

## Załącznik 2a

---

Autoreferat z opisem dorobku i osiągnięć naukowych  
związanych z postępowaniem habilitacyjnym

**Katarzyna Rajkowska**

---

Politechnika Łódzka  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

Łódź, 2018

## 1. Dane personalne

Imię i Nazwisko      **Katarzyna Dorota Rajkowska**

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 (z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej)

29.06.1998      Stopień magistra biologii, specjalność molekularna  
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Praca magisterska nt. „Wstępna charakterystyka arylosulfataz i sulfohydrolazy siarczanu askorbinianu z wątroby karasia japońskiego *Carassius gibelio* B.”  
Kierujący pracą: dr Antoni Leżnicki

29.06.1998      Kwalifikacje pedagogiczne  
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Czterosemestralne Studium Pedagogiczne

16.06.2000      Studia Podyplomowe w zakresie Prawa Finansowego i Gospodarczego  
Uniwersytet Łódzki  
Wydział Prawa i Administracji

15.07.2001      Studia Podyplomowe w zakresie Chemii  
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Wydział Chemii

29.11.2005      Stopień doktora nauk technicznych w zakresie technologii chemicznej  
Politechnika Łódzka  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Praca doktorska nt. „Stabilność genotypowa i fenotypowa przemysłowych ras drożdży winiarskich i ich hybrydów”  
Promotor rozprawy: prof. dr hab. Zdzisława Libudziś

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

22.12.2005 –      Politechnika Łódzka  
21.12.2006      Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii  
Asystent

22.12.2006 –      Politechnika Łódzka  
obecnie      Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii  
Adiunkt

#### 4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Osiągnięciem naukowym zgodnie z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.) jest cykl publikacji naukowych.

##### a) tytuł osiągnięcia naukowego

**Drożdże z rodzaju *Candida* izolowane z żywności oraz przeciwdrożdżowe działanie olejków eterycznych**

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

Osiągnięcie naukowe jest przedstawione w cyklu 5 publikacji.

**B1. Rajkowska K., Kunicka-Styczyńska A. (2018) Typing and virulence factors of food-borne *Candida* spp. isolates. International Journal of Food Microbiology 279, 57–63. IF<sup>5-letni</sup>=3,771; MNiSW 40 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Rajkowska Katarzyna	Koncepcja pracy, zaplanowanie badań, karyotypowanie drożdży, oznaczenie właściwości hemolitycznych i enzymatycznych drożdży, wzrostu w różnych temperaturach, tworzenia biofilmu na powierzchniach abiotycznych, opracowanie wyników, analiza statystyczna, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	90
Kunicka-Styczyńska Alina	Konsultacja interpretacji wyników badań, korekta manuskryptu.	10

**B2. Rajkowska K.,** Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2017) Selected essential oils as antifungal agents against antibiotic-resistant *Candida* spp.: *in vitro* study on clinical and food-borne isolates. *Microbial Drug Resistance* 23(1), 18–24. **IF<sub>5-letni</sub>=2,283; MNiSW 25 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Rajkowska Katarzyna	Koncepcja pracy, zaplanowanie badań, oznaczenie hydrofobowości powierzchni ściany komórkowej drożdży, opracowanie wyników, analiza statystyczna, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	85
Kunicka-Styczyńska Alina	Konsultacja interpretacji wyników badań, korekta manuskryptu.	10
Maroszyńska Marta	Oznaczenie wartości minimalnych stężeń olejków eterycznych hamujących wzrost drożdży.	5

**B3. Rajkowska K.,** Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M., Dąbrowska M. (2014) The effect of thyme and tea tree oils on morphology and metabolism of *Candida albicans*. *Acta Biochimica Polonica* 61(2), 305–310. **IF<sub>2014</sub>=1,153; MNiSW<sub>2014</sub> 15 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Rajkowska Katarzyna	Koncepcja pracy, zaplanowanie badań, oznaczenie wpływu olejków eterycznych na morfologię kolonii drożdży, ich właściwości enzymatyczne i indeks morfologiczny, opracowanie wyników, analiza statystyczna, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	80
Kunicka-Styczyńska Alina	Konsultacja interpretacji wyników badań, korekta manuskryptu.	10
Maroszyńska Marta	Oznaczenie właściwości biochemicznych drożdży z zastosowaniem testów API 20C AUX.	5
Dąbrowska Mariola	Oznaczenie składu chemicznego olejków eterycznych metodą GC-MS-FID.	5

