

Aleksandra KŁOS-WITKOWSKA¹, Adrian ADAMUS²,
Vasyl MARTSENYUK³

Opiekun naukowy: Aleksandra KŁOS-WITKOWSKA

BADANIE ZMIAN PRZEWODNOŚCI KOMPONENTU WARSTW RECEPTOROWYCH BIOSENSORÓW POD WPŁYWEM CZYNNIKÓW ZEWNĘTRZNYCH

Streszczenie: Celem pracy było zbadanie zmian przewodności komponentu warstw receptorowych biosensorów pod wpływem czynników zewnętrznych: obniżonej temperatury oraz promieniowania UV. Za pomocą przewodności badano zmiany konformacyjne zachodzące w kompleksie białkowym z czasem. Badania oraz analizy wykazały wpływ czynników na stabilność kompleksu, zależny od: rodzaju czynnika, sposobu jego aplikacji oraz czasu ekspozycji.

Słowa kluczowe: przewodność, BSA-Au, biosensor

STUDY OF CONDUCTIVITY CHANGES IN BIOSENSORS RECEPTOR LAYERS COMPONENT UNDER THE INFLUENCE OF EXTERNAL FACTORS

Summary: The aim of this study was to investigate conductivity changes in biosensors receptor layers component under the influence of external factors: reduced temperature and UV radiation. By means of conductivity, the conformational changes occurring in the protein complex with time were studied. Research and analysis showed the influence of factors on the stability of the complex, depending on: the type of agent, the method of its application and the time of exposure.

Keywords: conductivity, BSA-Au, biosensor

1. Wstęp

W czasie swojej ponad stuletniej historii, pomiary przewodnictwa elektrycznego cieczy uzyskały status odrębnej dziedziny pomiarów zwanej konduktometrią.

¹ Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, awitkowska@ath.bielsko.pl

² Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, aa055796@student.ath.edu.pl

³ Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, vmartsenyuk@ath.bielsko.pl

Właściwości roztworów w tym ich zdolność do przewodzenia prądu elektrycznego opisuje i wyjaśnia elektrostatyczna teoria elektrolitów [1-4]. Podstawy współczesnej teorii elektrolitów zostały opracowane w latach 1920-1960 przez Debye, Huckela, Onsangera, Fuossa, Flackenhagena i innych. Jej rozwój dalej trwa [1]. Obecnie coraz częściej eksperymenty konduktometryczne wykorzystywane są w badaniach nad biosensorami, gdzie na podstawie przewodności interpretuje się procesy biochemiczne zachodzące w biosensorach [5-7]. Podążając za nurtem współczesnych badań nad biosensorami, w prezentowanej pracy wykorzystano badania konduktometryczne w celu śledzenia zmian konformacyjnych w komponente warstw receptorowych biosensorów pod wpływem czynników zewnętrznych takich jak obniżona temperatura i promieniowanie UV. Do badań wybrano kompleks proteinowy BSA+Au. Białko, Bovine Serum Albumin (BSA) (Albumina Surowicy Wołowej) jest powszechnie wykorzystywane w biosensorowych warstwach receptorowych w procesie sieciowania (cross-linking) [8], natomiast ostatnio pojawiły się również prace mówiącej o wzmocnionej efektywności działania białka po dodaniu nanocząstek złota (Au) [9]. Dlatego też w przeprowadzone badania wykonano bazując na kompleksie białkowym BSA+Au. W przedstawionej pracy zbadano zmiany przewodności komponentu warstw receptorowych biosensorów (kompleksów białkowych BSA+Au) pod wpływem czynników zewnętrznych: obniżonej temperatury oraz promieniowania UV. Nowością w pracy jest sposób aplikacji czynnika w trybie ciągłym i frakcyjnym oraz śledzenie wywołanych zmian za pomocą konduktometrii.

