

**Autoreferat z opisem dorobku i osiągnięć naukowych
związanych z postępowaniem habilitacyjnym**

Dr inż. Małgorzata Piotrowska

Politechnika Łódzka
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

Łódź, 2015

Spis treści

1. Dane personalne.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe (z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej).....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego.....	4
a) Tytuł osiągnięcia.....	4
b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego.....	4
c) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	6
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych.....	19
5.1 Korozja biologiczna materiałów technicznych i mykologia budowlana.....	19
5.2 Zagrożenie czynnikami biologicznym na stanowiskach pracy.....	23
5.3 Mikotoksyny.....	24
5.4 Mikrobiologia żywności ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych.....	26
6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego.....	27
7. Działalność dydaktyczna.....	29
8. Działalność organizacyjna, działalność popularyzująca naukę.....	30

1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Małgorzata Piotrowska**

Miejsce pracy Politechnika Łódzka
 Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
 Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
 ul. Wólczańska 171/173
 90-924 Łódź

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

1991 Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej
 Stopień magistra inżyniera
 Specjalność: chemia i technologia spożywcza
 Praca magisterska: „Kontrola cech fizjologicznych i biochemicznych drożdży znajdujących się w kolekcji ŁOCK”
 Kierujący pracą: dr inż. Piotr Walczak

2002 Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
 Stopień doktora nauk technicznych w zakresie technologii chemicznej
 Praca doktorska: „Eliminowanie ochratoksyny A przez drobnoustroje”
 Promotor: dr hab. inż. Zofia Żakowska, prof. PŁ

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

22.01.1991-30.09.1993 Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji
 i Mikrobiologii,
 starszy referent techniczny

01.10.1994-31.12.2003 Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji
 i Mikrobiologii,
 asystent

01.01.2004
 -do chwili obecnej Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji
 i Mikrobiologii,
 adiunkt

4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art.16 ust.2 Ustawy z dnia 14 marca 2013 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest cykl publikacji naukowych

a) Tytuł osiągnięcia

Mechanizm detoksykacji ochratoxyny A przez bakterie fermentacji mlekowej i drożdże oraz wykorzystanie tego zjawiska na przykładzie winiarstwa

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego

H1 Piotrowska M., Roszak J., Stańczyk M., Palus J., Dziubałtowska E., Stępnik M. (2014) Effects of lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* on growth of *Aspergillus westerdijkiae* and ochratoxin A production and toxicity. *World Mycotoxin Journal*, 7 (3), 313-320.

(indywidualny wkład: koncepcja pracy, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, udział w prowadzeniu badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji autor korespondencyjny, 70%)

IFs-letni: 1,959, MNiSW=25 pkt

H2 Piotrowska M. (2012) Wykorzystanie mikroorganizmów do usuwania mikotoksyn z żywności i pasz. *Postępy Mikrobiologii*, 51, 2,109-119.

(indywidualny wkład: koncepcja pracy, studia literaturowe, autor korespondencyjny, 100%)

IF_{2oi2}=0,151, MNiSW=15 pkt, cytowane 2 razy wg Web of Science

H3 Piotrowska M. (2014) The adsorption of ochratoxin A by *Lactobacillus* species. *Toxins*, 6, 2826-2839.

(indywidualny wkład: koncepcja pracy; planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników; przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny, 100%)

IFs-letni: 2,922, MNiSW=30 pkt

H4 Piotrowska M. (2012) Adsorption of ochratoxin A by *Saccharomyces cerevisiae* living and non-living cells. *Acta Alimentaria*, 41 (1), 1-7.

(indywidualny wkład: koncepcja pracy; planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników; przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny, 100%)

IF_{2oi2}=0,485, MNiSW=15 pkt, cytowane 3 razy wg Web of Science

H5 **Piotrowska M.**, Masek A. (2015) *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components as tools for ochratoxin A decontamination. *Toxins*, 7,1151-1162.

(Indywidualny wkład: koncepcja pracy, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji autor korespondencyjny,

IF₂₀₁₃: 2,922, MNiSWOM: 30 pkt

H6 **Piotrowska M.**, Nowak A., Czyżowska A. (2013) Removal of ochratoxin A by wine *Saccharomyces cerevisiae* strains. *European Journal of Food Research and Technology*, 236, 441-447.

(indywidualny wkład: koncepcja pracy, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji, autor korespondencyjny, 80%)

IF₂₀₁₃: 1,436, MNiSW: 30 pkt, cytowane 6 razy wg Web of Science

Oświadczenia współautorów odnośnie ich udziału w powstawaniu wspólnych publikacji stanowiących jednotematyczny cykl zostały zamieszczone w **załączniku 5**.

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych zostało przedstawione w publikacjach o łącznej wartości współczynnika **IF = 9,875 (145 pkt MNiSW)**.

Ponadto pozostałe osiągnięcia naukowe zostały przedstawione w publikacjach o wartości współczynnika **IF = 38,942 (684 pkt MNiSW)**.

Sumaryczny *Impact Factor* wynosi **IF = 48,817**, łączna liczba punktów zgodnie z kryteriami MNiSW wynosi **829** punktów MNiSW.

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 5, zaś liczba cytowań 97 (bez autocytowań).

Według bazy Scopus wartość Indexu Hirscha wynosi **8**, zaś liczba cytowań **178** (bez autocytowań).

c) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

W procesach biotechnologicznych, takich jak winiarstwo, browarnictwo, gorzelnictwo, czy piekarnictwo wykorzystuje się surowce pochodzenia roślinnego: owoce i zboża. Surowce te ze względu na skład chemiczny, wartość pH w zakresie od 3 do 7 oraz dużą zawartość wody są szczególnie podatne na zanieczyszczenia mikrobiologiczne grzybami pleśniowymi. Rośliny już podczas wegetacji na polu są kolonizowane przez pleśnie patogenne, a po zbiorze, również saprofityczne. Efektem rozwoju pleśni są widoczne uszkodzenia, zmiany zabarwienia zbóż oraz zgnilizny miękkie lub suche na owocach i warzywach, co dyskwalifikuje produkt i jest przyczyną dużych strat ekonomicznych. Organizmy te są przyczyną obniżenia wydajności i jakości plonów, jak również wytwarzają metabolity - mikotoksyny, związki lotne, kwasy organiczne, które nie tylko mogą wpływać negatywnie na przebieg procesów biotechnologicznych, ale też na bezpieczeństwo produktu finalnego. Mikotoksyny wykazują wielokierunkowe działanie na organizmy człowieka i zwierząt, powodują uszkodzenie wątroby, nerek, zakłócają funkcjonowanie przewodu pokarmowego i układu immunologicznego. Mogą wykazywać właściwości kancerogenne, mutagenne, cytotoksyczne, teratogenne, neurotoksyczne czy estrogenne.

Dobre praktyki rolnicze (GAP good agricultural practices) oraz dobre praktyki wytwarzania (GMP good manufacturing practices) stanowią pierwsze linie obrony przed zanieczyszczeniami surowców roślinnych przez mikotoksyny. Najlepszym sposobem zabezpieczenia przed rozwojem grzybów toksynotwórczych i tworzeniem mikotoksyn są działania prewencyjne polegające na odpowiednim traktowaniu surowca podczas wegetacji, zbioru i magazynowania. Jednak nie zawsze te zabiegi są skuteczne. Zabiegi mające na celu obniżenie poziomu mikotoksyn, na przykład działanie wysokiej temperatury, środków utleniających czy amoniaku, wykorzystywane w przemyśle paszowym nie mogą być stosowane dla żywności oraz surowców przeznaczonych do jej produkcji. Dlatego też metody biologiczne polegające na wykorzystaniu mikroorganizmów do obniżenia stężenia mikotoksyn mogą być bardziej bezpieczną alternatywą dla metod chemicznych i fizycznych. Tematyka ta była przedmiotem mojego zainteresowania i stała się tematem pracy doktorskiej nt. „Eliminowanie ochratoksyny A przez drobnoustroje”, której promotorem była prof, dr hab. inż. Zofia Żakowska. Pracę obroniłam w 2002 roku uzyskując stopień doktora nauk technicznych w zakresie technologii chemicznej. W pracy doktorskiej wykazałam, że bakterie fermentacji mlekowej (LAB) i drożdże są zdolne do obniżania zawartości ochratoksyny A (OTA) w środowisku hodowlanym. Przebadalam 31 szczepów bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus* i *Lactococcus* oraz 6 szczepów drożdży z rodzaju *Saccharomyces* i *Hansenula*. Wytypowałam szczepy obdarzone cechą obniżania zawartości ochratoksyny A w najwyższym stopniu. W odniesieniu do bakterii *Lactobacillus acidophilus* podjęłam próbę oceny zmian strukturalnych ochratoksyny A po działaniu bakterii. Wykazałam, że pod wpływem bakterii następuje otwarcie pierścienia laktonowego

w cząsteczce. Niestety późniejsze badania nie potwierdziły tego faktu dla innych gatunków bakterii, np. *Lactobacillus plantarum*.

Po uzyskaniu stopnia doktora dostrzegłam, że wykorzystanie mikroorganizmów do dekontaminacji żywności i pasz budzi duże nadzieje, ale też kontrowersje, głównie ze względu na niezajomość mechanizmów zachodzących podczas usuwania ochratoksyny A. Fakt ten wyznaczył kierunek dalszych moich badań. Wyrazem moich dążeń do wyjaśnienia zagadnienia mechanizmu usuwania ochratoksyny A oraz czynników wpływających na ten proces było złożenie w 2004 roku projektu badawczego do KBN pt. „*Badanie mechanizmu usuwania ochratoksyny A przez biotechnologiczne szczepy Lactobacillus sp. i Saccharomyces sp.*”, którego realizacja pod moim kierownictwem miała miejsce w latach 2005-2007, już po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych. Fakt uzyskania akceptacji przedstawionego programu badawczego był jednocześnie potwierdzeniem, że wiedza istniejąca w tym obszarze badań jest nadal niewystarczająca. Głębsze poznanie zagadnień stało się spójne z możliwością praktycznego zastosowania zjawiska adsorpcji OTA przez drożdże w technologii winiarskiej. Wybór takiego kierunku wynikał z pojawiających się po 2004 roku sprzecznych publikacji na temat losów ochratoksyny A podczas fermentacji wina ([Angioni i wsp. 2007](#); [Bejaoui i wsp. 2004](#)). Liczne doniesienia naukowe wskazywały na powszechne zanieczyszczenie owoców winorośli przez toksynotwórcze grzyby pleśniowe, zaś moszczów gronowych i win gronowych przez ochratoksynę A, która należy do drugiej grupy wykazu substancji rakotwórczych i ma właściwości nefrotoksyczne ([Battilani i wsp. 2006](#)). O skali zagrożenia dla konsumentów świadczy fakt ustalenia przez Komisję Europejską w 2005 roku maksymalnych, dopuszczalnych limitów zanieczyszczenia przez OTA na poziomie 2 ng/l.

Raport końcowy z projektu badawczego został poddany recenzjom i oceniony pozytywnie pod względem merytorycznym. Rezultaty badań prowadzonych w ramach projektu badawczego prezentowane były na konferencjach międzynarodowych i krajowych, gdzie wzbudzały duże zainteresowanie. W trakcie realizacji projektu badawczego odpowiadałam na wiele pytań przybliżających mnie do rozwiązania zawartego w tytule problemu oraz praktycznego wykorzystania zjawiska adsorpcji ochratoksyny A przez mikroorganizmy w winiarstwie. Pojawiły się jednak nowe pytania, które stały się motywacją do podjęcia dalszych badań i poszerzania wiedzy w tym zakresie. Odpowiedzi na nie znalazłam w trakcie realizacji kolejnych badań, już po zakończeniu grantu.