**B4. Rajkowska K., Otlewska A., Kunicka-Styczyńska A., Krajewska A. (2017) *Candida albicans* impairments induced by peppermint and clove oils at sub-inhibitory concentrations. International Journal of Molecular Sciences 18, 1307–1317. IF<sub>5-letni</sub>=3,482; MNiSW 30 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Rajkowska Katarzyna	Koncepcja pracy, zaplanowanie badań, określenie zmian w profilach enzymatycznych i biochemicznych drożdży oraz w chromosomalnym DNA w odpowiedzi na działanie olejków eterycznych, opracowanie wyników przeprowadzonych badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	70
Otlewska Anna	Przeprowadzenie badań i interpretacja wyników z zakresu analizy profili białek drożdży.	15
Kunicka-Styczyńska Alina	Konsultacja interpretacji wyników badań, korekta manuskryptu.	10
Krajewska Agnieszka	Oznaczenie składu chemicznego olejków eterycznych metodą GC-MS-FID.	5

**B5. Rajkowska K., Nowak A., Kunicka-Styczyńska A., Siadura A. (2016) Biological effects of various chemically characterized essential oils: investigation of the mode of action against *Candida albicans* and HeLa cells. RSC Advances 6, 97199–97207. IF<sub>2016</sub>=3,108; MNiSW<sub>2016</sub> 30 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Rajkowska Katarzyna	Koncepcja pracy, zaplanowanie badań, oznaczenie wpływu olejków eterycznych na liczbę żywych komórek drożdży, uwalnianie białek i DNA z komórki drożdży, struktury błonowe i ścianę komórkową drożdży, opracowanie wyników przeprowadzonych badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników badań, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	75
Nowak Adriana	Hodowla komórek HeLa, badanie genotoksycznego działania olejków na komórki HeLa oraz analiza statystyczna wyników z cyto- i genotoksycznego wpływu olejków eterycznych na komórki HeLa.	10
Kunicka-Styczyńska Alina	Konsultacja interpretacji wyników badań, korekta manuskryptu.	10
Siadura Anna	Udział w badaniach z zakresu cytotoksycznego działania olejków eterycznych na komórki HeLa.	5

Oświadczenia współautorów odnośnie ich udziału we wspólnych publikacjach stanowiących jednotematyczny cykl zostały zamieszczone w **załączniku 6**.

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego zostało przedstawione w publikacjach o łącznej wartości współczynnika **IF=13,797 (140 pkt. MNiSW)**.

Pozostałe osiągnięcia naukowe przedstawione zostały w publikacjach o wartości współczynnika **IF=32,710 (505 pkt. MNiSW)**.

Sumaryczny Impact Factor wynosi **IF=46,507**; łączna liczba punktów zgodnie z kryteriami MNiSW wynosi **645**.

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Web of Science wynosi **7**, zaś liczba cytowań **79** (bez autocytowań).

### c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Drożdże z rodzaju *Candida* stanowią heterogenną grupę mikroorganizmów, zasiedlającą różne środowiska. Do rodzaju *Candida*, należącego do rodziny *Debaryomycetaceae* w obrębie podtypu *Saccharomycotina*, typ *Ascomycota*, zaliczanych jest ponad 400 gatunków, zróżnicowanych pod względem morfologicznym, a ich wspólną cechą jest zdolność rozmnażania jedynie na drodze bezpłciowej poprzez pączkowanie wieloboczne (Daniel i wsp., 2014). Do drożdży *Candida* sp. należą gatunki środowiskowe (m.in. *C. robusta*, *C. holmii*, *C. pintoopesii*, *C. javanica*, *C. maris*, *C. ipomoeae*), które naturalnie występują w wodach słodkich i słonych, glebie, powietrzu, na korze drzew, liściach, kwiatach, grzybach wyższych (Barnett i wsp., 2000). Wśród drożdży z rodzaju *Candida* znajdują się także gatunki patogenne, z wiodącym gatunkiem *C. albicans* (Tortorano i wsp., 2006). Inne gatunki *Candida* sp. (w tym *C. kefyr*, *C. boidinii*, *C. lipolytica*, *C. shehatae*, *C. pseudotropicalis*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*) stanowią naturalną mikroflorę żywności, stosowane są w jej produkcji lub izolowane z żywności, m.in. z mleka i produktów mlecznych, napojów alkoholowych, owoców, soków owocowych, tradycyjnej żywności fermentowanej (Kieliszek i wsp., 2017; Barriga i wsp., 2011). Liczba drożdży w tych produktach może sięgać poziomu  $10^6$ – $10^8$  jtk/ml lub jtk/g (Fleet i Ballia, 2006). Drożdże izolowane z żywności, jeśli nie stanowią jej naturalnej mikroflory, uważane są za czynnik odpowiedzialny za jej psucie.

