

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych

dr inż. Izabela Michalak

Technologia produktów na bazie alg dla nowoczesnego rolnictwa

SPIS TREŚCI	1
1. Imię i Nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych	3
4. Osiągnięcia wynikające 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. z 2017 r. poz. 1789)	4
5. Syntetyczne omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej	7
5.1. Wstęp i uzasadnienie celu badawczego.....	7
5.2. Sposób realizacji doświadczeń i otrzymane wyniki badań.....	11
5.2.1. <i>Ekstrakty algowe jako biostymulatory wzrostu roślin</i>	13
5.2.2. <i>Kompostowanie/współkompostowanie alg na nawozy organiczne lub środki wspomagające uprawę roślin</i>	25
5.3. Podsumowanie.....	27
5.4. Cytowana literatura.....	31
6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych	33
6.1. Praca naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora.....	33
6.2. Praca naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora.....	35
6.3. Udział w konferencjach krajowych i międzynarodowych po uzyskaniu stopnia doktora.....	39
6.4. Nagrody po uzyskaniu stopnia doktora.....	40
6.5. Współpraca naukowa – krajowa.....	41
6.6. Współpraca naukowa – międzynarodowa.....	42
6.7. Aktywność recenzencka.....	43
6.8. Działalność dydaktyczna.....	43
7. Plany naukowo-badawcze	45
8. Wykaz dorobku naukowego	46

1. Imię i Nazwisko

Izabela Magdalena Michalak

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

01.07.2005 – magister inżynier

- Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny
- Kierunek: Biotechnologia
- Specjalność: Procesy biotechnologiczne
- Promotorzy: prof. dr hab. Zygmunt Sadowski (Politechnika Wrocławska) i prof. Maria Clara Costa (Uniwerytet Algarve, Faro, Portugalia)
- Tytuł praca magisterskiej: „Selektywne ekstrahenty jonów metali z roztworów po bioługowaniu”

26.01.2010 – doktor inżynier

- Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych
- Dziedzina: Nauki techniczne
- Dyscyplina: Technologia chemiczna
- Specjalność: Procesy biotechnologiczne
- Promotor: prof. dr hab. inż. Katarzyna Chojnacka (Politechnika Wrocławska)
- Tytuł rozprawy doktorskiej: „Nowa generacja biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami na bazie makroalg”
- Recenzenci:
 1. Prof. dr hab. Grzegorz Schroeder (Uniwerytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu)
 2. Dr hab. inż., Prof. PK Zbigniew Wzorek (Politechnika Krakowska)

Studia podyplomowe

- *Zarządzanie jakością*; 21.09.2006–19.05.2007
Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczny, Wrocławskie Centrum Transferu Technologii

Praca dyplomowa: „Ocena możliwości wdrożenia systemu zarządzania jakością wg normy ISO 9001:2000 w przedsiębiorstwie usługowym – DMS TAX Sp. z o.o. (*Spółka doradztwa podatkowego*)”. Opiekun pracy: dr Janusz Zymonik (Politechnika Wrocławska)

Pełnomocnik ds. Jakości, Certyfikat TÜV Rheinland Group (nr 43510)

- **Postgraduate School of Industrial Ecology (PSIE)** – Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, w ramach programu „Marie Curie Program”. Studia podyplomowe obejmowały następujące kursy:

1. Industrial Ecology: Theory and Concepts

- Slovak University of Technology, Bratysława, Słowacja, 8–12.01.2007
- University of Economy, Praga, Czechy, 2–6.07.2007

2. Ecological Design

- Technical University Ostrava, Ostrawa, Czechy, 10–21.09.2007

3. Resource and Recycling Systems

- University of Maribor, Maribor, Słowenia, 21–25.01.2008
- Politechnika Wrocławska, Wrocław, Polska, 30.06–4.07.2008

4. Sustainable Production

- University of Maribor, Maribor, Słowenia, 28.01–1.02.2008
- Politechnika Wrocławska, Wrocław, Polska, 7–11.07.2008

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

03.10.2005–26.01.2010	Doktorant (Studia doktoranckie), Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych
22.02.2010–28.02.2014	Asystent naukowo-dydaktyczny , Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych
01.03.2014–obecnie	Adiunkt naukowo-dydaktyczny , Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Zakład Zaawansowanych Technologii Materiałowych (wcześniej Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych)

Dodatkowe informacje o dłuższych przerwach w pracy:

[1] 08.03.2009–25.07.2009 – urlop macierzyński

[2] 29.03.2011–29.08.2011 i 20.10.2011–03.02.2012 – urlop macierzyński i wychowawczy

4. Osiągnięcia wynikające 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. z 2017 r. poz. 1789)

a) tytuł osiągnięcia naukowego

Technologia produktów na bazie alg dla nowoczesnego rolnictwa

b) autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi 14 publikacji naukowych z listy JCR (Σ IF = 27,014; Σ MNiSW = 335), w tym 12 oryginalnych prac twórczych (Σ IF = 22,361; Σ MNiSW = 285) oraz 2 publikacje przeglądowe (Σ IF = 4,653; Σ MNiSW = 50) i książka, której jestem współedytorem oraz autorem jednego rozdziału (Tabela 1). We wszystkich wymienionych publikacjach oraz w rozdziale w książce jestem autorem do korespondencji. W 13 pozycjach jestem pierwszym autorem. Liczba cytowań bez autocytowań wynosi 65.

Tabela 1. Skład osiągnięcia naukowego

Nr	Autorzy	Tytuł	Czasopismo	IF z roku publikacji	IF ^(5-year) (2016)	MNiSW (2016) **	Liczba cytowań ***
A. Oryginalne prace twórcze z listy JCR (w kolejności ukazywania się w czasopismach naukowych)							
A1.	Izabela Michalak*, Katarzyna Chojnacka	Zastosowanie w uprawie roślin ekstraktu z makroalg Bałtyckich wytworzonego przez hydrolizę chemiczną	Przemysł Chemiczny, 2013, 92(6), 1046–1049	0,367 (2013)	0,329	15	2
A2.	Izabela Michalak*, Łukasz Tuhy, Katarzyna Chojnacka	Ekstrakcja glonów ługiem potasowym	Przemysł Chemiczny, 2014, 93(5), 771–774	0,399 (2014)	0,329	15	1
A3.	Izabela Michalak*, Łukasz Tuhy, Katarzyna Chojnacka	Seaweed extract by microwave assisted	Open Chemistry,	1,207 (2015)	1,048	20	3

		extraction as plant growth biostimulant	2015, 13, 1183–1195				
A4.	Izabela Michalak*, Łukasz Tuhy, Katarzyna Chojnacka	Co-composting of algae – effect of the compost on the germination and growth of <i>Lepidium sativum</i>	Polish Journal of Environmental Studies, 2016, 25(3), 1–9	0,793 (2016)	0,961	15	1
A5.	Katarzyna Godlewska, Izabela Michalak*, Łukasz Tuhy, Katarzyna Chojnacka	Plant growth biostimulants based on different methods of seaweed extraction with water	BioMed Research International, 2016, Article ID 5973760, http://dx.doi.org/10.1155/2016/5973760	2,476 (2016)	2,587	25	2
A6.	Izabela Michalak*, Bogusława Górka, Piotr P. Wiczorek, Edward Rój, Jacek Lipok, Bogusława Łęska, Beata Messyasz, Radosław Wilk, Grzegorz Schroeder, Agnieszka Dobrzyńska-Inger, Katarzyna Chojnacka	Supercritical fluid extraction of algae enhances levels of biologically active compounds promoting plant growth	European Journal of Phycology, 2016, 51(3), 243–252	2,412 (2016)	2,471	30	0
A7.	Izabela Michalak*, Katarzyna Chojnacka, Agnieszka Dmytryk, Radosław Wilk, Mateusz Gramza, Edward Rój	Evaluation of supercritical extracts of algae as biostimulants of plant growth in field trials	Frontiers in Plant Science, 2016, 7:1591, doi: 10.3389/fpls.2016.01591	4,291 (2016)	4,672	40	2
A8.	Izabela Michalak*, Urszula Miller, Łukasz Tuhy, Izabela Sówka, Katarzyna Chojnacka	Characterization of biological properties of composted Baltic seaweeds in germination tests	Engineering in Life Sciences, 2017, 17, 153–164	1,698 (2016)	2,050	25	0
A9.	Izabela Michalak*, Agnieszka Dmytryk, Agnieszka Śmieszek, Krzysztof Marycz	Chemical characterization and cytotoxicity of <i>Enteromorpha prolifera</i> extract obtained by enzyme-assisted extraction	International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18, 479; doi:10.3390/ijms18030479	3,226 (2016)	3,482	30	0
A10.	Izabela Michalak*, Agnieszka Dmytryk, Grzegorz Schroeder, Katarzyna Chojnacka	The application of homogenate and filtrate from Baltic seaweeds in seedling growth tests	Applied Sciences - Basel, 2017, 7, 230; doi:10.3390/app7030230	1,679 (2016)	1,913	25	0
A11.	Katarzyna Godlewska, Izabela Michalak*, Łukasz Tuhy, Katarzyna Chojnacka	The influence of pH of extracting water on the composition of seaweed extracts and their	BioMed Research International, 2017, Article	2,476 (2016)	2,587	25	0

		beneficial properties on <i>Lepidium sativum</i>	ID 7248634, https://doi.org/10.1155/2017/7248634				
A12.	Izabela Michalak*, Radosław Wilk, Katarzyna Chojnacka	Bioconversion of Baltic seaweeds into organic compost	Waste and Biomass Valorization, 2017, 8, 1885–1895	1,337 (2016)	1,491	20	0
B. Publikacje przeglądowe z listy JCR							
B1.	Izabela Michalak*, Katarzyna Chojnacka	Algal extracts: technology and advances	Engineering in Life Sciences, 2014, 14, 581–591	2,485 (2014)	2,050	25	24
B2.	Izabela Michalak*, Katarzyna Chojnacka	Algae as production systems of bioactive compounds	Engineering in Life Sciences, 2015, 15(2), 160–176	2,168 (2015)	2,050	25	30
C. Rozdział w książce							
C1.	Izabela Michalak*, Katarzyna Chojnacka	Innovative technology of algal extracts obtained by Supercritical Fluid Extraction useful in the products for plants, animals and human	Innovative bio-products for agriculture: algal extracts in products for human, animals and plants (Edytorzy: K. Chojnacka, I. Michalak) Nova Science Publishers, Inc., NY, USA, 2016, 1–27; ISBN: 978-1-63485-558-7				-

* Autor do korespondencji

**Liczba punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW (z 9 grudnia 2016 roku)

***Liczba cytowań bez autocytowań (z 28 marca 2018 roku)

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

Podstawą ubiegania się o stopień naukowy **doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologia chemiczna** jest wykaz **14 publikacji oraz jednego rozdziału w książce, której jestem współedytorem** stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy. Cykl publikacji dotyczy **technologii produktów algowych** (kompost, ekstrakty i homogenaty algowe) i ich zastosowania w nowoczesnym rolnictwie. Opisane badania i wyniki zostały sfinansowane z kierowanego przeze mnie projektu pt.: „**Związki biologicznie czynne w ekstraktach z wodorostów bałtyckich**” (NCN, nr 2012/05/D/ST5/03379) oraz projektu kierowanego przez prof. Katarzynę Chojnacką pt.: „**Innowacyjna technologia ekstraktów glonowych – komponentów nawozów, pasz i kosmetyków**” (NCBiR, nr PBS/1/A1/2/2012; EXTRALGAE), którego byłam wykonawcą.

5. Syntetyczne omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej

5.1. Wstęp i uzasadnienie celu badawczego

Zgodnie z definicją, „**technologia chemiczna** jest nauką o przekształcaniu **surowców naturalnych** w produkty o pożądanych wartościach użytkowych” (Jacka Molenda, „Technologia chemiczna”, WSiP, 1988). Wraz z postępem czasu i rozwojem technologii coraz większą uwagę zwraca się na przekształcanie surowców, zwłaszcza pochodzenia naturalnego. Jednym z nich może być biomasa alg (inaczej wodorostów, glonów), której ilość w Morzu Bałtyckim w ostatnich latach znacznie zwiększyła się. Wynika to z nasilającego się procesu **eutrofizacji** zbiorników wodnych, spowodowanego przez związki biogenne do których zaliczany jest azot oraz fosfor, pochodzące głównie z nawozów mineralnych. W związku z tym, niezbędne staje się nie tylko podejmowanie działań mających na celu zmniejszenie ilości substancji biogennych wprowadzonych do wód powierzchniowych i podziemnych, ale również opracowanie technologii zagospodarowania biomasy alg bałtyckich, występującej zarówno na plażach, jak i w toni wodnej. Ma to szczególnie istotne znaczenie, ponieważ algi występujące w strefie przybrzeżnej obniżają atrakcyjność turystyczną wielu nadmorskich kurortów. Algi wchodzące w skład obiegu materii w ekosystemach wodnych (są pierwotnymi producentami), akumulują w swojej biomacie azot i fosfor. Dzięki przekształcaniu biomasy alg na produkty użyteczne dla rolnictwa istnieje możliwość odzysku tych pierwiastków nawozowych. Jest to jeden z elementów **Gospodarki o Obiegu Zamkniętym** (ang. *Circular Economy*).

Z drugiej strony, algi stanowią niezwykle cenny surowiec ze względu na obecność wielu substancji bioaktywnych, mających szerokie spektrum zastosowania w wielu gałęziach przemysłu, jak również w rolnictwie. Algi zawierają bogaty zestaw fitohormonów (np.: cytokininy, auksyny, kwas abscysynowy), aminokwasów, mikro- i makroelementów, polifenoli, pigmentów, witamin, które są odpowiedzialne za wzrost i rozwój roślin oraz zwiększanie odporności na patogeny i czynniki abiotyczne środowiska (np.: zmiana temperatury, przymrozki, opady, susza itp.) [1-6].

Produkty naturalne wytwarzane z biomasy alg (biostymulatory wzrostu roślin, środki poprawiające właściwości gleby, środki wspomagające uprawę roślin, kompost) mogą spełniać wymagania stawiane **zrównoważonemu rolnictwu**, które polega na prowadzeniu produkcji rolnej metodami przyjaznymi dla środowiska naturalnego (ograniczenie stosowania nawozów mineralnych i syntetycznych środków ochrony roślin). Obecnie, poszukuje się więc nowych, bardziej wydajnych i proekologicznych rozwiązań, które będą warunkowały wzrost roślin, a tym samym ich plonowanie. W ostatnich latach kładzie się szczególny nacisk nie tylko na właściwe

nawożenie, ale również na sterowanie procesami fizjologicznymi roślin oraz dbałość o podłoże, w którym one rosną. W literaturze dostępne są dane potwierdzające **pozytywny wpływ alg na wzrost owoców, warzyw, zbóż i innych upraw**. Wytwarzane z alg ekstrakty pełnią rolę biostymulatorów wzrostu roślin. Ich zaletą jest możliwość aplikacji dolistnej, doglebowej, jak i donasiennej [2, 3, 7, 8]. Dodatkowo proponowane jest poprawianie żyzności gleby poprzez jej nawożenie kompostem z dodatkiem glonów. Algi wpływają pozytywnie na stan gleby poprzez poprawę zdolności zatrzymywania wilgoci oraz poprzez wspomaganie wzrostu pożytecznych mikroorganizmów glebowych [9-12].

Biostymulatory wzrostu roślin to kategoria środków do produkcji roślinnej bardzo młoda, ale intensywnie rozwijająca się w ostatnim czasie, zarówno w Polsce, jak i na świecie. Szacowany wzrost globalnego rynku biostymulatorów wynosić będzie 12% każdego roku oraz osiągnie wartość ponad 2200 miliona USD do 2018 roku [3]. Dodatkowo, producenci rolni mają obowiązek stosowania **zasad integrowanej ochrony roślin**, co wynika z dyrektyw unijnych, jak i polskiego ustawodawstwa. Spełnianie wymagań ciągle zaostrzanych przepisów prawnych wiąże się z rosnącym zainteresowaniem preparatami bezpiecznymi zarówno dla środowiska, jak i konsumentów – czyli biostymulatorami. Obecnie w Unii Europejskiej trwają prace nad opracowaniem oficjalnej, prawnie obowiązującej definicji biostymulatora oraz osobnej kategorii dla biostymulatorów, które wypełniają lukę pomiędzy środkami ochrony roślin oraz nawozami [7]. Według Ustawy z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu, „stymulator wzrostu to związek organiczny lub mineralny, lub jego mieszanina, wpływające korzystnie na rozwój roślin lub inne procesy życiowe roślin, z wyłączeniem regulatora wzrostu będącego środkiem ochrony roślin w rozumieniu przepisów o ochronie roślin”. Biostymulatory są preparatami, których oddziaływanie na rośliny nie ma charakteru troficznego (odżywczego) [4]. **Rolą biostymulatorów wzrostu roślin jest usprawnianie pobierania składników mineralnych z podłoża oraz wzrost korzeni, stymulowanie syntezy naturalnych hormonów, niekiedy zwiększanie ich aktywności**. Dodatkowo, preparaty te zwiększają odporność na stres biotyczny oraz abiotyczny związany z niekorzystnymi warunkami środowiska (np. susza, mróz i chłód, zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi lub innymi substancjami toksycznymi) [1-4, 6, 7]. Pozytywny wpływ biostymulatorów na wzrost roślin ujawnia się częściej i w większym stopniu, gdy warunki uprawy roślin odbiegają od optymalnych [1, 4].