Artykuły zawierające wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektu badawczego uzupełnione o rezultaty kolejnych badań przygotowywałam w latach 2008-2010, ukazywały się one w druku począwszy od 2012 roku. Oprócz badań objętych projektem analizowałam również inne aspekty - wpływ właściwości powierzchni komórek oraz wyizolowanych składników komórkowych na proces detoksykacji. Te wyniki ukazały się w formie publikacji w ostatnich dwóch latach (2014-2015).

Podczas realizacji grantu i po jego zakończeniu byłam też zaangażowana w projekty badawcze prowadzone przez Zakład Mikrobiologii Technicznej, indywidualnie bądź we współpracy z innymi ośrodkami badawczymi, jak również w działalność związaną

z ekspertyzami na zlecenie przemysłu. Do udziału w tych działaniach byłam zapraszana ze względu na moje doświadczenie praktyczne i wiedzę specjalistyczną.

Jednak to zagadnienia związane z usuwaniem ochratoksyny A były przede wszystkim przedmiotem mojego zainteresowania naukowego i głównym, choć równoległym do innych, nurtem moich własnych badań naukowych.

Prowadzone badania i uzyskane wyniki określają osiągnięcie naukowe zawarte w monotematycznym zbiorze sześciu publikacji o tytule „**Mechanizm detoksykacji ochratoksyny A przez bakterie fermentacji mlekowej i drożdże oraz wykorzystanie tego zjawiska na przykładzie winiarstwa**”. Publikacje te powstały po zakończeniu w/w projektu badawczego, zaś kolejność przedstawienia w autoreferacie wynika z ich merytorycznej treści.

Spośród mikotoksyn zanieczyszczających surowce pochodzenia roślinnego w warunkach klimatycznych Europy największe znaczenie ma ochratoksyna A. Jest ona produkowana przez grzyby z rodzaju *Penicillium* (*P.verrucosum*, *P.aurantiogriseum*, *P.nordicum*, *P.palitanis*, *P. commune*, *P.variabile*) i *Aspergillus* (*A.ochraceus*, *A. westerdijkiae*, *A.melleus*, *A.ostianus*, *A.carbonarius*, *A.niger*). Do kolonizacji przez te organizmy zachodzi zarówno na polu jak i podczas przechowywania surowców. Stosowanie w trakcie wytwarzania i przechowywania surowców spożywczych związków chemicznych takich jak kwas benzoowy, propionowy czy mrówkowy hamujących rozwój pleśni jest powszechną praktyką. Jednakże ich zastosowanie ze względu na negatywny wpływ na zdrowie człowieka oraz nabywanie przez grzyby oporności jest ograniczone. Kwestia ochrony środowiska i bezpieczeństwa żywności, a także aspekty ekonomiczne wymogły potrzebę znalezienia bezpiecznej alternatywy dla chemicznych środków grzybobójczych, jaką jest zastosowanie metod biologicznych.

Wykazanie, czy szczepy drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i bakterii fermentacji mlekowej środowiska roślinnego z rodzaju *Lactobacillus* wykorzystywane w procesach biotechnologicznych wykazują antagonistyczne właściwości wobec toksynotwórczych grzybów pleśniowych oraz czy następuje detoksykacja środowiska pod wpływem tych organizmów stało się jednym z celów badań, których rezultaty zawarłam w publikacji **HI**:

Piotrowska M., Roszak J, Stańczyk M., Palus J., Dziubałtowska E., Stępnik M. (2014) Effects of lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* on growth of *Aspergillus westerdijkiae* and ochratoxin A production and toxicity. World Mycotoxin Journal, 7 (3), 313-320.

(IF₅-letni=1,959, MNiSW=25 pkt)

Zastosowany w badaniach *Aspergillus westerdijkiae* NRRL3174 znany jest w literaturze jako szczep wysoce toksynotwórczy wytwarzający ochratoksynę A. Wykazałam, że drożdże całkowicie hamują rozwój tej pleśni, przy symultanicznej hodowli tych dwóch organizmów. W przypadku bakterii fermentacji mlekowej inhibicja wzrostu pleśni również miała miejsce, ale nie była tak intensywna. W przypadku, gdy bakterie mlekowe i drożdże

dodano do pożywki po 48 godzinach hodowli pleśni również obserwowałam ograniczenie wzrostu *A.westerdijkiae*, ale w mniejszym stopniu. Efekt dominacji bakterii mlekowych i drożdży w środowisku modelowym wynika z krótszego czasu generacji tych organizmów w porównaniu z grzybami strzępkowymi. Jednocześnie przyczyną osłabienia wzrostu pleśni jest konkurencja o miejsce i składniki odżywcze, modyfikacja przez bakterie i drożdże wartości pH, jak również produkcja metabolitów o aktywności fungistatycznej.

Badane organizmy wykazywały również wpływ na produkcję OTA przez *A.westerdijkiae*, zależnie od sposobu prowadzenia hodowli. Po 10 dniach hodowli mieszanej populacji, zarówno z drożdżami jak i LAB, obserwowałam znaczące obniżenie ilości ochratoksyny A w pożywce w porównaniu z monokulturą pleśni. Jednakże w populacji mieszanej z drożdżami, wzrost pleśni był ograniczony, zaś wydajność syntezy toksyny przez lg biomasy była wyższa niż w monokulturze. Wiąże się to z faktem, że stresogenne czynniki środowiskowe lub odżywcze jakie istnieją w tych mieszanych populacjach, stymulują tworzenie metabolitów toksycznych. Słabsze hamowanie wytwarzania toksyny obserwowałam podczas drugiego wariantu hodowli, gdy pożywka była zaszczerpiona *A.westerdijkiae* przed bakteriami czy drożdżami. Stwierdziłam, iż intensywne hamowanie produkcji ochratoksyny A przez LAB w hodowli symultanicznej może być związane z wydzielaniem metabolitów na początku hodowli, tj. w fazie logarymicznego wzrostu.

Interesującym aspektem oddziaływania między drożdżami i bakteriami mlekowymi a ochratoksyną A było dla mnie zbadanie zmian cytotoksyczności i genotoksyczności środowiska zachodzących pod wpływem tych organizmów. W ocenie cytotoksyczności zastosowałam test MTT w odniesieniu do komórek linii LLC-PK1 (komórki nabłonkowe nerek świni). Miarą oddziaływania cytotoksycznego były zmiany żywotności komórek w porównaniu z hodowlą linii komórkowych w pożywce optymalnej M199.

Wyzaczyłam IC50 dla ochratoksyny A w badaniach na komórkach linii LLC-PK1 w warunkach prowadzenia doświadczenia na poziomie 1,2 ng/ml.

Stwierdziłam, że ekspozycja komórek LLC-PK1 na OTA w dawce 1,5 μ g/ml spowodowała obniżenie ich żywotności w porównaniu z pożywką kontrolną YPG, zaś płyn pohodowlany z hodowli drożdży w pożywce konta minowanej OTA nie wpłynął znacząco na żywotność komórek LLC-PK1. Wykazałam, że dodatek ochratoksyny A do pożywki MRS spowodował zahamowanie rozwoju komórek nabłonkowych, a po ekspozycji na supernatant z hodowli bakterii mlekowych w pożywce z OTA, żywotność komórek ponownie zwiększyła się. Rezultaty te dowodzą, że bakterie fermentacji mlekowej wydzielają do pożywki metabolity działające ochronnie na komórki nabłonkowe.

Ocena genotoksyczności była prowadzona metodą kometową (ang. Com met assay), w której kontrolowano uszkodzenia DNA w komórkach LLC-PK1. Miarą genotoksyczności był tzw. moment ogonowy. Wysoka wartość tego parametru wskazuje na fragmentację DNA. Stwierdziłam, że pod wpływem supernatantu po hodowli drożdży i bakterii moment ogonowy komórek uległ znacznemu zmniejszeniu w porównaniu z pożywkami zawierającymi ochratoksynę A. Najwyższą aktywnością antygenotoksyczną charakteryzowały się drożdże winiarskie i bakterie *Lactobacillus brevis*. Rezultaty te potwierdzają znane w literaturze

antycytotoksyczne i antygenotoksyczne właściwości bakterii fermentacji mlekowych, ale badane jedynie w odniesieniu do aflatoksyny B₁ (Deabes i wsp., 2012). Nie były dotąd prowadzone takie badania dotyczące ochratoksyny A. W swojej pracy po raz pierwszy zastosowałam metody badania cytotoksyczności i genotoksyczności środowiska zanieczyszczonego tą toksyną.

W powyższej pracy (**H1**) dowiodłam, że:

Bakterie fermentacji mlekowej środowiska roślinnego oraz drożdże są skutecznym czynnikiem ograniczającym wzrost grzybnii *Aspergillus westerdijkiae* oraz syntezę ochratoksyny A

- Organizmy te, a szczególnie bakterie mlekowe pełnią rolę ochronną w stosunku do komórek linii LLC-PK1, wykazując antycytotoksyczne i antygenotoksyczne właściwości.

Literatura światowa wskazuje bakterie fermentacji mlekowej i drożdże jako organizmy o szczególnych uzdolnieniach do detoksykacji środowisk zanieczyszczonych mikotoksynami. Badania te skupiają się głównie na aflatoksynie, patulinie, toksynach fuzaryjnych, natomiast w mniejszym stopniu na ochratoksynie A. Spośród mikroorganizmów wykazujących uzdolnienia do dekontaminacji, szczególne zainteresowanie budzą bakterie fermentacji mlekowej. Są to bowiem organizmy korzystnie oddziałujące na zdrowie człowieka, bezpieczne, wiążące mutageny pochodzenia żywnościowego i środowiskowego (Kim i wsp. 2007, Tsai i wsp. 2012). Ponadto zarówno bakterie fermentacji mlekowej jak i drożdże stosowane są w wielu procesach fermentacyjnych, w tym w piekarnictwie i winiarstwie, w których przetwarzany surowiec może być zanieczyszczony ochratoksyną A.

Przegląd aktualnego stanu wiedzy w tym zakresie, z uwzględnieniem aspektów praktycznych przedstawiłam w artykule przeglądowym **H2**:

Piotrowska M. (2012) Wykorzystanie mikroorganizmów do usuwania mikotoksyn z żywności i pasz. Postępy Mikrobiologii, tom 51, zeszyt 2,109-119.

(IF_{2oi2}=0,151, MNiSW=15 pkt)

Ustalenie mechanizmu, który jest odpowiedzialny za proces obniżania zawartości ochratoksyny A w środowisku przez szczepy bakterii fermentacji mlekowej, jak również wykazanie roli, jaką w tym procesie spełniają właściwości powierzchniowe komórek stało się kolejnym moim celem. Rezultaty badań przedstawiłam w publikacji **H3**:

Piotrowska M. (2014) The adsorption of ochratoxin A by *Lactobacillus* species. Toxins, 6, 2826-2839

(IF_{5-letni}=2,922, MNiSW=30 pkt)

Stwierdziłam obniżenie ilości ochratoksyny A w pożywce mikrobiologicznej, ujawniające się szczególnie intensywnie przy zastosowaniu 5 mg suchej biomasy komórek/ml). Hodowla prowadzona z udziałem *Lactobacillus plantarum* okazała się najbardziej efektywna. Badania w buforze PBS, w którym nie ma żadnych składników odżywczych dla drobnoustrojów, a komórki nie rozmnażają się, wykazały, że obniżenie ilości toksyny wyrażone w % w stosunku do wartości początkowej było zależne jedynie od gęstości biomasy, nie obserwowałam zróżnicowania między szczepami. Wykazałam, że cecha usuwania ochratoksyny A nie występuje u bakterii gramujemnych *Escherichia coli*, co wynika z budowy ich ściany komórkowej, obecności lipopolisacharydów oraz znacznie mniejszej ilości peptydoglikanu niż u gramodatnich bakterii mlekowych.