W danych epidemiologicznych (PZH, 2017; WHO, 2002; PAHO, 1998) dotyczących chorób przenoszonych drogą pokarmową drożdże nie są uwzględniane jako czynnik etiologiczny zatruc pokarmowych. Istnieją jednak doniesienia wskazujące, że *Candida* sp. może kolonizować odcinki przewodu pokarmowego człowieka, przyczyniając się do powstania biegunki i innych objawów żołądkowo-jelitowych u osób z grupy ryzyka, a w ich kale stwierdza się obecność drożdży na poziomie ponad  $10^6$  jtk/g (Levine i Dykoski, 1995). Również badania Talwar i wsp. (1990) dotyczące nieżytu żołądka i jelit, powodowanego prawdopodobnie przez drożdże wprowadzone z żywnością, wskazują na gatunek *C. albicans* jako główny czynnik etiologiczny, ale także udział innych gatunków *Candida*, w tym *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*. Ponadto, drożdże obecne w spożywanych pokarmach mogą nasilać aktywność choroby Leśniowskiego-Crohna i wywoływać reakcję zapalną jelita (Barclay i wsp., 1992).

W świetle tych informacji istnieją uzasadnione obawy, że żywność może być nierozpoznanym i pomijanym źródłem drożdży potencjalnie chorobotwórczych. Obecnie kandydozy stanowią coraz poważniejszy problem społeczny, dotyczący nawet 20 procent społeczeństwa. Za główny czynnik etiologiczny kandydoz uważany jest gatunek *C. albicans*, ale również inne gatunki nie-*C. albicans* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*,

*C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. rugosa*, *C. dubliniensis*, *C. norvegensis*) uznawane są za patogenne (Pappas i wsp., 2016; Tortorano i wsp., 2006).

W literaturze naukowej dobrze udokumentowana jest rola w patogenezie zakażeń *Candida* sp. szczepów izolowanych z materiałów klinicznych. Nierozpoznane jest natomiast znaczenie dla zdrowia człowieka drożdży z rodzaju *Candida* pochodzących z żywności, uznawanych za saprofityczne szczepy środowiskowe. Uwzględniając fakt, że źródłem większości kandydoz są zakażenia endogenne, a rozprzestrzenianie drożdży w organizmie człowieka może zachodzić przez układ pokarmowy, rodzi się pytanie o zagrożenia zdrowotne ze strony gatunków *Candida* występujących w żywności. Badania z tego zakresu nie były dotychczas prowadzone.

Patogeneza kandydoz zależy od czynników wirulencji *Candida* sp., do których zalicza się wytwarzanie enzymów hydrolitycznych, ekspresję adhezyn i inwazyjnych na powierzchni ściany komórkowej, pleomorfizm, zmienność fenotypową, tworzenie biofilmu (Silva i wsp., 2012). Istotna jest także plastyczność metaboliczna drożdży, efektywne pozyskiwanie składników odżywczych i wysoka adaptacja do czynników stresu środowiskowego (Romani i wsp., 2003).

Proponowana profilaktyka zakażeń *Candida* sp. oraz zespołu nadwrażliwości na *Candida* obejmuje między innymi zalecenia dietetyczne, tj. zrównoważoną dietę z przewagą produktów roślinnych, zwłaszcza warzyw i owoców o niskiej zawartości sacharydów oraz roślin przyprawowych, ograniczenie spożywania cukrów prostych i eliminację z diety drożdży (Rogalski, 2010).