Do najczęściej spotykanych kategorii stymulatorów wzrostu roślin należą **ekstrakty z alg**, ekstrakty roślinne, ekstrakty kwasów humusowych z różnych surowców kopalnych, aminokwasy – uzyskiwane w drodze hydrolizy chemicznej lub enzymatycznej białek roślinnych lub

zwierzęcych, chitozan i inne biopolimery, sole mineralne (w szczególności Al, Co, Na, Se oraz Si) oraz korzystne dla roślin populacje bakterii i grzybów [3, 7]. W zabiegach mających na celu zwiększenia potencjału plonotwórczego roślin uprawnych, produkty pochodzenia roślinnego są coraz powszechniej używane [6]. W ostatnim czasie duże zainteresowanie wzbudzają właśnie ekstrakty z alg. Ekstrakty te mogą być wytwarzane na wiele sposobów – z wykorzystaniem tradycyjnych metod ekstrakcji (ekstrakcja rozpuszczalnikowa) oraz nowoczesnych, proekologicznych technik ekstrakcji takich jak: ekstrakcja z wykorzystaniem rozpuszczalników w stanie nadkrytycznym, ekstrakcja wspomagana mikrofalami, ultradźwiękami czy też enzymami, które skracają czas ekstrakcji i eliminują użycie dużych objętości rozpuszczalników organicznych [1, 13, 14]. W czasie prowadzonych studiów literaturowych zauważono, że **zagadnienie dotyczące wytwarzania ekstraktów algowych z użyciem nowych technik ekstrakcyjnych zostało w niewielkim stopniu opisane w odniesieniu do ich zastosowania w uprawie roślin** (jako biostymulatorów wzrostu roślin). Większość prezentowanych prac dotyczyła tradycyjnych metod ekstrakcyjnych i wpływu otrzymanych ekstraktów na wzrost roślin (głównie testy kiełkowania w kontrolowanych warunkach). Zwrócono również uwagę na fakt, iż testowano ekstrakty w uprawie roślin bez szczegółowej analizy ich składu chemicznego (zawartość związków biologicznie czynnych stymulujących wzrost roślin).

Drugą grupę produktów wytwarzanych z biomasy alg stanowią **nawozy organiczne**, które według Ustawy z dnia 10 lipca 2007 roku o nawozach i nawożeniu są „nawozami wyprodukowanymi z substancji organicznej lub z mieszanin substancji organicznych, w tym **komposty**, a także komposty wyprodukowane z wykorzystaniem dżdżownic”. Algi usuwane z plaż i linii brzegowej stanowią odpad organiczny. Ze względu na brak możliwości zaklasyfikowania flory wodnej wyrzucanej na brzeg według katalogu odpadów, najczęściej odpadowe algi klasyfikowane są jako niesegregowane (zmieszane) odpady komunalne (kod 20 03 01), ponieważ z reguły są one usuwane łącznie z innymi odpadami komunalnymi [9]. Istnieje wiele metod zagospodarowania takiej biomasy, jednak najczęściej algi są stosowane bezpośrednio jako nawóz w terenach nadmorskich (niebezpieczeństwo związane z obecnością metali toksycznych oraz dużej ilości sodu) oraz są składowane na wysypiskach śmieci (niekorzystne rozwiązanie ze względu na wysokie koszty, brak miejsc do składowania odpadów, wytwarzanie biogazu podczas rozkładu biomasy alg). Korzystnym rozwiązaniem wydaje się być wytwarzanie kompostu z alg z dodatkiem materiału strukturalnego (np.: pocięte gałęzie drzew i krzewów, trociny) oraz odchodami zwierzęcymi, zapewniającymi odpowiedni poziom azotu w mieszaninie poddawanej procesowi kompostowania [10-12]. Podczas przeglądu piśmiennictwa zauważono, że

zastosowanie procesu kompostowania do zagospodarowania biomasy alg, zalegającej w toni wodnej lub na plażach, staje się coraz bardziej popularne ze względu na możliwość recyklingu skalników mineralnych, które są zawarte w algach (wykorzystanie potencjału nawozowego alg) [15]. Niemniej jednak, jest to rzadko stosowane rozwiązanie, zwłaszcza w Polsce. Dlatego też, w ramach prowadzonych badań zaproponowano dwie technologie zagospodarowania biomasy alg bałtyckich – (1) wytwarzanie ekstraktów algowych jako biostymulatorów wzrostu roślin oraz homogenatów algowych jako preparatów do zaprawiania nasion oraz (2) współkompostowanie alg – wytwarzanie nawozów organicznych/środków wspomagających uprawę roślin. **Hipoteza badawcza** zakłada, że preparaty otrzymane na bazie alg z wykorzystaniem innowacyjnych technologii umożliwią wzrost potencjału plonotwórczego uprawianych roślin, przy jednoczesnym pozytywnym ich wpływie na jakość otrzymanych plonów przy zachowaniu pełnego bezpieczeństwa produkowanej żywności, jak i bezpieczeństwa dla środowiska naturalnego.

Przedstawiony zbiór 14 publikacji oraz jednego rozdziału w książce, której jestem współedytorem, prezentowany jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologia chemiczna zatytułowano „Technologia produktów na bazie alg dla nowoczesnego rolnictwa”. Cykl ten wnosi nowe elementy poznawcze i naukowe w dziedzinie technologii zagospodarowania biomasy alg na produkty użyteczne dla rolnictwa. Biomasa makroalg namnażana w sezonie letnim w Morzu Bałtyckim może stanowić cenny i odnawialny surowiec dla różnych gałęzi przemysłu, w tym dla nowoczesnego rolnictwa.

W ramach przeprowadzonych badań, biomasa alg została wykorzystana do wytwarzania ekstraktów algowych jako biostymulatorów wzrostu roślin [A1, A2, A3, A5, A6, A7, A9, A10, A11] i preparatów do zaprawiania nasion [A10] oraz do produkcji kompostu jako nawozu organicznego lub środków wspomagających uprawę roślin [A4, A8, A12]. Kompostowanie/współkompostowanie biomasy alg jest najprostszym i najtańszym sposobem na zagospodarowanie tego typu biomasy. Niemniej jednak, na szczególną uwagę zasługują biostymulatory wzrostu roślin, którymi zainteresowanie zwiększa się systematycznie, nie tylko wśród naukowców, ale przede wszystkim wśród producentów agrochemikaliów i rolników. W celu wytworzenia ekstraktów algowych wykorzystano zarówno tradycyjne metody ekstrakcyjne (początkowy etap badań), jak i nowoczesne, takie jak ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym, ekstrakcja wspomagana promieniowaniem

mikrofalowym czy hydroliza enzymatyczna. Otrzymane preparaty zostały scharakteryzowane pod względem składu chemicznego i ich właściwości (np.: przeciwutleniające, przeciwbakteryjne). Właściwości użytkowe produktów zostały ocenione w testach kiełkowania na roślinach modelowych – rzeżucha i rzodkiewka w kontrolowanych warunkach z użyciem kiełkownika typu Jacobsena. Nowatorskim podejściem było testowanie ekstraktów wytworzonych z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym z biomasy alg, zarówno w badaniach laboratoryjnych – testy kiełkowania, jak i w 3-letnich badaniach polowych. W doświadczeniach tych zbadano również ekstrakty algowe otrzymywane w stanie nadkrytycznym z komercyjnie dostępnej mikroalgi – *Spirulina platensis*, jako alternatywnego źródła surowca dla alg bałtyckich. Według aktualnej wiedzy, są to pierwsze takie badania przeprowadzone na roślinach.

5.2. Sposób realizacji doświadczeń i otrzymane wyniki badań

Przeprowadzone badania zostały poprzedzone szczegółowym przeglądem literatury, którego efektem są liczne prace przeglądowe oraz rozdziały w książkach, w renomowanych czasopismach oraz wydawnictwach. Przegląd piśmiennictwa dotyczył (1) zawartości związków biologicznie aktywnych w biomase alg [B2, 16], (2) dostępnych technologii służących do wytwarzania ekstraktów algowych [B1, 13, 14, 17], (3) dostępności na polskim rynku komercyjnych preparatów algowych – biostymulatorów wzrostu roślin [18, 19], jak również (4) procesu kompostowania/współkompostowania biomasy alg [15].

W ramach przeprowadzonych badań, **ekstrakty algowe** zostały wytworzone z użyciem kilku technik ekstrakcyjnych, nowoczesnych takich jak: ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym (ang. *Supercritical Fluid Extraction*; SFE), ekstrakcja wspomagana mikrofalami (ang. *Microwave-assisted extraction*; MAE), ekstrakcja z użyciem enzymu – celulazy (ang. *Enzyme-assisted extraction*; EAE), jak i tradycyjnych metod – na drodze hydrolizy chemicznej w różnych warunkach eksperymentalnych: ekstrakcja wodą (wpływ pH wody użytej jako ekstrahenta oraz wpływ pH zawiesiny alg w wodzie na ekstrakcję; gotowanie i moczenie) i zasadą potasową. Wytworzono również filtry i homogenaty z biomasy alg bałtyckich jako biostymulatory i preparaty do zaprawiania nasion. Dodatkowo wzbogacono je w jony mikroelementów (przykładowo jony Zn(II)) w celu oceny zdolności do ich chelatowania.

Kompost zawierający biomasę alg został wytworzony (1) na małą skalę w pojemnikach do kompostowania (7,5 kg) w warunkach laboratoryjnych – współkompostowanie alg (brunatnica – morszczyn; *Fucus* sp.) z sianem ekologicznym, suchą trawą, trocinami i podłożem

popieczarkowym, (2) w kompostowniku (45 kg) w warunkach zewnętrznych – współkompostowanie alg bałtyckich: *Cladophora* sp. i *Enteromorpha* sp., trocin i kurzajca przepiórczego oraz (3) w przyzmie (ok. 1 tony alg bałtyckich) w warunkach zewnętrznych.

Preparaty otrzymane na bazie alg zostały zbadane pod kątem ich składu chemicznego oraz właściwości. Badania dotyczące **składu chemicznego** obejmowały (1) *skład pierwiastkowy*, który został wyznaczony techniką ICP-OES (Optyczna spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnej sprzężonej) – zawartość mikro-, makroelementów i pierwiastków toksycznych oraz metodą termokonduktometryczną – zawartość węgla i azotu oraz (2) *analizę zawartości hormonów roślinnych* w ekstraktach algowych otrzymanych w stanie nadkrytycznym z użyciem techniki HPLC (Wysokosprawna chromatografia cieczowa).

Wybrane ekstrakty algowe zostały również przebadane pod kątem ich naturalnych właściwości, takich jak (1) **przeciwbakteryjne**: badano wrażliwość szczepów gram-ujemnych pałeczek należących do gatunku *Esherichia coli* (ATCC 8739) oraz gram-dodatnich gronkowców należących do gatunku *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) na ekstrakty algowe metodą dyfuzyjno-krażkową, (2) **przeciwutleniające**: oznaczono metodą spektrofotometryczną w obecności odczynnika Follina-Ciocalteu'a oraz (3) **chelatuujące**: oznaczono stopień skompleksowania jonów cynku w homogenatach i filtratach algowych (wzbogaconych w jony Zn(II) – jako $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). Badania przeprowadzono na podstawie analizy widm masowych układów zarejestrowanych w trybie jonów dodatnich i ujemnych z zastosowaniem spektrometrii mas przy użyciu techniki elektrorozpyłania (ESI MS) stosując, jako układ odniesienia widma zarejestrowane dla roztworów $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ o tym samym stężeniu Zn(II).

Zdolność kiełkowania nasion, traktowanych otrzymanymi produktami oraz ich właściwości użytkowe zweryfikowano w **testach kiełkowania** przeprowadzonych na kiełkowniku typu Jacobsena z wykorzystaniem głównie rzeżuchy (*Lepidium sativum*) oraz rzodkiewki (*Raphanus sativus*) jako roślin modelowych. Testy przeprowadzono zgodnie z Międzynarodowymi Zasadami Badań Nasion (IRST 2011). Były one wykonywane w powtórzeniach, z zastosowaniem różnych stężeń otrzymanych produktów algowych. Badania te miały na celu wybór optymalnych dawek testowanych preparatów dla roślin. W ramach tych badań analizowano (1) długość i masę wyhodowanych roślin, (2) oznaczano zawartość chlorofilu w roślinach metodą spektrofotometryczną, (3) określono skład pierwiastkowy biomasy techniką ICP-OES, (4) wykonano zdjęcia biomasy roślinnej z zastosowaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM-EDX) w celu oceny wpływu stosowanych preparatów algowych na morfologię roślin (łodyga, liść część wewnętrzna i zewnętrzna). Dla ekstraktów algowych otrzymanych w stanie

nadkrytycznym przeprowadzono 3-letnie **badania polowe** na pszenicy, we współpracy z firmą AGRECO Sp. z o.o. (Oława). Badania te zostały wykonane zgodnie ze standardami Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (EPPO): EPPO PP 1/144 (3), EPPO PP 1/135(4), EPPO PP 1/152 (4), EPPO PP 1/181(4). W ramach badań oceniono: (1) fitotoksyczność testowanych preparatów, (2) wigor roślin, (3) wysokość uprawy, (4) liczbę źdźbeł kłosonośnych i płonnych. Przeanalizowano również wpływ biostymulatorów na poszczególne parametry pszenicy ozimej: (1) liczba kłosów na m², (2) długość kłosa, (3) liczba ziaren w kłosie, (4) wyleganie zboża, (5) plon i (6) parametry plonu – plon ziarna, masa 1000 ziaren, wilgotność ziarna.

Wyniki otrzymane w testach kiełkowania oraz w badaniach polowych zostały poddane analizie statystycznej z użyciem oprogramowania *STATISTICA* (StatSoft Kraków). Podczas prowadzenia badań (i dalszej analizy wyników) liczebność próby była ustalana w oparciu o moc dla danego testu oraz poziom istotności. Wykorzystanie testów parametrycznych zdeterminowane jest koniecznością weryfikacji założeń (warunków koniecznych). Do sprawdzenia normalności rozkładu danej zmiennej został użyty test Shapiro-Wilka, a do oceny równości (jednorodności) wariancji w grupach wykorzystano test Browna-Forsytha. Różnice statystycznie istotne pomiędzy dwoma grupami wyznaczano testem *t*-studenta, zaś do badania więcej niż dwóch grup użyto analizę wariancji ANOVA – Test Tukeya dla $p < 0,05$ (przy spełnieniu ww. założeń). W przypadku braku spełnienia przynajmniej jednego z tych warunków, stosowano odpowiednie testy nieparametryczne (np.: test Kruskala-Walisa dla porównania więcej niż 2 grup lub test Manna-Whitneya do porównania dwóch grup).

5.2.1. Ekstrakty algowe jako biostymulatory wzrostu roślin

Technologia ekstraktów algowych

Surowcem do badań, była biomasa alg bałtyckich zebrana w sezonie letnim z Morza Bałtyckiego (rejon Trójmiasta). Biomasa ta została poddana analizie wielopierwiastkowej techniką ICP-OES, w celu określenia zawartości metali toksycznych, których poziom może uniemożliwić jej wykorzystanie do celów rolniczych. W ramach przeprowadzonych badań wykorzystano szereg metod ekstrakcyjnych mających na celu izolację związków biologicznie czynnych z biomasy alg do zastosowań rolniczych. W zastosowanych technikach ekstrakcyjnych wybrano głównie wodę jako ekstrahent, ze względu na planowane zastosowanie otrzymanych preparatów w uprawie roślin. W ten sposób uniknięto obecności w ekstrakcie pozostałości toksycznych rozpuszczalników, które są powszechnie stosowane do izolacji związków biologicznie czynnych

z biomasy roślinnej z użyciem tradycyjnych metod ekstrakcji. Przeprowadzono proces ekstrakcji biomasy alg z użyciem **wody jako ekstrahenta** w różnych warunkach doświadczalnych, w celu wyboru optymalnej technologii (warunkującej odpowiedni skład chemiczny otrzymanych ekstraktów i ich wpływ na wzrost roślin):

- (1) Ekstrakt z zielenicy *Enteromorpha* sp. został wytworzony z użyciem **wody o pH 2**, poprzez gotowanie w łaźni wodnej o temp. 65°C przez 1 h. Klarowny roztwór po przefiltrowaniu zobojętniono KOH [A1];
- (2) Ekstrakt z mieszaniny alg bałtyckich – *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* został wytworzony przy użyciu **mikrofal (ekstrakcja wspomagana mikrofalami**, która jest zaliczana do nowoczesnych technik ekstrakcyjnych) w trzech różnych **temperaturach: 25, 40, 60°C** [A3]. W przypadku ekstrakcji wspomaganej promieniowaniem mikrofalowym jej główną zaletą jest krótki czas ekstrakcji, którą należy prowadzić w temperaturach, które nie spowodują rozkładu substancji bioaktywnych. Po zakończeniu procesu ekstrakcji, wymagana jest separacja produktu oraz ochłodzenie naczyń ciśnieniowych (bomby teflonowe). **Dotychczas, ekstrakty algowe wytworzone z użyciem mikrofal nie były testowane w uprawie roślin;**
- (3) Ekstrakt otrzymano poprzez **gotowanie** w ciągu 30 minut oraz **namaczanie mieszaniny alg bałtyckich** – *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* przez 2 doby [A5];
- (4) **Filtraty** (biostymulatory wzrostu roślin) i **homogenaty algowe** (jako potencjalne preparaty do zaprawiania nasion) zostały wytworzone z mieszaniny alg bałtyckich – *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora*. Filtraty uzyskano po odwirowaniu uprzednio wytrząsanych alg w wodzie przez 4h – otrzymaną pozostałość traktowano jako homogenat algowy [A10];
- (5) Ekstrakty otrzymano z mieszaniny alg bałtyckich – *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* z użyciem wody jako ekstrahenta, poprzez wytrząsanie w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Zbadano **wpływ pH wody – 3, 7 i 10** użytej do ekstrakcji związków bioaktywnych z biomasy alg na ich izolację. W drugim wariacie, **pH zostało ustalone do wartości 3, 7 i 10 dopiero po zmieszaniu alg z wodą** w odpowiednich proporcjach, analogicznie jak w pierwszym wariacie [A11];
- (6) Ekstrakty otrzymano z zielenicy *Enteromorpha* sp. z użyciem wodnego roztworu **1M KOH** w autoklawie (22 minuty, temperatura, 121°C, ciśnienie 1,05 bara), które po przefiltrowaniu zobojętniono [A2].

