

## Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Hanna Maria Baranowska.

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:

2.1. dr nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia człowieka, Akademia Rolnicza w Poznaniu, 1998 r. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Właściwości wody hydratacyjnej badane metodami MRJ i ich wpływ na reologiczne właściwości roztworów białek”. Promotor: prof. dr hab. Stefan Poliszko.

2.2. mgr fizyki, specjalność fizyka doświadczalna, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; 1986 r. Tytuł pracy magisterskiej: „Badanie metodą EPR struktury wolnych rodników naświetlonego promieniami gamma związku steroidowego 6-hydroxy-androst-4-en-3,17-dion”. Promotor: prof. dr hab. Jerzy Pietrzak.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

3.1. adiunkt (listopad 1999 – obecnie) Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (dawniej Akademia Rolnicza w Poznaniu), Katedra Fizyki.

3.2. asystent (grudzień 1988 – październik 1999) – Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Katedra Fizyki.

3.3. młodszy asystent (grudzień 1986 – lipiec 1988) – Pracownia Radiospektroskopii Instytutu Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Poznaniu.

3.4. stażysta (wrzesień 1986 – listopad 1986) - Pracownia Radiospektroskopii Instytutu Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Poznaniu.

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.)

4a) osiągnięcie :”Charakterystyka żeli skrobiowych określona metodą niskopolowego magnetycznego rezonansu jądrowego.” jest monografią.

4b) autor, rok wydania nazwa wydawnictwa: Hanna Maria Baranowska, 2012, Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

4c) omówienie celu naukowego ww pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

### **Wprowadzenie.**

Niskopolowy magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) jest od lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku metodą badawczą szeroko wykorzystywaną w badaniach wielu składników biologicznych, w tym żywności. Jest szybką, nieniszczącą

i nieinwazyjną metodą określania dynamiki molekularnej wody. Badania polegają na pomiarze czasów relaksacji spin-sieć  $T_1$ , czasów relaksacji spin-spin  $T_2$  lub analizie kształtu sygnału swobodnej precesji. Intensywność sygnału jest proporcjonalna do liczby jąder obecnych w układzie, a szybkość jego zaniku odzwierciedla dynamikę molekularną. Czasy relaksacji są makroskopowymi parametrami czułymi na dynamikę molekularną. W układach biologicznych, którymi są między innymi składniki żywności, parametry te odzwierciedlają ilościowo ( $T_1$ ) i jakościowo ( $T_2$ ) wzajemne relacje pomiędzy wodą wolną a związaną. W takim ujęciu najczęściej wykorzystuje się wyniki uzyskane tą metodą do analizy wiązania wody na poziomie molekularnym. Ponieważ technika ta jest nieniszcząca umożliwia badanie tej samej próbki w trakcie zmian zachodzących w długim czasie. Wiele laboratoriów przemysłu spożywczego jest wyposażonych w aparaturę NMR-owską. Stąd istotne wydaje się upowszechnienie wiedzy na temat tej metody zarówno wśród technologów żywności i studentów technologii żywności. Pomimo dostępności szeregu monografii na temat magnetycznego rezonansu jądrowego brakuje opracowania dostępnego dla technologów żywności, w którym zwięźle opisaną podstawy zjawiska i możliwości jego wykorzystania do badań.

Zważywszy na powyższe monografię podzielono na część teoretyczną i doświadczalną.

### **Część teoretyczna.**

W pierwszej z nich zamieszczono opis zjawiska magnetycznego rezonansu jądrowego. Określono zakres częstości pracy spektrometrów odpowiadających niskim polom magnetycznym. Jest to ważna dla technologów żywności informacja, umożliwiająca rozgraniczenie spektroskopii NMR od metody niskopolowej stosowanej do analizy dynamiki molekularnej wody. Wyjaśniono podstawowe pojęcia i zamieszczono opis rezonansowego pochłaniania energii zmiennego pola magnetycznego. Mechanizm relaksacji jądrowej przedstawiono w odniesieniu do frakcji wody obecnych w układach biologicznych. Zdefiniowano parametry relaksacyjne na podstawie których określa się ruchy molekuł wody w układzie. Dotyczy to zarówno parametrów zwanych często makroskopowymi czyli czasy relaksacji spin-sieć i spin-spin jak i mikroskopowym – średnim czasem korelacji. Omówiono również szczegółowo sekwencje pomiarowe stosowane powszechnie w pomiarach NMR.

### **Część doświadczalna i określenie celu badań.**

Część doświadczalna publikacji zawiera wyniki pomiarów czasów relaksacji spin-sieć ( $T_1$ ) i spin-spin ( $T_2$ ) w żelach skrobiowych i skrobiowo-tłuszczowych.

Wykorzystano je do określenia parametrów opisujących dynamikę molekularną w tych układach. Na podstawie wartości czasów relaksacji wyznaczono średnie czasy korelacji  $\tau_c$  ruchów molekularnych. Dotychczasowa praktyka wyznaczania tego parametru opierała się na przybliżonych równaniach wynikających z teorii Bloembergena, Purcella i Pounda. W pracy wykorzystano pełne równania opisujące procesy relaksacji spin-sieć i spin-spin i rozwiązano je ze względu na parametr  $\tau_c$ . Przeprowadzona analiza pozwoliła na określenie wzajemnych oddziaływań woda-biopolimer i biopolimer-biopolimer w żelach skrobiowych oraz na określenie wpływu tłuszczu zwierzęcego na tworzenie sieci polimerowej i na wzajemne oddziaływania składników żelu.