Przy zastosowaniu biomasy bakterii mlekowych inaktywowanej termicznie obserwowałam kilkukrotnie większą efektywność procesu redukcji ilości toksyny niż przy udziale biomasy żywych komórek o takiej samej gęstości. Uzyskane wyniki potwierdzają, że do zaistnienia zjawiska usuwania ochratoksyny A nie jest konieczne działanie komórek aktywnych metabolicznie, a więc toksyna jest adsorbowana do składników komórkowych. Zjawisko adsorpcji toksyn do martwej biomasy jest zgodne z danymi literaturowymi, ale odnoszącymi się do innej toksyny - aflatoksyny B₁ (Haskard i wsp. 2001). Stwierdziłam, że przyczyną wykazanej przeze mnie lepszej adsorpcji ochratoksyny A przez komórki martwe niż żywe mogą być zmiany w ścianie komórkowej bakterii zachodzące pod wpływem wysokiej temperatury: denaturacja białek, generowanie porów w strukturze ściany komórkowej, co zwiększa przepuszczalność zewnętrznych warstw ściany komórkowej i zwiększenie liczby miejsc aktywnych odpowiedzialnych za adsorpcję różnych związków. Zjawisko adsorpcji ochratoksyny A przez martwą biomasę bakterii jest korzystne i możliwe do wykorzystania w praktyce, ponieważ przy takim sposobie dekontaminacji mogą być zachowane walory organoleptyczne produktów, zaś komórki bakterii stosowane jako suplement diety, zapobiegają wchłanianiu toksyn w przewodzie pokarmowym.

Wykazałam, że proces adsorpcji ochratoksyny A przebiega jedynie w obecności ściany komórkowej bakterii, sferoplasty pozbawione tego składnika nie adsorbują ochratoksyny A. Według danych literaturowych ale odnoszących się do toksyn fuzaryjnych o odmiennej budowie chemicznej, główną rolę w zjawisku adsorpcji tych mikotoksyn pełnią peptydoglikan i polisacharydy, jak również kwas teichowy i lipoteichowy (Niderkorn i wsp. 2009).

Stwierdziłam, że ok. 30% wcześniej zaadsorbowanej ochratoksyny A było uwalniane z biomasy bakterii pod wpływem wymywania zarówno wodą, jak i kwasem solnym. Można więc przypuszczać, że również w środowisku przewodu pokarmowego o obniżonym pH ten proces desorpcji będzie także zachodził.

Na podstawie wyników badań metodą MATS (microbial adhesion to solvents) stwierdziłam, że powierzchnia żywych komórek LAB jest silnie hydrofilowa. Pod wpływem wysokiej temperatury powierzchnia komórek badanych bakterii mlekowych, niezależnie od gatunku, stała się hydrofobowa. Komórki inaktywowane termicznie były też bardziej efektywne w usuwaniu toksyny, co wskazuje, że za ten proces odpowiedzialny jest ich hydrofobowy charakter powierzchni. Fakt, że również komórki żywe LAB, mimo

hydrofilowego charakteru powierzchni wiązały toksynę wynika prawdopodobnie z tego, że nie cała powierzchnia jest hydrofilowa, a istnieją na niej miejsca hydrofobowe, tzw. kieszenie hydrofobowe (Haskard i wsp. 2001). Wykazałam, że powierzchnia komórek gramujemnych *Escherichia coli* jest umiarkowanie hydrofilowa. Jednak brak wiązania toksyny przez tę bakterię dowodzi, że o adsorpcji decydują oprócz charakteru powierzchni, też inne czynniki, np. budowa chemiczna ściany komórkowej, która u bakterii gramujemnych zawiera więcej lipolisacharydów.

Wykazałam ponadto, że powierzchnia komórek bakterii mlekowych jest zasadowa, na co wskazuje duże powinowactwo bakterii do chloroformu, rozpuszczalnika, który podobnie jak ochratoksyna A ma charakter kwasowy (kwas Lewisa) i jest akceptorem elektronów. Rezultaty tych badań wskazują, że komórki LAB są silnymi donorami elektronów i słabymi akceptorami elektronów. Można przypuszczać, że w wiązaniu toksyny do komórki mają udział również interakcje donor-akceptor elektronów oraz interakcje między kwasami i zasadami Lewisa.

W pracy **H3** dowiodłam, że:

Bakterie gramujemne *Escherichia coli* nie adsorbują ochratoksyny A

Ściana komórkowa bakterii fermentacji mlekowej odgrywa decydującą rolę w adsorpcji ochratoksyny A do komórek bakterii fermentacji mlekowej

Na proces adsorpcji ochratoksyny A do komórek bakterii ma wpływ hydrofobowy charakter powierzchni komórek oraz interakcje donor-akceptor elektronów.

Powierzchnia komórek bakterii mlekowych ma hydrofilowy charakter, który po inaktywacji termicznej zmienia się na hydrofobowy, czym można tłumaczyć większą adsorpcję ochratoksyny A do martwych komórek.

Rezultaty badań zawarte w kolejnej publikacji dotyczyły sprawdzenia, czy zależności, które wykazałam dla bakterii fermentacji mlekowej mają miejsce również w odniesieniu do drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Wyniki dotyczące adsorpcji ochratoksyny A przez komórki drożdży-żywe i martwe zostały przedstawione w publikacji **H4**:

Piotrowska M. (2012) Adsorption of ochratoxin A by *Saccharomyces cerevisiae* living and non-living cells. Acta Alimentaria, 41 (1), 1-7.

(IF₂₀₁₂=0,485, MNiSW=15 pkt)

Stwierdziłam, że po 24 godzinach kontaktu komórek drożdży z ochratoksyną A nastąpiło obniżenie stężenia OTA w stopniu zależnym od gęstości biomasy. W trakcie eksperymentu prowadzonego w warunkach dynamicznych z wytrząsaniem zaobserwowałam nieco mniejsze wiązanie toksyny niż w warunkach statycznych, co potwierdza powierzchniowe, fizyczne wiązanie toksyny z biomasą drożdży. Zastosowanie martwej biomasy drożdży spowodowało obniżenie stężenia OTA, w stopniu prawie dwukrotnie

wyższym niż przy zastosowaniu biomasy żywej. Fakt, że obniżenie ilości toksyny następuje po działaniu biomasy martwej potwierdza, że w procesie adsorpcji do biomasy komórkowej nie są konieczne komórki aktywne metabolicznie. Zaobserwowałam desorpcję ochratoksyny A z komórek, intensywniejszą w przypadku komórek martwych. Mimo zachodzącego zjawiska desorpcji wciąż na komórkach pozostawało powyżej 60% OTA zawartej w buforze na początku doświadczenia.

Wykazałam, że w procesie adsorpcji do komórek drożdży decydującą rolę odgrywa ściana komórkowa drożdży. Według [Raju i Devegowda \(2000\)](#) za adsorpcję mikotoksyn do komórki odpowiedzialne są składniki polisacharydowe ściany komórkowej, w tym glukan i mannan. Porównując wyniki uzyskane dla drożdży i bakterii fermentacji mlekowej (**publikacja H3 i H4**) wykazałam, że mimo różnic w budowie ściany komórkowej tych organizmów proces adsorpcji ochratoksyny A do komórek tych organizmów przebiega w taki sam sposób.

W pracy **H4** wykazałam, że:

Decydującą rolę w procesie adsorpcji ochratoksyny A przez drożdże odgrywa ściana komórkowa, jest ona niezbędna do zaistnienia adsorpcji

Wiązanie komórek drożdży z ochratoksyną A podlega częściowej desorpcji pod wpływem wody.

Fakt, że decydującą rolę w adsorpcji ochratoksyny A przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae* odgrywa ściana komórkowa, zainspirował mnie do zbadania, które frakcje ściany komórkowej są za to odpowiedzialne. Stało się to celem badań przedstawionych w publikacji **H5**:

Piotrowska M., Masek A. (2015) *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components as tools for ochratoxin A decontamination. *Toxins*, 7,1151-1162.

(IFs-ietni: 2,922, MNiSW₂₀₁₄: 30 pkt)

Otrzymałam trzy preparaty z suszonych drożdży browarniczych: ścianę komórkową pozbawioną substancji białkowych oraz glukan wyekstrahowany ze ścian komórkowych poprzez działanie alkaliami oraz działanie wodą w podwyższonej temperaturze. Dostępna w literaturze metoda otrzymywania tych preparatów została przeze mnie zoptymalizowana i zmodyfikowana. Ponadto przedmiotem badań był glukan dostępny komercyjnie, który według deklaracji producenta zawiera ponad 70% (1,3)-(1,6)-(3-D-glukanu. Otrzymane preparaty różniły się pod względem mikrostruktury - glukan komercyjny skupiony był w regularne konglomeraty o średnicy od 10 do 70 μm . Glukany wyekstrahowane przeze mnie tworzyły również konglomeraty, ale znacznie mniejsze i nie tak regularne jak w przypadku glukanu komercyjnego.

Metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) potwierdziłam występowanie charakterystycznych dla polisacharydów pasm w widmie we wszystkich badanych preparatach ściany komórkowej. W próbkach glukanów odnotowałam charakterystyczne dla (3-glukanu pasma przy braku pasm typowych dla α -glukanu. Oznacza to, że zastosowane metody ekstrakcji prowadzą do otrzymania preparatów glukanu. Są to glukany nierozpuszczalne w zasadach (alkali-insoluble) i nierozpuszczalne w wodzie.

Wykazałam, że najwięcej ochratoksyny A wiązał preparat ze ściany komórkowej drożdży, a najmniej preparat glukanu otrzymany przez alkaliczną ekstrakcję. Nie stwierdziłam różnic we właściwościach adsorpcyjnych między glukanem ekstrahowanym wodą a glukanem komercyjnym. Ze względu na to, że preparaty zostały pozbawione substancji białkowych, stwierdziłam, że za adsorpcję ochratoksyny A odpowiedzialna jest polisacharydowa frakcja ściany komórkowej drożdży, czyli (3-glukany.

Wykorzystując metodę two-way ANOVA z testem post hoc Tukeya wykazałam, że rodzaj preparatu i wartość pH znacząco wpływają na wydajność adsorpcji ochratoksyny A. Adsorpcja była najwyższa w zakresie pH od 5,5 do 7. Wzrost pH w środowisku powyżej 8 spowodował znaczne obniżenie właściwości adsorpcyjnych. Może to być skutkiem zmiany przestrzennej konformacji glukanów w środowisku alkalicznym. Potwierdzeniem negatywnego wpływu wysokiego pH na właściwości adsorpcyjne glukanów jest bardzo niska adsorpcja OTA przez glukan otrzymany metodą ekstrakcji KOH, co wynika prawdopodobnie ze zmian w cząsteczce glukanu w trakcie ekstrakcji oraz odmiennego składu cukrów niż w pozostałych preparatach.