Przeprowadzono również szereg procesów ekstrakcji biomasy alg z użyciem tzw. **nowoczesnych technik ekstrakcyjnych**:

- (7) **Ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym** mieszaniny alg bałtyckich: *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* [A6]. Ze względu na liczne wady tradycyjnych metod ekstrakcji, m.in. wysoka temperatura ekstrakcji, która może prowadzić do rozkładu wielu cennych substancji bioaktywnych, obecność substancji toksycznych w produkcie finalnym oraz zaostrzające się przepisy prawne, poszukuje się alternatywnych sposobów ekstrakcji. Dlatego też, w ostatnim czasie obserwuje się wzrost zainteresowania nowymi technikami ekstrakcyjnymi, do których należy właśnie ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym. **Użycie tej technologii do wytwarzania ekstraktów do celów rolniczych jest nowatorskim podejściem w prezentowanym osiągnięciu naukowym.** Badania te były możliwe dzięki współpracy z Instytutem Nowych Syntez Chemicznych – Zakładem Ekstrakcji Nadkrytycznej w Puławach. **Według najlepszej wiedzy, tego typu preparaty nie były dotychczas badane jako środki wspomagające uprawę roślin.** Zaletą tego procesu są bardzo dobre właściwości ekstrahujące ditlenku węgla, który wymaga stosunkowo niskich wartości parametrów – ciśnienia (7,38 MPa=73,75 bar) i temperatury (30,98°C), aby osiągnąć stan krytyczny. Dobór odpowiednich parametrów umożliwia uzyskanie ekstraktu o pożądanym składzie – zawartość danych związków bioaktywnych. Dodatkowo, zaletą tej technologii jest wykorzystywanie CO₂, który jest gazem emitowanym przez przemysł nawozów azotowych. Ponadto brak dostępu do tlenu zapobiega zachodzeniu niekorzystnych procesów oksydacyjnych – utlenianie związków bioaktywnych. Produkty ekstrakcji są sterylnie czyste bez żadnych szkodliwych dodatków (brak rozpuszczalnika organicznego w ekstrakcji nadkrytycznej – nie ma konieczności jego usunięcia) oraz pozbawione metali toksycznych, które nie są ekstrahowane, a mogą występować w naturalnej biomacie alg [20, A6, B1]. W procesie ekstrakcji otrzymywany jest koncentrat związków biologicznie czynnych. Technologia ta, co jest godne podkreślenia, **nie zanieczyszcza środowiska i nie generuje szkodliwych pozostałości.** Powstające w procesie pozostałości poekstrakcyjne można przeznaczyć do dalszego wykorzystania np. w przemyśle spożywczym lub paszowym [20, B1];
- (8) **Hydroliza enzymatyczna** zielenicy – *Enteromorpha prolifera*. W tym celu został wykorzystany enzym – celulaza, ze względu na budowę ściany komórkowej makroalg należących do zielenic (odpowiedni dobór enzymu jest kluczowy dla wydajności tego procesu oraz ekstrakcji pożądanego składnika z biomasy). Jest to proces biologiczny, dzięki czemu otrzymany ekstrakt jest w 100% naturalny – pozbawiony pozostałości rozpuszczalników

organicznych. Proces ekstrakcji enzymatycznej był poprzedzony doбором odpowiednich warunków doświadczalnych, takich jak: dawka enzymu, czas inkubacji, rodzaj medium – bufor, pH środowiska, temperatura, stosunek biomasy do roztworu. W ramach przeprowadzonych badań, najwyższą wydajność procesu ekstrakcji – 36% uzyskano dla następujących warunków eksperymentalnych: czas ekstrakcji 8 h, stosunek algi do buforu – 1 g:50 cm³, stężenie enzymu – $5 \cdot 10^{-2}$ % (v/v) [A9]. Ze względu na czasochłonność tej techniki – ustalenie optymalnych parametrów hydrolizy enzymatycznej oraz wysokie ceny enzymów, otrzymane preparaty mają raczej potencjalne zastosowanie w żywieniu człowieka, jako komponent żywności funkcjonalnej lub w farmacji, jako antyoksydanty;

- (9) **Ekstrakcja wspomagana mikrofalami** mieszaniny alg bałtyckich – *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* – z użyciem wody jako ekstrahenta została omówiona w punkcie (2).

Skład i właściwości otrzymanych ekstraktów algowych

Ekstrakty algowe zostały zbadane pod kątem:

- (1) **Zawartości składników mineralnych** – mikro- i makroelementów. Wykazano, iż podczas ekstrakcji z CO₂ w stanie nadkrytycznym nie były ekstrahowane jony metali toksycznych [A6]. Ekstrakty wytworzone z użyciem wody o pH 3, 7 i 10 miały porównywalny skład mineralny, ale najlepszymi właściwościami pod kątem zawartości makro – (w szczególności Ca, Mg, S) i mikroelementów (w szczególności Cu, Mn, Zn) charakteryzował się ekstrakt otrzymany w pH 7. Ekstrakt otrzymany po wytrząsaniu zawiesiny alg w wodzie o pH 3 (optymalna wartość spośród badanych wartości pH – 3, 7 i 10) był źródłem makro- (w szczególności Ca, Mg, P) i mikroelementów (w szczególności B, Fe, Mn, Si oraz Zn) [A11]. Namaczanie alg wpłynęło korzystniej na ekstrakcję mikro- i makroelementów niż ich gotowanie [A5]. Stężenie mikro- i makroelementów w ekstraktach algowych wzrastało wraz ze wzrostem temperatury podczas ekstrakcji wspomaganej mikrofalami (25, 40, 60°C) [A3]. Mikro- i makroelementy były słabo ekstrahowane z biomasy alg z użyciem hydrolizy enzymatycznej [A9]. Skład pierwiastkowy otrzymanych ekstraktów algowych przedstawiono w Tabeli 2. Jedną z głównych ról biostymulatorów wzrostu roślin jest usprawnianie pobierania składników mineralnych z podłoża (gleby). Niemniej jednak, ekstrakty algowe zawierające składniki pokarmowe oraz pierwiastki śladowe mogą stymulować lepszy rozwój pędów i korzeni oraz powodować wzrost odporności roślin na stres biotyczny i abiotyczny [6].

- (2) **Zawartości hormonów roślinnych** – ekstrakt otrzymany z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym zawierał hormony roślinne z grupy auksyn – kwas fenylooctowy i cytokinin – 6-benzyloaminopuryna (badania zostały przeprowadzone we współpracy z Uniwersytetem Opolskim) [A6]. Dane literaturowe wskazują, że obecność fitohormonów, w szczególności auksyn i cytokinin w ekstraktach algowych wpływają korzystnie na wzrost roślin [21] oraz wspomaga procesy przystosowywania się roślin do warunków stresowych (głównie poprzez stymulację systemu korzeniowego i utrzymywanie stałego uwodnienia komórek) [6, 8]. Cytokiny są odpowiedzialne za łagodzenie skutki stresów wywołanych przez wolne rodniki, zaś auksyny wpływają na wydłużanie komórek w strefach wzrostu rośliny – wzrost elongacyjny (wydłużeniowy) tkanek pędu [2].
- (3) **Właściwości przeciwbakteryjnych** w stosunku do szczepu bakterii gram-ujemnych – *Escherichia coli* i gram-dodatnich – *Staphylococcus aureus*. Ekstrakt otrzymany przez gotowanie wykazywał właściwości hamujące wzrost jedynie *E. coli*. Takich właściwości nie wykazywał ekstrakt otrzymany przez namaczanie alg – w odniesieniu do obu testowanych szczepów bakterii [A5]. Ekstrakt otrzymanego na drodze hydrolizy enzymatycznej nie wykazywał właściwości przeciwbakteryjnych w stosunku do szczepu – *Escherichia coli* i nieznaczne w stosunku do *Staphylococcus aureus* [A9]. Ekstrakty otrzymane z użyciem ekstrakcji wspomaganą mikrofalami nie wykazywały właściwości przeciwbakteryjnych w stosunku do obu szczepów bakterii [A3].

Tabela 2. Porównanie składu pierwiastkowego ekstraktów algowych wytworzonych z użyciem różnych technik ekstrakcyjnych

Pierwiastek	<i>Enteromorpha</i> sp.	<i>Enteromorpha</i> sp.	Mieszanina alg bałtyckich (<i>Polysiphonia, Ulva, Cladophora</i>)				<i>Enteromorpha</i> <i>prolifera</i>	Mieszanina alg bałtyckich (<i>Polysiphonia, Ulva, Cladophora</i>)	
	[A1] ¹	[A2] ²	[A3] ³	[A5] ⁴	[A5] ⁵	[A6] ⁶	[A9] ⁷	[A11] ⁸	[A11] ⁹
B	16,2±2,4	19,5±2,9	4,74±0,71	6,50±0,97	2,62±0,39	<LLD	4,69±0,70	2,86±0,43	17,78 ±2,67
Ca	230±34	127±19	365±54	333±50	410±61	1060±210	381±57	305±46	1553 ± 311
Cd	0,00112±0,00022	<LLD	0,001±0,000	<LLD	<LLD	<LLD	<LLD	< LOD	0,010 ±0,003
Co	0,00746±0,00187	<LLD	0,0135±0,0034	0,0100±0,0025	0,0100±0,0025	0,026±0,004	0,035±0,009	bd	bd
Cu	0,0396±0,0059	0,787±0,118	0,108±0,016	0,140±0,021	0,0200±0,005	6,3±0,9	0,23±0,03	0,310±0,047	0,07 ±0,02
Fe	3,76±0,56	30,1±0,4,5	4,47±0,70	2,53±0,38	17,6±2,6	9,2±1,4	17,3±2,6	6,11±0,92	26,99 ±4,05
K	143±21	28259±5652*	951±142	969±145	978±147	52±8	42,3±6,3	1027±205	1068 ±214
Mg	28,5±4,4	34,1±5,1	322±48	300±45	357±54	406±61	142±21	308±46	606 ± 91
Mn	1,20±0,18	1,96±0,29	3,07±0,46	2,43±0,36	3,71±0,56	6,6±1,0	7,09±1,06	2,32±0,35	14,60 ±2,19
Mo	bd	<LLD	0,0108±0,0027	0,0200±0,005	0,000	0,023±0,003	bd	0,0100±0,0025	0,003 ±0,001
Na	46,2±6,9	623±93	1250±250	1239±248	1302±260	965±145	1593±319	1286±257	1418 ±284
Ni	0,00679±0,00170	<LLD	0,132±0,019	0,130±0,019	0,120±0,018	0,27±0,04	0,255±0,038	bd	bd
P	10,1±1,5	6045±1209	32,9±4,9	34,7±5,2	5,22±0,78	43±6	15,1±2,3	27,3±4,1	4422 ±884
Pb	0,0324±0,0042	<LLD	0,032±0,006	0,0400±0,008	0,0100±0,0025	0,12±0,02	bd	0,020±0,005	0,030 ±0,008
S	532±80	1350±270	702±105	670±100	599±90	9300±1900	292±44	547±82	541 ± 81
Si	2,34±0,35	55,5±8,3	11,9±1,8	9,10±1,36	9,73±1,46	83±12	6,65±0,99	9,64±1,45	27,05 ±4,06
Zn	0,645±0,097	6,86±1,03	0,169±0,025	0,240±0,036	0,100±0,015	5,2±0,8	3,70±0,56	0,210±0,032	3,41 ±0,51

bd – brak danych; <LLD – poniżej limitu detekcji; * ekstrakcja z KOH; ¹ ekstrakcja wodą o pH 2 – ekstrakt 100%; ² ekstrakcja z KOH; ³ ekstrakcja wspomagana mikrofalami w 60°C; ⁴ gotowanie alg; ⁵ namaczanie alg; ⁶ ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym; ⁷ hydroliza enzymatyczna; ⁸ ekstrakcja wodą o pH7; ⁹ ekstrakcja zawiesiny alg w wodzie o pH 3

- (4) **Właściwości antyoksydacyjnych** przeciwdziałających wolnym rodnikom odpowiedzialnych za stres biotyczny oraz abiotyczny. Warunki, w których prowadzony był proces ekstrakcji wpływały na końcowe stężenie polifenoli – które są naturalnymi antyoksydantami, w otrzymanych ekstraktach algowych. W badaniach wykazano, że stężenie polifenoli w ekstrakcie malało wraz ze wzrostem temperatury podczas ekstrakcji wspomaganą mikrofalami – najwyższe było w ekstrakcie otrzymanym w 25°C, najniższe w 60°C [A3]. Ekstrakt otrzymany przez namaczanie alg zawierał o 24% więcej polifenoli, niż ekstrakt otrzymany przez gotowanie alg [A5]. W przypadku wpływu pH ekstrahenta na stężenie polifenoli w ekstrakcie wykazano, że ich największe stężenie było w ekstrakcie otrzymanym z zawiesiny alg w wodzie, która miała początkowe pH równe 3. W pozostałych ekstraktach (pH początkowe zawiesiny alg w wodzie 7 i 10 oraz pH wody użytej jako ekstrahent – 3, 7 i 10), stężenie polifenoli było na porównywalnym poziomie [A11]. Właściwości antyoksydacyjne wykazywał również ekstrakt otrzymany na drodze hydrolizy enzymatycznej [A9].
- (5) **Zdolności do kompleksowania jonów metali** zbadano na przykładzie jonów Zn(II). Produkty algowe (np.: ekstrakty, homogenaty) wzbogacone dodatkowo w dane jony mikroelementów mogą być dedykowane do uprawy wybranych gatunków roślin, wykazujących szczególne zapotrzebowanie na dany mikroelement. Badania te wykonano we współpracy z Uniwersytetem im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Na podstawie porównania widm masowych układu odniesienia, niewzbogaconego filtratu (homogenatu) oraz tych układów wzbogaconych w jony Zn(II) ustalono, że w homogenacie algowym 10-krotnie rozcieńczonym wzbogaconym w jony Zn(II) skompleksowanych jest 45% jonów Zn(II) związkami występującymi w homogenizacie algowym, podczas gdy w filtracie algowym wzbogaconym w Zn(II) skompleksowanych jest 35% jonów Zn(II) związkami występującymi w filtracie algowym [A10].
- (6) **Wpływu** algowych ekstraktów otrzymanych na drodze hydrolizy enzymatycznej **na aktywność metaboliczną linii Caco-2** tj. ludzkich komórek nabłonka jelita grubego (gruczołak okrężnicy). Badania te przeprowadzono we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu. Wyniki analiz wykazały, że ekstrakt hamuje aktywność komórek linii Caco-2 w fazie adaptacyjnej wzrostu hodowli. W 72 godzinie hodowli odnotowano istotny wzrost metabolizmu Caco-2 pod wpływem badanego ekstraktu. Wyniki analiz aktywności metabolicznej wskazują na wysoką biodostępność składników ekstraktu *E. prolifera* i możliwość ich wykorzystania nie tylko jako składowych żywności (tzw. żywność

funkcjonalna), ale również jako preparatów o **potencjalnych przeciwnowotworowych właściwościach** względem komórek gruczolaka okrężnicy [A9].