2. Materiały i metody

Badania zmian przewodności pod wpływem czynników wykonano za pomocą specjalnie skonstruowanego stanowiska pomiarowego zawierającego: konduktometr firmy Elmetron, model CC-401 wraz z sondą, skonstruowany specjalnie na potrzeby eksperymentu stojak, umożliwiający pomiar przewodności roztworu zawsze na tej samej głębokości zanurzenia sondy oraz komputer. Stanowisko pomiarowe zilustrowano na Rys. 1



Rysunek 1. Stanowisko pomiarowe do pomiaru przewodności

Experyment wykonano dla roztworów Bovine Serum Albumin z nanocząsteczkami złota (BSA+Au). Zawiesinę nanocząstek złota (Lot# MKCD3520) otrzymano z firmy Aldrich Chemistry. W doświadczeniu wykonano pomiar przewodności dla roztworów poddanych ekspozycji czynników zewnętrznych, jakimi były: obniżona temperatura (-10°C) oraz promieniowanie UV.

Temperatura w czasie trwania eksperymentu była stale monitorowana. Była stała i wynosiła 22°C. Ekspozycji na czynnik zewnętrzny dokonywano aplikując czynnik w dawkach frakcyjnych (2x5min) i (3x5min) oraz ciągłych 10 min oraz 15 min. Odstęp czasowy pomiędzy frakcjami wynosił 30 min. Tabela 1 przedstawia schemat prowadzonych badań

Tabela 1 . Schemat prowadzonych badań

Czynnik	Przewodność [$\mu\text{S/cm}$]			
kontrola BSA+Au	x			
obniżona temperatura BSA+Au	2x5min	10 min	3x5 min	15 min
	x	x	x	x
UV BSA+Au	2x5min	10 min	3x5min	15 min
	x	x	x	x

W eksperymencie badano zmiany przewodności substancji (BSA+Au) w dniach: 1, 3, 4, 11, 15, 18.

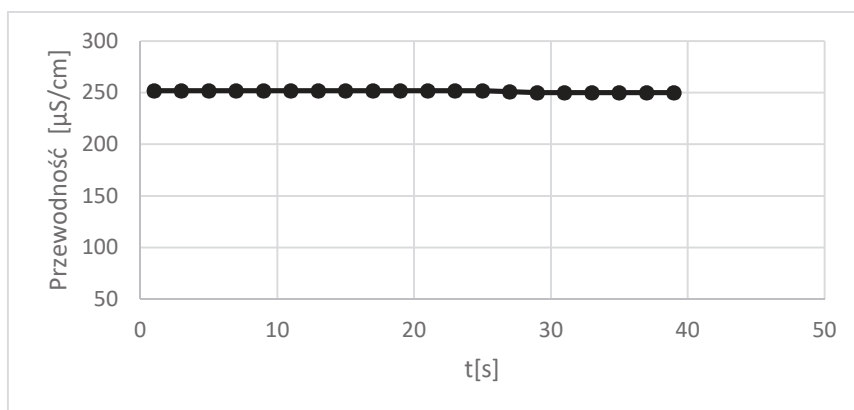
Ekspozycję na czynnik zewnętrzny wykonano w pierwszym dniu trwania badań. W kolejnych dniach śledzono zmiany przewodności, które zachodziły wraz z czasem. Przewodność określono na podstawie 20 pomiarów. Próbkowanie sygnału następowało co 2s. Przeprowadzoną w artykule analizę wykonano na podstawie wyznaczonej średniej przewodności z zebranych 20 pomiarów oraz z przeprowadzonych 3 serii pomiarowych

3. Rezultaty i dyskusja

Rysunek 1 to przykładowe numeryczne przedstawienie pomiaru przewodności w temperaturze 22°C dla BSA+Au ekspozowanych na promieniowanie UV aplikowane frakcyjnie (2x5min). Jak widać na ilustracji, każdorazowo wykonując pomiar, dokonywano automatycznego 20-krotnego odczytu przewodności. Pomiar trwał 39s, pobieranie sygnału następowało co 2s. Na podstawie zebranych danych, wyznaczono wartość średnią przewodności, którą wykorzystano w kolejnych przeprowadzonych analizach. Widać, że przewodność w czasie w stałej temperaturze 22°C jest stała. Wartości przewodności badanych substancji pod wpływem czynnika różniły się od siebie, niemniej jednak charakter przewodności w funkcji czasu był zawsze stały.