#### **Realizacja powyższego wymagała:**

\*analizy wpływu stężenia skrobi na zmiany dynamiki molekularnej wody w żelach skrobiowych i skrobiowo-tłuszczowych

\*oceny wpływu obecności tłuszczu na zmiany dynamiki molekularnej wody w żelach w trakcie formowania sieci polimerowej oraz wyznaczenie parametrów aktywacyjnych

\*określenia temperatury przejścia fazowego w tłuszczach i parametrów aktywacyjnych służących do interpretacji zmian konformacyjnych w trakcie procesu żelowania

\*analizy zmian dynamiki molekularnej wody w modelowych emulsjach wodno-tłuszczowych z udziałem wieprzowej tkanki tłuszczowej i natywnej skrobi pszennej.

Badania prowadzono na żelach skrobi ziemniaczanej i skrobi pszennej oraz żelach tych skrobi z dodatkiem tłuszczu wołowego lub wieprzowego.

#### **Stężeniowe zależności parametrów relaksacyjnych w żelach skrobiowych i skrobiowo-tłuszczowych.**

Wyniki badań stężeniowych zależności szybkości relaksacji spin-sieć  $R_1$  i spin-spin  $R_2$  ( $R_1 = 1/T_1$  i  $R_2 = 1/T_2$ ) w żelach skrobiowych wykazały, że przy małej zawartości skrobi obserwuje się liniowy wzrost szybkości relaksacji wraz ze wzrostem stężenia skrobi. Ograniczenie ilości wody wolnej względem ilości wody związanej i ograniczenie mobilności molekuł wody ma związek ze wzrostem ilości węzłów sieci tworzonych z udziałem molekuł wody. Przy dużych stężeniach skrobi zaobserwowano odstępstwo od liniowego przebiegu stężeniowych zależności szybkości relaksacji. Oznacza to, że ilość wody wolnej w stosunku do ilości wody związanej wykazuje niedomiar. Analiza zmian wartości średnich czasów korelacji w zależności od stężenia skrobi w układzie wykazała, że w żelach skrobi pszennej molekuly wody mają bardziej

ograniczoną ruchliwość w porównaniu do żeli skrobi ziemniaczanej. Stwierdzono związek między zawartością amylozy, a możliwością ruchów molekularnych wody w żelach skrobiowych. Skrobia ziemniaczana zawiera więcej amylozy niż pszenna. Przy małej zawartości skrobi mobilność wody jest ograniczana proporcjonalnie do stężenia. Przejawia się to wzrostem wartości średniego czasu korelacji. W żelach o stężeniach powyżej 10 % wartości średnich czasów korelacji nie zmieniają się istotnie ze wzrostem stężenia. W żelach skrobi pszennej o stężeniach polimeru do około 10%, średnie czasy korelacji są wyraźnie dłuższe niż w żelach skrobi ziemniaczanej o takim samym stężeniu. Również w tych układach obserwuje się proporcjonalny do wzrostu stężenia skrobi wzrost wartości średnich czasów korelacji. W żelach o stężeniu skrobi pszennej powyżej około 8% średnie czasy korelacji wznoszą. Obserwowany w żelach skrobi pszennej o dużej zawartości polimeru monotoniczny wzrost wartości średnich czasów jest związany z rozbudową sieci. Biorą w niej udział nie tylko łańcuchy amylozy, ale także dodatkowo krótkie łańcuchy amylopektyny, których powinowactwo do wody jest słabe.

Pomiary relaksacyjne żeli skrobiowych z dodatkiem małej ilości tłuszczu pozwoliły na analizę oddziaływań skrobi z tłuszczem zwierzęcym na poziomie molekularnym. Badania metodą komputerowej analizy obrazu wykazały, że układy różnią się ze względu na zastosowany tłuszcz oraz ze względu na skrobię. Liniową zależność stężeniowych zmian szybkości relaksacji wykorzystano do określenia wartości szybkości relaksacji dla wody przy zerowej zawartości skrobi (szybkości relaksacji wody wolnej) oraz szybkości relaksacji molekuł wody w sieci polimerowej. Stwierdzono, że woda wolna wykazuje uporządkowanie.

Skrobia ziemniaczana tworzy sieci, w których molekuly wody mają lokalnie mniej uporządkowaną strukturę w porównaniu do sieci tworzonej przez skrobię pszenną.

W układach zawierających tłuszcze stwierdzono wzrost szybkości relaksacji frakcji wody zamkniętej w sieci polimerowej. Skrócenie czasu relaksacji w obecności tłuszczu oznacza, że w zakresie niskich stężeń skrobi, w sieci biopolimerowej znajdują się molekuly wody nie związanej z biopolimerem tworzące emulsję typu tłuszcz w wodzie. Przejawem tego jest liniowy wzrost wartości średnich czasów korelacji w tym obszarze stężeń. Wpływ tłuszczu na oddziaływanie polimer-woda i polimer-polimer można analizować w zakresie wysokich stężeń skrobi, powyżej zakresu liniowej zależności szybkości relaksacji od zawartości skrobi. Żele skrobi pszennej wykazują bardzo podobne przebiegi stężeniowych wartości czasów korelacji w układach

