji (II.B.7.) Procesy biotechnologiczne są zaliczane do atrakcyjnych kierunków zagospodarowania i przetwarzania serwatki. Serwatka jako produkt uboczny jest tanim substratem dla różnych procesów i jednocześnie jest bardzo cenna ze względu na swój skład. Dobranie odpowiednich mikroorganizmów, mających zdolność do przekształcania składników zawartych w serwatce (głównie laktozy), oraz właściwych warunków procesu pozwala na uzyskanie wartościowych produktów wykorzystywanych najczęściej w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

W następnym artykule scharakteryzowałam celulazy (II.B.8). Celulazy są enzymami produkowanymi głównie przez mikroorganizmy, które wykorzystują celulozę jako źródło węgla i energii. Degradacja natywnej celulozy prowadzona jest przez kompleks enzymów działających synergistycznie, w którym kluczową rolę odgrywają zarówno endo-, jak i egzo-β-1,4-glukanazy. Preparaty celulaz otrzymywane są w wyniku hodowli grzybów, spośród których gatunek *Trichoderma reesei* odgrywa kluczową rolę. Celulazy znajdują coraz szersze zastosowanie. W przemyśle spożywczym są używane przy produkcji soków, win, piw, a w piekarnictwie – do wypieku chleba i ciast. Są dodawane do pasz w celu poprawienia strawności składników odżywczych w nich zawartych. Powszechnie stosowane są także

w przemyśle papierniczym do odbarwiania i odwadniania papieru. Cieszą się również zainteresowaniem producentów odzieży, szczególnie zajmujących się obróbką tkanin jeansowych, a w przemyśle chemicznym znajdują wykorzystanie jako dodatek do proszków do prania.

Celem kolejnej pracy było scharakteryzowanie właściwości, otrzymywania i zastosowania hemicelulaz (II.B.9). Jest to grupa enzymów, które hydrolizują hemicelulozy – polisacharydy zawarte w ścianach komórkowych roślin, składające się głównie z reszty D-glukozy, D-galaktozy, D-mannozy, D-ksylozy, L-arabinozy oraz kwasów heksauronowych: glukuronowego, galakturonowego i metyloglukuronowego. Skład chemiczny hemiceluloz jest zróżnicowany i zależy przede wszystkim od rodzaju rośliny, w której występują. Do najważniejszych hemiceluloz należą ksylany, mannany, galaktany i galaktomannany; są one szeroko wykorzystywane w różnych gałęziach przemysłu. Wykorzystuje się je głównie w przemyśle celulozowo-papierniczym do bielenia pulp; piekarskim do poprawy jakości wytwarzanego pieczywa; paszowym do poprawy strawności pasz zwierzęcych; owocowo-warzywnym; winiarskim. Używa się ich także do produkcji oligosacharydów, etanolu, kawy rozpuszczalnej, środków piorących oraz w celu uzyskania odnawialnych źródeł energii i węgla.

Po doktoracie podjęłam współpracę z Katedrą Chemii i pod kierunkiem profesor Ewy Makarskiej badałam wartość odżywczą podkiełkowanego ziarna jęczmienia (II.C.1.)

W ziarnie jęczmienia jarego (odmian Rodos, Rambo, Start) z dwuletniego doświadczenia polowego badano wpływ systemu uprawy (monokultura, płodozmian) na zawartość składników ograniczających wartość paszową ziarna, tj. włókna surowego i jego frakcji. Stwierdzono, że system uprawy oraz rok zbioru roślin wpływa na poziom oznaczanych czynników antyżywniowych. Nie stwierdzono wyraźnych różnic odmianowych dla zawartości oznaczanych składników. W przypadku płodozmianu obserwowano wzrost koncentracji włókna surowego i wszystkich jego frakcji. Na poziom poszczególnych frakcji włókna surowego wpływ miały warunki produkcji ziarna, tj. system uprawy (monokultura, płodozmian) oraz rok zbioru. Mniejsze różnice wystąpiły pomiędzy odmianami. Uprawa jęczmienia w płodozmianie wpłynęła na wzrost koncentracji włókna surowego i wszystkich jego frakcji. W następnej publikacji opisałam wpływ światła lasera na wartość siewną oraz poziom antyoksydantów wybranych odmian pszenicy ozimej (II.C.2.). Dla pszenicy ozimej (Rysa, Mobela) poddanej przedśiewnej stymulacji laserem (1, 2 i 3-krotne naświetlanie) stwierdzono wzrost zdolności i energii kiełkowania oraz intensywności oddychania kiełkujących nasion zależny od właściwości genetycznych odmian i krotności naświetlań. Podczas 7-dniowego procesu kiełkowania nasion monitorowano poziom antyoksydantów, tj.