Właściwości użytkowe otrzymanych ekstraktów algowych

Testy kiełkowania nasion

Kiełkownik typu Jacobsena został wykorzystany do oceny stopnia kiełkowania nasion głównie rzeżuchy (*Lepidium sativum*) oraz rzodkiewki (*Raphanus sativus*), wybranych jako roślin modelowych, na które aplikowano otrzymane ekstrakty algowe. Otrzymane preparaty były stosowane w różnych stężeniach, w celu wyboru optymalnego, warunkującego najlepszy wzrost roślin (np.: długość, masa roślin, jakość wyhodowanych roślin). **W przedstawionych publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wykazano, że ekstrakty algowe posiadają właściwości biostymulatorów wzrostu roślin – poprawiają pobieranie mikro- oraz makroelementów przez rośliny, zwiększają zawartość chlorofilu w biomacie, a także ich masę oraz długość.** Dodatkowo, w przeprowadzonych badaniach wykazano brak objawów fitotoksycznego oddziaływania badanych preparatów na rośliny. Ich zaletą jest również stosowanie dużych rozcieńczeń roztworów wyjściowych – niższe stężenia ekstraktów algowych wpływają stymulująco na wzrost roślin (1:1000 i większe [5]). Syntetyczne podsumowanie otrzymanych wyników badań przedstawiono poniżej:

- (1) Badane ekstrakty algowe stymulowały **wzrost wydłużeniowy** roślin. Ekstrakt algowy z zielenicy *Enteromorpha* sp., wytworzony z użyciem **wody o pH 2**, wpływał pozytywnie na długość roślin – rzeżuchy, która w grupie ze 100% ekstraktem (nierozcieńczonym) była o 10% dłuższa w porównaniu do grupy kontrolnej (woda destylowana, różnica statystycznie istotna dla $p < 0,05$) [A1]. Średnia **długość** rzeżuchy w grupach, w których aplikowano ekstrakty otrzymane przez autoklawowanie alg w 1M KOH, dla wszystkich testowanych stężeń (2,5; 5,0 i 10%) była większa niż w grupie kontrolnej (woda). Najlepsze wyniki uzyskano dla stężenia 2,5% (różnica statystycznie istotna) [A2]. Długość rzeżuchy w grupach, w których aplikowano ekstrakty algowe (w trzech stężeniach – 0,5; 2,5 i 10%) otrzymane na drodze ekstrakcji wspomagananej mikrofalami była większa niż w grupie kontrolnej, chociaż różnice nie były statystycznie istotne. Dla ekstraktu otrzymanego w 25 i 60°C, długość roślin wzrastała wraz ze spadkiem stężenia ekstraktu. Odwrotnie było dla ekstraktu otrzymanego w 40°C [A3]. Ekstrakty otrzymane przez gotowanie i namaczanie alg bałtyckich, stosowane w dawkach 0,5; 2,5 oraz 10%, wpływały na długość rzeżuchy (w szczególności 10% ekstrakt

otrzymany przez gotowanie alg i 0,5% ekstrakt otrzymany przez namaczanie) [A5]. Ekstrakty (filtraty) algowe otrzymane po homogenizacji alg aplikowane w 4 stężeniach – 5,0; 25, 50 oraz 100% na rzodkiewce stymulowały wzrost roślin – w szczególności w przypadku zastosowania filtratu o stężeniu 50%. W badaniach wykazano również, iż dodatkowe wzbogacanie ekstraktów algowych w jony mikroelementów (np. jony Zn(II); 1%) hamowało wzrost roślin w porównaniu do filtratów naturalnych [A10]. Zbadano również wpływ ekstraktów otrzymanych w użyciu wody jako ekstrahenta o różnym pH 3, 7 i 10 oraz ekstraktów, do otrzymania których użyto zawiesinę alg w wodzie, której początkowe pH wynosiło 3, 7 i 10 na wzrost rzeżuchy. Ekstrakty aplikowano w trzech dawkach: 0,5; 2,5 i 10%. W badaniach wykazano, iż długość roślin wzrastała wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu otrzymanego z zawiesiny alg, której pH było ustalone na 3, 7 i 10. Najlepsze wyniki otrzymano dla pH 3 i stężenia ekstraktu 2,5%. Ekstrakt otrzymany z użyciem wody o pH 3, 7 i 10 znacznie słabiej wpływał na wzrost roślin [A11]. Na podstawie otrzymanych wyników badań, nie można jednoznacznie stwierdzić, które stężenie ekstraktu wpływa optymalnie na wzrost roślin. Niemniej jednak, wykazano, iż rozcieńczone ekstrakty algowe istotnie wpływają stymulująco na długość roślin.

- (2) W ramach przeprowadzonych badań nie obserwowano znacznego wpływu (statystycznie istotnego) otrzymanych preparatów algowych na **plon masy części nadziemnych roślin**. Warto zaznaczyć, że pozytywny wpływ biostymulatorów wzrostu roślin nie zawsze jest stwierdzany – reakcja roślin na dany preparat zależy od odmiany i warunków uprawy, zwłaszcza wtedy gdy rośliny rosną w warunkach zbliżonych do optymalnych i nie występują czynniki stresu biotycznego i abiotycznego [22]. Masa rzeżuchy na którą aplikowano ekstrakty o stężeniach 2,5; 5,0 i 10%, otrzymane przez autoklawowanie alg w 1M KOH, była porównywalna we wszystkich grupach, jednakże najlepsze wyniki uzyskano dla stężenia 5,0% [A2]. Podobne wyniki uzyskano w przypadku masy rzeżuchy na którą aplikowano ekstrakty otrzymane na drodze ekstrakcji wspomaganą mikrofalami w trzech badanych temperaturach – 25, 40 i 60°C [A3], jak i ekstrakty otrzymane przez gotowanie i namaczanie alg (0,5; 2,5 oraz 10%) [A5].
- (3) Ekstrakty na bazie alg stymulowały **zawartość chlorofilu w liściach** wyhodowanej biomasy, co jest wynikiem **pozytywnego wpływu biostymulatorów na sprawność aparatu fotosyntetycznego** [4]. W tym celu oznaczono zawartość chlorofilu spektrofotometrycznie oraz z zastosowaniem analizy mikroskopowej obrazu w celu określania barwy listków rzeżuchy (model RGB, w którym barwa jest wypadkową trzech kolorów: czerwonego (R),

zielonego (G) i niebieskiego (B)). W przeprowadzonych badaniach wykazano, że w przypadku ekstrakcji wspomaganą mikrofalami, zawartość chlorofilu całkowitego w rzeżusze była największa w grupie z ekstraktem otrzymanym w 60°C, zaś najmniejsza w 25°C [A3]. Również ekstrakty otrzymane przez gotowanie i namaczanie alg (w szczególności stężenia 0,5 i 2,5%) wpływały pozytywnie na całkowitą zawartość chlorofilu w biomacie rzeżuchy w porównaniu z grupą kontrolną (woda destylowana) [A5]. Analiza listków rzeżuchy pochodzącej z grupy, w której aplikowano ekstrakt algowy otrzymany z wodą o pH 2, z użyciem modelu RGB wykazała, że średnie wartości parametrów R i G były większe w obu grupach doświadczalnych (stężenie 50 i 100%) w porównaniu z grupą kontrolną, przy czym tylko dla ekstraktu 100% różnice były statystycznie istotne dla parametru G – co może świadczyć o większej zawartości chlorofilu w biomacie rzeżuchy [A1]. Szczególnie istotna jest tu rola chlorofilu *a* z grupą metylową –CH₃ (mającego zabarwienie żywo zielone), który inicjuje zależne od światła reakcje fotosyntezy. Jest to bezpośrednio związane z rozwojem roślin i dalej ich plonowaniem.

- (4) Ekstrakty algowe pozytywnie wpływały na **skład pierwiastkowy** wyhodowanych roślin. Zwiększona zawartość mikro- i makroelementów w biomacie roślin może pochodzić z ekstraktów, będących ich naturalnym źródłem. Biostymulatory wzrostu roślin mogą również działać stymulująco na system korzeniowy roślin, dzięki czemu składniki pokarmowe z podłoża są bardziej efektywnie pobierane [4]. Ekstrakt otrzymany u użyciem wody o pH 2 aplikowano w dwóch dawkach – wyjściowej 100% i dwukrotnie rozcieńczonej (50%). Wykazano, że ekstrakty wpływały na wzrost zawartości K, S, Ca i Mn w biomacie rzeżuchy w porównaniu z grupą kontrolną [A1]. Aplikowane ekstrakty otrzymane przez autoklawowanie alg w 1M KOH wpływały na wzrost zawartości makroelementów w wykiełkowanej biomacie rzeżuchy – w szczególności Ca, K, P i S (zwłaszcza dla stężenia 2,5 i 5,0%). W przypadku mikroelementów, najlepsze wyniki uzyskano dla rzeżuchy, gdzie aplikowano ekstrakt glonowy o najniższym stężeniu – 2,5%. W największych ilościach w roślinie akumulowały się Zn, Fe, B, Mn oraz Cu [A2]. Najwyższą zawartość składników mineralnych obserwowano w roślinach z grupy traktowanej 0,5% ekstraktem otrzymanym przez gotowanie alg, jak również 0,5% i 10% ekstraktem otrzymanym przez ich namaczanie [A5]. W przypadku ekstraktów otrzymanych z użyciem ekstrakcji wspomaganą mikrofalami aplikowanych w stężeniach 0,5; 2,5 i 10%, wzrost zawartości mikro- i makroelementów w rzeżusze obserwowano w szczególności w grupach: 60°C (stężenie 10%), 40°C (stężenie 10%) oraz 25°C (stężenie 2,5%) [A3]. Efektywniejsze pobieranie składników mineralnych

przez rośliny może być również związane ze wzmożonym procesem fotosyntezy (obserwowano wzrost zawartości chlorofilu w roślinach po aplikacji ekstraktów algowych). Lepszy poziom zaopatrzenia roślin w składniki mineralne przyczynia się do poprawy jakości i zwiększenia plonów, a także zapewnia wyższą odporność roślin na niesprzyjające czynniki środowiska [6].

- (5) **Sposób aplikacji** ekstraktów algowych wpływał również na długość roślin. Ekstrakty mogą być stosowane zarówno **dolistnie, doglebowo, jak i donasiennie**. Obecnie, coraz częściej stosowane są metody, w których również nasiona przed wysiewem poddawane są zabiegom, mającym na celu przyspieszenie wzrostu i rozwoju roślin oraz zwiększenie ich tolerancji na niekorzystne czynniki środowiskowe – zarówno natury biotycznej, jak i abiotycznej [6]. W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż ekstrakty (filtraty) algowe otrzymane po homogenizacji alg, aplikowane doglebowo w 4 stężeniach – 5,0; 25, 50 oraz 100% lepiej stymulowały wzrost rzodkiewki w porównaniu do aplikacji dolistnej. Największą długość roślin uzyskano dla filtratu 50% przy aplikacji doglebowej [A10]. Wykazano również, iż w **przypadku namaczania** nasion rzodkiewki przez 1, 12 i 24 godziny w filtratach algowych o stężeniu 50% najlepszy stymulujący efekt uzyskano dla najkrótszego czasu namaczania [A10]. Zbadano również wpływ zaprawiania nasion rzodkiewki w dwóch dawkach – 50 i 100 mg homogenatu (naturalnego i wzbogaconego w jony Zn(II)) na 1 g nasion na długość roślin. Najlepsze wyniki uzyskano dla homogenatu naturalnego i wzbogaconego w jony Zn(II) aplikowanego w niższej dawce [A10]. W badaniach przeprowadzonych we współpracy z Instytutem Nowych Syntez Chemicznych w Puławach, Uniwersytetem Opolskim i Uniwersytetem im. Adama Mickiewicza w Poznaniu wykazano, iż długość części naziemnej oraz długość korzenia roślin zależą nie tylko od metody aplikacji produktów algowych, ale również od gatunku roślin. Zbadano kilka metod aplikacji ekstraktów algowych otrzymanych z CO₂ w stanie nadkrytycznym na wzrost roślin: (1) nasiona wysiane na podłoże z ekstraktem, (2) aplikacja ekstraktu po wykiełkowaniu nasion, (3) opryskiwanie roślin roztworem ekstraktu oraz (4) maceracja nasion w roztworze ekstraktu w czasie 24 h. W przypadku rzeżuchy, najlepszą metodą aplikacji było stosowanie ekstraktu po wykiełkowaniu nasion, biorąc pod uwagę długość części naziemnej oraz długość korzenia (różnica statystycznie istotna porównując z grupą kontrolną), zaś dla pszenicy – maceracja nasion w roztworze ekstraktu biorąc pod uwagę długość części naziemnej, jej masę, masę korzenia oraz zawartość chlorofilu w biomacie, które były większe niż w grupie kontrolnej (różnice statystycznie istotne) [A6].

- (6) Dla roślin wyhodowanych w grupach, w których były aplikowane ekstrakty otrzymane na drodze ekstrakcji wspomaganą mikrofalami przeprowadzono **badania morfologiczne z zastosowaniem skaningowej mikroskopii elektronowej**. Wykazały one nieznacznego stopnia zmiany morfologiczne w części wewnętrznej liścia [A3].

Badania polowe

Ekstrakty z mieszaniny alg bałtyckich, z brunatnicy – *Ascophyllum nodosum* oraz z mikroalgi *Spirulina platensis* otrzymane na drodze **ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym** (w INS, Puławy) zostały przetestowane w badaniach polowych (2015 rok) na pszenicy ozimej (odmiana *Akteur*) – we współpracy z firmą AGRECO Sp. z o.o. (Oława). Formułacje zawierające ekstrakty wytworzone z CO₂ w stanie nadkrytycznym były aplikowane w następujących stężeniach: ekstrakt z alg bałtyckich – 1,0 dm³/ha; ekstrakt z brunatnicy – *Ascophyllum nodosum* – 1,0 dm³/ha; ekstrakt ze *Spirulina* – 1,0; 1,5 i 1,8 dm³/ha. Jako preparat referencyjny zastosowano ASAHI SL w dawce 0,6 dm³/ha (dawka została dobrana na podstawie zawartości polifenoli). We wszystkich grupach, w tym również w kontrolnej zastosowano standardowe nawożenie. W kombinacjach, w których zastosowano algowe biostymulatory odnotowano taki sam wigor pszenicy, jak w kombinacji kontrolnej. Zabiegi preparatami nie miały wpływu na wigor roślin. Wysokość uprawy w kombinacjach, w których zastosowano biostymulatory była podobna jak w kombinacji kontrolnej. **Istotnie najwyższą liczbę ziaren w kłosie odnotowano w kombinacji, w której zastosowano ekstrakt – *Spirulina* (1,5 dm³/ha)**. Nieco niższą liczbę ziaren w kłosie odnotowano w kombinacji kontrolnej oraz traktowanej ekstraktem z alg bałtyckich. Istotnie najwyższą masę 1000 ziaren pszenicy ozimej odnotowano w kombinacji, w której zastosowano ekstrakt z alg bałtyckich. Niższą masę 1000 ziaren odnotowano w kombinacjach traktowanych badanymi biostymulatorami: ekstrakt – *Ascophyllum nodosum*, ekstrakt – *Spirulina* (1,0 dm³/ha, 1,8 dm³/ha), jak i porównawczym preparatem Asahi SL. Plon pszenicy ozimej zebrany z kombinacji, w których zastosowano biostymulatory (ekstrakt z alg bałtyckich – 1,0 dm³/ha: 9,5 t/ha; ekstrakt z brunatnicy – *Ascophyllum nodosum* – 1,0 dm³/ha: 9,4 t/ha; ekstrakt ze *Spirulina* – 1,0 dm³/ha: 9,4 t/ha; 1,5 dm³/ha: 9,6 t/ha i 1,8 dm³/ha: 9,5 t/ha; ASAHI – 0,6 dm³/ha: 9,6 t/ha) nie różnił się istotnie od plonu, jaki uzyskano w kombinacji kontrolnej (9,5 t/ha). **Plon w grupie z najlepszym ekstraktem – *Spirulina* 1,5 dm³/ha był taki sam jak w grupie z preparatem referencyjnym [A7]**.

Badania te były kontynuacją badań przeprowadzonych w 2013 i 2014 roku. W 2013 roku badano wpływ ekstraktu wytworzonego z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym ze *Spirulina platensis* (dawki: 1,2 i 1,8 dm³/ha) bez dodatkowego nawożenia (stres abiotyczny) na wzrost i plon

pszenicy – odmiana *Tacitus*. Zastosowano dwie grupy kontrolne – bez nawożenia oraz ze standardowym nawożeniem. Wykazano, że wigor pszenicy w grupach z ekstraktem był podobny jak w kombinacji kontrolnej bez nawożenia. W kombinacji kontrolnej ze standardowym nawożeniem wigor roślin był istotnie wyższy. Analogiczne obserwacje odnotowano w przypadku wybarwienia liści, wysokości roślin i wielkości plonu pszenicy ozimej – w przeliczeniu na standardową wilgotność ziarna – 15% (ekstrakt – 1,2 dm³/ha: 5,1 t/ha; ekstrakt – 1,8 dm³/ha: 5,2 t/ha, preparat referencyjny – ASAHI 0,6 dm³/ha: 5,2 t/ha, grupa kontrolna bez nawożenia: 5,0 t/ha, grupa kontrolna z nawożeniem: 7,6 t/ha). Liczba ziarniaków z kłosa nie różniła się istotnie w poszczególnych kombinacjach.

W 2014 roku badano wpływ ekstraktu wytworzonego z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym ze *Spirulina platensis* (dawki: 1,0 i 1,5 dm³/ha) wraz ze standardowym nawożeniem na plon pszenicy ozimej (odmiana *Zyta*). W grupie kontrolnej zastosowano standardowe nawożenie. Wykazano, iż plon pszenicy ozimej w grupie z ekstraktem – 1,0 dm³/ha wynosił 9,66 t/ha; w grupie z ekstraktem – 1,5 dm³/ha: 10,7 t/ha, zaś w grupie kontrolnej: 9,5 t/ha.

Podsumowując 3-letnie badania polowe wykazano dodatkowo brak objawów fitotoksycznego oddziaływania badanych preparatów na pszenicę ozimą. Nie odnotowano również wylegania roślin, które stwarza poważne problemy podczas zbioru roślin oraz wpływa na wielkość i jakość plonu. Porównując wyniki plonu pszenicy z 2013 i 2015 roku można wnioskować, iż **biostymulatory wzrostu roślin na bazie ekstraktów algowych otrzymanych z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym mogą stanowić uzupełnienie standardowego nawożenia roślin**. Plon pszenicy w 2013 roku (brak nawożenia, niedobór makroskładników) wynosił 5,2 t/ha, zaś w 2015 – 9,5 t/ha – z nawożeniem dla takiej samej dawki ekstraktu nadkrytycznego ze *Spirulina platensis* – 1,8 dm³/ha. **W badaniach polowych rekomendowany jest ekstrakt otrzymany z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym z mikroalgi *Spirulina* aplikowany w dawce 1,5 dm³/ha lub ekstrakt z alg bałtyckich w dawce 1,0 dm³/ha (w drugim wariantcie koszty wytwarzania ekstraktu z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym będą znacznie niższe, ze względu na koszt surowca do ekstrakcji – dostępność alg bałtyckich).**

5.2.2. Kompostowanie/współkompostowanie alg na nawozy organiczne lub środki wspomagające uprawę roślin

Kompostowanie (recykling organiczny) jest najprostszym i najtańszym sposobem na zagospodarowanie biomasy alg. Jednakże, w przypadku kompostowania biomasy alg należy

uwzględnić ich zasolenie oraz zawartość metali toksycznych, które mogą limitować prawidłowy wzrost roślin. Wśród proponowanych rozwiązań można wyróżnić płukanie alg wodą kranową przed procesem kompostowania (co jest niekorzystne ekonomicznie) lub też mieszanie kompostu algowego z innymi surowcami lub kompostami [23].