zawierających oba tłuszcze. W wysokich stężeniach skrobi następuje rozbudowa sieci z udziałem krótkich łańcuchów amylopektyny. Zatem hamowanie dynamiki molekularnej wody ma związek głównie z rozbudową sieci polimerowej. Dodatek obu rodzajów tłuszczów modyfikuje bardzo podobnie oddziaływania tłuszczu w sieci. Przejawia się to podobnymi wartościami szybkości relaksacji molekuł wody hydratującej polimer. Inaczej niż w przypadku żeli skrobi ziemniaczanej. Dodatek tłuszczu wieprzowego nie zmienia charakteru dynamiki molekularnej wody w żelu. Jednak decyduje o jej hamowaniu. W dużych stężeniach polimeru czasy korelacji wykazują wyższe wartości niż w układzie bez tłuszczu. Tłuszcz wołowy zdecydowanie modyfikuje ruchliwość molekuł w żelu skrobi ziemniaczanej, szczególnie w wysokich stężeniach. Związki hydrofobowe wspomagają zwijanie łańcucha polimerowego w strukturę helisy. Wnętrze takiej helisy jest hydrofobowe, stąd cząsteczki wody są usuwane na zewnątrz. Tworzą wtedy kompleksy sorpcyjne z łańcuchami polimeru. Ruch molekuł wody w tym układzie to tylko ruch rotacyjny wokół wiązania wodorowego. W żelach skrobi ziemniaczanej dynamika molekuł wody jest dużo większa niż w żelach skrobi pszennej. Jest to wynikiem tworzenia podwójnych helis, których struktura jest stabilizowana poprzez oddziaływania z inną helisą poprzez wiązanie wodorowe. Jest to konkurencyjne oddziaływanie do oddziaływania polimer-woda. Stąd duża ruchliwość molekuł wody w tym układzie.

Stężeniowe badania żeli skrobiowych i skrobiowo-tłuszczowych wykazały, że zawartość skrobi w układzie odpowiadająca około 10% stężeniu mieści się w granicach liniowych zmian stężeniowych zależności szybkości relaksacji i średnich czasów korelacji. Jest to także dostatecznie duża zawartość polimeru pozwalająca na śledzenie dynamiki molekularnej wody w dobrze rozwiniętej i trwałej sieci żelu. Analizę oddziaływań skrobia-tłuszcz przeprowadzono na układach zawierających podobną ilość polimeru i tłuszczu. Duża zawartość tłuszczu w żelu pozwala na wnioskowanie o właściwościach dynamicznych molekuł wody w emulsjach tłuszczowych.

#### **Temperaturowe zależności parametrów relaksacyjnych w żelach skrobiowych i skrobiowo-tłuszczowych.**

Czas korelacji definiowany jako średni czas potrzebny do reorientacji molekuly o 1 radian jest parametrem, którego wartość jest zależna od temperatury. Zależność ta jest opisana równaniem typu Arrheniusa. Na podstawie temperaturowych zmian parametrów relaksacyjnych można wyznaczyć wartości energii aktywacji  $\Delta E_a$  ruchu molekuł wody. Jest to wartość bariery potencjału oddzielającej sąsiednie minima energii

potencjalnej jaką muszą pokonać molekuł, których ruchy są aktywowane termicznie. Żel skrobiowy powstaje podczas ochładzania kleiku uzyskanego z ogrzanej powyżej temperatury przejścia konformacyjnego zawiesiny tego polimeru w wodzie. Utworzona sieć polimerowa ogranicza możliwość ruchu molekuł wody. W wolnych przestrzeniach pomiędzy łańcuchami polimerowymi, uwięziona woda ma swobodę ruchu ponieważ w jej otoczeniu znajdują się tylko inne cząsteczki wody. Obecność sieci powoduje, że woda ta ma lokalnie uporządkowaną strukturę. W sieci polimerowej molekuły wody są również związane na powierzchni helisy oraz są unieruchomione w węzłach sieci. Badania temperaturowe pozwalają na śledzenie zmian w dynamice molekularnej wody. Zastosowane w pracy uśrednienie czasów korelacji daje możliwość określenia energii ruchów rotacyjnych molekuł wody w trakcie zmian konformacyjnych zachodzących w żelu polimerowym na skutek ochładzania. Relaksacja spin-spin zdecydowanie różni się wartościami szybkości relaksacji i przebiegiem temperaturowych zmian  $R_2$  w zależności od rodzaju skrobi. W wysokich temperaturach skrobia pszenna tworzy żele, w których przekazywanie energii pomiędzy sąsiednimi spinami odbywa się z dużo większą szybkością niż w żelach skrobi ziemniaczanej. Molekuły wody w żelach skrobi pszennej mają w porównaniu do żeli skrobi ziemniaczanej ograniczoną dynamikę, co przejawia się dłuższymi średnimi czasami korelacji. Hamowanie ruchów molekularnych przy obniżaniu temperatury jest skutkiem tworzenia sieci i przejść konformacyjnych od kłębka do spirali. Tworzone węzły sieci unieruchamiają związane w nich molekuły wody. Wyraźnie dłuższe średnie czasy korelacji ruchów reorientacyjnych w żelach skrobi pszennej niż ziemniaczanej, w niskich temperaturach, świadczą o większym udziale wody w tworzeniu węzłów sieci tego polimeru. Temperaturowe zmiany parametrów relaksacyjnych w żelach obu skrobi z dodatkami tłuszczu ujawniają wpływ rodzaju tłuszczu na procesy żelowania.