Rosnąca świadomość konsumentów skłania producentów żywności do ograniczania stosowania chemicznych konserwantów i poszukiwania naturalnych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Alternatywą mogą być olejki eteryczne, naturalne wieloskładnikowe substancje pochodzenia roślinnego. Olejki eteryczne charakteryzują się szerokim spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej, mniejszymi działaniami ubocznymi, mniejszą toksycznością oraz lepszą biodegradowalnością w porównaniu z konserwantami (Bakkali i wsp., 2008; Kalemba i Kunicka, 2003). Ponadto, ze względu na złożony i zmienny skład olejków eterycznych mikroorganizmy nie wykazują i nie nabywają oporności na ich działanie. Olejki eteryczne mogą być naturalnie wprowadzane do organizmu człowieka wraz z żywnością, zwłaszcza przy diecie bogatej w nieprzetworzone lub niskoprzetworzone składniki roślinne.

**Celem badań stanowiących osiągnięcie naukowe było wykazanie, czy izolowane z żywności drożdże z rodzaju *Candida* wykazują cechy wirulencji oraz**



**określenie, czy olejki eteryczne mogą ograniczać rozwój *Candida* sp. szczególnie w aspekcie ich działania cyto- i genotoksycznego.**

Przeprowadzone badania naukowe i uzyskane wyniki określają osiągnięcie naukowe „Drożdże z rodzaju *Candida* izolowane z żywności oraz przeciwdrożdżowe działanie olejków eterycznych”, zaprezentowane w monotematycznym zbiorze obejmującym pięć publikacji. Kolejność przedstawienia publikacji w autoreferacie wynika z ich merytorycznej zawartości.

Zakres badań obejmował:

1. Izolację drożdży z różnych produktów żywnościowych oraz bio- i karyotypowanie drożdży.
2. Charakterystykę izolowanych z żywności drożdży *Candida* sp. oraz porównawczo modelowego patogennego szczepu *C. albicans* ATCC 10231 pod kątem ich właściwości wirulentnych.
3. Oznaczenie aktywności przeciwdrożdżowej wybranych olejków eterycznych (miętowego, tymiankowego, goździkowego, drzewa herbacianego) wobec izolowanych z żywności szczepów *Candida* sp. w aspekcie właściwości hydrofobowych drożdży.
4. Ustalenie wpływu badanych olejków eterycznych w stężeniu subletalnym na morfologię, uzdolnienia biochemiczne, aktywność enzymatyczną i profil białkowy modelowego szczepu drożdży *C. albicans* ATCC 10231.
5. Sprawdzenie, czy badane olejki eteryczne w stężeniu subletalnym wykazują działanie genotoksyczne wobec modelowego szczepu drożdży *C. albicans* ATCC 10231.
6. Wykazanie, czy olejek drzewa herbacianego, miętowy, tymiankowy i goździkowy wpływa na integralność błon biologicznych oraz syntezę i strukturę ściany komórkowej modelowego szczepu drożdży *C. albicans* ATCC 10231.
7. Dodatkowo, określenie, czy badane olejki eteryczne wykazują aktywność cyto- i genotoksyczną wobec modelowej linii ludzkich komórek nowotworowych HeLa.

Charakterystykę izolowanych z żywności szczepów drożdży *Candida* sp. pod kątem ich właściwości wirulentnych przedstawiłam w publikacji **B1: Rajkowska K., Kunicka-Styczyńska A. (2018) Typing and virulence factors of food-borne *Candida* spp. isolates. International Journal of Food Microbiology 279, 57–63. IF<sub>5-letni</sub>=3,771; MNiSW 40 pkt.**

Badania przeprowadziłam dla 18 szczepów drożdży izolowanych z żywności i reprezentujących różne gatunki *Candida*: *C. lusitaniae* (2 izolaty z jogurtów owocowych,