W ramach przeprowadzonych badań wytworzono trzy komposty zawierające biomasę alg: (1) w warunkach laboratoryjnych (90 dni) z brunatnicy – morskoczyn (*Fucus* sp.), siana ekologicznego, suchej trawy, trocin i podłoża popieczarkowego [A4], (2) w kompostowniku zewnętrznym (3 miesiące) z użyciem mieszaniny alg bałtyckich: *Cladophora* sp. i *Enteromorpha* sp., trocin oraz kurzejka przepiórczego [A8] oraz (3) w pryzmie (1,5 m×1,0 m×1,2 m) w warunkach zewnętrznych (ok. 6 tygodni) z mieszaniny alg bałtyckich: *Polysiphonia*, *Ulva*, *Cladophora* z ok. 1 tony wysuszonej, speletowanej biomasy [A12]. Kluczowymi parametrami, które należy uwzględnić w przygotowywaniu mieszanek kompostowych są: (1) rodzaj odpadu organicznego, (2) stosunek C:N, który powinien się mieścić w przedziale 25:1–35:1, (3) wilgotność masy kompostowej (55–60%) oraz (4) odpowiedni udział materiału strukturalnego, który ma na celu zagwarantowanie napowietrzania biomasy [9]. Dobór komponentów do kompostowania decyduje o przeznaczeniu produktu finalnego tego procesu – jako nawozu organicznego lub środka wspomagającego uprawę roślin, które są szczególnie pożądane w rolnictwie ekologicznym. W każdym przypadku, dobór mieszaniny kompostowej był podyktowany uzyskaniem odpowiedniego stosunku C:N. W trakcie procesu kompostowania zapewniono odpowiednią wilgotność mieszaniny oraz napowietrzanie, poprzez regularne przewracanie materiału kompostowego. Monitorowano również temperaturę w trakcie procesu kompostowania. Otrzymane komposty zostały scharakteryzowane pod względem składu pierwiastkowego. Szczególną uwagę zwrócono na zawartość metali toksycznych w kompoście, która powinna spełniać wymagania stawiane nawozom organicznym lub środkom poprawiającym właściwości gleby według Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz.U. z 2008 r. nr 119, poz. 765). Zawartość metali toksycznych we wszystkich otrzymanych kompostach była poniżej dopuszczalnych limitów [A4, A8, A12]. Dobrze przygotowany kompost powinien mieć odczyn zbliżony do obojętnego – pH otrzymanego kompostu zawierającego morskoczyn (*Fucus* sp.) wynosiło 7,55 [A4], zaś kompostu otrzymanego z mieszaniny alg bałtyckich: *Cladophora* sp. i *Enteromorpha* wynosiło 6,49 [A8]. Ponadto ze wszystkich trzech kompostów wytworzono ekstrakty z użyciem wody destylowanej, który poddano analogicznym jak dla kompostu analizom.

Właściwości użytkowe obu produktów były analizowane w testach kiełkowania na rzeżusze [A4, A8, A12] i na rzodkiewce [A12]. Nie wykazano toksyczności stosowanych produktów na bazie alg w stosunku do wybranych roślin modelowych. W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż zarówno komposty, jak i ekstrakty stymulowały wzrost roślin – obserwowano wzrost zarówno długości roślin, jak i ich masy mokrej w porównaniu do grupy kontrolnej, w której stosowano wodę destylowaną. W wykiełkowanych roślinach obserwowano również wzrost zawartości mikro- (w szczególności Mn, Zn, B, Si) i makroelementów (zwłaszcza Ca, K, Mg, S) [A4, A8, A12]. W badaniach z użyciem kompostu z mieszaniny alg bałtyckich: *Cladophora* sp. i *Enteromorpha* sp. wykazano również wzrost zawartości chlorofilu w rzeżusze w grupie z kompostem w porównaniu z grupą z ekstraktem i grupą kontrolną, co może być przyczyną bardziej wydajnej fotosyntezy, a co za tym idzie lepszego wzrostu roślin (masa) [A8]. **Lepsze wyniki biorąc pod uwagę wysokość, masę roślin, jak ich skład – zawartość składników mineralnych, chlorofilu odnotowano dla kompostu w porównaniu z ekstraktem z kompostu, co może wynikać z jego bogatszego składu, zarówno organicznego, jak i nieorganicznego.**

Dzięki współpracy z Zakładem Ekologii i Zarządzania Ryzykiem Środowiskowym – Wydział Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej monitorowano emisję odorów, które powstają w trakcie biodegradacji mieszaniny kompostowej. Wykazano również, iż kompostowanie alg z kurzajcem i trocinami nie powodowało nadmiernej uciążliwości zapachowej [A8].

5.3. Podsumowanie

Ubiegając się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych (dyscyplina – Technologia chemiczna), jako swoje osiągnięcie w działalności naukowej przedkładam cykl 14 monotematycznych publikacji naukowych, w tym 12 oryginalnych prac twórczych i dwóch prac przeglądowych oraz rozdział w książce, której jestem współedytorem, których tematykę przedstawiono powyżej.

W ramach przeprowadzonych badań wykorzystano szereg technologii – począwszy od tradycyjnych, po nowoczesne takie jak: ekstrakcja CO₂ w stanie nadkrytycznym, czy też ekstrakcja wspomagana mikrofalami. **Ich zastosowanie do wytwarzania ekstraktów algowych jako biostymulatorów wzrostu roślin jest nowością – według najlepszej wiedzy ekstrakty takie nie były dotychczas testowane na roślinach.** W przeprowadzonych testach kiełkowania, a następnie

w badaniach polowych (dla ekstraktów wytworzonych z CO₂ w stanie nadkrytycznym) udowodniono skuteczność działania takich preparatów. **Wyniki z badań laboratoryjnych, jak i 3 letnich badań polowych umożliwią podjęcie kroków mających na celu rejestrację otrzymanych produktów jako biostymulatorów wzrostu roślin oraz następnie ich wdrożenie.** W przyszłości preparaty te mogą więc stanowić uzupełnienie asortymentu produktów dla rolnictwa dostępnych na rynku.

W moich badaniach stwierdzono, iż wybór finalnej technologii i warunków przeprowadzenia procesu ekstrakcji powinien zależeć od końcowego przeznaczenia otrzymanego ekstraktu, warunkowanego obecnością pożądaných związków biologicznie aktywnych. Na podstawie przeprowadzonych badań i otrzymanych wyników, można wnioskować, że jako biostymulatory wzrostu roślin zalecane są ekstrakty wytworzone z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym lub ekstrakty otrzymane na drodze hydrolizy chemicznej z wodą jako rozpuszczalnikiem ze względu na niskie koszty wytwarzania, prostotę aparatury, łatwość wykonania ekstrakcji oraz bezpieczeństwo dla roślin – brak pozostałości toksycznych rozpuszczalników organicznych w wytworzonym ekstrakcie. Zaletą ekstraktów algowych jest skoncentrowana zawartość związków biologicznie aktywnych, przez co są aplikowane na rośliny w dużych rozcieńczeniach.

Uzyskane i przedstawione wyniki badań, w tym charakterystyka składu chemicznego otrzymanych preparatów algowych oraz analiza właściwości użytkowych tych produktów (w szczególności w przypadku ekstrakcji z CO₂ w stanie nadkrytycznym, czy też ekstrakcji wspomaganą mikrofalami) **stanowią nowe ujęcie dotychczas nieistniejące w literaturze.** W ramach przeprowadzonych badań wykazano, iż produkty wytworzone na bazie alg w większości przypadków wykazywały pozytywny wpływ na wzrost roślin oraz ich skład (analiza właściwości użytkowych otrzymanych ekstraktów algowych/kompostów w testach kiełkowania oraz w testach polowych). Wpływ ten w dużym stopniu zależał od zastosowanej metody ekstrakcji oraz składu chemicznego otrzymanego ekstraktu algowego. Ekstrakcja alg CO₂ w stanie nadkrytycznym sprzyjała ekstrakcji związków niepolarnych, zaś wytwarzanie ekstraktów algowych z użyciem wody jako ekstrahenta (w różnych warunkach pH oraz temperatury) sprzyjało ekstrakcji polifenoli oraz składników mineralnych.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż:

- (1) spośród badanych stężeń ekstraktów algowych (2,5; 5,0 i 10%) otrzymanych przez autoklawowanie alg w 1M KOH, najniższe – 2,5% w największym stopniu stymulowało wzrost roślin oraz ich skład pierwiastkowy [A2];
- (2) niższe stężenie ekstraktu wytworzonego z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym (13,8 vs. 27,6 mg/dm³) stymulowało wzrost roślin – rzeżuchy i pszenicy. Wpływało również pozytywnie na ich masę (w szczególności masę pszenicy – różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej), oraz na zawartość chlorofilu i karotenoidów w obu roślinach (różnice statystycznie istotne poza karotenoidami w biomasie rzeżuchy) [A6];
- (3) biorąc pod uwagę wpływ wysokiej temperatury na aktywność związków biologicznie czynnych oraz czynniki ekonomiczne, rekomenduje się wytwarzanie ekstraktów algowych z wykorzystaniem mikrofal w temperaturze pokojowej [A3];
- (4) lepsze właściwości stymulujące wzrost roślin oraz ich skład chemiczny miał ekstrakt otrzymany przez gotowanie alg w ciągu 30 minut, niż ekstrakt wytworzony przez namaczanie alg przez 2 doby [A5];
- (5) rozcieńczone filtry algowe – 50% (otrzymane po homogenizacji alg) są rekomendowane do aplikacji doglebowej. W przypadku namaczania nasion w filtratach algowych o stężeniu 50% najlepsze wyniki uzyskano dla jednej godziny. Niższe stężenia homogenatów algowych (50 vs. 100 mg/g nasion) używanych do zaprawiania nasion stymulowały wzrost roślin [A10];
- (6) biorąc pod uwagę wpływ pH na proces ekstrakcji związków aktywnych z biomasy alg, rekomenduje się ustalanie pH zawiesiny alg w wodzie do wartości 3-7, zamiast stosowania wody jako ekstrahenta o ustalonej wartości pH [A11];
- (7) do badań polowych rekomendowany jest ekstrakt otrzymany z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym z mikroalgi *Spirulina* aplikowany w dawce 1,5 dm³/ha lub ekstrakt z alg bałtyckich w dawce 1,0 dm³/ha [A7];
- (8) ekstrakty wytworzone z alg na drodze hydrolizy enzymatycznej są rekomendowane do potencjalnego zastosowania w żywieniu człowieka, jako komponent żywności funkcjonalnej, lub w farmacji – jako antyoksydanty [A9];
- (9) w przypadku kompostowania alg, korzystne jest aby proces ten był prowadzony w miejscach, w których dostępny jest surowiec – bezpośrednie przetwarzanie świeżej biomasy alg zebranej z plaży lub toni wodnej, która w naturalnych warunkach ulega biodegradacji.

Dodatkowo, w ramach projektu EXTRALGAE (PBS/1/A1/2/2012) powstała **książka** pt.: „Innovative bio-products for agriculture: algal extracts in products for human, animals and plants” [C1], której jestem współedytorem, będąca podsumowaniem wyników uzyskanych w trakcie realizacji projektu oraz **stanowiąca unikalne kompendium wiedzy o możliwościach zastosowania ekstraktów nadkrytycznych w różnych dziedzinach gospodarki** – nie tylko w rolnictwie (uprawa roślin), ale również w żywieniu zwierząt czy przemyśle kosmetycznym.

Potencjalne zastosowania

Opracowany w ramach przeprowadzonych badań produkt – zwłaszcza **biostymulator wzrostu roślin** na bazie ekstraktu z alg wytworzonego z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym **posiada pełną zdolność do komercjalizacji**. Efektem zrealizowanych badań są **zgłoszenia patentowe**, których jestem współtwórcą, dotyczące zastosowania ekstraktów algowych w rolnictwie – (1) nr **P.412073** – Bioregulator wzrostu roślin oraz sposób wytwarzania bioregulatora wzrostu roślin oraz (2) nr **P.412074** – Biostymulator wzrostu roślin oraz sposób jego wytwarzania. **Wdrożeniem ekstraktów algowych jako biostymulatorów wzrostu roślin zainteresowana jest Grupa Azoty Zakłady Azotowe Kędzierzyn S.A.** Uczestniczyłam w licznych spotkaniach merytorycznych dotyczących potencjału zastosowania ekstraktów algowych, jak i współpracy naukowej zarówno na Politechnice Wrocławskiej, jak i w siedzibie firmy w Kędzierzynie Koźlu.

W przyszłości ekstrakty wytworzone na bazie alg mogą stanowić uzupełnienie asortymentu produktów dla rolników – pomiędzy środkami ochrony roślin oraz nawozami mineralnymi. Tym bardziej, iż **panuje obecnie tendencja do poszukiwania nowej generacji agro-produktów wytwarzanych na bazie surowców pochodzenia biologicznego**. Algi, ze względu na swój unikalny skład mogą stanowić cenną biomasę do wytwarzania produktów dla rolnictwa, bezpiecznych dla konsumentów, jak i środowiska naturalnego (brak zagrożenia ekotoksykologicznego, toksykologicznego, pozostałości na produktach rolnych). Jednocześnie, biomasa alg będąca wynikiem eutrofizacji zbiorników wodnych, będzie zagospodarowana na produkty korzystne dla rolników. **Produkty algowe** usprawniające pobierania składników mineralnych z podłoża oraz zwiększające odporność roślin na stres biotyczny i abiotyczny mogą przyczynić się do **ograniczenia chemizacji rolnictwa**. Ekstrakty algowe w połączeniu z bardziej precyzyjnym dawkowaniem nawozów mineralnych i syntetycznych środków ochrony roślin będą miały bardzo korzystny wpływ na środowisko naturalne. Mogą odegrać ważną rolę w **rolnictwie precyzyjnym**, które jest zdeterminowane mapowaniem gruntów w aspekcie obecności mikro- i

makroelementów i dopasowaniem dawek nakładów (nawozów, środków ochrony) do potencjalnego zapotrzebowania uprawianej rośliny. Niemniej jednak, konieczne są kolejne badania mające na celu poznanie mechanizmu oddziaływania tego typu produktów na rośliny na poziomie genetycznym.

5.4. Cytowana literatura

- [1] Shekhar Sharma H.S., Fleming C., Selby C., Rao J.R., Martin T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology* 2014, 26, 465–490.
- [2] Khan W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J., Prithiviraj B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation* 2009, 28, 386–399.
- [3] Calvo P., Nelson L., Kloepper J.W. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil* 2014, 383, 3–41.
- [4] Gawrońska H., Przybysz A. Biostymulatory: mechanizmy działania i przykłady zastosowań. *Targi Sadownictwa i Warzywnictwa; Materiały konferencyjne*, Warszawa, 2011, 7–13.
- [5] Crouch I.J., van Staden J. Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. *Plant Growth Regulation*, 1993, 13, 21–29.
- [6] Grzyś E. Wpływ wybranych substancji biologicznie czynnych na kukurydzę uprawianą w warunkach stresu. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, 2012.
- [7] du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 2015, 196:30, 3–14.
- [8] Verkleij F.N. Seaweed extracts in agriculture and horticulture: a review. *Biological Agriculture and Horticulture*, 1992, 8, 309–324.
- [9] Anders D., Zając D., Tańczuk M. Wstępna ocena możliwości kompostowania glonów usuwanych z plaż turystycznych. *Prace Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych* 2012, 10, 423–432.
- [10] Cole A.J., Roberts D.A., Garside A.L., de Nys R., Paul N.A. Seaweed compost for agricultural crop production. *Journal of Applied Phycology* 2016, 28:1, 629–642.
- [11] Han W., Clarke W., Pratt S. Composting of waste algae: a review. *Waste Management* 2014, 34, 1148–1155.
- [12] Illera-Vives M., Seoane Labandeira S., López-Mosquera M.E. Production of compost from marine waste: evaluation of the product for use in ecological agriculture. *Journal of Applied Phycology* 2013, 25, 1395–1403.