Wartości energii aktywacji ruchu molekularnego w żelach skrobiowych są wyższe niż w układach zawierających skrobię i tłuszcz. W żelach skrobi pszennej z tłuszczami zmniejszenie wartości energii aktywacji wynosi 30% w żelu z tłuszczem wołowym i 38% w żelu z tłuszczem wieprzowym w porównaniu do żelu skrobiowego. W żelach skrobi ziemniaczanej z tłuszczami zwierzęcymi też zanotowano spadek wartości energii aktywacji. Jednak jest on zdecydowanie mniejszy i wynosi 16% i 6% odpowiednio w przypadku tłuszczu wołowego i wieprzowego. Obniżenie bariery energetycznej ruchów molekularnych w żelach skrobiowych z tłuszczami spowodowane jest specyficzną interakcją tłuszczu z łańcuchem biopolimeru. Kwasy

tłuszczowe tworzą kompleksy z helisami amylozy, i w przypadku żeli skrobi pszennej także amylopektyny. Blokują dostęp wody do centrów sorpcji oraz uniemożliwiają wzajemne wiązanie łańcuchów skrobi ze sobą. Molekuły wody usunięte z sieci polimerowej pokonują mniejszą barierę energetyczną ruchu reorientacyjnego. Dodatkowo występują oddziaływania protonów wody z protonami grup kwasowych tłuszczu. Oba rodzaje zastosowanych tłuszczów modyfikują oddziaływania międzymolekularne w układzie w podobny sposób. Wyznaczone wartości energii aktywacji są nieco niższe niż te, jakie przyjmuje się dla wody. Sugeruje to znaczący wpływ protonów grup kwasów tłuszczowych na dynamikę molekularną. To potwierdza wniosek uzyskany z badań reologicznych o obniżeniu energii wiązania segmentów w węzłach.

W żelach skrobi ziemniaczanej obniżenie wartości bariery energetycznej jest mniejsze. Obniżenie energii aktywacji spowodowane jest usunięciem wody z węzłów sieci na skutek wbudowania łańcuchów kwasów tłuszczowych w spiralę amylozy. Woda usunięta ze struktury układu zachowuje znacznie większą swobodę. Wartości energii aktywacji wskazują na to, że główny mechanizm ruchów molekularnych ma związek z wolnymi molekułami wody. W obecności tłuszczu wołowego większa dynamika molekularna wody oznacza, że tłuszcz ten wbudowuje się w spiralę amylozową usuwając z niej więcej wody niż w przypadku tłuszczu wieprzowego. Przeprowadzone badania relaksacyjne interakcji żeli skrobi o różnych strukturach krystalicznych z tłuszczami zwierzęcymi wykazały, że tłuszcz wieprzowy korzystniej z punktu widzenia dynamiki molekularnej wody oddziałuje ze skrobią ziemniaczaną. Wyniki te mogą wskazywać na ilościowy związek pomiędzy zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, których w tłuszczu wieprzowym jest więcej, a wiązaniem wody w żelu. Dwa nasycone kwasy palmitynowy i stearynowy stanowią sumarycznie 47,9% składu tłuszczu wołowego i 41,6% składu tłuszczu wieprzowego. Nienasycone kwasy oleinowy i linolowy stanowią łącznie odpowiednio kolejne 43,0% i 49,0% składu tych tłuszczów. Zatem wszelkie właściwości żeli skrobiowych z dodatkiem analizowanych tłuszczów będą determinowane przez te dominujące kwasy tłuszczowe. Na uwagę zasługuje fakt, że w tłuszczu wieprzowym oba kwasy nasycone (C16:0 i C18:0) stanowią taką samą zawartość jak kwas nienasycony C18:1. W tłuszczu wołowym jest około 10% więcej kwasów nasyconych (C16:0 i C18:0) niż w tłuszczu wieprzowym.