karotenoidy, polifenoli i witaminy C. Po stymulacji laserowej, w 7 dniu kiełkowania stwierdzono spadek zawartości karotenoidów oraz witaminy C w ziarnie obu odmian. Poziom polifenoli ulegał obniżeniu w ziarnie odmiany Mobela po zastosowaniu naświetlania światłem laserem. W ziarnie odmiany Rysa 1 i 2-krotne naświetlanie stymulowało wzrost zawartości związków fenolowych. Ponadto przeprowadzono ocenę wartości odżywczej podkiełkowanego ziarna jęczmienia (II.D.7.).

Ponadto weszłam we współpracę z Zakładem Technologii Mleka i Hydrokoloidów i wspólnie z profesorem Pawłem Glibowskim prowadziłam badania na temat żelowania pojedynczo lub podwójnie ogrzewanych roztworów izolatu białka serwatkowego. Żelowanie pojedynczych i podwójnych dyspergowanych białek serwatki było badane przy użyciu Ca^{2+} jako czynników indukujących. Dyspersje białek serwatkowych (WPI) (10% w/w) były pojedynczo ogrzewane (30 minut, 80°C przy pH 7,0) lub podwójnie podgrzewane (30 minut, 80°C przy pH 8,0 i 30 minut, 80°C przy pH 7,0) i rozcieńczone w celu uzyskania pożądanego stężenia białka i / lub jonów wapnia (odpowiednio 4-9% i 5-30 mm). Jony wapnia dodano bezpośrednio lub za pomocą dializy. Podwójnie podgrzewane dyspersje ulegały szybszemu żelowaniu przy niższych stężeniach białka i jonów wapnia niż pojedynczo ogrzewane dyspersje. Żele otrzymane z podwójnie podgrzewanych dyspersji miały niższe wartości naprężenia ścinającego i naprężenia ścinającego przy pęknięciu niż żele otrzymane z pojedynczo ogrzewanych dyspersji. Podwójne ogrzewanie powodowało znaczny wzrost modułu zespolonego (G^*) przy 4% WPI i 15 mm jonach wapnia w porównaniu z żelami otrzymanymi z pojedynczej ogrzanej dyspersji. Mniej istotne różnice między żelami wykonanymi z podwójnych i pojedynczych ogrzanych dyspersji obserwowano przy 6% WPI, jednak wyższą wartość modułu zespolonego uzyskano dla 8% żeli białkowych z pojedynczego ogrzanego roztworu. Natywna i niezredukowana SDS-PAGE nie wykazała wyraźnie wpływu różnych procedur ogrzewania na ilość spolimeryzowanych białek. Białka w podwójnie ogrzewanych dyspersjach miały wyższą hydrofobowość. Zwiększone stężenie wapnia powodowało zmniejszenie hydrofobowości białka zarówno dla pojedynczych jak i podwójnych rozwiązań. Badania te opublikowałam w czasopiśmie *International Dairy Journal* (II.A.1).

Wspólnie z grupą badawczą prof. dr hab. Andrzeja Woźniaka (Katedra Herbologii i Technik Uprawy Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie) prowadziłam badania dotyczące jakości ziarna pszenicy twardej odmiany *Floradur* w różnych systemach następstwa roślin. Moim zadaniem było zbieranie i oznaczanie próbek. W ścisłym doświadczeniu polowym prowadzonym w Gospodarstwie Doświadczalnym Uhrusk