2 izolaty z drożdży paszowych), *C. krusei* (2 izolaty z ogórków kiszonych, 2 izolaty z drożdży piekarskich), *C. boidinii* (3 izolaty z ogórków kiszonych), *C. famata* (1 izolat z jogurtu owocowego, 1 izolat z sałatki śledziowej), *C. colliculosa* (izolat z jogurtu owocowego), *C. parapsilosis* (izolat z jogurtu owocowego), *C. tropicalis* (izolat z ogórków kiszonych), *C. pelliculosa* (izolat z drożdży paszowych), *C. rugosa* (izolat z kapusty kiszonej). Porównawczo w badaniach zastosowałam szczepy *C. albicans*, pochodzące od pacjentów z objawami kandydozy, tj. kolekcyjny szczep *C. albicans* ATCC 10231 i kliniczny szczep *C. albicans* cl/MP/01.

Dla badanych drożdży przeprowadziłam typowanie w oparciu o profile elektroforetyczne chromosomalnego DNA, metodą elektroforezy w zmiennym polu pulsowym PFGE. Uzyskane wyniki przedstawiłam w formie dendrogramu podobieństwa kariotypów, stosując analizę aglomeracji. Na podstawie dendrogramu wyodrębniłam 4 główne klastry drożdży. We wspólnym klastrze zgrupowane zostały dwa izolowane z drożdży paszowych szczepy *C. lusitaniae* o jednakowym profilu elektroforetycznym oraz izolowany z ogórków kiszonych szczep *C. tropicalis*. Kolejny klaster stanowiły trzy szczepy *C. krusei* (2 izolaty z drożdży piekarskich i 1 z ogórków kiszonych), szczep izolowany z drożdży paszowych *C. pelliculosa* oraz izolowany z kapusty kiszonej szczep *C. rugosa*. Zgrupowane razem trzy szczepy *C. boidinii*, wszystkie izolowane z ogórków kiszonych, wykazywały polimorfizm wielkości prążków 2361 kb i 1326 kb (tworzyły jeden klaster). Ostatni klaster tworzyło 7 szczepów, w tym 5 izolowanych z jogurtów owocowych (*C. lusitaniae* – 2 izolaty, *C. colliculosa*, *C. famata*, *C. parapsilosis*), izolat z sałatki śledziowej (*C. famata*) i 1 szczep izolowany z drożdży piekarskich (*C. krusei*). Kariotyp elektroforetyczny klinicznego szczepu *C. albicans* ATCC 10231 wykazywał największe podobieństwo do *C. pelliculosa*, ale współczynnik podobieństwa wynosił zaledwie 30,8%. Szczepy *C. lusitaniae* wykazywały polimorfizm wielkości chromosomalnego DNA i lokowane były w różnych klastrach. Podobne zróżnicowane kariotypów uzyskałam dla 4 szczepów *C. krusei*, które zostały zaklasyfikowane do dwóch różnych klastrów. Grupowanie drożdży oparte na kariotypowaniu odzwierciedlało raczej ich pochodzenie niż przynależność gatunkową, co wskazuje na niską siłę dyskryminacyjną tej metody.

**Nowością było zastosowanie przeze mnie w charakterystyce szczepów wyizolowanych z żywności biotypowania opartego na aktywności enzymatycznej drożdży** (przy użyciu testów API-ZYM), **przeprowadzane dotychczas jedynie dla klinicznych izolatów *C. albicans***. Stwierdziłam, że wszystkie badane drożdże pochodzące z żywności wykazywały profile enzymatyczne typowe dla klinicznych szczepów *C. albicans*. Największą grupę stanowiło dziesięć izolatów z żywności, które razem z obydwoma szczepami klinicznymi reprezentowały biotyp F (wykazujące aktywność esterazy,

arylamidazy walinowej, fosfohydrolazy naftolowej,  $\alpha$ -glukozydazy i brak aktywności N-acetylo- $\beta$ -glukozyloaminidazy). Siedem szczepów zaklasyfikowałam do biotypu E (aktywność esterazy, arylamidazy walinowej, fosfohydrolazy naftolowej oraz brak aktywności  $\alpha$ -glukozydazy i N-acetylo- $\beta$ -glukozyloaminidazy), a izolat *C. tropicalis*, wykazujący aktywność wszystkich enzymów zaliczyłam do biotypu A.