## **Temperaturowe zależności parametrów relaksacyjnych w tłuszczach zwierzęcych i tkance tłuszczowej.**

Przeprowadzono badania temperaturowych zmian czasów relaksacji w tłuszczach zwierzęcych oraz w tkance tłuszczowej wieprzowej. Analiza dynamiki molekularnej w tłuszczach zwierzęcych wykazała dużą zmianę wartości średnich czasów korelacji w związku z przejściem od stanu płynnego do stałego. Wyznaczono wartości energii aktywacji ruchów molekularnych, która odzwierciedla możliwość swobodnego ruchu molekuł w łańcuchach kwasów tłuszczowych. Stwierdzono, że wartości energii aktywacji tłuszczów w stanie ciekłym wynoszą odpowiednio 16,2 kJ mol<sup>-1</sup> dla tłuszczu wołowego i 18,6 kJ mol<sup>-1</sup> dla tłuszczu wieprzowego. W wysokich temperaturach tłuszcze tracą swoją uporządkowaną strukturę. Protony, głównie reszt kwasowych poszczególnych łańcuchów, mają dużą swobodę ruchów na skutek zarówno rozpadu struktury jak i w związku ze wzrostem temperatury. W niskich temperaturach, gdzie oba tłuszcze są zestalone, wartości energii aktywacji wzrastają trzykrotnie i wynoszą 50,2 kJ mol<sup>-1</sup> w tłuszczu wołowym i 55,3 kJ mol<sup>-1</sup> w tłuszczu wieprzowym. W stanie stałym kwasy tłuszczowe tworzą uporządkowaną strukturę, Wszelkie ruchy molekularne w układzie są zdecydowanie zahamowane. Tłuszcz wołowy charakteryzuje się niższymi w porównaniu do tłuszczu wieprzowego wartościami energii aktywacji zarówno w stanie płynnym jak i stałym. Zatem, tłuszcze zawierające mniej nienasyconych kwasów tłuszczowych charakteryzują się większą dynamiką molekularną. Badania temperaturowe szybkości relaksacji w tłuszczach zwierzęcych posłużyły do określenia temperatury zestalenia. Stwierdzono, że temperatura zestalenia tłuszczu wołowego wynosi 31 °C a tłuszczu wieprzowego 35 °C. Uzyskane wyniki są zgodne z tymi jakie uzyskano z badań metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Wieprzowa tkanka tłuszczowa zawiera ponad 90% tłuszczu wieprzowego. Badania relaksacyjne pokazały, że nawet znikoma zawartość białek zmienia właściwości relaksacyjne. W trakcie ochładzania tkanki tłuszczowej ujawniono w niskich temperaturach obecność dwóch frakcji protonów relaksujących z różnymi czasami spin-spin. Jedna składowa czasu relaksacji spin-sieć oznacza, że wymiana protonów pomiędzy tymi frakcjami jest szybsza niż czas relaksacji T<sub>1</sub>. Druga składowa czasu relaksacji ujawniona w temperaturze bliskiej temperatury przejścia ze stanu płynnego do stałego sugeruje, że w utworzonej ze zdenaturowanych w obecności wody białek, matryca sieci białkowej odgrywa istotną rolę w mechanizmie wiązania wody w układach zawierających tkankę tłuszczową. Świadczy o tym również wartość energii



aktywacji. W wysokich temperaturach dynamika molekularna jest wynikiem uśrednienia ruchów molekularnych łańcuchów kwasów tłuszczowych i wody na powierzchni rozwiniętych łańcuchów białek. Stąd obniżenie bariery energetycznej w porównaniu do tłuszczu wieprzowego o około 20 %. Białka pełnią rolę emulgatora przy tworzeniu emulsji typu woda w tłuszczu. Nawet niewielka ilość wody modyfikuje proces zestalania tłuszczu.

### **Badania relaksacyjne modelowych emulsji wodno-tłuszczowych z udziałem skrobi pszennej.**

Przeprowadzono badania modelowych układów emulsji typu tłuszcz w wodzie emulgowanych skrobią pszenną. Badania prowadzono przy kilku różnych zawartościach tkanki tłuszczowej i stałej zawartości wody. Układ zawierający 0,075 g skrobi i 0,342 g tłuszczu na 1 gram układu odpowiadają składowi podstawowemu wędlin o obniżonej kaloryczności, w których skrobia jest zamiennikiem części tłuszczu w wędlinie. Prowadzono analizę w szerokim zakresie temperatur obejmujących przedział temperatur od przygotowania produktów mięsnych do temperatury przechowywania. Stwierdzona obecność dwóch frakcji protonów relaksujących z różnymi czasami spin-spin w całym zakresie temperatur i we wszystkich stężeniach skrobi świadczą o istotnym wpływie składników emulsji na dynamikę molekularną wody w emulsjach. Jeden czas relaksacji spin-sieć w emulsjach oznacza, szybką wymianę chemiczną pomiędzy frakcjami protonów. Dwie składowe czasów relaksacji spin-spin oznaczają, że protony obu frakcji wykazują różną ruchliwość. Najczęściej krótka składowa czasów relaksacji interpretowana jest jako składowa przypisana protonom o małej mobilności stanowiącym frakcję wody związanej. Natomiast długa składowa opisuje mobilność frakcji wody wolnej. Pierwszy z tych podukładów wykazuje liniową zależność czasu relaksacji spin-spin (z wyjątkiem układu w temperaturze poniżej 0°C) od zawartości skrobi w emulsji. Drugi opisany jest zależnością drugiego rzędu. Frakcja o krótszych czasach relaksacji jest, w omawianych układach modelowych, podukładem wody związanej w centrach sorpcji biopolimerów. Dotyczy to zarówno zdenaturowanych podczas obróbki termicznej białek, jak i związanych na powierzchni form helis uformowanych podczas procesu chłodzenia emulsji. Molekuły tej frakcji wody mają bardzo ograniczoną mobilność. Molekuły wody, które stanowią nadmiar frakcji hydratacyjnej, to woda nazywana wolną. Tworzy ona z tłuszczem emulsję stabilizowaną skrobią zamkniętą w przestrzeniach sieci. Wraz ze wzrostem zawartości skrobi w układzie maleje zawartość tkanki tłuszczowej.

Obserwacja stężeniowych zmian średnich czasów korelacji wskazuje na to, że obie frakcje protonów mają ograniczoną mobilność wraz ze wzrostem ilości skrobi w układzie. Świadczy to o obecności sieci skrobiowej w obu frakcjach. Zatem dodanie skrobi do produktów mięsnych modyfikuje dynamikę molekularną obu frakcji wody. Potwierdzają to wyniki analizowane pod kątem zmian temperaturowych.