oznaczono jakość ziarna pszenicy twardej odmiany Floradur wysiewanej w różnych systemach następstwa. Eksperyment założono metodą losowanych bloków w 4 powtórzeniach, na glebie zaliczanej do kompleksu żytniego bardzo dobrego. Celem badań była ocena jakości technologicznej ziarna pszenicy twardej pochodzącego ze zmianowań o zróżnicowanym jej udziale w strukturze zasiewów: A (25% pszenicy), B (50% pszenicy), C (75% pszenicy) oraz D (monokultura). Wykazano, że jakość ziarna pszenicy twardej zależała od systemu następstwa roślin. Najlepszymi parametrami technologicznymi, zwłaszcza w zakresie zawartości białka ogółem, glutenu mokrego i szklistości charakteryzowało się ziarno pochodzące ze zmianowania A (25% pszenicy) i B (50% pszenicy), natomiast istotnie gorszymi ze zmianowania D (monokultura). Natomiast zawartość popiołu całkowitego była istotnie mniejsza w ziarnie pochodzącym ze zmianowania A (25% pszenicy) niż w ziarnie zebranych w zmianowaniach B, C i D. Badania te zostały opisane w kolejnej publikacji (II.C.3). Z w/w Katedrą prowadziłam również doświadczenia na temat wpływu nawożenia azotem na plonowanie i jakość technologiczną ziarna pszenicy ozimej, co zaowocowało pracą badawczą (II.C.4) W niniejszej pracy przedstawiono wyniki 3-letnich badań polowych nad wpływem dwóch poziomów nawożenia azotem na wybrane parametry jakościowe ziarna pszenicy ozimej odmiany Muza. Zastosowane poziomy nawożenia azotowego – 100 i 150 kg N x ha⁻¹, mimo iż nie różnicowały istotnie plonu ziarna pszenicy ozimej, to dawały korzystne wartości indeksu glutenu, glutenu mokrego oraz wskaźnika sedymentacji Zeleny'ego, świadczące o dobrej jakości badanej mąki. Poziomy nawożenia azotem – 100 i 150 kg x ha⁻¹ nie różnicowały istotnie wielkości i jakości technologicznej plonu ziarna pszenicy ozimej. Ziarno, przy wysokich plonach (ponad 9 t x ha⁻¹), charakteryzowało się niską zawartością białka i glutenu mokrego oraz niskim wskaźnikiem sedymentacyjnym Zeleny'ego, ale korzystnym indeksem glutenu.

We współpracy z Katedrą Herbolgii i Technik Uprawy Roślin z Wydziału Agrobiotechnologii UP w Lublinie oraz z Katedrą Agronomii Wydziału Rolniczego Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie przeprowadziłam w latach 2014 – 2015 badania nad charakterystyką technologiczną ziarna pszenicy ozimej orkisz, odmiany Rokosz i Schwabenspelz (II.A.11.). Dowiedziono, że metoda ochrony upraw i szybkość siewu nie spowodowały znacznego zróżnicowania większości cech jakościowych orkisz i mąki. Zarówno polska odmiana „Rokosz”, jak i niemiecka odmiana „Schwabenspelz” wykazywały podobną jakość technologiczną ziarna i mąki w rolnictwie ekologicznym i chemicznej ochronie roślin. Dlatego obie te odmiany można polecić do uprawy w gospodarstwach ekologicznych. W odmianie „Rokosz” zawartość glutenu,

wartość sedymentacji Zeleny'ego i czas rozwoju ciasta wzrosły wraz ze wzrostem zawartości białka, podczas gdy osłabienie glutenu zmniejszyło się, co świadczy o lepszej jakości i wartości pieczenia tej odmiany w stosunku do odmiany „Schwabenspelz”. Obecnie istnieje ciągła potrzeba poszukiwania skutecznych rozwiązań agrotechnicznych, które można wprowadzić do rolnictwa ekologicznego. Ze względu na wysoką wartość odżywczą pszenicy orkisz i jej przydatność do uprawy w warunkach rolnictwa ekologicznego, należy wybrać odmiany tego gatunku, które najlepiej tolerują uprawę proekologiczną i które charakteryzują się wysokimi wartościami technologicznymi. Konieczne wydaje się podjęcie badań nad niechemicznymi metodami ograniczania obecności szkodników, takimi jak: wielkość siewu, mechaniczna ochrona upraw czy stosowanie biostymulatorów.