Poza aktywnością enzymatyczną drożdży, zbadalam dodatkowo ich właściwości wirulentne, tj. aktywność hemolityczną, zdolność wzrostu w temperaturze 37° i 42°C, tworzenie biofilmu na matrycach stałych oraz profile enzymatyczne drożdży w strukturze biofilmów. Właściwości hemolityczne stwierdziłam dla jedenastu spośród osiemnastu badanych szczepów wyizolowanych z żywności (*C. lusitaniae* – 4 izolaty, *C. krusei* – 2 izolaty, *C. famata* – 2 izolaty, *C. colliculosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*). W grupie badanych izolatów, siedem (*C. krusei* – 2 izolaty, *C. boidinii* – 3 izolaty, *C. pelliculosa*, *C. rugosa*) nie było zdolnych do wzrostu w temperaturze 37°C. Pośród szczepów zdolnych do wzrostu w temperaturze 37°C tylko jeden izolat *C. krusei* nie wykazywał wzrostu w temperaturze 42°C.

Do badań z zakresu tworzenia biofilmu wybrałam szkło, polipropylen (PP) i politereftalan etylenu (PET), stosowane do produkcji opakowań żywności. Materiały te wykorzystywane są także do wytwarzania elementów zużywalnego sprzętu medycznego. Ponadto, PP i PET stosowane są w implantowanych wyrobach medycznych, w tym zastawkach serca, szwach chirurgicznych, protezach (Khan i wsp., 2014). Stąd tworzenie przez drożdże biofilmu na szkłe i polimerach wskazuje na możliwość zasiedlania opakowań żywności, jak również niesie ze sobą ryzyko zakażeń egzogennych. Wszystkie badane drożdże izolowane z żywności kolonizowały powierzchnie matryc stałych. Właściwości te były jednak szczepo- i materiałozależne, a drożdże tworzyły biofilm na poziomie od  $6,5 \times 10^4$  do  $1,1 \times 10^8$  jtk/cm<sup>2</sup>. Wykazałam, że 56% szczepów pochodzących z żywności tworzyło na powierzchni szkła biofilm na poziomie porównywalnym z klinicznymi izolatami *C. albicans*, na polipropylenie – 61%, a na politereftalanie etylenu aż 94%.

Profile enzymatyczne drożdży w strukturze biofilmu kształtowały się inaczej w porównaniu do form planktonowych. 89% drożdży pozyskanych z żywności w biofilmie wykazywało aktywność enzymatyczną, umożliwiającą zaklasyfikowanie ich do jednego z biotypów przyjętych dla klinicznych szczepów *C. albicans*. Interesujące jest, że większość drożdży charakteryzowała się niższą aktywnością enzymatyczną w biofilmie w porównaniu do form planktonowych, co świadczy o wysokiej zdolności adaptacji tych szczepów do warunków środowiska.

Dla testowanej grupy drożdży przeprowadziłam statystyczną ocenę ich właściwości wirulentnych. W przestrzennym diagramie rozrzutu szczepów (analiza składowych głównych)

we wspólnym klastrze zostało zgrupowanych dziewięć izolatów z żywności, należących do gatunków *C. lusitaniae* (3 izolaty), *C. famata* (2 izolaty), *C. colliculosa*, *C. krusei* (1 izolat), *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* oraz kliniczne szczepy *C. albicans*. **Wspólne grupowanie tych szczepów wskazuje na ich wysokie podobieństwo do klinicznych izolatów *C. albicans* w zakresie analizowanych cech. Jednakże wstępnym i kluczowym kryterium w analizie ryzyka wirulencji drożdży *Candida* sp. wyizolowanych z żywności powinna być zdolność tych mikroorganizmów do wzrostu w temperaturze 37°C.**

W prezentowanej pracy **po raz pierwszy wykazałam istotne statystycznie podobieństwo szczepów z rodzaju *Candida* izolowanych z żywności do patogennych szczepów *C. albicans*. Wskazałam, że szczepy zasiedlające produkty żywnościowe wykazują cechy powszechnie uznawane za czynniki wirulencji, a ich ekspresja fenotypowa nie odbiega od klinicznych izolatów *C. albicans*.**