- [13] Michalak I., Chojnacka K., Saeid A. Plant growth biostimulants, dietary feed supplements and cosmetics formulated with supercritical CO₂ algal extracts. *Molecules*, 2017, 22, 66; doi:10.3390/molecules22010066.
- [14] Michalak I., Chojnacka K. Production of seaweed extracts by biological and chemical methods. W: *Marine Algae Extracts: Processes, Products, Applications* (S.K. Kim, K. Chojnacka, eds.). WILEY–VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2015, 7, 121–143.
- [15] Michalak I., Chojnacka K. Algal compost – towards sustainable fertilization. *Reviews in Inorganic Chemistry*, 2013, 33(4), 161–172.
- [16] Michalak I., Dmytryk A., Wieczorek P., Rój E., Łęska B., Górka B., Messyasz B., Lipok J., Mikulewicz M., Wilk R., Schroeder G., Chojnacka K. Supercritical algal extracts: a source of biologically active compounds from nature. *Journal of Chemistry*, 2015, Article ID 597140, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/597140>.
- [17] Chojnacka K., Michalak I., Dmytryk A., Gramza M., Słowiński A., Górecki H. Algal extracts as plant growth biostimulators. W: *Marine Algae Extracts: Processes, Products, Applications* (S.K. Kim, K. Chojnacka, ed.). WILEY–VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2015, 11, 189–211.
- [18] Michalak I., Chojnacka K. The potential usefulness of a new generation of agro-products based on raw materials of biological origin. *Acta Scientiarum Polonorum – Hortorum Cultus*, 2016, 15(6), 97–120.
- [19] Chojnacka K., Michalak I., Dmytryk A., Wilk R., Górecki H. Innovative natural plant growth biostimulants. W: *Advances in Fertilizer Technology* (Shishir Sinha, K.K. Pant, ed.). Studium Press LLC, USA, 2014, 21, 451–489.
- [20] Rój E. Plant material extraction using supercritical CO₂. W: *Supercritical extraction and its application* (Rój E., ed.), 2014, 7–21. Lublin. <http://oic.lublin.pl/ins/index.php>, dostęp 18 luty 2015
- [21] Zhang X., Ervin E.H., Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Science*, 2004, 44, 1737–1745.
- [22] Dobrzański A.J., Anyszka Z., Pałczyński J. Response of onion and carrot to Asahi SL biostimulator used with herbicides. W: “Biostimulators in Modern Agriculture – Vegetable Crops” (Z.T. Dąbrowski, ed.). Plantpress, Warszawa, 2008, 7–20.
- [23] Tang J., Wang M., Zhou Q., Nagata S. Improved composting of *Undaria pinnatifida* seaweed by inoculation with *Halomonas* and *Gracilibacillus* sp. isolated from marine environments. *Bioresource Technology*, 2011, 102, 2925–2930.

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo–badawczych

6.1. Praca naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

W październiku 2000 roku rozpoczęłam studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Na piątym roku studiów uczestniczyłam w programie SOCRATES/ERASMUS. Dzięki współpracy Promotora mojej pracy magisterskiej – Profesora Zygmunta Sadowskiego z Profesorem Marią Clara Costa (Uniwersytet Algarve; Faculty of Natural Resources Engineering, Faro, Portugalia) zrealizowałam swoją pracę badawczą w Portugalii (10.2004–03.2005). Efektem tej współpracy jest wspólna publikacja (**Zał. 3, II, A1.6.**). Pracę magisterską pt.: „Selektywne ekstrahenty jonów metali z roztworów po bioługowaniu” (Promotorzy: prof. Zygmunt Sadowski – Politechnika Wrocławska i prof. Maria Clara Costa – Uniwersytet Algarve) obroniłam 1 lipca 2005 z oceną: bardzo dobry (5.0), uzyskując tytuł magistra inżyniera na kierunku – Biotechnologia, specjalność – Procesy biotechnologiczne.

W trakcie studiów magisterskich wykonałam również pracę badawczą w Polskiej Akademii Nauk im. L. Hirszfelda we Wrocławiu (Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, 03–06.2003) oraz odbyłam praktykę laboratoryjną w Wojewódzkim Szpitalu im. J. Babińskiego we Wrocławiu (Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, 21.07.–21.08.2003). Dzięki uprzejmości prof. Zygmunta Sadowskiego, w trakcie studiów magisterskich miałam możliwość uczestniczenia w konferencjach naukowych: KSV Finland „Thematic Workshop”, Kraków, 18–19.05.2005 oraz „Surfaktanty i Układy Zdyspergowane w Teorii i Praktyce – SURUZ”, Polanica Zdrój, 31.05.–4.06.2005.

W październiku 2005 roku rozpoczęłam naukę jako **sluchacz studium doktoranckiego** na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Temat mojej pracy doktorskiej związany był z wytworzeniem na drodze biosorpcji nowej generacji biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami na bazie makroalg bałtyckich. W ramach pracy zbadałam również wpływ tego rodzaju suplementu diety na bioprzyswajalność mikroelementów przez zwierzęta (kury nioski i tuczniki), parametry produkcyjne i ogólny stan zdrowotny zwierzęcia (**Zał. 3, II, A2.5., A2.11.**). Zrealizowany cel badawczy miał charakter interdyscyplinarny, łączący zagadnienia z zakresu technologii chemicznej nieorganicznej, biotechnologii i zootechniki. W trakcie doktoratu uzyskałam grant promotorski (nr N N209 146136, „Technologia dodatków paszowych z wodorostów wzbogaconych w mikroelementy metodą biosorpcji i bioakumulacji”) na realizację zaplanowanych badań, związanych z pracą doktorską. Uczestniczyłam również aktywnie w dwóch projektach badawczych realizowanych pod kierunkiem prof. Katarzyny Chojnackiej: nr 3 T09B

064 27 „Opracowanie technologii wytwarzania mineralno-organicznych materiałów paszowych wzbogaconych w makro- i mikroelementy, o składzie dostosowanym do potrzeb żywieniowych zwierząt gospodarskich” oraz nr R05 014 01 „Nowa generacja biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami – opracowanie metody produkcji” (**Zał. 3, II, J1.1.–J1.3.**).

W trakcie studiów doktoranckich wygłosiłam 3 referaty ustne na konferencjach krajowych (**Zał. 3, III, B1.1.–B1.3.**) oraz zaprezentowałam 8 posterów: 6 na konferencjach międzynarodowych (**B1.4.–B1.9.**) oraz 2 na konferencjach krajowych (**B1.10.–B1.11.**). Byłam również współautorem materiałów konferencyjnych (*proceedings*), 2 referatów konferencyjnych oraz 1 posteru (**B1.12.–B1.15.**). Poster pt.: „Using wood and bone ash to remove metal ions from solutions”, którego byłam współautorem, zdobył II miejsce podczas międzynarodowej konferencji – WasteEng 2008, Patras, Grecja (**Zał. 3, III, D1.2.**).

Podczas studiów doktoranckich byłam również laureatką projektu ZPORR „Pierwszy Program Stypendialny ZPORR dla Najlepszych Doktorantów Politechniki Wrocławskiej” (**Zał. 3, III, D1.4.**). Uczestniczyłam aktywnie w Dolnośląskim Festiwalu Nauki oraz prowadziłam zajęcia dydaktyczne ze studentami (**Zał. 3, III, I1.1., I1.2.**). Byłam również ekspertem w projekcie: „Odpady nieorganiczne przemysłu chemicznego – foresight technologiczny” (**Zał. 3, III, N1.**) oraz uczestniczyłam w kilku szkoleniach (**Zał. 3, III, Q1.1.–Q1.3.**). Jednocześnie podnosiłam swoje kwalifikacje zawodowe biorąc udział w studiach podyplomowych – „Zarządzanie jakością” (Politechnika Wrocławska, 2006/2007) oraz „Postgraduate School of Industrial Ecology (PSIE)” (Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norwegia, 2007/2008 (**Zał. 3, III, A2.**)).

Pracę doktorską zatytułowaną: „Nowa generacja biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami na bazie makroalg” realizowaną pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Katarzyny Chojnackiej obroniłam z wyróżnieniem 26.01.2010 roku, otrzymując **stopień doktora nauk technicznych w dyscyplinie: Technologia chemiczna; specjalność: Procesy biotechnologiczne**. Realizując pracę doktorską wykorzystałam proces biosorpcji do otrzymywania dodatków paszowych z mikroelementami na bazie alg. W pracy scharakteryzowałam właściwości biosorpcyjne trzech gatunków makroalg: *Enteromorpha prolifera*, *Pithophora varia* Wille, *Vaucheria* sp. Dokonałam identyfikacji mechanizmu biosorpcji i bioakumulacji, którym była wymiana jonowa pomiędzy jonami mikroelementów w roztworze wodnym, a jonami metali alkalicznych i ziem alkalicznych związanymi z grupami funkcyjnymi, znajdującymi się na powierzchni ściany komórkowej biomasy. Wykazałam lepsze właściwości biosorpcyjne makroalg w układzie jednoskładnikowym w porównaniu z układem

wieloskładnikowym. Pokazałam, że większe pojemności uzyskano po wzbogaceniu biomasy makroalg na drodze biosorpcji, a nie bioakumulacji. W badaniach zootechnicznych na kurach nioskach i tucznikach potwierdziłam lepszą przyswajalność mikroelementów z opracowanych preparatów oraz korzystne efekty prozdrowotne, w porównaniu z solami nieorganicznymi, które są powszechnie stosowane w żywieniu zwierząt jako źródło mikroelementów. W listopadzie 2010 roku otrzymałam **Nagrodę Rektora Politechniki Wrocławskiej** w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność uczelni – za pracę doktorską oraz **Wyróżnienie do Nagrody im. Aleksandra Zamojskiego** w konkursie Polskiego Towarzystwa Chemicznego na najlepszą pracę doktorską w 2010 roku (**Zał. 3, II, K3., K4.**).

6.2. Praca naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora

W dniu 22.02.2010 roku rozpoczęłam pracę jako **asystent naukowo-dydaktyczny** w Instytucie Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych (obecnie Zakład Zaawansowanych Technologii Materiałowych), Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Po 4 latach asystentury, w dniu 01.03.2014 roku zostałam zatrudniona na etacie **adiunkta naukowo-dydaktycznego**, na którym obecnie pracuję.

Po doktoracie moja praca naukowo-badawcza była skupiona wokół trzech dominujących zagadnień: (1) analiza mineralna włosów ludzkich – ocena wpływu czynników toksycznych w środowisku i miejscu pracy na skład pierwiastkowy włosów, (2) technologia biologicznych dodatków paszowych z mikroelementami i komponentów do nawozów na bazie biomasy wytworzonych na drodze biosorpcji, (3) technologia wytwarzania preparatów algowych (m.in.: ekstraktów) oraz ich zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu – np.: (i) jako komponenty produktów dla roślin (biostymulatory wzrostu roślin), (ii) jako dodatki paszowe do wody pitnej dla zwierząt oraz (iii) jako komponenty kosmetyków. Sumarycznie, po uzyskaniu stopnia doktora byłam/jestem **wykonawcą** w 6 **projektach badawczych** (**Zał. 3, II, J2.1.–J2.5., J2.7.**) oraz **kierownikiem** w 2 projektach finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (SONATA i SONATA BIS – Konsorcjum naukowe z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu) (**Zał. 3, II, J2.6., J2.8.**). Cztery z tych projektów były/są realizowane w konsorcjach naukowych (**Zał. 3, III, E1.–E3., F1.**).

W pierwszych latach pracy badawczej, głównym tematem badań była analiza składu mineralnego włosów ludzkich. Badania te były realizowane w ramach grantu nr N N204 019135, pt.: „Analiza wielopierwiastkowa włosów ludzkich jako metoda oceny wpływu czynników toksycznych w

środowisku i miejscu pracy” (kierownik: prof. Katarzyna Chojnacka; **Zał. 3, II, J2.1.**). W ramach projektu pobrano i zanalizowano próbki włosów od kilkuset osób, które poproszono o anonimowe wypełnienie ankiet elektronicznych. W ankiecie tej ujęto pytania, które podzielono tematycznie na: (1) informacje ogólne (2) informacje o próbce włosów, (3) historia medyczna, (4) narażenie środowiskowe, (5) leki (6) zwyczaje dietetyczne, (7) pytania dodatkowe. W ramach projektu wykonano oznaczenia analityczne poziomu ok. 40 pierwiastków (makroelementów, mikroelementów, pierwiastków toksycznych i innych) w mineralizatach tkanki włosów z wykorzystaniem techniki spektrometrii plazmowej indukcyjnie wzbudzonej plazmy, stosując technikę emisyjną z detekcją optyczną (ICP-OES) do oznaczania makroelementów i niektórych mikroelementów oraz z detekcją masową (ICP-MS) do oznaczenia pozostałych mikroelementów oraz pierwiastków toksycznych. Otrzymane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Dokonano identyfikacji czynników wpływających na poziom pierwiastków we włosach. Należały do nich: czynniki dietetyczne, środowisko, ze szczególnym uwzględnieniem lokalnej działalności przemysłowej, zabiegi kosmetyczne, płeć, stosowane leki/choroby. Ocenie poddano również narażenie człowieka na metale z biżuterii, z aparatów ortodontycznych czy z rur, z których wykonana jest instalacja wodociągowa. Dokonano również identyfikacji źródeł narażenia na pierwiastki toksyczne, takie jak: rtęć, ołów, nikiel (**Zał. 3, II, A2.14.–A2.27.**). *Celem projektu było opracowanie zakresów referencyjnych dla poszczególnych pierwiastków we włosach mieszkańców Dolnego Śląska, tak aby analizę mineralną włosów ludzkich można było w przyszłości uwzględnić jako standardową procedurę w badaniach laboratoryjnych, podobnie jak badania krwi czy moczu.*

Kolejnym zagadnieniem badawczym było wykorzystanie procesu biosorpcji do wytwarzania biologicznych komponentów dodatków paszowych dla zwierząt oraz nawozów mikroelementowych. Badania te były prowadzone w ramach grantu rozwojowego nr N R05 0014 10, pt.: „Technologia wprowadzania mikroelementów do nawozów i dodatków paszowych z wykorzystaniem procesu biosorpcji” (kierownik: prof. Katarzyna Chojnacka; **Zał. 3, II, J2.2.**). Efektem realizacji tego projektu oraz projektów dotyczących procesu biosorpcji jonów mikroelementów przez biomasę, realizowanych w trakcie studiów doktoranckich są **dwa patenty**, których jestem współautorem: nr **P.407671** – Sposób biofortyfikowania w mikroelementy produktów zwierzęcych oraz nr **P.407670** – Sposób biofortyfikowania w mikroelementy roślin żywieniowych (**Zał. 3, II, C1., C3.**). W badaniach tych wykazano, że jako biologiczny nośnik mikroelementów dla zwierząt można również wykorzystać materiały paszowe stanowiące

naturalny składnik pasz dla zwierząt gospodarskich (np.: śruta pszena, jęczmienna, sojowa, kukurydza, żyto, owies) (Zał. 3, II, A2.8.). W ten sposób wyeliminowany został problem pozyskania surowca (hodowla lub odłowienie makroalg ze zbiorników wodnych) oraz przygotowania surowca do badań (m.in. transport biomasy z Bałtyku, czyszczenie, suszenie). W ramach badań, przeprowadzono doświadczenia nad procesem biosorpcji w skali laboratoryjnej (jony Zn(II), Cu(II), Fe(II), Cr(III) oraz Mn(II)), jak i ćwierć-technicznej w opracowanej i wybudowanej specjalnie do tego celu instalacji. Wytworzone suplementy zostały poddane ocenie pod kątem ich użyteczności w żywieniu zwierząt (m.in.: kury nioski, tuczniki, kozy) oraz biofortyfikacji produktów przeznaczonych dla człowieka (jaja, mięso, mleko) (Zał. 3, II, A2.10.). W ramach projektu, proces biosorpcji został również wykorzystany do wytwarzania mikroelementowych komponentów nawozowych na bazie biomasy. Różne typy biomasy – m.in.: torf ogrodniczy, makroalgi, pozostałość po ekstrakcji nadkrytycznej makroalg, podłoże popieczarkowe, kora ogrodowa z sosny były wzbogacone w jony Zn(II) na drodze biosorpcji. Ich właściwości użytkowe zostały sprawdzone w testach kiełkowania w kontrolowanych warunkach (kiełkownik typu Jacobsena) z użyciem rzeżuchy (*Lepidium sativum*). Aplikacja cynku w formie wzbogaconej biomasy (w szczególności podłoże popieczarkowe) skutkowała biofortyfikacją naziemnej części roślin w ten mikroelement. Dodatkowo masa roślin w tej grupie była większa, niż w grupie kontrolnej, w której stosowano wodę destylowaną oraz w grupie z chelatem cynku (Zał.3, II, A2.40.). Inną biomasą, która została wykorzystana jako biosorbent, były pozostałości po ekstrakcji pestek owoców jagodowych z użyciem CO₂ w stanie nadkrytycznym (projekt nr 2012/05/E/ST8/03055, pt.: „Biosorpcja jonów metali do biomasy pestek owoców jagodowych”; kierownik: prof. Katarzyna Chojnacka; współpraca z Instytutem Nowych Syntezy Chemicznych w Puławach; Zał. 3, II, J2.7.). Właściwości użytkowe wzbogaconej biomasy były analizowane w testach kiełkowania na roślinach w kontrolowanych warunkach (kiełkownik typu Jacobsena). Otrzymane w ramach realizacji tego projektu wyniki badań prezentowałam na międzynarodowych konferencjach w Nicei (Francja), Tinos (Grecja) i Dubrowniku (Chorwacja) (Zał. 3, III, B2.1.–B2.3.) oraz zostały opublikowane w materiałach konferencyjnych, których jestem współautorem (Zał. 3, III, B2.12.–B2.15.). *Nawozy mikroelementowe oraz dodatki paszowe z mikroelementami na bazie biomasy mogą stanowić alternatywę dla obecnych na rynku preparatów lub ich uzupełnienie. Otrzymane produkty stanowią skoncentrowane źródło mikroelementów w formie wysoce przyswajalnej zarówno dla roślin, jak i dla zwierząt, co potwierdzono w badaniach polowych oraz w badaniach żywieniowych na zwierzętach.*

Kolejnym kierunkiem badań było wykorzystanie alg jako surowca do wytwarzania ekstraktów glonowych, które mogą stanowić komponent preparatów dla roślin, np.: biostymulatorów wzrostu roślin, dodatków paszowych dla zwierząt dodawanych do wody pitnej, czy też kosmetyków. W lutym 2013 roku uzyskałam finansowanie z Narodowego Centrum Nauki projektu nr 2012/05/D/ST5/03379, pt.: „Związki biologicznie czynne w ekstraktach z wodorostów Bałtyckich” (**Zał. 3, II, J2.6.**). W tym samym czasie (01.11.2012–31.05.2016) byłam wykonawcą w projekcie o akronimie EXTRALGAE („Innowacyjna technologia ekstraktów glonowych – komponentów nawozów, pasz i kosmetyków”; nr PBS/1/A1/2/2012; NCBiR; **Zał. 3, II, J2.5.**) realizowanym w Konsorcjum naukowym pod kierownictwem prof. Katarzyny Chojnackiej. *W ramach obu projektów, biomasa alg została wykorzystana jako surowiec do wytwarzania produktów o przeznaczeniu rolniczym. Z alg wytworzono (1) ekstrakty algowe otrzymane z zastosowaniem klasycznych, jak i nowoczesnych metod ekstrakcji – jako biostymulatory wzrostu roślin, (2) kompost – jako potencjalny naturalny nawóz organiczny/użyźniacz do gleby oraz (3) homogenaty algowe – jako preparaty do zaprawiania nasion.* Wyniki badań otrzymane w ramach realizacji obu projektów zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu krajowym, jak i międzynarodowym i wchodzi w skład cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wymagane przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego (**Zał. 3, I**).