W 2012 roku nawiązałam współpracę z Katedrą Chemii pod kierunkiem profesora Andrzeja Niewiadomego i zespół badawczy, w którym brałam udział, opracował nową metodę syntezy benzimidazoli, dihydrochinazolin i innych pokrewnych związków zawierających ugrupowanie 2,4-dihydroksyfenylu. Ich struktury zidentyfikowano na podstawie analiz widm elementarnych, podczerwieni, H NMR, C NMR i widm masowych. Minimalne wartości stężenia hamującego związków w stosunku do ośmiu referencyjnych szczepów bakteryjnych określono przez dwukrotną seryjną metodę bulionu mikrorozcieńczeniowego. Związki wykazywały znaczące działanie hamujące wobec Gram-dodatnich szczepów testowanych w przeciwieństwie do szczepów Gram-ujemnych. Związki struktur imidazopirydyny, N-metylobenzimidazolu i dihydrochinazolin wykazywały największą aktywność. Powiększenie pokrycia pierścienia heterocyklicznego o dwóch atomach azotu połączonego z benzenem zmniejsza efekt biologiczny (II.A.3.). Próbując znaleźć nową klasę środków przeciwdrobnoustrojowych przebadano serie benzothiazoli, 1,3-thiazolo[5,4-b]pirydyny, 4H-3,1-benzotiazyn, naphtho[2,3-d][1,3]tiazoli-4,9-diony i inne pokrewne związki zawierające ugrupowanie 2,4-dihydroksyfenylu. Otrzymano je w reakcji modyfikowanego arylen sulfiny [bis(2,4-dihydroksyfenylometanionu)] z odpowiednią reklamą odczynników chemicznych w procesach endocyklizacji. Wartości MIC związków w stosunku do ośmiu referencyjnych szczepów bakteryjnych oceniano za pomocą dwukrotnej metody seryjnego rozcieńczenia mikropęcherzykami. Wykazano działanie hamujące wobec Gram-dodatnich szczepów testowanych przeciwieście do szczepów Gram-ujemnych. Niektóre związki były skuteczniejsze niż lek porównawczy. 4-(6-chloro-4H-3,1-benzotiazyna-2-yl)-6-metylbenezene-1,3-diol (5b) ze względu na bardzo dobrą aktywność (MIC od 1,56 do 3,13 µg/mL) i niską cytotoksyczność (IC > 50 µg/mL) można uznać za obiecujący prekursor do opracowania nowych środków przeciwbakteryjnych (II.A.4.)

W międzyczasie badałam również wpływ wapnia na metabolizm człowieka (II.B.6). Wapń znajdujący się w organizmie człowieka w 99% zdeponowany jest w kościach, zębach i paznokciach w postaci trudno rozpuszczalnych hydroksyapatytów, fosforanów i węgla wapnia. Pozostała część wapnia (1%) rozmieszczona jest w tkankach i płynach ustrojowych. Pierwiastek ten jest również substancją mediatorową, przetwarzającą bodziec chemiczny, fizyczny lub hormonalny na określony efekt biologiczny (uwalnianie enzymów, neuroprzekazników, hormonów itd.). Uczestniczy on w wymianie między komórką a jej otoczeniem lub między organellami komórkowymi (kanały wapniowe). Wapń jest też przekaźnikiem w synapsach nerwowych oraz bierze udział w skurczu mięśni (wyznacznik progu pobudliwości komórek poprzez regulację przepuszczalności błon dla jonów sodu) oraz przeprowadziłam ocenę towaroznawczą piwa jasnego z produkcji własnej i browarów regionalnych (II.C.5).

W grupie badawczej dr Małgorzaty Kaweckiej-Radomskiej (Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie) wykonywałam badania na temat biochemicznych zmian w glebie terenów rekreacyjnych spowodowanych przez ich użytkowanie. Próbkę gleb pochodziły z placów zabaw, boisk piłkarskich i stadnin koni (II.A.9.). Były to interesujące badania, które pokazały, że użytkowanie terenów rekreacyjnych powoduje zmiany w składzie chemicznym i biologicznym gleby. Większe obciążenie powoduje zmniejszenie się zawartości enzymów w glebie. Wyniki badań pokazały, że zawartość metali ciężkich w glebie pochodzących z placów zabaw była poniżej wartości dopuszczalnych. Tylko w przypadku jednego placu zabaw i jednej stadniny koni stwierdzono podwyższoną zawartość kadmu. Monitorowanie biochemicznych zmian w terenach rekreacyjnych, a szczególnie na placach zabaw, jest bardzo ważne w celu zapewnienia bezpiecznego wypoczynku dla człowieka. Celem kolejnej publikacji było uzyskanie biopolimerów koncentratu białka WPC/montmorylonit-MON. Biopolimery mieszanych białek serwatkowych/montmorylonitów powstały jako żele indukowane ciepłem i utwardzone przez odparowanie wody. Zwiększenie stężenia białka spowodowało wzrost modułów pamięciowych i stratności żeli. Dodanie 5% MON do macierzy żelowej białka serwatki spowodowało wzrost wartości modułów. Otrzymane biopolimery zachowywały się jak słabe fizyczne żele, ponieważ styczna straty mieściła się w zakresie 0,25-0,45. Zwiększenie stężenia białka i dodanie MON spowodowało wzrost lepkości biopolimerów mierzony przez rozpraszanie drgań ultradźwiękowych. Dodanie MON generalnie spowodowało wzmocnienie struktury zmieszanych żeli, a materiał był bardziej odporny na przebicie. Dodatek MON spowodował zmiany w mikrostrukturze żelu