Ostatecznym wynikiem badań temperaturowych zmian parametrów relaksacyjnych jest średni czas korelacji ruchu molekuł zawierających protony. Obecność protonów w dwóch frakcjach charakteryzujących się różnymi czasami relaksacji spin-spin pozwala na odrębną analizę ruchów molekularnych w tych podukładach. Temperaturowe zmiany średnich czasów korelacji pokazują hamowanie ruchów molekularnych wraz ze spadkiem temperatury. Poniżej temperatury 45°C obserwuje się wyraźną zmianą przebiegu zależności temperaturowych. Układ ze stanu lepkiego żelu przechodzi w stan sztywnej struktury. W wysokich temperaturach energie aktywacji ruchów molekularnych w obu frakcjach są bardzo małe. Największe wartości zanotowano przy zawartościach około 30% tłuszczu i 9% skrobi w układzie modelowym. Są to zawartości zbliżone do udziałów w rzeczywistych produktach mięsnych o obniżonej zawartości tłuszczu z dodatkiem natywnej skrobi. Maksimum energii aktywacji w takich stężeniach świadczy o najkorzystniejszym oddziaływaniu woda-sieć polimerowa. Po przejściu konformacyjnym od układu lepko-sprężystego do układu sztywnej sieci obserwuje się duży wzrost energii aktywacji. Minimum wartości obserwuje się przy tych samym zawartościach skrobi i tkanki tłuszczowej, przy których występuje minimum w wysokich temperaturach. Oznacza to, że po utworzeniu sieci woda jest w tym układzie najsłabiej wiązana w węzłach.

W modelowej emulsji o zawartości 7,5 % skrobi i 34,2 % tłuszczu najbardziej zbliżonych do rzeczywistych układów stosowanych w przemyśle mięsnym stwierdzono najkorzystniejsze, z punktu widzenia wiązania i dynamiki molekularnej wody, parametry aktywacyjne.

Powyższe stwierdzenie może mieć istotne znaczenie w tworzeniu receptur wędlin o obniżonej zawartości tłuszczu.

5 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

### **Wprowadzenie.**

Niskopolowy magnetyczny rezonans jądrowy jest metodą badawczą, którą wykorzystuję w swojej działalności naukowej. Dzięki współpracy nawiązanej z jednostkami naukowymi macierzystej Uczelni i innych Uczelni w kraju możliwe było

prorowadzenie badań naukowych z wykorzystaniem bardzo różnorodnego materiału. W każdym z podjętych tematów główne cele badawcze koncentrują się wokół analizy dynamiki molekularnej wody. Omówione poniżej główne kierunki badań poparte odnośnikami literaturowymi zamieszczonymi w wykazie opublikowanych prac naukowych.

#### **Badania tkanek i roztworów białek.**

Po ukończeniu studiów podjęłam pracę w Pracowni Radiospektroskopii Instytutu Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Poznaniu. Prowadziłam tam badania nad wykorzystaniem metody NMR do badań *in vitro* wycinków tkankowych i płynów ustrojowych w diagnostyce. Wyniki tych badań były prezentowane na kilku konferencjach krajowych [D59 – D62, D69, D74] i międzynarodowych [D43, D46]. Stwierdzono, że tkanki przechowywane w temperaturze 4°C przez 24 godziny nie zmieniają się z punktu widzenia badań metodą NMR. Badania prowadzone na próbach surowicy krwi pobranych od pacjentów z chorobami rozrostowymi wykazały, że zmiany czasów relaksacji są wynikiem jedynie zmian składu białek podstawowych [A1]. Taki rezultat wyjaśniał jednoznacznie przyczyny obserwowanego efektu ogólnoustrojowego.

Badania te były kontynuowane na modelowych układach roztworów białek. Na podstawie stężeniowych zależności szybkości relaksacji [D38, D39, D40, D64, D67] można określić parametr zwany hydratacją. Określa on ilość wody związanej bezpośrednio na powierzchni molekuly białka w roztworze. Wykazano ścisły związek z geometrią molekuly a hydratacją. Metoda ta w połączeniu z metodą impulsowego gradientu pola magnetycznego poszerzyła wiedzę na temat hydratacji molekuł białek globularnych i fibrylarnych w roztworach [D41, D44]. Pomiary współczynników samodyfuzji wody w roztworach białek globularnych i fibrylarnych wykazały, że proces ten jest wynikiem efektu hamowania przepływu molekuł wody wokół molekuly białka. To z kolei jest ściśle powiązane z ilością miejsc sorpcji wody na powierzchni białka, czyli z hydratacją [A2]. Dalsze prace nad roztworami białek globularnych prowadzone z wykorzystaniem metody pola cyklicznego [D49, D70, D73] doprowadziły do opisu dynamiki molekuł białka w roztworze.

#### **Badania stanu wiązania wody w farszach i wyrobach mięsnych.**

Wyroby o obniżonej zawartości tłuszczu są coraz częściej poszukiwane przez współczesnych konsumentów. Zaspokojenie takich potrzeb wymaga zmiany receptur. Tłuszcz w części zastępuje się zamiennikami funkcjonalnymi. Zanim taki produkt

zostanie wdrożony do produkcji wymaga przeprowadzenia szeregu badań. Metoda niskopolowego NMR bardzo dobrze może być wykorzystana do analizy stanu wiązania wody zarówno w farszach jak i gotowych wyrobach. Ilość wody wolnej i jakość wiązania wody jest znaczącym parametrem, który między innymi wpływa na jakość wyrobów i ich trwałość. Zamiennikami tłuszczu mogą być skrobie [D11, D27, D32], preparaty białkowe [D18, D19], błonniki pokarmowe [D9, D14, D25, D53, D56]. Analiza uzyskanych rezultatów badań relaksacyjnych była powiązana z badaniami właściwości teksturowych i reologicznych [D16, D19] oraz sposobu przygotowania farszów [D56].