W pracy **H5** wykazałam, że:

- Za adsorpcję ochratoksyny A przez drożdże odpowiedzialne są składniki polisacharydowe ściany komórkowej drożdży - (3-glukany
- Zaproponowany sposób ekstrakcji glukanów z wykorzystaniem wody i wysokiej temperatury prowadzi do otrzymania preparatu aktywnego w procesie adsorpcji ochratoksyny A, w odróżnieniu od preparatu uzyskanego metodą alkalicznej ekstrakcji
- Adsorpcja ochratoksyny A przez preparaty ściany komórkowej drożdży zachodzi najintensywniej w pH od 5,5 do 7.

Wykazane w powyższych publikacjach właściwości adsorpcyjne bakterii fermentacji mlekowej oraz drożdży i preparatów otrzymanych z ich ścian komórkowych skłoniły mnie do oceny tego zjawiska i możliwości jego wykorzystania w procesach biotechnologicznych. Jako przykład wybrałam fermentację win, ponieważ w tym procesie surowiec może być szczególnie zanieczyszczony przez ochratoksynę A.

Wina gronowe mogą być poważnym źródłem ekspozycji konsumentów na ochratoksynę A. Warunki klimatyczne południowej Europy sprzyjają rozwojowi na owocach winorośli toksynotwórczych szczepów *Aspergillus*, należących głównie do sekcji *Nigri*. Wzrost

pleśni w winie jest silnie hamowany przez etanol i warunki beztlenowe podczas procesu fermentacji, wobec czego największe znaczenie jako źródło zanieczyszczenia ma jakość surowca. Ilość OTA w winie zależy od różnych czynników, jak temperatura, wilgotność, natlenienie, zastosowane szczepy drożdży, oraz sposób produkcji i obróbki gotowego produktu (Biesa i wsp. 2006). Dane literaturowe wskazują, że wina są w znacznym stopniu zanieczyszczone ochratoksyną A. Ochratoksyna A wnoszona wraz z sokiem winogronowym i winem stanowi 34% w ogólnym narażenia konsumentów europejskich na tę toksynę. Brak jest natomiast danych literaturowych na temat zanieczyszczenia przez OTA moszczów owocowych i losów tej toksyny w trakcie fermentacji win z owoców krajowych.

Zanieczyszczenie moszczy przez toksyny pleśniowe może wpływać na przebieg fermentacji i metabolizm drożdży. W celu ograniczenia zanieczyszczenia przez ochratoksynę A podejmowane są działania prewencyjne polegające na właściwym doborze surowca, ale można też zastosować odpowiednio dobrane szczepy (rasy) drożdży winiarskich charakteryzujących się zdolnością do adsorbowania toksyny podczas fermentacji. Innym rozwiązaniem staje się wykorzystanie naturalnych adsorbentów, np. inaktywowanych termicznie komórek drożdży czy preparatów ściany komórkowej.

Zastosowanie w praktyce enologicznej uzyskanych wyników badań dotyczących drożdży oraz ocena wpływu ochratoksyny A na przebieg fermentacji stało się celem badań, których rezultaty zostały przedstawione w publikacji H6:

Piotrowska M., Nowak A., Czyżowska A. (2013) Removal of ochratoxin A by wine *Saccharomyces cerevisiae* strains. European Journal of Food Research and Technology, 236, 441-447.

(^2013=1,436, MNiSW: 30 pkt)

W badaniach zastosowałam dwa szczepy drożdży winiarskich gatunku *Saccharomyces cerevisiae* rasę Malaga i Syrena. Prowadziłam fermentację moszczu gronowego oraz z czarnej porzeczki kontaminowanych ochratoksyną A. Nie wykazałam wpływu ochratoksyny A na plon biomasy drożdży w próbkach moszczu gronowego i z czarnej porzeczki. Odnotowałam jedynie wydłużenie lag-fazy o ok. 5 godzin jak również zwiększenie maksymalnej szybkości wzrostu (μ_{max}) w pożywce YPG kontaminowanej toksyną w porównaniu z próbką kontrolną. Wykazałam, że fermentacja moszczu gronowego wolnego od toksyny prowadzona przy udziale szczepu Syrena przebiega najbardziej dynamicznie. Fermentacja moszczu porzeczki przebiegała mniej intensywnie niż w gronowym, dodatkowo OTA obniżała tempo procesu. Na przykładzie szczepu Syrena oceniłam również wpływ ochratoksyny A na produkcję etanolu oraz produktów ubocznych fermentacji. Nie stwierdziłam różnic statystycznie istotnych pomiędzy zawartością etanolu w winach z kontaminowanych moszczy a próbkami kontrolnymi, zarówno dla wina gronowego jak i z czarnej porzeczki. Nie wykazałam też wpływu ochratoksyny A na ilość wytworzonego glicerolu, kwasów organicznych: octowego, bursztynowego i cytrynowego. Rezultaty tej części badań wskazują, że zanieczyszczenie surowców przez ochratoksynę A nie wpływa znacząco na wydajność

i parametry fermentacji. Jednakże ze względu na zagrożenie dla konsumenta nie można tego zanieczyszczenia lekceważyć.

Kolejnym aspektem badań była ocena zmian ilości ochratoksyny A w moszczach podczas fermentacji. W moszczu gronowym obydwie badane szczepy usuwały ochratoksynę A w stopniu niezależnym od rasy drożdży przekraczającym 80% początkowej jej zawartości. Eksperyment z moszczem porzeczkowym wykazał zróżnicowanie między szczepami. Efektem fermentacji prowadzonej przez rasę Syrena było usunięcie prawie 6-razy więcej ochratoksyny A niż przy zastosowaniu rasy Malaga. Wyniki te wskazują, że usuwanie toksyny zależy od szczepu drożdży oraz od rodzaju środowiska fermentacyjnego.

W następnym etapie badań oceniałam możliwość adsorpcji ochratoksyny A w moszczach przy użyciu martwej, inaktywowanej termicznie biomasy drożdży. Cechę adsorpcji OTA przez taką biomasę wykazałam bowiem w publikacji **H4**. Inaktywowana termicznie biomasa drożdży użyta w ilości 5g suchej masy/l spowodowała obniżenie ilości OTA w moszczu gronowym i porzeczkowym o ponad 60%. Wykorzystanie martwej biomasy drożdży jako adsorbenta w praktyce enologicznej ma wiele zalet, gdyż nie zmienia cech organoleptycznych produktu finalnego. Zaproponowana metoda dekontaminacji jest bardziej przydatna dla win białych niż czerwonych.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że zastosowanie biologicznych adsorbentów niesie nowe możliwości w poprawie jakości produktów winiarskich, jednak konieczne jest między innymi przeprowadzenie analizy ekonomicznej takich działań. Zjawisko adsorpcji ochratoksyny A podczas wytwarzania wina z czarnej porzeczki wskazuje na możliwość zastosowania biologicznych adsorbentów również w rozwijającym się winiarstwie krajowym.

W pracy **H6** wykazałam, że:

- Ochratoksyna A wpływa negatywnie na dynamikę i wydajność fermentacji alkoholowej, wyrażonej w ilości wydzielonego CO₂
 - Ochratoksyna A nie wpływa znacząco na ilość etanolu, glicerolu i kwasów: cytrynowego, octowego i bursztynowego w winie
- Drożdże winiarskie rasy Syrena i Malaga obniżają stężenie ochratoksyny A w moszczu gronowym i z czarnej porzeczki, w stopniu zależnym od medium i szczepu
- Wykorzystanie inaktywowanej termicznie biomasy drożdży jest skutecznym sposobem na dekontaminację moszczy.

Za najważniejsze osiągnięcia opisanych badań zawartych w jednotematycznym cyklu publikacji (H1-H6) uważam wykazanie, że:

- Bakterie fermentacji mlekowej środowiska roślinnego oraz drożdże skutecznie ograniczają wzrost toksynotwórczego gatunku *Aspergillus westerdijkiae* oraz wytwarzanie przez niego ochratoksyny A
- Bakterie mlekowe wykazują antycytotoksyczne i antygenotoksyczne właściwości w stosunku do komórek linii LLC-PK1 ekspozowanych na ochratoksynę A
- Decydującą rolę w adsorpcji ochratoksyny A do biomasy komórkowej bakterii fermentacji mlekowej i drożdży odgrywa ściana komórkowa tych organizmów, jest ona niezbędna do zaistnienia adsorpcji
- Powierzchnia komórek bakterii mlekowych ma hydrofilowy charakter, który po inaktywacji termicznej zmienia się na hydrofobowy
- Adsorpcji ochratoksyny A przez komórki bakterii fermentacji mlekowej sprzyja hydrofobowy charakter powierzchni komórek. W procesie tym mają udział interakcje donor-akceptor elektronów oraz interakcje między kwasami i zasadami Lewisa
- Za adsorpcję ochratoksyny A przez drożdże odpowiedzialne są składniki polisacharydowe ściany komórkowej drożdży - p-glukany
- Ekstrakcja glukanów ze ściany komórkowej drożdży z wykorzystaniem wody i wysokiej temperatury prowadzi do otrzymania preparatu aktywnego w procesie adsorpcji ochratoksyny A
- Adsorpcja ochratoksyny A przez preparaty ściany komórkowej drożdży zachodzi najintensywniej w środowisku o wartości pH od 5,5 do 7
- Możliwe jest praktyczne zastosowanie drożdży winiarskich do usuwania ochratoksyny A podczas fermentacji wina, jak również wykorzystanie inaktywowanej termicznie biomasy drożdży do skutecznej dekontaminacji moszczy.

Cytowana literatura

1. Angioni A, Caboni P, Garau A, Harris A, Orro D, Budroni M, Cabras P (2007) In vitro interaction between ochratoxin A and different strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. J. Agric. Chem. 55, 2043-2048.
2. Battilani P, Magan N, Logrieco A (2006) European research on ochratoxin A in grapes and wine. Int. J. Food Microbiol. 111, S2-S4.
3. Bejaoui H, Mathieu F, Taillandier P, Lebrihi A (2004) Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces cerevisiae* strains. J. Appl. Microbiol. 97,1038-1044.
4. Biesa J, Soriano JM, Moloto JC, Manes J (2006) Factors affecting the presence of ochratoxin A in wines. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46, 473-478.

5. Deabes MM, Darwish HR, Abdel-Aziz KB, Farag IM, Nada SAJawfek NS (2012) Protective effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on aflatoxins - induced toxicities in male albino mice. J. Environ. Anal. Toxicol, 2,132.
6. Gil-Serna J, Patino B, Cortes L, Gonzalez-Jaen MT, Vazquez C (2011) Mechanisms involved in reduction of ochratoxin A produced by *Aspergillus westerdijkiae* using *Debaryomyces hansenii* CYC 1244. Int. J. Food Microb. 151,113-118.
7. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpaa PE, Salminen S, Ahokas JT (2001) Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 67, 3086-3091.
8. Kim JE, Kim JY, Lee KW, Lee HJ (2007) Chemopreventive effects of lactic acid bacteria. J. Microbiol. Biotechnol. 17,1227-1235.
9. Niderkorn V, Morgavi DP, Aboab B, Lemaire M, Boudra H (2009) Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B1 and B2 by lactic acid bacteria. J. Appl. Microbiol. 106, 977-985.
10. Pietri A, Bertuzzi T, Pallaroni L, Piva G (2001) Occurrence of ochratoxin A in italian wines. Food Add. Cont. 18, 7, 647-654.
11. Raju MVLN, Devegowda G (2000) Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin) British Poul. Sci. 41, 640-650.
12. Tsai YT, Cheng PC, Pan TM (2012) The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. Appl. Microbiol. Biotechnol. 96, 853-862.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

Moje zainteresowania naukowo-badawcze są interdyscyplinarne i mieszczą się w następujących obszarach tematycznych:

1. Korozja biologiczna materiałów technicznych i mykologia budowlana
2. Zagrożenia czynnikami biologicznymi na stanowiskach pracy
3. Mikotoksyny
4. Mikrobiologia żywności ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych

5.1 Korozja biologiczna materiałów technicznych i mykologia budowlana

Ważnym aspektem mojej pracy naukowej jest tematyka związana ze zjawiskiem biodeterioracji różnego rodzaju materiałów i obiektów. Zakres moich zainteresowań to mykologia budowlana dotycząca obiektów mieszkalnych, użyteczności publicznej, w tym też zabytkowych oraz korozja biologiczna materiałów technicznych, zarówno w aspekcie ich ochrony jak i możliwości biodegradacji. Zagadnienia te były przedmiotem moich badań głównie w aspekcie praktycznym, których rezultaty są przydatne dla podmiotów gospodarczych zajmujących się budownictwem i produkcją materiałów budowlanych, jak również dla użytkowników pomieszczeń mieszkalnych.