Ze względu na fakt, że badaniu zostały poddane wodne roztwory BSA+Au czyli rozpuszczalnikiem była woda, w przeprowadzonym doświadczeniu mamy

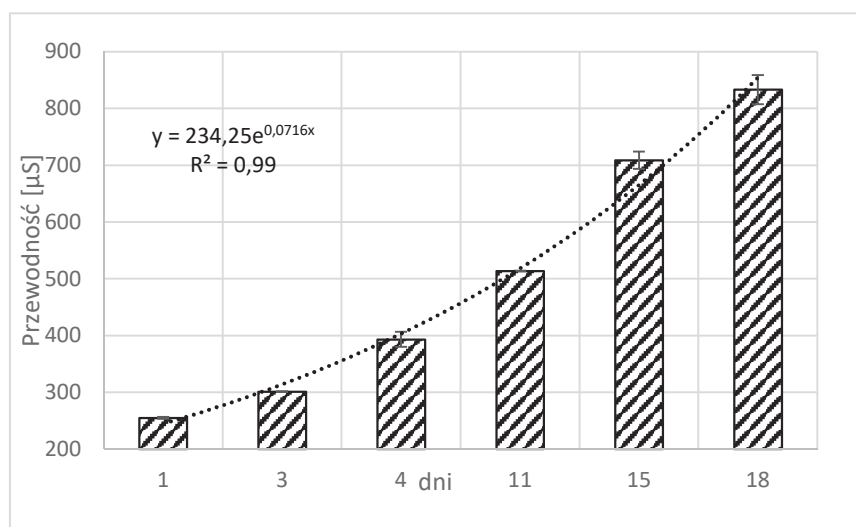
do czynienia z przewodnictwem jonowym, gdzie nośnikami ładunku elektrycznego są jony. W odróżnieniu do przewodnictwa elektronowego, które występuje głównie w metalach, gdzie nośnikiem ładunku elektrycznego są elektrony czy półprzewodników gdzie jako nośniki występują elektrony lub dziury [10]. Jak podaje literatura [1] ruch jonów jest wypadkową działania trzech czynników: ruchów cieplnych o charakterze losowym, przepływu ośrodka jako całości oraz sił działających na te jony. Te ostatnie siły mogą pochodzić zarówno wewnątrz jak i z zewnątrz. Siły wewnętrzne to wynik występowania różnych gradientów: stężenia, temperatury, prędkości oraz oddziaływań elektrostatycznych między jonami. Siły zewnętrzne mogą być powodowane zmianami ciśnienia, polem grawitacyjnym czy polem elektrycznym. Dlatego też w dalszej części pracy pokazano wpływ obniżonej temperatury na siły wewnętrzne oraz wpływ promieniowania UV na siły zewnętrzne. Wywołane zmiany przewodnictwa jonowego badanej substancji określano na podstawie zmierzonej przewodności. Przewodność to również parametr na podstawie, którego śledzono zmiany czasowe zachodzące w badanych próbkach.



Rysunek 2. Przykładowe numeryczne przedstawienie pomiaru przewodności w czasie 39 s w temperaturze 22°C dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV aplikowane frakcyjnie (2x5 min)

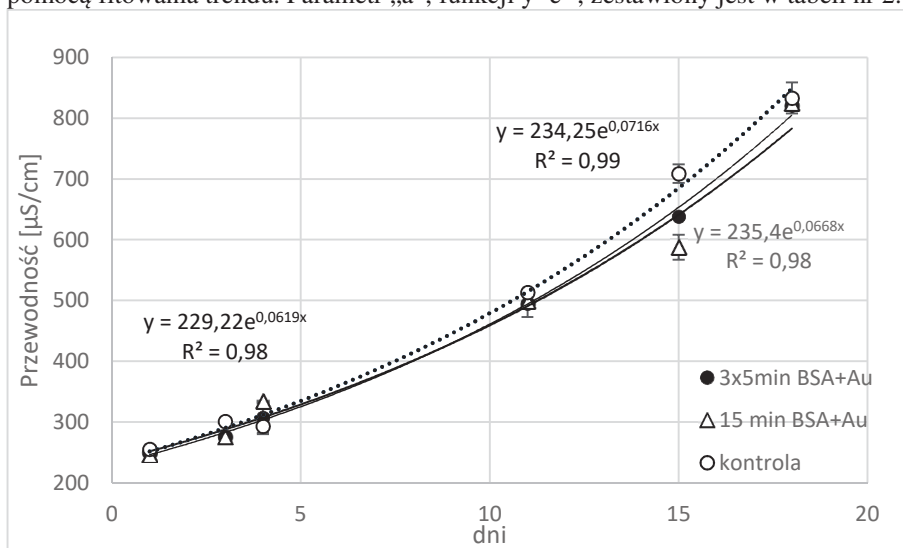
Rysunek 3 obrazuje zmiany przewodności zachodzące w czasie dla próbek kontrolnych (bez czynnika zewnętrznego BSA+Au). Tak jak opisano wcześniej wartość przewodności dla konkretnego dnia wyznaczono jako wartość średnią z 20 pomiarów zarejestrowana przez konduktometr w czasie 39s.