białkowego serwatki, który stał się bardziej drobnoziarnisty. Było to prawdopodobnie spowodowane przez adsorpcję jonów przez MON. Suszenie żeli WPC/MON spowodowało powstanie bardzo twardego biopolimeru, który można zastosować jako naturalny materiał (II.A.8.) W następnym artykule opisano próbki czterech różnych gleb, które pobrano z nieeksploatowanych miejsc rekreacyjnych. Mierzono rozkład wielkości cząstek i pH (w wodzie i 1 M KCl) próbek gleby. Próbki gleby nasycano wodą dejonizowaną i roztworem azotanu amonu o stężeniu 5, 50 lub 500 mM przez 3 dni. Próbki analizowano za pomocą dynamicznego oscylacyjnego reometru za pomocą przemieszczania częstotliwości i odkształcenia. Próbki gleby były podobne do fizycznych żeli, ponieważ wykazywały właściwości reologiczne między stężeniami biopolimeru i prawdziwego żelu. Stężenie 50 mM soli było wystarczające do zmiany sprężystości gleby. Mała koncentracja nawozu spowodowała osłabienie struktury próbek gleby. Wyższe stężenie azotanu amonu spowodowało wzrost wartości odkształcenia modułów. Dla próbki gliny pobranej z placu zabaw, o największej zawartości cząstek $<0,002$ mm (glinokrzemiany gliniaste), najniższą wartość odkształcenia zaobserwowano na przecięciu modułów. Niższa wartość odkształcenia była konieczna dla efektu ślizgowego ścinania gleby. Próbka powodująca przekroczenie do stanu "płynięcia". Punkt przecięcia modułów odkształcenia splotu może być wykorzystany jako wyznacznik właściwości reologicznych gleby.

W 2012 roku dołączyłam do grupy badawczej założonej przez dr hab. Martę Tomczyńską-Mleko, prowadzącą badania na temat otrzymywania nowych biopolimerów opartych na białkach i glinokrzemianach. Bioplastiki otrzymywane na bazie białek mogą być używane do produkcji nośników enzymów, matryc do kontrolowanego uwalniania składników aktywnych, opakowań aktywnych i naturalnych włókien. Stosuje się je w inżynierii tkankowej oraz do otrzymywania opatrunków medycznych. Celem badań w kolejnej pracy było zbadanie wpływu stężenia gumy chleba świętojańskiego na odwracalność żelu białkowego serwatki. Otrzymano zmieszane żele białka serwatkowego / gumy chleba świętojańskiego (WPC/LBG), a ich struktura została zniszczona przez siły ścinające. Stępienie żele przechowywano w temperaturze 7°C przez 20 godzin i badano właściwości reologiczne żeli i porównano je z niezniszczonymi żelami. Właściwości reologiczne żeli badano za pomocą analizatora tekstury, wiskozymetru ultradźwiękowego i dynamicznego reometru. Mikrostruktura żeli została zaobserwowana przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego. Tekstura zniszczonych żeli była częściowo odwracalna, a proces zależał od stężenia żywicy z ziaren grochodrzewu. Uzyskany odwrócony materiał był silnym żelem o wartościach modułów pamięciowych kilka razy