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń podjęto badania na materiale wyprodukowanym na skalę przemysłową [A10, D24] analizując wpływ zamiany tłuszczu błonnikiem pokarmowym. Badania doprowadziły do sformułowania wniosków dotyczących interakcji skrobiowych i zbożowych zamienników części tłuszcz ze składnikami farszów wyrobów mięsnych [A5, A9] w modelowych układach.

Prowadzono także analizę wpływu zamiany tłuszczu zwierzęcego na tłuszcz roślinny w wyrobach mięsnych. Szeroko zakrojone badania wykazały, że zastosowanie tłuszczu roślinnego w wyrobach mięsnych może poprawić jakość [D21, D30] oraz bezpieczeństwo mikrobiologiczne związane z ograniczeniem ilości wody wolnej [A8]. Ogólnym wnioskiem jaki można wysnuć z szeregu badań jest to, że zawartość tkanki tłuszczowej w wyrobach mięsnych ma wpływ na zawartość białka [A8].

### **Badania relaksacyjne w mięśniach w odniesieniu do procesów produkcyjnych.**

Zdolność wiązania wody przez mięśnie ma decydujący wpływ na jakość gotowych wyrobów z nich wyprodukowanych. Metoda niskopolowego NMR umożliwia śledzenie zmian wiązania wody na poziomie molekularnym. Przeprowadzono doświadczenia mające na celu analizę wpływu składu solanki peklującej na jakość wiązania wody w mięśniach poddanych procesom technologicznym [D13, D17]. Stwierdzono również, że technika wstrzykiwania solanki do mięśni w procesie peklowania i pasteryzacji ma wpływ na jakość wiązania wody w mięśniach [A11]. W dalszym toku doświadczenia analizowano wpływ składu chemicznego solanki peklującej na jej oddziaływanie z białkami mięśniowymi [D22, D26]. Stwierdzono korelację pomiędzy parametrami relaksacyjnymi charakteryzującymi wiązanie wody na poziomie molekularnym z wodochłonnością.

Metodę niskopolowego NMR wykorzystano także do badania wpływu działania ultradźwięków na wiązanie wody w mięśniach [A7].

#### **Badania rozkładu wody w drewnie.**

We współpracy z Katedrą Mechaniki i Techniki Ciepłej Wydziału Technologii Drewna AR w Poznaniu podjęto prace nad wykorzystaniem niskopolowego NMR do badania wody w drewnie [D42, D65, D76, D77]. Zastosowanie tej nieinwazyjnej i nieniszczącej metody okazało się istotne z poznawczego punktu widzenia oraz przydatne w technologii. Na podstawie uzyskanych rezultatów określono rozkład wody w różnych częściach drewna. Stwierdzono, że przy małej wilgotności obserwuje się jedynie molekuly wody związanej i jej relaksacja jest tym szybsza im mniej wody jest w drewnie. W drewnie o dużej wilgotności zidentyfikowano dwa niezależne podukłady wody [D71]. Opracowano model matematyczny, który pozwala na identyfikację punktu nasycenia włókien [D2] a oba podukłady zidentyfikowano jako wodę sorpcyjnie związaną i wodę wolną [D6]. Metodę obrazowania magnetycznego rezonansu (MRI) wykorzystano do wizualizacji rozkładu wody w drewnie [D4]. Interpretacja wyników pozyskanych tą metodą, podobnie jak w diagnostyce medycznej, jest możliwa dzięki szeregu doświadczeń prowadzonych *in vitro*.

#### **Zastosowanie metody niskopolowego NMR do badań preparatów białek miofibrylarnych.**

Preparaty białkowe typu surimi znajdują coraz szersze zastosowanie w produkcji nowych produktów mięsnych. Modyfikacja enzymatyczna białek, w tym coraz częściej z wykorzystaniem transglutaminazy, znalazła praktyczne wykorzystanie w przemyśle mięsnym. Dodatek enzymu powoduje istotne zmiany konformacyjne białek, czego konsekwencją są ich zmiany fizyko-chemiczne. Wykorzystano metodę niskopolowego NMR do wiązania wody w preparatach białkowych z dodatkiem transglutaminazy w zależności od czasu inkubacji w niskiej temperaturze [A3]. Określono optymalny czas inkubacji. Wykonano badania mające na celu obserwację zmian sieciowania białek pod wpływem preparatu enzymatycznego w porównaniu do układu białkowego niemodyfikowanego [A6]. Prowadzono badania w szerokim zakresie czasowym. Analizowano wpływ zamrażalniczego przechowywania na działanie preparatu enzymatycznego. Stwierdzono, że z punktu widzenia dynamiki molekularnej nie ma znaczenia, czy preparat transglutaminazy jest wprowadzony do układu przed czy po mrożeniu [A14}. Badania na poziomie molekularnym wykonane metodą

niskopolowego NMR umożliwiły określenie przedziału czasowego, w którym następuje sieciowanie białka.