Widać, że dla mieszanin BSA+Au wraz z czasem następuje wzrost przewodności. Efekt ten związany jest ze zmianą konformacji białkowej. Wraz z czasem następuje rozfałdowywanie się łańcuch polipeptydowej proteiny BSA oraz sprzężonych z nią cząsteczek Au. Wraz ze starzeniem się próbki, następuje zwiększenie stopnia dysocjacji (więcej jonów), zmniejszenie wzajemnych oddziaływań międzyjonowych i solwacyjnych oraz zmniejszenie lepkości rozpuszczalnika. Konsekwencją zaistniałych procesów jest obserwowany wzrost przewodności, który następuje w badanym przedziale czasu (18-dni).



Rysunek 3. Zmiana przewodności w funkcji czasu dla próbek kontrolnych BSA+Au (bez czynnika zewnętrznego)

Rysunek 4 ilustruje zmiany przewodności w funkcji czasu dla mieszanin BSA+Au kontroli oraz BSA+Au eksponowanych na obniżoną temperaturę. Można zaobserwować wolniejsze zmiany zachodzące w badanej substancji eksponowanej na obniżoną temperaturę niż w próbkach kontrolnych. Aby lepiej pokazać dynamikę zmian wykonano analizę na podstawie funkcji wykładniczej, którą określono za pomocą fitowania trendu. Parametr „a”, funkcji $y=e^{ax}$, zestawiony jest w tabeli nr 2.



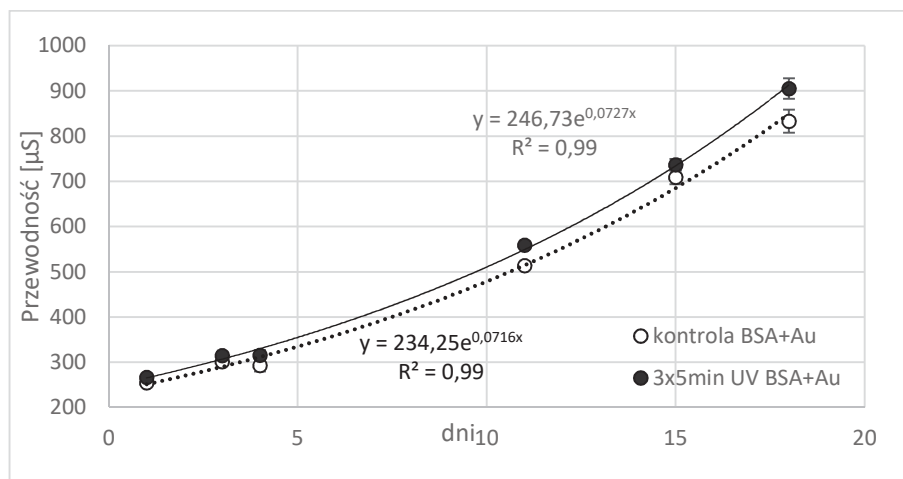
Rysunek 4. Porównanie przewodności w funkcji czasu dla mieszanin BSA+Au kontroli z BSA+Au eksponowanych na obniżoną temperaturę w trybie frakcyjnym (3x5min) oraz trybie ciągłym 15 min

Tabela 2. Wartości współczynnika „a” odczytane na podstawie funkcji wykładniczej

Czynnik	Współczynnik a			
kontrola BSA+Au	0,0716±0,005			
obniżona temperatura BSA+Au	2x5min	10 min	3x5 min	15 min
	0,0619±0,003	0,0677±0,007	0,0619±0,004	0,0668±0,002