Bazując na mojej wcześniejszej współpracy (w trakcie studiów doktoranckich) z dr hab. Krzysztofem Maryczem, prof. nadzw. i jego zespołem z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (**Zał. 3, II, A2.4., A2.9., E2.3.–E2.5.**) zaproponowaliśmy wykorzystanie procesu biosorpcji do wytwarzania dodatków paszowych dla koni, u których zdiagnozowano tzw. syndrom metaboliczny. Jest to temat nowego projektu, realizowanego w Konsorcjum naukowym, którego jestem Kierownikiem (nr 2015/18/E/NZ9/00607, pt.: „Wpływ bioaktywnych alg wzbogaconych na drodze biosorpcji w jony Cr(III), Mn(II) i Mg(II) na status gospodarki węglowodanowej w przebiegu syndromu metabolicznego koni (*Equine Metabolic Syndrome – EMS*). Ocena *in vitro* oraz *in vivo*”; 15.06.2016–14.06.2019, **Zał. 3, II, J2.8.**). W ramach projektu zakładamy, iż algi wzbogacone w wybrane składniki mineralne (Cr(III), Mn(II) i Mg(II)) w sposób znaczący mogą ograniczyć objawy kliniczne u koni ze zdiagnozowanym EMS, zarówno na poziomie komórkowym, jak i molekularnym. Zaburzenia endokrynologiczne stanowią narastający problem zarówno w zakresie medycyny ludzkiej, jak i weterynaryjnej. Według danych literaturowych otyłość u koni sięga nawet 45% populacji i stale rośnie. Brak możliwości zdiagnozowania choroby na jej wczesnych etapach rozwoju oraz ograniczone metody leczenia wymagają

interdyscyplinarnego podejścia w zakresie zapobiegania i łagodzenia rozwoju schorzeń metabolicznych. Ponieważ aktualne metody leczenia ograniczają się jedynie do zintensyfikowanych terapii żywieniowych, określone funkcjonalne składniki odżywcze mogą wpłynąć na poprawę wskaźników gospodarki węglowodanowej i lipidowej u koni cierpiących na EMS (**Zał. 3, II, A2.46., E2.3.**). Zdobyta w wyniku przeprowadzonego projektu wiedza pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmu rozwoju EMS u koni, a także przyczyni się do rozwoju nowatorskich strategii żywieniowych jako metody terapeutycznej w przebiegu tej choroby. W ramach projektu zostaną przeprowadzone badania na dwóch grupach koni: kontrolnej (otrzymującej składniki mineralne w postaci soli nieorganicznych) oraz grupie doświadczalnej (otrzymującej wzbogacone w jony metali algi). Zwierzęta zostaną zakwalifikowane do danej grupy na podstawie dogłębnego wywiadu lekarskiego oraz badania klinicznego. Wstępne wyniki badań dotyczące (1) wpływu ekstraktu z mikroalgi *Spirulina* na komórki linii Caco-2, w kontekście ich aktywności proliferacyjnej i ekspresji genów związanych z apoptozą (poziom miRNA i mRNA) oraz (2) wpływu algi *Cladophora glomerata* wzbogaconej w jony Cr(III) na żywotność oraz redukcję stresu oksydacyjnego i apoptozy w multipotentnych komórkach stromalnych izolowanych z tkanki tłuszczowej koni z syndromem metabolicznym i ich zewnątrzkomórkowych pęcherzykach zostały opublikowane w czasopiśmie *Marine Drugs* (**Zał. 3, II, (1) A2.32., (2) A2.33.**). Naszą współpracę planujemy kontynuować i rozszerzać prowadzone badania o nowe interdyscyplinarne zagadnienia.

6.3. Udział w konferencjach krajowych i międzynarodowych po uzyskaniu stopnia doktora

Wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektów badawczych były regularnie publikowane oraz prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Po uzyskaniu stopnia doktora aktywnie uczestniczyłam w licznych konferencjach, podczas których:

- wygłosiłam 14 referatów ustnych na **konferencjach międzynarodowych**: 9 na konferencjach naukowych – tematycznych związanych z rozprawą habilitacyjną (**Zał. 3, II, L2.1.–L2.9.**) oraz 5 na konferencjach naukowych (pozostałe) (**Zał. 3, III, B2.1.–B2.5.**)
- wygłosiłam 2 referaty ustne na **konferencjach krajowych** – tematycznych (**Zał. 3, II, L2.10., L2.11.**)
- zaprezentowałam 5 posterów konferencyjnych: 4 na **konferencjach międzynarodowych tematycznych** (**Zał. 3, II, L2.12.–L2.15.**), 1 na **konferencji krajowej tematycznej** (**Zał. 3, II, L2.16.**) oraz 1 na **konferencji międzynarodowej** (**Zał. 3, III, B2.6.**)

- jestem współautorem:
 - 14 prac opublikowanych w materiałach konferencyjnych (*proceedings*): tematycznych – 4 (**Zał. 3, II, L2.17.–L2.20.**), pozostałe – 10 (**Zał. 3, III, B2.7.–B2.16.**)
 - 8 referatów konferencyjnych (**Zał. 3, III, B2.17.–B2.24.**)
 - 13 posterów konferencyjnych (**Zał. 3, III, B2.25.–B2.37.**)
- jestem autorem publikacji popularno-naukowych opisujących coroczną konferencję – „Chemia dla rolnictwa” (*Chemistry for Agriculture*) opublikowanych w czasopiśmie „Przemysł chemiczny” – 2014 i 2015 rok (**Zał. 3, II, A2.42., A2.44.**)

Postery prezentowane na międzynarodowych konferencjach tematycznych: „Production of compost from biomass of seaweeds” – Rio de Janeiro, 2014 oraz „Innovative products for agriculture based on algal extracts” – Warszawa, 2015 zdobyły I miejsce (**Zał. 3, III, D2.1., D2.2.**). Uzyskałam również „The Certificate for Excellent Papers” w sesji – „Agricultural Informatics and Animal Agriculture” podczas 3rd International Conference on Biotechnology and Agriculture Engineering (ICBAE 2017, Osaka, Japonia, 28–30.03.2017) (**Zał. 3, III, D2.3.**). Byłam/jestem również członkiem komitetu technicznego oraz recenzentem podczas tej konferencji – ICBAE 2017 i 2018 (**Zał. 3, III, C5., C6.**) oraz konferencji: 4th International Conference on Agricultural and Biological Sciences (Hangzhou, Chiny 26–29.06.2018; **Zał. 3, III, C7.**). Pełniłam również funkcję przewodniczącej („Chairman”) podczas sesji „Effluent treatment” podczas konferencji WasteEng 2016, Albi (Francja). Trzykrotnie zostałam zaproszona jako „**Invited speaker**” na konferencje (**Zał. 3, III, Q2.13.–Q2.15.**):

- (1) BIT’s 9th Annual World Congress of Industrial Biotechnology (ibio-2016), Seul, Korea Południowa, 16–18.03.2016.
- (2) High value products from algae – a joint HVCfP & PHYCONET workshop, Nottingham, Wielka Brytania, 01–02.11.2016.
- (3) 4th International Conference on Agricultural and Biological Sciences, Hangzhou, Chiny 26–29.06.2018 (nadchodząca)

6.4. Nagrody po uzyskaniu stopnia doktora

Efekty mojej pracy naukowo-badawczej były kilkakrotnie nagradzane. Dwukrotnie zdobyłam stypendium naukowe w ramach III (2010/2011) i VI (2012) edycji konkursu stypendialnego w projekcie „Rozwój potencjału dydaktyczno-naukowego młodej kadry akademickiej Politechniki Wrocławskiej” (**Zał. 3, III, D2.4., D2.5.**) oraz byłam dwukrotną laureatką III (2013/2014) i IV

(2014/2015) edycji konkursu stypendialnego dla Młodych Doktorów (Post-doców) – stypendium ze środków projektu „Młoda Kadra 2015 Plus” (Zał. 3, III, D2.6., D2.7.). W listopadzie 2017 roku uzyskałam Nagrodę Rektora Politechniki Wrocławskiej w uznaniu wyróżniającego wkładu w działalność Uczelni, zaś w grudniu 2017 roku – **Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców.**

6.5. Współpraca naukowa – krajowa

Współpraca z innymi zespołami badawczymi umożliwia mi zdobywanie nowej wiedzy oraz poszerzenie moich zainteresowań naukowych o nowe tematy badawcze. Podczas realizacji projektu EXTRALGAE miałam okazję i przyjemność współpracować z naukowcami z kilku uczelni oraz instytutu badawczego:

- prof. dr hab. Grzegorz Schroeder, dr hab. Bogusława Łęska, prof. UAM, dr hab. Beata Messyasz, prof. UAM (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)
- prof. dr hab. inż. Piotr Wieczorek; dr hab. Jacek Lipok, prof. UO (Uniwersytet Opolski)
- dr hab. inż. Edward Rój, prof. nadzw. (Instytut Nowych Syntez Chemicznych w Puławach)
- prof. dr hab. Zbigniew Dobrzański, dr hab. inż. Mariusz Korczyński, prof. nadzw. (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)

Efektom tej współpracy są wspólne badania naukowe oraz publikacje (Zał. 3, I, A6., A7.; Zał. 3, II, A2.34., A2.36). Wynikiem realizacji projektu EXTRALGAE jest książka pt.: „Innovative bio-products for agriculture: algal extracts in products for human, animals and plants” wydana przez Nova Science Publishers, której razem z prof. Katarzyną Chojnąką jestem edytorem (Zał. 3, I, C1.). Obecnie trwają prace końcowe nad kolejną książką pt.: „Algae Biomass: Characteristics and Applications: Towards algae-based products” Series Title: „Developments in Applied Phycology”, Wydawnictwo Springer, gdzie razem z prof. Katarzyną Chojnąką, prof. Piotrem Wieczorkiem, prof. Grzegorzem Schroederem jesteśmy edytorami (książka w druku, zostanie wydana w 2018 roku).

W ostatnim czasie nawiązałam również współpracę naukową dr hab. inż. Piotrem Rutkowskim z Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, w ramach której został wytworzony w różnych temperaturach biowęgiel z makroalg słodkowodnych (*Cladophora glomerata*). Został on wstępnie przebadany pod kątem właściwości biosorpcyjnych. Biowęgiel z alg może znaleźć zastosowanie nie tylko jako biosorbent w oczyszczaniu ścieków (co wydaje się być jednak mało realnym zastosowaniem ze względu na jego cenne właściwości, które mogą być wykorzystane w innych dziedzinach), ale również jako dodatek do gleb wspomagający wzrost

roślin lub też jako dodatek paszowy dla zwierząt. Wyniki otrzymanych badań zostaną zaprezentowane podczas konferencji – 4th International Conference on Agricultural and Biological Sciences, Hangzhou, Chiny, 26–29.06.2018 („**Invited speaker**”). Tytuł wystąpienia ustnego „The agricultural applications of freshwater macroalgae” (autorzy: Izabela Michalak, Katarzyna Godlewska, Piotr Rutkowski).

Współpracuję również z dr hab. inż. Jerzym Detyną, prof. nadzw. PWr z Wydziału Mechanicznego Politechniki Wrocławskiej (Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej). W ramach współpracy zbadano wpływ ekstraktów algowych oraz wybranych czynników fizycznych (np.: promieniowanie podczerwone – bliska podczerwień (*ang.* near infrared radiation, NIR)) na zdolność kiełkowania nasion wybranych roślin. We współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu (prof. dr hab. Henryk Bujak i dr inż. Sylwia Lewandowska z Wydziału Przyrodniczo-Technologiczny, Katedra Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa) przeprowadzono wstępne testy kiełkowania na soi w WIORiN (Wojewódzki Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa we Wrocławiu). Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń przygotowano publikację pt.: „The effect of seaweed extracts and near infrared radiation on germination of soybean seedlings” (autorzy: Izabela Michalak, Sylwia Lewandowska, Jerzy Detyna, Sylwia Olsztyńska-Janus, Henryk Bujak, Paulina Pacholska), będącą obecnie na etapie recenzji. Obiecujące wyniki zachęcają nas do podjęcia kolejnych badań, mających na celu wyjaśnienie mechanizmu oddziaływania czynników chemicznych oraz fizycznych na wzrost roślin. W ramach tej współpracy, moja kandydatura została zaproponowana do roli **opiekuna naukowego** (obecnie, a **współpromotora** w przyszłości) w przewodzie doktorskim mgr inż. Magdaleny Kubajewskiej (otwarcie przewodu doktorskiego planowane jest na 2019 rok).

Współpracuję również z prof. dr hab. inż. Anitą Biesiadą z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (Katedra Ogrodnictwa) w zakresie wytwarzania ekstraktów z roślin wyższych (w tym leczniczych) jako innowacyjnych biostymulatorów wzrostu roślin. W ramach tej współpracy, moja kandydatura została zaproponowana do roli **promotora pomocniczego** w przewodzie doktorskim mgr inż. Katarzyny Godlewskiej – mojej dyplomantki (2014) (otwarcie przewodu doktorskiego planowane jest na 2018 rok).

6.6. Współpraca naukowa – międzynarodowa

W trakcie realizacji projektów dotyczących technologii zagospodarowania biomasy alg nawiązałam kontakt z prof. René Wijffels z **Wageningen University and Research Centre (Holandia)**. Podczas wizyty w Holandii (02.2015) przedstawiłam prezentację o prowadzonych

obecnie oraz w przeszłości badaniach naukowych oraz możliwościach współpracy (**Zał. 3, III, Q2.19.**). Współpracuję również z prof. Se-Kwon Kim z **Pukyong National University** (Busan, Korea Południowa). Efektem tej współpracy są liczne rozdziały w książkach edytowanych przez Prof. Se-Kwon Kim (**Zał. 3, II, E2.13.–E2.15., E2.17., E2.18.**) oraz wizyta w Busan (03.2016) (**Zał. 3, III, Q2.20.**).

W listopadzie 2016 roku odbyłam **krótkoterminowy staż naukowy** w **University of Algarve** (Faculty of Sciences and Technology, Faro, Portugalia) pod kierunkiem prof. Maria Clara Costa (**Zał. 3, III, L1.**). W tym czasie miałam okazję wygłosić wykłady dla studentów Uniwersytetu w Algarve, w tym również dla studentów biorących udział w międzynarodowym programie EMQAL – *Erasmus Mundus Master in Quality in Analytical Laboratories*. Prowadziłam z nimi badania w laboratorium nad procesem biosorpcji jonów metali przez biomasę alg i nanocząsteczki wytworzone z biomasy odpadowej. Pobyt w zespole prof. Costa umożliwił również poznanie nowych technik analitycznych, takich jak np.: Atomowa Spektrometria Absorpcyjna. Obie strony są zainteresowane podtrzymaniem dalszej współpracy naukowej.

6.7. Aktywność recenzencka

Jestem również aktywnym recenzentem publikacji naukowych oraz rozdziałów w książkach. Dotychczas przygotowałam dwie recenzje rozdziałów opublikowanych w książkach zagranicznych (**Zał. 3, III, P1.1., P1.2.**) oraz liczne recenzje publikacji naukowych w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej posiadających Impact Factor – 61 (**P2.1.–P2.39.**), 8 publikacji spoza listy JCR (**P3.1.–P3.8.**) oraz 10 publikacji w materiałach konferencyjnych z konferencji międzynarodowych (Japonia, Chiny) (**P4.1.– P4.10.**). Zostałam również zaproszona do wykonania recenzji projektu zgłoszonego w ramach konkursu „2018 FONDECYT Regular Competition”; National Fund for Scientific and Technological Development (FONDECYT) organizowanego przez Chilean National Commission for Scientific and Technological Research (CONICYT) – 10.2017 (**Zał. 3, III, O1.**).