wyższych niż moduły strat. Zaobserwowano wzrost lepkości, twardości i lepkości przechowywanych żeli. Zmieszane żele WPC/ LBG nawet po homogenizacji były grubymi półstałymi materiałami, które mogłyby być wykorzystane jako baza dla białek odżywczych / batonów węglowodanowych. Dodatek hydrokoloidów węglowodanowych może modyfikować teksturę produktu końcowego i jego zdolność do odwracalności żelu (II.A.2.). Następna praca dotyczyła badań reologicznych małych i dużych deformacji dla zmieszanych żeli żelatynowych, konjac glucomannan (KGM) i gumy chleba świętojańskiego (LBG). W przypadku całkowitej zawartości składników wynoszącej 1,1% mieszaniny hydrokoloidów zachowywały się w postaci splątanych roztworów polimerowych. Większy względny udział wagowy KGM przy tej całkowitej zawartości hydrokoloidu spowodował przejście $G'-G''$ z niższą częstotliwością, a dodanie KGM i LBG do 4% żelatyny spowodowało wzrost modułów magazynowania i utraty. Obecność LBG doprowadziła do silniejszego zwiększenia modułu sprężystości i silniejszy spadek siły pęknięcia w przebiegu. Szczytowa siła przebiccia binarnych żeli żelatynowych / KGM i żelatynowych / LBG była podobna do żelu trójskładnikowego / LBG / KGM w takim samym stosunku polisacharydu do białka, i był niższy niż szczytowa siła przebiccia czystych żeli żelatynowych przy tym samym całkowitym stężeniu hydrokoloidu. Dodanie LBG i / lub KGM do żelatyny zmniejszyło czułą twardość żeli. Trudność z przeżuwaniem i połykaniem była najwyższa dla twardej czystej żelatyny żele i miękkie, ale bardzo lepkie żele zmieszane ze znacznym dodatkiem LBG. Żel uważany za najłatwiejszy do żucia i połykania był żelem otrzymanym z 5% żelatyny, 1% KGM i 0,5 LBG (II.A.5.). Celem kolejnej pracy było uzyskanie napowietrzonych żelów za pomocą żelowania indukowanego jonami magnezu i żelaza (II) podgrzanych dyspersji białek serwatkowych (II.A.6). Wstępne badania pozwoliły na znalezienie warunków pH, białka i stężenia jonów do wytworzenia napowietrzonych żeli zdolnych do utrzymywania pęcherzyków powietrza. Zastosowano nową metodę jednoczesnego stosowania procesu żelowania i napowietrzania. Napowietrzanie za pomocą miksera laboratoryjnego przy 2000 obr./min. wytwarzały silniejsze żele napowietrzone niż przy użyciu homogenizatora przy 8000 obrotów na minutę. Proces żelowania monitorowano za pomocą wiskozymetru ultradźwiękowego i odnotowano stały wzrost lepkości dynamicznej. Różną napowietrzoną mikrostrukturę żelu zaobserwowano dla żeli indukowanych magnezem i żelazem (II), co prawdopodobnie spowodowało również różnice w teksturze i lepkości. Proces napowietrzania zmniejszył twardość. W niektórych przypadkach parametry tekstury korelowały z lepkością mierzoną za pomocą wiskozymetru ultradźwiękowego. Gazowane żele białek serwatkowych można stosować jako matryce do zastosowań spożywczych lub do kontrolowanego uwalniania aktywnych składników. Wtórna