Na podstawie wartości umieszczonych w tabeli można wnioskować na temat dynamiki zmian w substancji badanej pod wpływem czynnika zewnętrznego aplikowanego w trybie frakcyjnym (2x5min) i (3x5min) oraz ciągłym 10 min i 15 min. Porównując próbki kontrolne z próbkami poddanymi ekspozycji widać, że parametr „a” dla kontroli wynosi 0,0716±0,005 i jest on większy niż dla wszystkich próbek poddanych działaniom czynnika. Wnioskować zatem można, że dynamika zmian dla kontroli jest większa niż dla próbek ekspozycyjnych na obniżoną temperaturę. Zatem obniżona temperatura wpływa stabilizująco na roztwór BSA+Au. Odpowiadając na pytanie czy bardziej efektywna jest ekspozycja frakcyjna i czy ciągła, porównano parametr „a” dla (2x5min) z (10 min) oraz (3x5) z (15 min). Widać, że dla (2x5min) parametr ten wynosi 0,0619±0,003 a dla (10 min) to 0,0677±0,007 natomiast ekspozycji dłuższej (3x5min) to 0,0619±0,004, a (15min) to 0,0668±0,002.

Na podstawie przedstawionego zestawienia widać, że dynamika zmian dla próbek ekspozycyjnych frakcyjnie (2x5min) i (3x5min) jest mniejsza niż dla próbek ekspozycyjnych w trybie ciągłym (10 min i 15min). Zmiany dla ekspozycji frakcyjnej są łagodniejsze niż dla ekspozycji w trybie ciągłym.



Rysunek 5. Porównanie przewodności w funkcji czasu dla mieszanin BSA+Au kontroli z BSA+Au ekspozycyjnych na promieniowanie UV

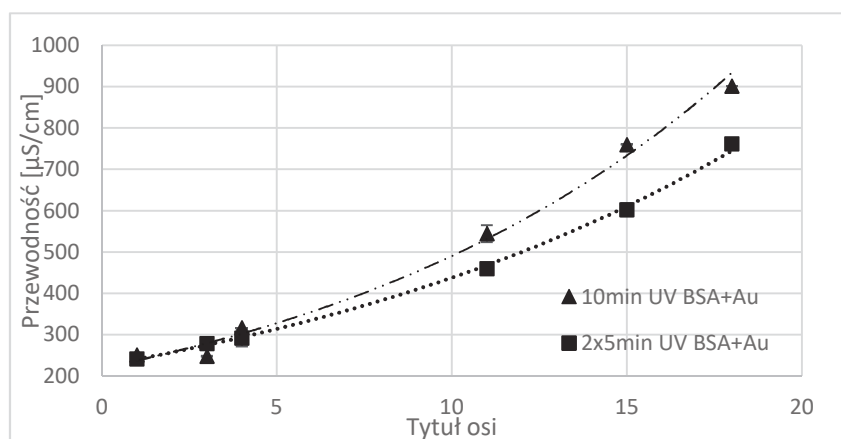
Kolejno, zbadano wpływ promieniowania UV na mieszaniny BSA+Au. Z literatury wiadomo, że promieniowanie to ma destrukcyjny wpływ na białko. Badania Chinnathambi [11] potwierdziły wpływ promieniowania UV na BSA i kompleks z antymetabolitem 5-fluorouracil. Michnik [12] opisała wpływ promieniowania UV na restrukturyzację konformacyjną ludzkiej albuminy surowicy.

Rysunek 4 obrazuje zmiany przewodności w czasie dla próbek kontrolnych oraz próbek eksponowanych na promieniowanie UV aplikowane w trybie frakcyjnym (3x5min). Linia trendu (ciągła) dla dawek frakcyjnych (3x5min) leży nad linią (przerywaną) dla kontroli. Na tej podstawie można wnioskować, że BSA+Au poddane ekspozycji na pole elektromagnetyczne starzeją się szybciej niż próbki kontrolne. Potwierdza to również analiza parametru „a”, który dla kontroli wynosi $0,0716 \pm 0,005$ a dla próbek promieniowanych jest większy i wynosi $0,0727 \pm 0,004$.