Brałam udział jako główny wykonawca w projekcie naukowo-badawczym finansowanym przez Urząd Miasta Łodzi (2003-2004) „**Ocena skażenia pleśniami środowisk mieszkalnych Łodzi**”. Moją rolą była ocena warunków abiotycznych i ich wpływu na istniejący stan zagrzybienia, pobieranie próbek do badań mykologicznych, identyfikacja grzybów pleśniowych, jak również ocena ich toksynotwórczości. Wyniki przeprowadzonych badań były prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz publikowane w czasopiśmie naukowych (*załącznik 6, BI 2, 5; BXI2, 7; BXIII2*).

Od ponad 15 lat zajmuję się wykonywaniem ekspertyz mykologicznych, obejmujących ocenę stopnia zagrzybienia i identyfikację pleśni w powietrzu, na ścianach i w materiałach budowlanych. Ekspertyzy, w liczbie ok. 20 rocznie, wykonywałam na zlecenie różnych instytucji: spółdzielni mieszkaniowych, zarządów nieruchomości, producentów materiałów budowlanych i osób prywatnych. W roku 2002 zostałam członkiem **Polskiego Stowarzyszenia Mykologów Budownictwa** z siedzibą we Wrocławiu. Moje doświadczenie i zaangażowanie w dziedzinie mykologii budowlanej, jak również spełnienie wymogów formalnych (odpowiednia liczba opracowań mykologicznych ocenionych przez uznanych ekspertów) sprawiło, że w 2011 roku uzyskałam tytuł Rzecznawcy Mykologicznego nr 64/2011/M, co daje mi dodatkowe uprawnienia do wykonywania ekspertyz mykologicznych na terenie RP. Występowałam też jako biegły sądowy (Sąd Rejonowy, Warszawa-Mokotów) bądź świadek w sprawach związanych z mykologią budowlaną.

Wieloletnie doświadczenie, fachowość i rzetelność wykonywanych opracowań mykologicznych sprawiło, że Zakład Mikrobiologii Technicznej stał się głównym ośrodkiem naukowym w Polsce, wykonującym analizy mykologiczne, jak również prowadzącym podstawowe badania naukowe w tym obszarze. Od 2009 roku przez dwie kadencje biorę udział w pracach Zarządu Głównego Polskiego Stowarzyszenia Mykologów Budownictwa.

Wobec braku ogólnie obowiązujących wymagań co do dopuszczalnego poziomu zanieczyszczenia przegród budowlanych przez grzyby pleśniowe, na podstawie wieloletnich doświadczeń opracowałam i zaproponowałam kryteria oceny stopnia aktywacji pleśni w budynkach (**załącznik 6, BXVIII1; BXXI12**), które są wskaźnikiem błędów budowlanych bądź sposobu użytkowania danego pomieszczenia. Wyniki prowadzonych ekspertyz i badań stanowiły niezbity dowód na potrzebę likwidowania przyczyn technicznych zawilgocenia i zagrzybienia w celu ochrony zdrowia użytkowników pomieszczeń użytkowych.

Prowadziłam badania nad wpływem sposobu użytkowania pomieszczeń, wilgotności, temperatury na poziom ich zagrzybienia, jak również nad toksynotwórczością szczepów wyizolowanych z powierzchni materiałów budowlanych. Efektem tych prac są publikacje w czasopiśmie oraz rozdziały w monografiach wydawanych przez PSMB (**załącznik 6, BIV2, 4, 6; BXVIII 1-7**). Wielokrotnie prezentowałam wyniki badań na sympozjach, w tym organizowanych przez Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa oraz na cyklicznych Konferencjach „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych” organizowanych w Łodzi [**załącznik 6, BXII1, 2; BXIV 1, 2, 5, 8, 10; BXV 1, 2, 4, 5; BXVI1; BXVII1,4, 5, 7, 8, 9,10,11; BXIX4**).

Zostałam również zaproszona do napisania dwóch rozdziałów dotyczących grzybów pleśniowych w obiektach budowlanych oraz metodyki analizy mykologicznej w książce pt. **„Ochrona przed wilgocią i korozją biologiczną w budownictwie”** pod red. J.Karysia, wyd. DW Medium, Warszawa, 2014 (**załącznik 6, BXXI 11, 12**). Byłam wielokrotnie zapraszana jako wykładowca na warsztatach mykologiczno-budowlanych oraz kursie mykologicznym organizowanych przez Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, gdzie w gronie praktyków prezentowałam wyniki badań i wnioski wynikające z ekspertyz mykologicznych. Pozwoliło mi to na ugruntowanie w środowisku mojej pozycji eksperta w dziedzinie mykologii budowlanej.

W 2014 i 2015 roku byłam też zaproszona do grona ekspertów miesięcznika budowlanego „Ładny Dom”, gdzie zamieszczone były moje komentarze do prezentowanych artykułów i odpowiedzi na pytania z zakresu mykologii budownictwa.

Od roku 2011 do chwili obecnej biorę udział jako wykonawca w projekcie naukowo-badawczym **„Badania nad korozją biologiczną obiektów na terenie muzeum Auschwitz-Birkenau w zakresie rozpoznania i zwalczania czynników biologicznych”**, który jest elementem realizowanego w Muzeum Auschwitz-Birkenau Globalnego Planu Konserwacji, wieloletniego programu prac konserwatorskich finansowanych ze środków Funduszu Wieczystego Fundacji Auschwitz-Birkenau. Zostałam zaproszona do udziału w tym projekcie ze względu na moje bogate doświadczenia praktyczne i głęboką wiedzę w zakresie mykologii budowlanej. W ramach pierwszego etapu tego projektu wraz ze współpracownikami z Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii oraz Uniwersytetu Łódzkiego dokonałam przeglądu 40 obiektów budowlanych zlokalizowanych na terenie byłego Obozu Koncentracyjnego w Brzezince pod kątem występowania zjawiska deterioracji, a w wybranych 10 oceniałam wpływ czynników abiotycznych na korozję biologiczną oraz brałam udział w identyfikacji rozwijających się organizmy. Prowadzone badania miały charakter

interdyscyplinarny, badania taksonomiczne dotyczyły zarówno bakterii, grzybów pleśniowych, grzybów domowych, sinic, glonów, jak i porostów i mszaków, co wymagało wiedzy, doświadczenia oraz zaangażowania wielu specjalistów z odpowiednich dyscyplin naukowych.

W ramach projektu zajmowałam się oceną warunków technicznych obiektów, czynników środowiskowych (temperatura, wilgotność), pobieraniem próbek do badań oraz analizowaniem zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi, identyfikacją grzybów pleśniowych oraz grzybów, będących przyczyną rozkładu drewna (grzyby domowe). Brałam udział w opracowaniu raportów z projektu, szczegółowych katalogów dla poszczególnych obiektów oraz zaleceń dla działań zapobiegawczych. Ogółem w ramach projektu pobrano 364 próbek, w których określono poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego w zależności od pory roku (wiosna-zima) i zidentyfikowano ponad 100 gatunków bakterii i pleśni oraz grzybów domowych, zarówno metodami klasycznymi jak i biologii molekularnej. Sekwencje nukleotydowe genu 16S rRNA bakterii oraz regionu ITS pleśni zostały opublikowane w bazie GenBank (**załącznik 6, BXXIII9-37**).

W drugim etapie tego projektu prowadzone są prace zmierzające do wyboru preparatów biobójczych i metod ich aplikacji w celu dezynfekcji obiektów.

Udział w tym projekcie jest dla mnie cenny, pozwala czynnie uczestniczyć w dziele zachowania autentyczności tego Miejsca Pamięci. Wyniki badań były prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych (**załącznik 6, BXI11,12,14-18; BXIX16; BXII 7; BXIV 9,10; BXVIII6**).

Wyniki wcześniejszych badań dotyczących obiektów budowlanych były publikowane w formie opracowań dla lokalnych władz (Urząd Miasta Łodzi) i dla praktyków (pracownicy sektora budowlanego, producenci materiałów budowlanych) w czasopiśmie o zasięgu krajowym oraz prezentowane na krajowych konferencjach. Rezultaty projektu realizowanego na zlecenie Muzeum Auschwitz-Birkenau znalazły zainteresowanie w periodykach o zasięgu międzynarodowym. Wyniki badań zostały opublikowane w prestiżowych czasopiśmie naukowych (**załącznik 6, BI 12,14,15,18**).

W latach 2009-2010 w ramach współpracy z Instytutem Chemii Przemysłowej w Warszawie byłam kierownikiem pracy naukowo-badawczej dotyczącej działania drobnoustrojów na tworzywa sztuczne z napełniaczami naturalnymi, w której oceniałam **podatność polimerów** z dodatkiem słomy zbóż na biodegradację prowadzoną przez grzyby pleśniowe oraz przez mikroorganizmy glebowe. Wyniki badań biodegradowalności polilaktydu z dodatkiem termoplastycznej skrobi zostały opublikowane w czasopiśmie *Polimery* (**załącznik 6, Bil 1**). Zdobyte podczas współpracy z ICHP doświadczenia oraz znajomość aktualnej literatury w zakresie biodegradowalnych polimerów pozwoliły mi napisanie rozdziału pt. **„Biodegradable packaging”** w monografii: *Product and packaging. Quality and logistic aspects* pod red. Lewandowski J., Jałmużna I., Sekieta M. Wydawnictwa PL, 2010 (**załącznik 6, BXX 2**).

Współpraca z Instytutem Chemii Przemysłowej zaowocowała uczestnictwem w latach 2009-2012 wraz z Uniwersytetem Opolskim i Uniwersytetem Technologiczno-Przyrodniczym

w Bydgoszczy w ramach Konsorcium w projekcie badawczym UDA-POIG.**01.03.01-00-073/09-00 „Nanokompozyty polimerowe o zwiększonej odporności na działanie mikroorganizmów”**, w którym byłam wykonawcą zadania 7. W ramach badań prowadziłam ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej nanokrzemionki z dodatkiem srebra i miedzi oraz wytworzonych z jej udziałem polimerów poliolefinowych i z PVC. W badaniach do oceny tworzenia na powierzchni biofilmu bakteryjnego wykorzystywałam metodę mikroskopii fluorescencyjnej. Efektem tych wspólnych badań były publikacje w czasopiśmie oraz prezentacje na konferencjach naukowych, jak również 3 zgłoszenia patentowe (**załącznik 6> Bil 2, BXII6, BXXII2-4**).