### **Analiza zmian konformacyjnych w żelach skrobiowych i skrobiowo-hydrokolooidowych.**

Na skutek ogrzewania zawiesina skrobi w wodzie podlega zmianom określanym jako kleikowanie. W trakcie ochładzania następuje proces tworzenia żelu. Metodę niskopolowego NMR wykorzystano do śledzenia zmian dynamiki molekularnej wody w trakcie tych procesów w mieszaninach skrobiowo-hydrokolooidowych D31, [D34, D35, A4]. Określono zakres temperatur, w którym następuje kleikowanie oraz wartości barier energetycznych na rotację molekuł wody. Pozwoliło to na określenie udziału wody w procesie tworzenia sieci polimerowej. Na podstawie wyników badań relaksacyjnych w żelach skrobi o różnym pochodzeniu botanicznym prześledzono procesy uwadniania granul skrobi przed żelowaniem. Określono przedział temperatur kleikowania oraz jakość wiązania wody w żelu po ochłodzeniu [D36]. Przeanalizowano wpływ temperatury przechowywania żeli skrobiowych na trwałość wiązania wody w takich układach. Wykorzystano fakt, że metoda NMR jest nieinwazyjna i nieniszcząca. Dzięki temu można prowadzić badania na tej samej próbce. Ma to istotne znaczenie w badaniach na materiale biologicznym, który często jest niepowtarzalny.

### **Badania relaksacyjne polimerowych materiałów hydratowanych.**

Niskopolowy NMR wykorzystano do określenia dynamiki molekuł wody w różnorodnych materiałach biologicznych [D7, D20, D37, D45, D47, D50 D54, D66, D72, D75]. Cechą charakterystyczną było to, że badane układy, w przeciwieństwie do omówionych powyżej, charakteryzowały się małą zawartością wody. Określano ilościowo wiązanie wody w miejscach sorpcji. Wyniki określające wiązanie i ruchliwość molekuł wody na poziomie molekularnym były korelowane z innymi parametrami charakteryzującymi właściwości wody w takich układach. Metodę wykorzystano również do określenia dynamiki molekularnej w foliach wykonanych całkowicie z materiałów naturalnych [D33].

### **Badania wiskozymetryczne.**

Prowadzono badania lepkości roztworów białek [D48] i cukrów [D52, D55]. Wyniki korelowano z parametrami relaksacyjnymi i aktywnością wody. Na podstawie uzyskanych rezultatów opracowano model, w którym określono wpływ warstwy hydratacyjnej na kształtowanie właściwości wiskozymetrycznych w takich układach. Pomiary lepkości wodnych i wodno-etanolowych roztworów amylozy [D1] ujawniły

wpływ zmian struktury polimeru przy określonym stężeniu alkoholu w wodzie. Badania lepkości i czasów relaksacji wodnych roztworów etanolu [D29, D57] wykazały specyficzne oddziaływania obu składników w roztworach o stężeniu 45%.

#### 6. Zestawienie dotyczące dorobku publikacyjnego.

6.1. Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie JCR	<b>14</b>
6.2. Sumaryczny <i>impact factor</i>	<b>15,565</b>
6.3. Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie JCR	<b>79</b>
6.4. Liczba cytowani publikacji według bazy Web of Science (WoS)	<b>66</b>
6.5. Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS)	<b>4</b>
6.6. Liczba punktów MNiSW	<b>512</b>

#### 7. Udział w projektach badawczych.

7.1. **Projekt badawczy KBN 567/PO6/95/09** „Wyznaczanie udziałów wody wolnej i związanej w drewnie przy wykorzystaniu techniki magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) ” KBN. Katedra Mechaniki i Techniki Ciepłej AR Poznań. 1995-1998. Wykonawca.

7.2. **Projekt badawczy N N312 019 31/1612** „ Analiza dynamiki zmian mikrostruktury i właściwości wody w mięśniach o zróżnicowanym położeniu w tuszy jako funkcja składu solanki peklującej i ciśnienia jej nastryku.” KBN. Instytut Technologii Mięsa AR Poznań. 2006-2008. Wykonawca.

7.3. **Projekt badawczy N N312 207436**, „Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi.” NCN, Katedra Technologii Węglowodanów UR Kraków. 2009–2012. Wykonawca.

7.4. **Projekt badawczy N N312 038939** „Rola skrobi w kształtowaniu właściwości mechaniczno-reologicznych emulsji typu tłuszcz w wodzie.” NCN. Katedra Fizyki UP Poznań. 2010–2012. Wykonawca.

#### 8. Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową:

8.1. East-Meets-West Programm Awards of ESMRMB Zurich 1991.

8.2. East-Meets-West Programm Awards of ESMRMB Berlin 1992.

8.3. East-Meets-West Programm Awards of ESMRMB Rzym 1993.

8.4. Nagroda zespołowa II stopnia Rektora AR w Poznaniu, Poznań 1992.

8.5. Nagroda zespołowa II stopnia Rektora AR w Poznaniu, Poznań 1993.

- 8.6. Nagroda zespołowa II stopnia Rektora AR w Poznaniu, Poznań 1995.
- 8.7. Nagroda zespołowa II stopnia Rektora UP w Poznaniu, Poznań 2009.
- 8.8. Nagroda zespołowa I stopnia Rektora UP w Poznaniu, Poznań 2012.
- 8.9. Dyplom uznania Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe w latach 2007 – 2009.

9. Wygłoszenie referatów na **4** międzynarodowych i **24** krajowych konferencjach tematycznych.

10. Przedstawienie **26** komunikatów na międzynarodowych i **13** komunikatów na krajowych konferencjach naukowych.

11. Opieka nad badaniami przy realizacji **5** prac magisterskich.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "J. Paradowski". The signature is written in a cursive, flowing style.