struktura białek w nieogrzewanych i podgrzewanych dyspersjach izolatów białek serwatkowych oraz napięcie powierzchniowe roztworów badano przy różnych wartościach pH (II.A.7.) Roztwory białek grzewczych w temperaturze 80°C powodują wzrost nieuporządkowanej struktury. Niemniej jednak wzrasta różnica między zawartością nieuporządkowanej struktury w nieogrzewanych i ogrzewanych próbkach wraz ze wzrostem pH roztworu. Przy niskich stężeniach białka napięcie powierzchniowe zmniejszało się wraz ze wzrostem białka stężenie do około 5 mg/ml. W przypadku ogrzanego roztworu zaobserwowano podobny trend w zmniejszaniu napięcia powierzchniowego wraz ze wzrostem stężenia białka. W obu przypadkach krzywe przedstawiające napięcie powierzchniowe w funkcji stężenie białka można dopasować do funkcji wykładniczej z wykładnikiem ujemnym, ale z roztworami ogrzewanymi zanotowano niższe wartości napięcia powierzchniowego. Badania nad napięciem powierzchniowym roztworów izolatów białka serwatki dowodzą, że rozwijanie się białek serwatkowych, objawiające się zmianami struktury drugorzędowej, powoduje zmniejszenie napięcia powierzchniowego. Celem badań w kolejnej pracy było wykorzystanie izolatu albuminy jaja kurzego o niskiej zawartości minerałów do uzyskania napowietrzonego żelu indukowanego jonem wapnia oraz zbadanie ich zdolności jako matrycy do uwalniania składników aktywnych (II.A.10.) Napowietrzone żele przygotowano przez dodanie jonów wapnia do wstępnie ogrzanych dyspersji białek z równoczesnym napowietrzaniem. Stężenie wapnia 20 mM było optymalnym stężeniem, przy którym stwierdzono maksymalną lepkość i twardość żeli. W przypadku wyższych stężeń jonów wapniowych (25-30 mM), żele napowietrzone charakteryzowały się niższymi wartościami modułów, a styczna kąta fazowego była większa dla napowietrzonych żeli, które wykazywały bardziej lepki charakter niż żele bez napowietrzania. Zwiększone stężenie jonów powoduje wyższą agregację macierzy białkowej i mniejszą gładkość mikrostruktury powierzchni między żelem i powietrzem. Zwiększenie stężenia wapnia z 5 do 30 mM spowodowało wzrost średniej wielkości pęcherzyków. Uwalnianie jonów wapnia z napowietrzonych żeli mierzono w sztucznym żołądku. Miało to miejsce w wyniku dyfuzji Fickiana przez pęczniejącą matrycę i było szybsze dla żeli o wyższym stężeniu wapnia. Wzrost stężenia wapnia powodował wzrost chropowatości powierzchni napowietrzonych żeli. Korelacje liniowe między średnią kwadratową chropowatości powierzchni i współczynnikiem "n" z równania Ritgera i Peppasa oraz między maksymalną wielkością chropowatości a "n". Zwiększone stężenie wapnia spowodowało, że mikrostruktura żelu stała się bardziej ziarnista, a powierzchnia bardziej szorstka, co umożliwiło szybszą proteolizę żelu w sztucznym żołądku i szybszą dyfuzję jonów wapnia.

Celem kolejnej publikacji była ocena towaroznawcza piwa z produkcji własnej i browarów regionalnych (II.D.10). Stwierdzono, że piwo z produkcji własnej odznaczało się lepszymi cechami organoleptycznymi i fizykochemicznymi niż piwo z browarów regionalnych.

Przeprowadzono również badania na temat biopolimerów otrzymywanych z glutenu, białek serwatkowych oraz kaolinitu i określono ich biodegradowalność w różnych glebach. W celu realizacji tych badań zgromadziłam naukowców z różnych specjalizacji: prof. dr hab. Stanisława Mleko, specjalistę od reologii polimerów (Zakład Technologii Mleka i Hydrokoloidów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie), dr Małgorzatę Kawecką-Radomską z Instytutu Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prowadzącą badania nad biodegradowalnością polimerów w różnych glebach oraz dr Konrada Terpiłowskiego, specjalistę fizykochemii powierzchni z Zakładu Zjawisk Międzyfazowych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

Od 2012 roku do chwili obecnej współpracuję z Zakładem Technologii Mleka i Hydrokoloidów. Badania moje dotyczą właściwości glutenu. Równocześnie nawiązując współpracę z zespołem badawczym prof. dr hab. Stanisława Mleko rozpoczęłam badania do mojej pracy habilitacyjnej na temat właściwości reologicznych glutenu i jego wykorzystania do otrzymywania biopolimerów na bazie białek serwatkowych i glinokrzemianów. Prace te dotyczą otrzymywania nowatorskich biodegradowalnych biopolimerów na bazie glutenu i glinokrzemianów. Obecnie prowadzę badania nad zmianą struktury glutenu przez współżelowanie z hydrokoloidami.

W przyszłości zamierzam aplikować o grant na temat biodegradowalnych biopolimerów i w razie jego otrzymania być jego kierownikiem. Badania pragnę rozszerzyć o biodegradowalne biopolimery z białkami roślinnymi.

6. Podsumowanie dorobku naukowego

Szczegółowy wykaz opublikowanych prac naukowych zawiera **Załącznik 4**.