Uczestniczyłam również w badaniach aktywności przeciwdrobnoustrojowej farb z dodatkiem srebra i miedzi w latach **2005-2006** z Instytutem Przetwórstwa Tworzyw Sztucznych, Oddział Farb i Lakierów w Gliwicach, a w latach **2009-2012** z Instytutem Chemii Przemysłowej w Warszawie. Efektem tej współpracy były publikacje w czasopiśmie naukowych i prezentacje na konferencjach (**załącznik 6, BI 6, 9; Bill 4; BX1, 2; BXV3**).

Począwszy od **2005** roku do chwili obecnej współpracuję z Instytutem Polimerów 1 Barwników Politechniki Łódzkiej. Wielokierunkowe wspólne działania dotyczą między innymi badania właściwości przeciwdrobnoustrojowych modyfikowanych wulkanizatów kauczuku, jak również podatności elastomerów z dodatkiem naturalnych komponentów (białka, polimery węglowodanowe, ekstrakty roślinne) na degradację biologiczną oraz utylizację barwników azowych na drodze mikrobiologicznej. Część badań była realizowana w ramach zadania **4.1.** projektu UDA-POIG. **01.01.02-10-123/09-00 „Zastosowanie biomasy do wytwarzania polimerowych materiałów przyjaznych środowisku”**. Efektem tej współpracy są prezentacje na konferencjach krajowych oraz publikacje w czasopiśmie (**załącznik 6 BI 3, 4, 20-22; BXII5; BXIX11**).

WAŻNIEJSZE PUBLIKACJE:

1. Gutarowska B., **PIOTROWSKA M.** (2007) Methods of mycological analysis in buildings. Building and Environment, 42,1843-1850. IF: 1,797 MNiSW: 32 pkt (cytowane 10 razy wg Web of Science)
2. **PIOTROWSKA M.**, Niemczyk W. (2010) Skuteczność preparatów grzybobójczych zastosowanych na przegrodach budowlanych w warunkach in situ. Ochrona przed Korozją, 53,1,18-21.
3. Koziróg A., Otlewska A., **PIOTROWSKA M.**, Rajkowska K., Nowicka-Krawczyk P., Hachułka M., Wolski G.J., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Libudysz Z., Żakowska Z., Żydzik-Białek A. (2013) Colonizing organisms as a biodegradation factor on historical wood materials at the former concentration camp of Auschwitz II-Birkenau. International Biodeterioration and Biodegradation, 86, 171-178. IF: 2,235, MNiSW: 30 pkt
4. **PIOTROWSKA M.**, Żakowska Z. (2010) Badania mikrobiologiczne jako istotny element ekspertyzy mykologiczno-budowlanej. w seria: Monografia nr 3 Karyś J (red.) Ochrona budynków przed wilgocią i korozją biologiczną. Tom VII, Wyd. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Wrocław, 133-140. ISBN 978-83-924512-2-8.
5. **PIOTROWSKA M.**, Żakowska Z. (2011) Wilgotność jako parametr warunkujący rozwój czynników odpowiedzialnych za korozję biologiczną, w seria: Monografia nr 7/2011 Karyś J (red.) Ochrona obiektów budowlanych przed wilgocią, korozją biologiczną i ogniem. Tom XI, Wyd. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Wrocław, 89-95. ISBN 978-83-924512-5-9.
6. **PIOTROWSKA M.**, Otlewska A., Rajkowska K., Koziróg A., Hachułka M., Nowicka-Krawczyk P., Wolski G.J., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Żydzik-Białek A. (2014) Abiotic determinants of the historical

- buildings biodeterioration in the former Auschwitz II - Birkenau concentration and extermination camp. PlosOne, 9 (10), e109402 (1-12). IF: 3,534, MNiSW: 40 pkt
7. Rajkowska K., Otlewska A., Koziróg A., **PIOTROWSKA M.**, Nowicka-Krawczyk P., Hachułka M., Wolski G.J., Kunicka-Styczyńska A., Gutarowska B., Żydzik-Białek A. (2014) Assessment of biological colonization of historic buildings in the former Auschwitz II-Birkenau concentration camp. Annals of Microbiology, 64, 799-808. IF: 1,039, MNiSW: 15 pkt
 8. Nowicka-Krawczyk P., Żelazna-Wieczorek J., Otlewska A., Koziróg A., Rajkowska K., **PIOTROWSKA M.**, Gutarowska B., Żydzik-Białek A. (2014) Diversity of an aerial phototrophic coating of historic buildings in the former Auschwitz II-Birkenau concentration camp. Science of the Total Environment, 493, 116-123. IF: 3,163, MNiSW: 40 pkt
 9. **PIOTROWSKA M.** (2014) Grzyby pleśniowe w obiektach budowlanych. W: Karyś J. (red.) Ochrona przed wilgocią i korozją biologiczną w budownictwie. Wyd. Medium, Warszawa, 64-75.
 10. Piotrowska M. (2014) Wykrywanie grzybów pleśniowych w obiektach budowlanych w: Karyś J. (red.) Ochrona przed wilgocią i korozją biologiczną w budownictwie. Wyd. Medium, Warszawa, 77-87.
 11. Masek A., Zaborski M., **PIOTROWSKA M.** (2014) Controlled degradation of biocomposites ENR/PCL containing natural antioxidants. Comptes Rendus Chimie, 17,11,1128-1135.
 12. **PIOTROWSKA M.**, Szymczak A., Wojciechowski K. (2015) Naturalized dyes - a way to increase susceptibility for microbiological degradation. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 20,100-108.

PATENTY:

1. P-395 938 data zgłoszenia:11.08.2011, Poliolefinowe nanokompozyty drewnopodobne odporne na działanie mikroorganizmów. Autorzy: Jeziorska R., Zielecka M., Szadkowska A, Dzierżawski J., Kolasa J., Jaczewska T., Żakowska Z., **PIOTROWSKA M.**, Gutarowska B.
2. P.399022, data zgłoszenia 27.04.2012, Kompozyty polichloru winylu) odporne na działanie mikroorganizmów i sposób ich wytwarzania. Autorzy: Tomaszewska J., Zajchowski S., Jeziorska R., Zielecka M., Żakowska Z., **PIOTROWSKA M.**, Gutarowska B.
3. P-405169, data zgłoszenia 29.08.2013 r, Kompozyty drewnopodobne polichloru winylu) odporne na działanie mikroorganizmów i sposób ich wytwarzania. Autorzy: Zajchowski S., Tomaszewska J., Lewandowski K., Mirowski J., Jeziorska R., Zielecka M., Szadkowska A., Żakowska Z., **PIOTROWSKA M.**, Gutarowska B.

5.2 Zagrożenie czynnikami biologicznym na stanowiskach pracy

W latach 2005-2006 współpracowałam z Zakładem Środowiskowych Zagrożeń Zdrowia Instytutu Medycyny Pracy im. J.Noffera w Łodzi w zakresie występowania i identyfikacji grzybów pleśniowych w powietrzu **pomieszczeń biurowych, w archiwach i bibliotekach** oraz w **sortowniach odpadów** zlokalizowanych w Łodzi. Wykazałam zanieczyszczenie powietrza w bibliotekach i archiwach na poziomie średnio 10^3 jtk/m³, w pomieszczeniach biurowych 10^2 jtk/m³, natomiast w sortowniach odpadów powyżej 10^4 jtk/m³. Łącznie wyizolowałam i zidentyfikowałam 43 gatunki grzybów pleśniowych, należących do 22 rodzajów. Kolejnym aspektem była współpraca w zakresie oceny zanieczyszczenia bakteriami i grzybami powietrza na stanowiskach pracy w zakładach metalowych oraz **cieczy chłodzących do obróbki metali**. Stwierdziłam znaczne zanieczyszczenie mikrobiologiczne cieczy chłodzących (powyżej 10^7 jtk/ml). Wyniki badań będące efektem współpracy z Instytutem Medycyny Pracy były prezentowane na konferencjach oraz w publikacjach (**załącznik 6, BI 7; Bill 2; BIV 1, 5; BXII 3,4**).

Uczestniczyłam też w badaniach prowadzonych na zlecenie zakładu przemysłowego dotyczących zanieczyszczenia powietrza na stanowiskach pracy w **garbarni**, których wyniki były przedstawione w publikacji (**załącznik 6, BIV 3**). Ponadto w latach 2011-2013 zajmowałam się identyfikacją grzybów pleśniowych w ramach projektu NCBiR nr III.B.03. „Opracowanie zasad oceny i profilaktyki zagrożeń powodowanych przez szkodliwe czynniki biologiczne w środowisku pracy przy wykorzystaniu wskaźników zanieczyszczenia mikrobiologicznego”.

Doświadczenie i wiedza zdobyte podczas realizacji tych prac umożliwiły mi właściwe zaplanowanie programu i prowadzenie zajęć dydaktycznych dla studentów międzywydziałowego kierunku „Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy”. Zostałam też zaproszona do grona recenzentów czasopisma „Medycyna Pracy”, dla którego recenzowałam dwa artykuły.

WAŻNIEJSZE PUBLIKACJE:

1. Skóra J., Gutarowska B., Pielech-Przybylska K., Stepień Ł, Pietrzak K., **PIOTROWSKA M.**, Pietrowski P. (2015) Assessment of microbiological contamination in the work environments of museums, archives and libraries. *Aerobiologia* (on-line 15 marca 2015) DOI 10.1007/s10453-015-9372-8
2. Zielińska-Jankiewicz K., Kozajda A., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I. (2008) Microbiological contamination with moulds in work environment in libraries and archive storage facilities. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 15,119-167. IF: 1,443 MNiSW: 27 pkt (cytowane 11 razy wg Web of Science)
3. Cyprowski M., Piotrowska M., Żakowska Z., Szadkowska-Stańczyk I. (2007) Microbial and endotoxin contamination of water-soluble metalworking fluids. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 20, (4), 365-371. MNiSW: 9 pkt (cytowane 9 razy wg Web of Science)
4. Buczyńska A., Cyprowski M., **PIOTROWSKA M.**, Szadkowska-Stańczyk I. (2007) Grzyby pleśniowe w powietrzu pomieszczeń biurowych - wyniki interwencji środowiskowej. *Medycyna Pracy*, 58 (6), 521-525. MNiSW: 6 pkt
5. Kozajda A., Sowiak M., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I. (2009) Sortownia odpadów komunalnych - rozpoznanie narażenia na czynniki biologiczne (grzyby strzępkowe). *Medycyna Pracy*, 60 (6), 483-490. MNiSW: 6 pkt
6. Gutarowska B., **PIOTROWSKA M.** (2008) Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza na stanowiskach pracy w garbarni. *Ekologia i Technika* 96 (5): 224-228. MNiSW: 4 pkt.

5.3 Mikotoksyny

W latach 2006-2008 uczestniczyłam jako główny wykonawca w projekcie 0446/R/1/P01/06/01 „**Wykorzystanie probiotyków do inaktywacji aflatoksyny B1 i ochratoksyny A w badaniach *in vitro* i *in vivo* u kurcząt**”, którego kierownikiem była prof, dr hab. Zdzisława Libudzisz. W ramach projektu zajmowałam się oceną zmian mikroflory mieszanek paszowych dla drobiu kontaminowanych ochratoksyną A poddanych fermentacji przy udziale bakterii probiotycznych (badania *in vitro*), jak również oceną wpływu preparatu probiotycznego na zawartość ochratoksyny A w kale, osoczu krwi, nerkach, wątrobie oraz mięśniach kurcząt (badania *in vivo*). Efekty badań były prezentowane w publikacji naukowej oraz na konferencjach międzynarodowych, zaś preparat probiotyczny został opatentowany (**załącznik 6, Bill 6; BXI 5,8; BXIX 7, 9; BXXII1**).