Analiza pozostałych próbek promieniowanych: zarówno w trybie frakcyjnym (2x5min) jak i w trybie ciągłym (10 min) oraz (15 min), potwierdzają efekt przyspieszonych zmian konformacyjnych w kompleksie białkowym pod wpływem pola elektromagnetycznego z zakresu UV.

Otrzymane efekty pod wpływem pola, obserwowane jako przyspieszony spadek stabilności mieszaniny BSA+Au mogą być związane z: rearanżacją kompleksów białkowych w lokalnym środowisku, zmianą uporządkowania łańcucha polipeptydowego pod wpływem pola, zmianą w strukturze drugorzędowej białka wzrostem ilości konformacji helisy i zmniejszenie struktury beta-arkusza (co prowadzi do rozluźnienia szkieletu białka i co w konsekwencji również prowadzi do wzrostu ilości jonów), denaturacji białka, zmianami odległości w łańcuchu polipeptydowym, reorganizacją wody w makromolekule BSA+Au zmienionej przez promieniowanie UV [13,14]. Ponadto na Rys.4 można również dostrzec, że zmiany pomiędzy próbką poddaną ekspozycji a próbka kontrolna są większe wraz z czasem.

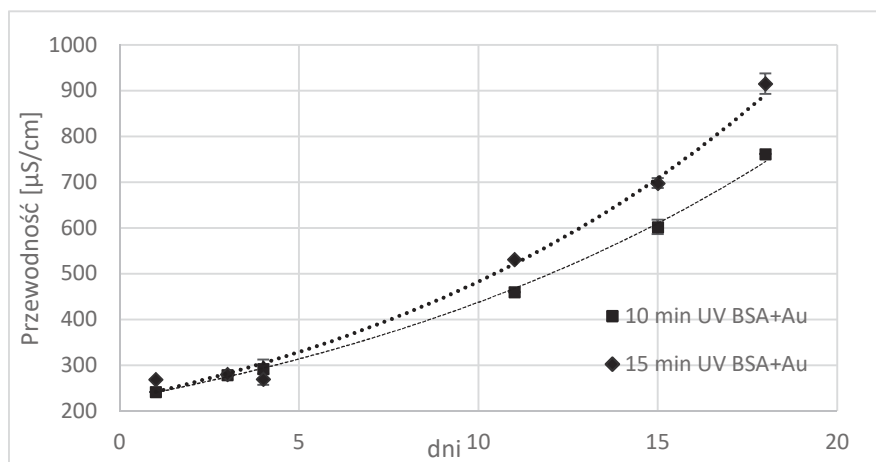
Rysunek 5 przedstawia zmiany przewodności w funkcji czasu dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV, frakcyjnie (2x5min) oraz w sposób ciągły. Przeprowadzona analiza miała na celu odpowiedź na pytanie jak sposób aplikacji promieniowania wpływa na stabilność badanego komponentu warstw receptorowych biosensorów. Na powyższym wykresie można zauważyć szybszy spadek stabilności próbki, gdy zaaplikowane zostało promieniowanie w sposób ciągły. Bardziej łagodniejszy przebieg zmian zaobserwowano podczas aplikacji czynnika w sposób frakcyjny. Podobne analizy jak te zobrazowane na Rys 5 przeprowadzono dla wydłużonej ekspozycji (15 min) oraz frakcyjnej (5x3min). Otrzymany efekt był bardzo podobny. Mianowicie zauważono szybszy spadek stabilności próbki, gdy zaaplikowane zostało promieniowanie w sposób ciągły (15 min) niż gdy aplikowano promieniowanie w sposób frakcyjny (3x5min).



Rysunek 6. Zmiana przewodności w funkcji czasu dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV, frakcyjnie (2x5min) oraz sposób ciągły (10 min)

Podsumowując, aplikacja promieniowania UV w trybie ciągłym prowadzi do szybszego starzenia się próbki w stosunku do próbki poddanej działaniu promieniowania w sposób frakcyjny. Zmiany konformacyjne zobrazowane poprzez wzrost przewodności są bardziej dynamiczne w próbkach eksponowanych w trybie ciągłym niż w trybie frakcyjnym. Najprawdopodobniej promieniowanie UV podane zarówno w trybie ciągłym jak i w trybie frakcyjnym zwiększa dysocjację roztworów (ilość jonów), zmniejsza oddziaływanie między jonowe oraz solwacyjne, co obserwowane jest jako wzrost przewodności.