Przedstawiony w nim dorobek publikacyjny obejmuje **46 pozycji**, w tym:

- **35** prac twórczych, w tym **16** z listy A
- **11** komunikatów naukowych na konferencje krajowe.

6.1. Wskaźniki dokonań naukowych

- Sumaryczny *impact factor* publikacji naukowych, według listy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania: **18,095**
- Suma punktów za publikacje zgodnie z rokiem opublikowania: **410**
- Liczba prac opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports wynosi **16** (łącznie punktów **319**, co stanowi **79,5 %** ich ogólnej liczby),
- Indeks Hirscha opublikowanych publikacji według bazy Web of Science: **5** (na dzień 4 kwietnia 2019 roku)
- Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: **70** (bez autocytowań) (na dzień 4 kwietnia 2019 roku)

6.1.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Mój dorobek publikacyjny przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora obejmuje **6** pozycji, w tym **1** pracę twórczą i **5** komunikatów na konferencję krajową.

6.1.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora mój dorobek publikacyjny powiększył się o **40** pozycji. Opublikowałam **34** prace twórcze, w tym **16** w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Ponadto jestem autorem lub współautorem **6** komunikatów na konferencje krajowe .

6.2. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego

Rodzaj publikacji	Przed doktoratem			Po doktoracie			ŁĄCZNIE		
	Liczba	Punkty MNiSW	IF	Liczba	Punkty MNiSW	IF	Liczba	Punkty MNiSW	IF
Artykuły z listy A	-	-	-	16 (4*)	319 (90*)	18,095 (5,844*)	16	319	-
Artykuły z listy B	1	5	-	13 (2*)	68 (16*)	-	14	73	-
Inne artykuły	-	-	-	5	18	-	5	18	-
Rozdziały w monografiach	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Artykuły popularno - naukowe	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Komunikaty naukowe	5	-	-	6	-	-	11	-	-
RAZEM	6	5	-	40 (6*)	405 (106*)	18,095 (5,844*)	46	410	-

*wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy

6.3. Zestawienie czasopism, w których opublikowano prace naukowe

Czasopismo	Punkty MNiSW*	Liczba prac		Suma punktów
		Przed doktoratem	Po doktoracie	
Czasopisma znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JRC)				
International Dairy Journal	24	-	1	24
Heteroatom Chemistry	25	-	1	25
Arch.Pharm.Chem.Life Sci.	20	-	1	20
Journal of Polymers and the Environment	30	-	1	30
European Food Research and Technology	25	-	2	50
Eurasian Soil Science	15	-	1	15
Environmental Earth Science	25	-	1	25
Journal of Inorganic and Organometallic	20	-	1	20

Polymers				
Czech Journal of Food Sciences	20	-	1	20
Milchwissenschaft – Milk Science International	15	-	1	15
Food Science and Technology Research	15	-	2	30
Acta Alimentaria	15	-	1	15
Applied Ecology and Environmental Research	15	-	1	15
Journal of the Chemical Society of Pakistan	15	-	1	15
Publikacje naukowe w czasopismach wymienionych w części B wykazu czasopism naukowych MNiSW				
Bulgarian Journal of Agricultural Science	10	-	1	10
Biotechnologia	5	1	-	5
Annales UMCS sec. E, Agricultura	6	-	2	12
Acta Scientiarum Polonorum	6/5	-	3	17
Żywnienie Człowieka i Metabolizm	5	-	1	5
Nauki Inżynierskie i Technologie	5	-	3	15
Pasze Przemysłowe	3	-	3	9
Publikacje w czasopismach nieujętych w części B wykazu czasopism naukowych MNiSW				
Acta Agrophysica	3/4	-	2	7
Pamiętnik Puławski	4	-	1	4
Biuletyn Instytutu i Aklimatyzacji Roślin	3	-	1	3
Bezpieczeństwo zdrowotne żywności	4	-	1	4
Rozdziały w monografiach w języku angielskim**	0	-	-	0
Rozdziały w monografiach w języku polskim**	0	-	0	0
Artykuły popularno- naukowe	-	-	-	0
Komunikaty naukowe na konferencje międzynarodowe	-	0	0	0
Komunikaty naukowe na konferencje krajowe	0	5	6	0
RAZEM		6	40	410

Marta Wesółowska-Trojanowska