We współpracy z Katedrą Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w latach 2011-2013 realizowałam także badania w ramach projektu badawczo-rozwojowego nr 12-0080-10/2010 „**Określenie wpływu eksperymentalnej miktotoksykozy fuzaryjnej na wybrane wskaźniki diagnostyczno-morfologiczne przewodu pokarmowego świń**”. Byłam głównym wykonawcą zadania 9: „Wpływ miktotoksyn na skład zespołu mikroorganizmów jelita grubego świń”, którego kierownikiem była prof, dr hab. Zofia Żakowska. W doświadczeniach z warchlakami poddanymi 6-tygodniowej intoksykacji przez zearalenon i deoksyniwalenol, pojedynczo i w mieszaninie, analizowałam skład mikroflory jelitowej okrężnicy wstępującej i zstępującej, brałam udział w badaniach aktywności enzymów fekalnych, cytotoksyczności i genotoksyczności treści jelita. Ponadto oceniałam bioróżnorodność funkcjonalną mikrobioty jelita przy użyciu testów EcoPlate Biolog. Po raz pierwszy wykorzystałam test EcoPlate w tym celu. Wykazałam negatywne oddziaływanie zearalenonu na mezofilne bakterie tlenowe, jak również na liczbę bakterii *Clostridium perfringens*, z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym *Escherichia coli*. Stwierdziłam podwyższenie indeksu Shanona jak i wskaźnika różnorodności R oraz zmianę kierunku metabolizmu drobnoustrojów jelitowych w grupie poddanej mieszanej miktotoksykozie. Efektem wykonanych prac eksperymentalnych są prezentacje ustne na konferencjach i publikacje w prestiżowych czasopismach z zakresu nauk weterynaryjnych oraz w *Toxins* [załącznik 6, BI 16, 23; 26; BXIII 5, 6, BXIX15).

W 2012 roku zostałam zaproszona do uczestnictwa w napisaniu rozdziału „**Mycotoxins in cereal and soybean based food and feed**” w powstającej książce „Soybean-pest resistance” (El-Shemy ed.) wydawnictwa InTech (Chorwacja). Książka ukazała się w 2013 roku, a o zainteresowaniu w skali światowej tematyką poruszoną w rozdziale świadczy liczba ponad 2000 pobrań pełnych tekstów rozdziału, najwięcej z USA, Chin, Indii i Wielkiej Brytanii (załącznik 6 BXX 3).

Dowodem uznania mojego dorobku z zakresu miktotoksyn i ich detoksykacji w skali międzynarodowej jest powierzenie mi recenzowania artykułów dotyczących tej tematyki w prestiżowych czasopismach, np. *Letters in Applied Microbiology* (IF 1,749), *Journal of Food Protection* (IF 1,832), *Toxins* (IF 2,480), *Mycotoxin Research*, *Journal of Microbial & Biochemical Technology* (IF 2,16). Ogółem zrecenzowałam 9 artykułów z zakresu miktotoksyn (załącznik 6 BXXV).

WAŻNIEJSZE PUBLIKACJE:

1. PIOTROWSKA M., Śliżewska K., Nowak A., Zielonka Ł., Żakowska Z., Gajęcka M., Gajęcki M. (2014) The effect of experimental *Fusarium* mycotoxigenesis on microbiota diversity in porcine ascending colon contents. *Toxins* 2014, 6, 2064-2081. IF: 2,480, MNiSW: 20 pkt
2. PIOTROWSKA M., Śliżewska K., Biernasiak J. Mycotoxins in cereal and soybean based food and feed, w: El-Shemy H.A (ed.) „Soybean- pest resistance”, Wyd. InTech, 2013, 185-230, ISBN 978-953-51-0978-5. (cytowane 3 razy wg Google Scholar)
3. Nowak A., Śliżewska K., Gajęcka M., PIOTROWSKA M., Żakowska Z., Zielonka Ł., Gajęcki M. (2015) The genotoxicity of cecal water from gilts following experimentally induced *Fusarium* mycotoxigenesis. *Veterinari Medicina*, 60, (3), 133-140. IF: 0,874, MNiSW: 20 pkt

4. Śliżewska K., Nowak A., **PIOTROWSKA M.**, Żakowska Z., Gajęcka M., Zielonka Ł., Gajęcki M. (2015) Cecal enzyme activity in gilts following experimentally induced *Fusarium* mycotoxicosis. Polish Journal of Veterinary Sciences, 18,1,191-197. IF: 0,874, MNiSW: 20 pkt
5. Śliżewska K., Piotrowska M. (2014) Reduction of ochratoxin A in chicken feed using probiotic. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 21,4, 676-680.
6. **PIOTROWSKA M.** (2002) Ochratoksyna A w surowcach roślinnych a bezpieczeństwo zdrowotne żywności, Dwumiesięcznik Dostawcy dla Przemysłu Mięsnego, 6, 23, 39-41.
7. **PIOTROWSKA M.**, (2004), Źródła zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi w zakładach przemysłowych. Dwumiesięcznik Dostawcy dla Przemysłu Mięsnego, 6, 85-88.
8. **PIOTROWSKA M.** (2013) Contamination of breakfast cereal products by fungi and mycotoxins - a potential risk for consumers's health. Biotechnology and Food Science, 77 (1), 3-10. MNiSW: 2 pkt
9. Piotrowska M. (2007) Mikotoksyny w mleku i produktach mleczarskich. Przegląd Mleczarski, 9, 12-14. MNiSW: 4 pkt

PATENT:

1. Libudzisz Z., Smulikowska S., Śliżewska K., Piotrowska **M.**, Czerwiński J. Nowe zastosowanie preparatu probiotycznego, Nr P-384675, data zgłoszenia 2.03.2008, data udzielenia patentu 11.09.2011.

5.4 Mikrobiologia żywności ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych

W obszarze moich zainteresowań naukowych znajdują się również zagadnienia związane z higieną produkcji żywności, szczególnie w odniesieniu do zanieczyszczenia przez grzyby pleśniowe.

Nawiązałam współpracę z wieloma **zakładami przemysłu spożywczego**, np. Danone, Nestle, Mleczarnia Turek, Unilever, Ustronianka, Żywiec-Zdrój, Tymbark, Coca-Cola, Pepsi-Cola, Danish Malting Group, Octownia Jamar, Bewa, Hoop-Cola, itd., na zlecenie których prowadziłam badania produktów na obecność drożdży i pleśni, jak również identyfikację tych organizmów. Brałam udział w ustalaniu źródła zanieczyszczenia podczas produkcji. Uczestniczyłam w pracy badawczej pt. „**Jakość mikrobiologiczna dań gotowych**”, na zlecenie Wielkopolskiej Wytwórni Żywności Profi w Grabowie nad Prosną, której celem było ustalenie źródła zanieczyszczenia mikrobiologicznego produktu końcowego. W ramach tej pracy wraz z dr inż. Agnieszką Nowak przeprowadziłam 2 dniowe szkolenie dla pracowników w/w wymienionego zakładu na temat „*Zagrożenia mikrobiologiczne w produkcji żywności*”.

Brałam również udział w badaniach nad cechami biochemicznymi bakterii *Brochothrix termosphaeta*, zanieczyszczającymi produkty mięsne oraz wykorzystaniem olejków eterycznych do kontroli zanieczyszczenia tym organizmem. Efektem tych badań są publikacje w czasopismach *Meat Science* i *Food Microbiology* (**załącznik 6 BI 8,10**).

W obszarze mikrobiologii żywności moje zainteresowania naukowe dotyczyły również zanieczyszczenia mikrobiologicznego produktów spożywczych przechowywanych w obniżonej temperaturze i mrożonych. Tematyka ta była prezentowana na konferencjach naukowych oraz jako artykuły przeglądowe w czasopismach *Chłodnictwo*, *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny* (**załącznik 6 BVII3, 9; BXIX13**).

W latach 2005-2014 współpracowałam z zakładem produkującym folie opakowaniowe Amcor Flexibles Europe&Americas Amcor Flexibles Reflex w Łodzi, w którym cyklicznie prowadziłam analizę mikrobiologiczną powietrza oraz produkowanych folii.

Moje zainteresowania naukowe oraz doświadczenie zdobyte m.in. podczas stażu w University of Horticulture and Food Science w Budapeszcie i własnych studiów literaturowych sprawiły, że osiągnęłam głęboką wiedzę specjalistyczną z zakresu identyfikacji grzybów pleśniowych i stałam się ekspertem w tej dziedzinie. Wiele instytucji naukowych, laboratoriów badawczych i zakładów produkcyjnych zleca mi badania z tego obszaru, min. Katedra Biochemii, Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, Instytut Inżynierii Chemicznej PAN w Gliwicach, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu oraz zakłady przemysłowe produkujące żywność.

WAŻNIEJSZE PUBLIKACJE

1. Nowak A., **PIOTROWSKA M.** (2011) Biochemical activities of *Brochothrix thermosphacta*. Meat Science, 90, 410-413. IF: 2,619; MNiSW: 32 pkt.
2. Nowak A., Kalemba D., Krala L., **PIOTROWSKA M.**, Czyżowska A. (2012) The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. Food Microbiology, 32 (1), 216-226. IF: 3,374, MNiSW: 35 pkt.
3. **PIOTROWSKA M.**, Nowak A., (2005) Drobnoustroje w produktach spożywczych mrożonych i przechowywanych w warunkach chłodniczych. Chłodnictwo, 12, 50-52. MNiSW: 4 pkt.
4. **PIOTROWSKA M. (2012)** Grzyby pleśniowe w żywności przechowywanej w obniżonej temperaturze. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny nr 10, 24-25.

6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Jestem autorem lub współautorem 32 publikacji oryginalnych opublikowanych w języku angielskim (w tym 26 w czasopismach z listy filadelfijskiej), 9 publikacji oryginalnych opublikowanych w języku polskim (w tym 2 w czasopismach z listy filadelfijskiej), 1 publikacji przeglądowej w języku angielskim w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, 10 publikacji przeglądowych w języku polskim (w tym 1 czasopiśmie z listy filadelfijskiej) oraz 12 publikacji oryginalnych w suplementach czasopism naukowych. Jestem autorem 3 rozdziałów w książkach opublikowanych w języku angielskim, oraz 12 rozdziałów w książkach i opracowaniach książkowych w języku polskim. Jestem współautorem 3 zgłoszeń patentowych i 1 patentu. Jestem autorem 23 doniesień naukowych prezentowanych na konferencjach międzynarodowych oraz 64 na konferencjach krajowych (w tym 22 prezentacje ustne).

Byłam kierownikiem 1 projektu badawczego i wykonawcą w 8 projektach naukowych.