Na Rys 6 zestawiono zmiany przewodności w funkcji czasu dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV sposób ciągły (10 min) oraz w sposób ciągły (15 min). Na podstawie przeprowadzonej analizy widać, że czas ekspozycji na pole elektromagnetyczne z zakresu UV wpływa na zmiany przewodności w badanej substancji. Widoczny jest gwałtowniejszy wzrost przewodności dla próbek eksponowanych 15min niż dla próbek poddanych ekspozycji ciągłej 10 min. Widać, że zmiany konformacyjne zachodzą szybciej dla próbek promieniowanych 15min niż dla próbek promieniowanych 10 min. Różnice pomiędzy próbką promieniowaną 10 min w trybie ciągłym i 15 min w trybie ciągłym są bardziej widoczne wraz z czasem.



Rysunek 7. Zmiana przewodności w funkcji czasu dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV w sposób ciągły (10 min) oraz w sposób ciągły (15 min)

4. Podsumowanie

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań zmian przewodności składnika warstw receptorowych biosensorów pod wpływem czynników zewnętrznych takich jak obniżona temperatura oraz promieniowanie UV. Badania wykazały wpływ czynników na badaną substancję (BSA+Au).

Dla próbek kontrolnych (bez czynnika zewnętrznego) zaobserwowano wzrost przewodności wraz z czasem, powodowany rozfałdowywaniem się łańcuch polipeptydowego proteiny BSA oraz sprzężonych z nią cząsteczek Au; zwiększeniem stopnia dysocjacji (więcej jonów); zmniejszeniem wzajemnych oddziaływań międzyjonowych i solwacyjnych oraz zmniejszenie lepkości rozpuszczalnika.

Badania wpływu obniżonej temperatury na kompleks BSA+Au wykazały stabilizujący charakter. Zmiany zachodzące wraz z czasem po aplikacji obniżonej temperatury zachodziły wolniej niż w próbkach kontrolnych. Na podstawie przeprowadzonej analizy za pomocą fitowania funkcją eksponencjalną stwierdzono, że dynamika zmian dla próbek eksponowanych frakcyjnie (2x5min) i (3x5min) jest mniejsza niż dla próbek eksponowanych w trybie ciągłym (10 min i 15min) czyli zmiany dla ekspozycji frakcyjnej są łagodniejsze niż dla ekspozycji w trybie ciągłym. Badania wpływu promieniowania UV na kompleks BSA+Au udowodniły destabilizujący wpływ promieniowania na badaną substancję. Przeprowadzone analizy udowodniły efekt przyspieszonych zmian konformacyjnych w kompleksie białkowym pod wpływem pola elektromagnetycznego z zakresu UV.

Przyspieszony spadek stabilności mieszaniny BSA+Au może być związany z: rearanżacją kompleksów białkowych w lokalnym środowisku, zmianą uporządkowania łańcucha polipeptydowego pod wpływem pola, zmianą w strukturze drugorzędowej białka wzrostem ilości konformacji helisy i zmniejszenie struktury beta-arkusza, denaturacją białka, zmianami odległości w łańcuchu polipeptydowym, reorganizacją wody w makromolekule BSA+Au zmienionej przez promieniowanie

UV. Eksperyment wykazał, że zmiany pomiędzy próbką poddaną ekspozycji a próbka kontrolna są większe wraz z czasem. Badania zmian przewodności w funkcji czasu dla BSA+Au eksponowanych na promieniowanie UV, frakcyjnie (2x5min) oraz w sposób ciągły (10 min) wykazały szybszy spadek stabilności próbki, gdy zaaplikowane zostało promieniowanie w sposób ciągły. Bardziej łagodniejszy przebieg zmian zaobserwowano podczas aplikacji czynnika w sposób frakcyjny. Udowodniono zatem, że aplikacja promieniowania UV w trybie ciągłym prowadzi do szybszego starzenia się próbki w stosunku do próbki poddanej działaniu promieniowania w sposób frakcyjny.