6.8. Działalność dydaktyczna

Oprócz rozwijania zainteresowań naukowo-badawczych, aktywnie uczestniczę w popularyzacji nauki. Po uzyskaniu stopnia doktora, wygłosiłam wykłady podczas Dolnośląskiego Festiwalu Nauki (2014 i 2015 rok) oraz wykład na zaproszenie na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu (zaproszenie – prof. Bożena Patkowska-Sokoła, 2010 rok). Wygłaszałam również wykłady na zaproszenie w ramach kursów realizowanych na naszym Wydziale na kierunkach:

Technologia chemiczna – „Kierunki rozwoju chemii i technologii chemicznej” (prowadzący: prof. Henryk Górecki; 2014, 2015, 2016 rok) oraz Biotechnologia – „Tendencje rozwoju biotechnologii” (prowadzący: prof. Paweł Kafarski; 05.2016, 12.2016, 12.2017) (**Zał. 3, III, I2.**).

W ramach pracy dydaktycznej prowadzę również autorskie wykłady, laboratoria oraz seminaria. Jeden z wykładów – „Terrestrial ecology” prowadzę w języku angielskim. Uczestniczą w nim również studenci z programów międzynarodowych, w tym ERASMUS (**Zał. 3, III, I2.3.**). Efektem mojego zaangażowania w pracę dydaktyczną i przygotowanie wykładów multimedialnych są wysokie oceny, jakie otrzymuję w trakcie hospitacji moich zajęć dydaktycznych (19.12.2012 – wykład: Biotechnologia przemysłowa, 28.02.2014 i 11.01.2017 – laboratorium: Ekotoksykologia). Uczestniczyłam również w hospitacjach zajęć innych prowadzących, realizowanych na naszym Wydziale.

Ciągle doskonalam swoje umiejętności, w tym również dydaktyczne. Aktywnie uczestniczę w programach mających na celu ich rozwijanie. W czerwcu 2017 roku brałam udział w programie „**The Baltic University Programme**”, w ramach którego odbyłam kurs „SAIL for Teachers” (Sustainability Applied in International Learning) na pokładzie statku *Fryderyk Chopin* organizowany przez Uppsala University – Åbo Akademi, Uppsala, Szwecja. W październiku 2017 roku uczestniczyłam w wyjeździe dydaktycznym „Staff Mobility for Teaching” w ramach programu **Erasmus+ KA 107 z krajami partnerskimi** w Mostarze – Džemal Bijedić University of Mostar, Agro Mediterranean Faculty, Bośnia i Hercegowina (**Zał. 3, III, A4.**). Chętnie uczestniczę również w szkoleniach, kursach, seminariach, dzięki którym mogę podnosić moje kompetencje zawodowe (**Zał. 3, III, Q2.1.– Q2.10.**). Zdobytą wiedzę przekazuję zarówno studentom, jak i współpracownikom. Dla przykładu po odbyciu szkolenia z oprogramowania „*Statistica*”, zorganizowałam szkolenie wewnętrzne dla studentów i pracowników Instytutu Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych (obecnie Zakład Zaawansowanych Technologii Materiałowych).

W ramach mojej pracy dydaktycznej byłam/jestem również:

- opiekunem 15 prac magisterskich (w tym jedna w języku angielskim oraz jedna praca w realizacji) (**Zał. 3, III, J1.1.– J1.15.**)
- opiekunem 12 projektów inżynierskich (w tym jeden w języku angielskim oraz jeden projekt w realizacji) (**Zał. 3, III, J2.1.– J1.12.**)
- recenzentem 5 prac magisterskich (**Zał. 3, III, J3.1.– J3.5.**).

7. Plany naukowo-badawcze

Moje plany badawcze są ściśle związane z kontynuacją badań nad biomasą alg oraz roślin wyższych i jej zastosowaniami w różnych gałęziach gospodarki. Badania te będą obejmowały:

- wpływ ekstraktów glonowych oraz czynników fizycznych na kiełkowanie, wzrost, rozwój i właściwości biomechaniczne roślin, głównie soi niemodyfikowanej genetycznie (współpraca: prof. Jerzy Detyna – Politechnika Wrocławska oraz prof. dr hab. Henryk Bujak i dr inż. Sylwia Lewandowska – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
- wpływ fermentowanej biomasy alg wzbogaconej w jony manganu na wzrost wrażliwości na insulinę koni z syndromem metabolicznym (współpraca: prof. Krzysztof Marycz – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; złożony wniosek w konkursie OPUS 14 (12.2017) – NCN pt.: „Fermentowana biomasa alg wzbogacona w jony manganu zwiększająca wrażliwość na insulinę koni z syndromem metabolicznym”)
- wpływ ekstraktów z roślin wyższych jako innowacyjnych biostymulatorów do uprawy warzyw o podwyższonej wartości biologicznej (współpraca: prof. Anita Biesiada – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; złożony wniosek w konkursie OPUS 14 (12.2017) – NCN pt.: „Analiza ekstraktów z roślin wyższych jako innowacyjnych biostymulatorów do uprawy warzyw o podwyższonej wartości biologicznej”).

Ponadto planuję kolejne wyjazdy dydaktyczne w ramach programu ERASMUS+, które mają na celu nie tylko prowadzenie zajęć dydaktycznych w uczelni partnerskiej, ale również nawiązanie współpracy międzynarodowej. We wrześniu 2018 roku planuję wyjazd do Politechniki w Walencji, Hiszpania (UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA), która wyraziła zainteresowanie takim przyjazdem, zaś w grudniu 2018 roku do NGUYEN TAT THANH UNIVERSITY, The School of Engineering-Technology – Faculty of Environment, Chemical and Food Technology (Wietnam, Ho Chi Minh).

8. Wykaz dorobku naukowego

8.1. Zestawienie osiągnięć naukowych z podziałem na: oryginalne prace twórcze, artykuły przeglądowe, popularno-naukowe, rozdziały w książkach, komunikaty konferencyjne, patenty

Rodzaj osiągnięcia	Liczba publikacji	IF ^{a)}	IF ^{b)}	Suma punktów MNiSW ^{c)}
Oryginalne prace twórcze:				
▪ Opublikowane w czasopismach z bazy JCR	52	75,251	89,535	1190
▪ Opublikowane w czasopismach spoza bazy JCR	13	-	-	28
Rozdziały w książkach/monografiach:				
▪ W języku angielskim	15	-	-	-
▪ W języku polskim	2	-	-	-
Ogółem oryginalne prace twórcze:	82	75,251	89,535	1218
Inne prace naukowe:				
Artykuły przeglądowe z bazy JCR	13	23,647	23,336	335
Artykuły przeglądowe spoza bazy JCR	4	-	-	43
Artykuły popularno-naukowe z bazy JCR	2	0,766	0,658	30
Artykuły popularno-naukowe spoza bazy JCR	0	-	-	-
Prace i doniesienia konferencyjne:				
- Materiały konferencyjne – Konferencje międzynarodowe	14	-	-	-
- Materiały konferencyjne – Konferencje krajowe	1	-	-	-
Ogółem – inne prace naukowe:	34	24,413	23,994	408
OGÓŁEM PUBLIKACJE NAUKOWE	116			
Patenty:				
▪ Przyznane	3	-	-	-
▪ Zgłoszenia	5	-	-	-
Ogółem – patenty:	8			
OGÓŁEM DOROBEK NAUKOWY	124	99,664	113,529	1626

a) Sumaryczny Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy

b) 5-letni Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem, w którym przygotowano zestawienie (IF²⁰¹⁶)

c) Liczba punktów według wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 9 grudnia 2016 roku)

8.2. Zestawienie liczbowe czasopism (w porządku alfabetycznym), w których opublikowano prace naukowe

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	IF ^{a)}	IF ^{b)}	Suma punktów MNiSW ^{c)}	Liczba cytowań ^{d)}
Przed doktoratem					
Global NEST Journal	1	0,565 (2009)	0,814	15	7
International Journal of Environmental Analytical Chemistry	1	1,703 (2009)	1,158	20	3
Journal of the Science of Food and Agriculture	1	1,333 (2008)	2,430	35	17
Przemysł Chemiczny	2	0,332 (2009; 88(5))	0,329	15	3
		0,332 (2009; 88(6))	0,329	15	2
Solvent Extraction and Ion Exchange	1	1,229 (2007)	2,180	25	14
World Journal of Microbiology & Biotechnology	1	1,082 (2009)	1,818	20	15
<i>Suma</i>	<i>7</i>	<i>6,576</i>	<i>9,058</i>	<i>145</i>	<i>61</i>
Po doktoracie					
Acta Scientiarum Polonorum – Hortorum Cultus	1	0,523 (2016)	0,550	20	0
Adsorption Science & Technology	1	0,930 (2013)	0,777	15	3
Applied Biochemistry and Biotechnology	3	1,879 (2010)	1,811	20	15
		1,687 (2013)	1,811	20	74
		1,735 (2014)	1,811	20	11
Applied Sciences-Basel	1	1,679 (2016)	1,913	25	0
Archives of Environmental Contamination and Toxicology	1	1,927 (2011)	2,323	25	5
BioMed Research International	2	2,476 (2016; 5973760)	2,587	25	2
		2,476 (2016; 7248634)	2,587	25	0
Central European Journal of Chemistry	1	1,167 (2012)	1,192	20	1
Chinese Science Bulletin	2	1,319 (2012; 57(7))	1,738	30	0
		1,319 (2012; 57(26))	1,738	30	2
Clinica Chimica Acta	1	2,764 (2013)	2,793	40	36
Ecotoxicology and Environmental Safety	1	2,340 (2010)	3,577	30	27
Engineering in Life Sciences	4	1,504 (2010; 10(3))	2,050	25	20
		2,485 (2014; 14(6))	2,050	25	24
		2,168 (2015; 15(2))	2,050	25	30

Dr inż. IZABELA MICHALAK
ZAKŁAD ZAAWANSOWANYCH TECHNOLOGII MATERIAŁOWYCH, WYDZIAŁ CHEMICZNY
POLITECHNIKA WROCŁAWSKA

		1,698 (2017; 17(2))	2,050	25	0
Environmental Monitoring and Assessment	1	1,679 (2014)	1,974	25	5
Environmental Toxicology and Pharmacology	3	1,378 (2010)	2,405	25	20
		1,469 (2011)	2,405	25	15
		2,005 (2012)	2,405	25	8
European Journal of Phycology	1	2,412 (2016)	2,471	30	0
Frontiers in Plant Science	1	4,291 (2016)	4,672	40	2
International Journal of Molecular Sciences	1	3,226 (2016)	3,482	30	0
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition	1	0,855 (2011)	1,422	30	22
Journal of Applied Phycology	1	2,616 (2016)	3,143	35	0
Journal of Chemistry	1	0,996 (2015)	1,319	20	3
Journal of Food Science and Technology	1	1,241 (2015)	1,597	25	4
Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi	1	0,418 (2015)	0,393	15	0
Marine Drugs	2	3,503 (2016; 15(65))	3,637	40	0
		3,503 (2016; 15(385))	3,637	40	0
Medical Science Monitor	1	1,433 (2014)	1,574	15	4
Microchimica Acta	1	3,033 (2011)	3,932	40	17
Molecules	2	2,861 (2016; 22(66))	2,988	30	0
		2,861 (2016; 23(470))	2,988	30	0
Open Chemistry	3	1,207 (2015; 13; 1183)	1,048	20	3
		1,207 (2015; 13; 1218)	1,048	20	1
		1,207 (2015; 13; 1341)	1,048	20	1
Polish Journal of Environmental Studies	5	0,508 (2011; 20(6))	0,961	15	3
		0,462 (2012; 21(5))	0,961	15	1
		0,462 (2012; 21(6))	0,961	15	6
		0,871 (2014; 23(3))	0,961	15	5
		0,793 (2016; 25(3))	0,961	15	1
Przemysł Chemiczny	10	0,290 (2010; 89(4); 338)	0,329	15	1
		0,290 (2010; 89(4); 342)	0,329	15	0
		0,290 (2010; 89(4); 486)	0,329	15	0

Dr inż. IZABELA MICHALAK
 ZAKŁAD ZAAWANSOWANYCH TECHNOLOGII MATERIAŁOWYCH, WYDZIAŁ CHEMICZNY
 POLITECHNIKA WROCLAWSKA

		0,414 (2011; 90(5); 711)	0,329	15	1
		0,414 (2011; 90(5); 1096)	0,329	15	0
		0,367 (2013; 92(6))	0,329	15	2
		0,399 (2014; 93(3))	0,329	15	0
		0,399 (2014; 93(5))	0,329	15	1
		0,367 (2015; 94(3))	0,329	15	0
		0,367 (2015; 94(8))	0,329	15	0
Research in Veterinary Science	1	1,298 (2016)	1,446	35	0
Reviews in Inorganic Chemistry	2	2,923 (2013)	2,238	30	4
		1,556 (2015)	2,238	30	1
Waste and Biomass Valorization	2	0,915 (2015)	1,491	20	1
		1,337 (2016)	1,491	20	0
Wiley Interdisciplinary Reviews-Energy and Environment	1	2,889 (2016)	2,476	25	0
<i>Suma</i>	60	93,088	104,471	1410	382
RAZEM	67	99,664	113,529	1555	443

- a) Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy
- b) 5-letni Impact Factor (IF) wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem, w którym przygotowano zestawienie (IF²⁰¹⁶)
- c) Liczba punktów według wykazu czasopism naukowych MNiSW (z dnia 9 grudnia 2016 roku)
- d) Według Web of Science – z dnia 28 marca 2018 (bez autocytowań)

8.3. Zestawienie osiągnięć naukowych z podziałem na: oryginalne prace twórcze, artykuły przeglądowe, popularno-naukowe, rozdziały w książkach, komunikaty konferencyjne, patenty opublikowane przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Rodzaj osiągnięcia	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Oryginalne prace twórcze:			
▪ Opublikowane w czasopismach z bazy JCR	7	45	52
▪ Opublikowane w czasopismach spoza bazy JCR	8	5	13
Rozdziały w książkach/monografiach:			
▪ W języku angielskim	1	14	15
▪ W języku polskim	2	-	2
<i>Ogółem oryginalne prace twórcze:</i>	18	64	82
Inne prace naukowe:			
Artykuły przeglądowe z bazy JCR	0	13	13
Artykuły przeglądowe spoza bazy JCR	1	3	4
Artykuły popularno-naukowe z bazy JCR	0	2	2
Artykuły popularno-naukowe spoza bazy JCR	0	-	-
Prace i doniesienia konferencyjne:			
- Materiały konferencyjne – Konferencje międzynarodowe	1	13	14
- Materiały konferencyjne – Konferencje krajowe	0	1	1
<i>Ogółem – inne prace naukowe:</i>	2	32	34
OGÓŁEM PUBLIKACJE NAUKOWE	20	96	116
Patenty:			
▪ Przyznane	0	3	3
▪ Zgłoszenia	0	5	5
<i>Ogółem – patenty:</i>	0	8	8
OGÓŁEM DOROBIEK NAUKOWY	20	104	124

8.4. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

[1] **67 publikacji z listy JCR (dorobek całkowity):**

Wszystkie publikacje z listy JCR – 67 (dorobek całkowity):

- Σ IF = **99,664** (IF zgodny z rokiem ukazania się pracy)
- $IF_{(5\text{-year})}$ = **113,529** (2016)
- Σ MNiSW = **1555** (2016)

▪ Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie JCR wchodzące w skład **osiągnięcia naukowego:**

Σ IF = **27,014**; $IF_{(5\text{-year})}$ = 28,020; Σ MNiSW = 335, w tym:

- oryginalne prace twórcze: Σ IF = **22,361**; $IF_{(5\text{-year})}$ = 23,920; Σ MNiSW = 285
- publikacje przeglądowe: Σ IF = **4,653**; $IF_{(5\text{-year})}$ = 4,100; Σ MNiSW = 50

▪ Publikacje **po uzyskaniu stopnia doktora:**

Σ IF = **93,088**; $IF_{(5\text{-year})}$ = 104,471; Σ MNiSW = 1410

▪ Publikacje **przed uzyskaniem stopnia doktora:**

Σ IF = **6,576**; $IF_{(5\text{-year})}$ = 9,058; Σ MNiSW = 145

[2] **17** opublikowanych rozdziałów w książkach

[3] **3** patenty, **5** zgłoszeń patentowych

[4] Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (bez autocytowań): **443** – z dnia 28 marca 2018

[5] **Indeks Hirscha** według bazy Web of Science: **14**

[6] **Współedycja książek**

- „Innovative bio-products for agriculture: algal extracts in products for human, animals and plants”, Wydawnictwo *Nova Science Publishers* (Edytorzy: Katarzyna Chojnacka, **Izabela Michalak**, ISBN: 978-1-63485-558-7)
- „Algae Biomass: Characteristics and Applications: Towards algae-based products”, Series Title: “Developments in Applied Phycology”, Wydawnictwo *Springer* (Edytorzy: Katarzyna Chojnacka, Piotr Paweł Wiczorek, Grzegorz Schroeder, **Izabela Michalak**), ID: D5D287C0-A2BC-4DBD-A0F1-8681DDA5FE07, 10.03.2016 (w druku)

[7] **Kierownik dwóch projektów** – NCN: SONATA oraz SONATA BIS

[8] **Wykonawca w 12 projektach (4 jako Konsorcja naukowe)**

[9] **Recenzja 61 publikacji z listy JCR, 8 publikacji spoza listy JCR, 10 publikacji w materiałach konferencyjnych**

26.04.2018 Michalak Izabela