Prace publikowałam w następujących **czasopismach anglojęzycznych:**

Acta Alimentaria	1
Aerobiologia	1
African Journal of Microbiology Research	1
Annals of Agricultural and Environmental Medicine	2
Annals of Microbiology	1
Biotechnology and Bioprocess Engineering	1
Biotechnology and Food Science	1
Building and Environment	1

China Coatings Journal	1
Comptes Rendus Chimie	2
European Journal of Food Research and Technology	1
Food Microbiology	1
International Biodeterioration and Biodegradation	1
International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health	1
Inżynieria Powierzchni	1
Meat Science	1
Mycotoxin Research	1
PlosOne	1
Polimery	2
Polish Journal of Environmental Studies	1
Polish Journal of Microbiology	2
Polish Journal of Veterinary Sciences	1
Progress in Organic Coating	1
Rubber Chemistry and Technology	1
Science of Total Environment	1
Toxins	3
Veterinarni Medicina	1
World Mycotoxin Journal	1
oraz wydawanych w języku polskim:	
Chłodnictwo	1
Dwumiesięcznik Dostawcy dla Przemysłu Mięsnego	2
Ekologia i Technika	2
Farby i Lakiery	1
Medycyna Pracy	2
Ochrona przed Korozją	13
Postępy Mikrobiologii	1
Przegląd Mleczarski	3
Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny	1
Tynki	1

Łączny IF publikacji wynosi **48,817 (829 pkt MNiSW)**, w tym IF prac stanowiących osiągnięcie naukowe **9,875 (145 pkt MNiSW)**. Po wyłączeniu punktacji prac stanowiących osiągnięcie naukowe, pozostały IF wynosi **38,942 (684 pkt MNiSW)**.

Index Hirscha wg **Web of Science** wynosi **5**, zaś liczba cytowań **97** (bez autocytowań).

Według bazy **Scopus** *Index Hirscha* wynosi **8**, zaś liczba cytowań **178** (bez autocytowań).

7. Działalność dydaktyczna

Od 2004 roku do chwili obecnej, w ramach działalności dydaktycznej prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla Studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, Międzywydziałowego Kierunku Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy, Kolegium Towaroznawstwa, Wydziału Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska oraz Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej. Obejmowały one zarówno wykłady jak i zajęcia laboratoryjne.

Szczegółowy opis realizowanych zadań dydaktycznych przedstawiłam w **załączniku 6**.

Prowadziłam bądź prowadzę następujące zajęcia dydaktyczne: **Mikrobiologia techniczna** (wykład) dla kierunku Biotechnologia, **Toksykologia żywności** (wykład i laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Grzyby pleśniowe - zagrożenie dla człowieka i środowiska** (wykład fakultatywny) dla kierunków Biotechnologia, Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka oraz Ochrona Środowiska, **Laboratorium specjalizacyjne** dla kierunku Biotechnologia, **Higiena produkcji żywności, Mikrobiologia żywności i Postępy w analityce mikrobiologicznej** (laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Mikrobiologia środowiska, Monitoring skażeń i Mikrobiologiczne aspekty w ochronie środowiska** (laboratorium) dla kierunku Ochrona Środowiska, **Nowoczesne metody analityki mikrobiologicznej** (wykład) dla słuchaczy studiów doktoranckich Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, **Biologia komórki, Inżynieria komórki i Symulacje komputerowe procesów biotechnologicznych** (laboratorium) dla kierunku Biotechnologia, **Technologie informacyjne** (zajęcia komputerowe) dla kierunku Ochrona Środowiska, **Bromatologia** (wykład) dla studentów kolegium Towaroznawstwa PŁ, **Mikrobiologia i Biologiczne czynniki zagrożeń** (wykład i laboratorium) dla międzywydziałowego kierunku Inżynieria bezpieczeństwa pracy, **Mikrobiologia** (laboratorium) dla kierunku Ochrona Środowiska wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska oraz **Korozyja materiałów i zabezpieczenia antykorozyjne** (laboratorium) dla kierunku Budownictwo, Wydział Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska PŁ.

Ponadto w ramach studiów Podyplomowych „**Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle**” organizowanych przez Wydział BiNOŻ prowadziłam wykłady na następujące tematy: Toksyczne metabolity grzybów pleśniowych, Biotechnologiczne wykorzystanie grzybów pleśniowych, Techniczne przyczyny rozwoju grzybów pleśniowych w pomieszczeniach użytkowych oraz Zasady bezpiecznej pracy z mikroorganizmami, jak również zajęcia laboratoryjne z identyfikacji grzybów pleśniowych oraz metod analizy mikrobiologicznej powietrza (od 2000 roku).

W 2007 i 2010 roku w ramach przedmiotu „Zagrożenia i procesy destrukcji historycznych ustrojów budowlanych” na Studiach Podyplomowych „**Ochrona historycznych struktur budowlanych**” organizowanych przez Wydział Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska PŁ prowadziłam wykład na temat: „Zagrożenia zdrowotne

powodowane przez grzyby pleśniowe" oraz zajęcia laboratoryjne: „Analiza mykologiczna w budynkach”.

Jestem współautorką skryptów:

- „Mikrobiologia Żywności. Instrukcje do zajęć laboratoryjnych" dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności
- „Instrukcje do zajęć laboratoryjnych z Mikrobiologii Środowiska" dla kierunku Ochrona Środowiska, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności
- „Instrukcje do zajęć laboratoryjnych z Mikrobiologii Środowiska" dla kierunku Ochrona Środowiska, Wydziału Chemicznego oraz Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska
- „Podstawy mikrobiologii. Instrukcje do zajęć laboratoryjnych" dla kierunku Inżynieria Biochemiczna, Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska

Brałam również udział w pisaniu podręcznika akademickiego „Mikrobiologia Techniczna" tom I i II pod redakcją Zdzisławy Libudzisz, Zofii Żakowskiej i Krystyny Kowal wydanego przez PWN w 2007 i 2008 roku. Jestem tam autorką lub współautorką 5 rozdziałów dotyczących grzybów pleśniowych i mikotoksyn oraz mikroflory gleby i organizacji laboratorium mikrobiologicznego (*załącznik 6, BXXI4-8*).

W okresie mojego zatrudnienia na stanowisku adiunkta byłam opiekunem 16 prac inżynierskich na kierunku Ochrona Środowiska, 7 na kierunku Biotechnologia, oraz 2 na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka. Kierowałam 10 pracami magisterskimi na kierunku Biotechnologia Środowiska oraz 6 na kierunku Biotechnologia. Byłam też opiekunem 1 pracy inżynierskiej i 2 magisterskich na kierunku **Biotechnology** w Centrum Kształcenia Międzynarodowego (International Faculty of Engineering) Politechniki Łódzkiej. W ramach Studiów Podyplomowych „Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle" kierowałam 26 pracami końcowymi.

W latach 2005-2006 jako przedstawiciel Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności brałam udział w pracach zespołu opracowującego program studiów nowego międzywydziałowego kierunku studiów: **Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy**, którego realizacja rozpoczęła się od roku akad. 2007/2008.

Za osiągnięcia w pracy dydaktyczno-wychowawczej w latach 2007-2014 otrzymałam nagrody JM Rektora Politechniki Łódzkiej. W 2012 roku zostałam odznaczona przez Prezydenta RP Srebrnym Medalem za Długoletnią Służbę.

8. Działalność organizacyjna, działalność popularyzująca naukę

Istotnym elementem mojej aktywności zawodowej jest działalność organizacyjna, zarówno na terenie Uczelni, Wydziału i Instytutu jak i poza nimi.

Szczegółowy wykaz przejawów mojego zaangażowania w działalność organizacyjną przedstawiłam w *załączniku 6*, poniżej zaprezentowałam najważniejsze elementy.

Działalność na forum pozauczelnianym skupiona jest głównie w pracach na rzecz **Polskiego Stowarzyszenia Mykologów Budownictwa** z siedzibą we Wrocławiu. Jest to stowarzyszenie skupiające w swym gronie zarówno przedstawicieli nauki jak i praktyków związanych z ochroną budynków przed korozją biologiczną. Jestem członkiem tego stowarzyszenia od 2002 roku, a od 2009 roku przez dwie kadencje biorę udział w pracach Zarządu Głównego. W latach 2009-2014 aktywnie uczestniczyłam w pracach Komitetu Naukowego i Organizacyjnego organizowanych corocznie Sympozjów i Warsztatów Mykologiczno-Budowlanych.

Od 2012 roku czynnie uczestniczę w pracach Rady Redakcyjnej wydawanego przez Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności czasopisma **„Biotechnology and Food Science”**. Jestem edytorem tematycznym z zakresu biotechnologii i moim zadaniem jest m.in. kontakt z autorami i recenzentami w trakcie prowadzenia procesu edycyjnego publikacji. Mój aktywny udział w przebudowie zasad funkcjonowania czasopisma, w tym recenzowania oraz przygotowaniu ankiety czasopisma do oceny przez MNiSW oraz Index Copernicus przyczynił się do tego, że czasopismo uzyskało w 2013 roku 2 pkt MNiSW oraz 4,38 pkt w IC.

Ważnym aspektem mojej pracy organizacyjnej i dydaktycznej jest, począwszy od 1999 roku, aktywny udział w pracach organizacyjnych Studiów Podyplomowych **„Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle”** (16 edycji) na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. W 2012 roku zostałam powołana na **Kierownika Studiów Podyplomowych**. W ramach swoich obowiązków dokonałam merytorycznej przebudowy programu w/w studiów Podyplomowych w oparciu o efekty kształcenia.

W 2015 roku opiekowałam się dwiema studentkami Uniwersytetu Łódzkiego realizującymi praktyki w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii.

W kadencji 2012-2016 jestem przedstawicielem adiunktów w Radzie Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności. W 2012 roku brałam udział w przygotowaniu wniosku do akredytacji instytucjonalnej wydziału w obszarze dotyczącym Studiów Podyplomowych.

Realizuję powierzone mi prace dotyczące rekrutacji na studia w PŁ - w latach 2004-2005 byłam członkiem Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, zaś w roku 2014 sprawowałam nadzór na sprawdzianie dla kandydatów na studia w Politechnice Łódzkiej, Wydział Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska.

Angażuję się również w działania promujące Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, w tym w programie PŁ **„Drzwi zawsze otwarte”**, w ramach którego koordynuję zajęcia dla uczniów szkół w laboratorium Mikrobiologii Technicznej.

Uczestniczyłam w prowadzeniu zajęć laboratoryjnych z mikrobiologii dla uczniów Gimnazjum nr 13 w Łodzi oraz uczniów szkół podstawowych z Łodzi Kutna. Prowadziłam też zajęcia dla dzieci w ramach „Uniwersytetu Dziecięcego Polmosu Żyrardów 2013”.

W latach 2008-2011 prowadziłam wykłady na „Festiwalu Nauki, Techniki i Sztuki”, odbywających się w Łodzi.

W latach 2003, 2006, 2009 i 2012 brałam udział w pracach Komitetu Organizacyjnego III, IV, V i VI Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych” organizowanej przez Instytut Technologii Fermentacji

i Mikrobiologii. W roku 2014 aktywnie uczestniczyłam w pracach Komitetu Organizacyjnego XVI International Biodeterioration & Biodegradation Symposium organizowanego po raz pierwszy w Łodzi.

Zdobyta w pracy zawodowej wiedza i umiejętności praktyczne pozwoliły mi na zorganizowanie w latach 1999-2005 cyklu seminariów szkoleniowych „**Zagrożenia grzybami pleśniowymi w zakładach przemysłowych**” oraz „**Bezpieczeństwo żywności w świetle obowiązujących przepisów prawnych**” (2007-2008).

Umiejętności związane z identyfikacją grzybów pleśniowych zdobyte podczas miesięcznego stażu w University of Horticulture and Food Science w Budapeszcie oraz doświadczenie w trakcie własnych studiów literaturowych pozwoliły na zorganizowanie w 2009 roku indywidualnego szkolenia w tym zakresie dla pracowników Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Olsztynie i Bydgoszczy.

Jestem członkiem organizacji i stowarzyszeń naukowych: Biodeterioration & Biodegradation Society, Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Polskie Towarzystwo Mykologiczne oraz Polskie Towarzystwo Technologów Żywności.

30.04.2015

M. Piórkówna