Badania wpływu czasu ekspozycji udowodniły, że zmiany konformacyjne zachodzą szybciej dla próbek promieniowanych 15min niż dla próbek promieniowanych 10min. Podobny charakter zmian zaobserwowano dla dawek frakcyjnych (3x5min) oraz (2x5 min)

Reasumując, można powiedzieć, że przeprowadzone badania wykazały wpływ czynników zewnętrznych takich jak obniżona temperatura oraz promieniowanie UV na kompleks BSA+Au. Stabilizujący wpływ wykazano pod wpływem obniżonej temperatury oraz destabilizujący poprzez aplikację promieniowania UV. Na otrzymane efekty, śledzone za pomocą zmian przewodności, miał wpływ: czynnik zewnętrzny, sposób jego aplikacji (frakcyjny, ciągły) oraz czas ekspozycji.

5. Podziękowania

Praca została współfinansowana dzięki European Union Erasmus + Programme for Education under KA2 grant (project no 2020-1-PL01-KA203-082197) "innovations for Big Data in a Real World"

LITERATURA

1. MOROŃ Z.: Pomiary przewodności elektrycznej cieczy przy małych częstotliwościach, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław (2003).
2. WRIGHT M.R.: The nature of electrolyte solutions, MacMillan Education, Houndmills, Basingstoke (1988).
3. HARNED H.S., OWEN B.B.: The physical chemistry of electrolytic solutions. Reinhold Publ Corp (1967).
4. KORYTA J., Dvorak J.: Principles of electrochemistry, John Wiley&Sond (1987).
5. SOLDATKINA O. V., SOLDATKIN O.O., VELYCHKO T.P., PRILIPKO V.O., KUIBIDA M.A., DZYADEVYCH S.V.: Conductometric biosensor for arginine determination in pharmaceuticals, *Bioelectrochemistry* **124** (2018), 40-46.
6. GERARD M., CHAUBEY A., MALHOTRON B.D.: Application of conducting polymers to biosensors, *Biosensors and Bioelectronics* **17** (2002), 345-359.
7. MARTSENYUK V., KŁOS-WITKOWSKA A., DZYADEVYCH S., SVERTSIUK S.: Nonlinear Analytics for Electrochemical Biosensor Design Using Enzyme Aggregates and Delayed Mass Action, *Sensors* **22(3)** (2022), 1-17

8. LI Y., SU J., CAVACO-PAULO A.: Laccase-catalyzed cross-linking of BSA mediated by tyrosine, *International Journal of Biological Macromolecules* **166**, (2021), 798-805.
9. SOLDATKIN O. O., SOLDATKINA O.V., POLIPONSKIY I., RIEZNICHENKO L. S., GRUZINA T.G., DYBKOVA S.M., DZYADEVYCH S.V., SOLDATKIN A.P.: Application of gold nanoparticles for improvement of analytical characteristics of conductometric enzyme biosensors. *Applied Nanoscience*, **12** (2022), 995–1003.
10. BOLKOWSKI S: *Elektrotechnika*, Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa (1998).
11. CHINNATHAMBI S., KARTHIKEYAN D., HANAGATAN., ARUNA P., GANESAN S: Effect of Moderate UVC Irradiation on Bovine Serum Albumin and Complex with Antimetabolite 5-Fluorouracil: Fluorescence Spectroscopic and Molecular Modelling Studies, *Int. J. Spectrosc* (2015), 315764.
12. MICHNIK A., MICHALIK K., DRZAZGA Z: Study of stability of bovine serum albumin at different pH, *J Therm Anal Cal* **80** (2005), 399-406.
13. KŁOS-WITKOWSKA A.: Biosensory odpowiedzią na potrzeby współczesnego społeczeństwa. *Trendy i rozwiązania technologiczne : odpowiedź na potrzeby współczesnego społeczeństwa*. Tom 1, redakcja: Monika Maciąg, Kamil Maciąg (2017), 143-151.
14. GOSPODARCZYK ., SZUTKOWSKI K., KOZAK M.: Interaction of Bovine Serum Albumin (BSA) with Novel Gemini Surfactants Studied by Synchrotron Radiation Scattering (SR-SAXS), Circular Dichroism (CD), and Nuclear Magnetic Resonance (NMR), *J. Phys. Chem B* **118** (2014), 8652–8661.