W związku z tendencją do ograniczania stosowania chemicznych konserwantów w żywności, rośnie zainteresowanie naturalnymi substancjami o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, w tym olejkami eterycznymi. W literaturze naukowej dostępnych jest wiele doniesień dotyczących aktywności biologicznej olejków eterycznych *in vitro* (obszerny przegląd tych publikacji można znaleźć w artykułach przeglądowych Bakkali i wsp., 2008; Kalemba i Kunicka, 2003). W praktyce olejki eteryczne stosowane są jako aromaty w przemyśle kosmetycznym i perfumeryjnym, a także w aromaterapii i parafarmaceutykach jako substancje rozluźniające, przeciwzapalne, przeciwbólowe i uspokajające. W 2016 roku światowa wielkość rynku olejków eterycznych wynosiła 6,63 miliarda USD, a skumulowany roczny wskaźnik wzrostu szacowany jest na poziomie 9,7% (Grand View Research, 2018). Stale rosnące zainteresowanie olejkami eterycznymi związane jest z ich wykorzystaniem jako wzmacniaczy smaku, zapachu i barwy w żywności oraz w aromaterapii i pielęgnacji ciała. W żywności olejki eteryczne znajdują zastosowanie przede wszystkim jako aromaty, jednak w znacznie mniejszym zakresie wykorzystywane są ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Doniesienia literaturowe wskazują na możliwość efektywnego użycia olejków eterycznych jako konserwantów wnoszonych bezpośrednio do produktów żywnościowych lub ich opakowań, m.in. pieczywa (Nielsen i Rios, 2000), żółtego sera (Vazquez i wsp., 2001), mięsa (Quintavalla i Vicini, 2002), owoców (Lanciotti i wsp., 2004). Badania te dotyczą aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych wobec mikroorganizmów chorobotwórczych i pleśni powodujących psucie produktów, ale nie odnoszą się do drożdży *Candida* sp.

Obecnie zarejestrowanych jest i dostępnych komercyjnie jedynie kilka preparatów konserwujących opartych na naturalnych ekstraktach roślinnych, tj. Protecta™ One

i Protecta™ Two (Bavaria Corporation International, Apopka, USA) o zastrzeżonym składzie, zalecanych do świeżych, mrożonych i przetworzonych produktów mięsnych, owoców morza i innych produktów spożywczych oraz DMC Base Natural (Domca S.A., Alhendín, Hiszpania), preparat stanowiący mieszaninę olejku rozmarynowego, szałwiowego i cytrusowego (50%) oraz glicerolu (50%).

Istotnym elementem prowadzonych przeze mnie badań jest możliwość wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce przemysłowej. W ostatnim czasie w Polsce wyraźnie rośnie grupa konsumentów skłaniających się ku żywności pochodzącej z naturalnych upraw i hodowli, cechującej się wysoką jakością, oryginalnością, a często długoletnią tradycją wytwarzania (Rogała, 2014). Żywność taka jest w niewielkim stopniu przetworzona i odbierana przez konsumentów jako bogatsza w składniki odżywcze oraz zdrowsza. Wprowadzenie do produktów olejków eterycznych roślin przyprawowych jako naturalnych konserwantów nawiązuje do tradycyjnego wytwarzania i utrwalania żywności oraz odpowiada na zapotrzebowanie świadomego konsumenta. W tym kontekście należy oczekiwać dalszego wzrostu zainteresowania zarówno konsumentów, jak i producentów żywności zastosowaniem naturalnych substancji pochodzenia roślinnego jako konserwantów. O rosnącym zainteresowaniu oraz gotowości stosowania naturalnych ekstraktów roślinnych przez partnerów przemysłowych świadczą także badania aplikacyjne prowadzone na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ i planowane wdrożenia (Nowak i wsp., 2015a, 2015b).

Z danych literaturowych wynika, że przeciwdrobnoustrojowe działanie olejków eterycznych może być częściowo zależne od ich hydrofobowości (Bakkali i wsp., 2008). W tym kontekście nie można wykluczyć, że interakcja między olejkiem eterycznym a powierzchnią ściany komórkowej drożdży może również zależeć od ich właściwości hydrofobowych. Ponadto, właściwości hydrofobowe powierzchni komórek uznawane są za cechę związaną z patogennością *Candida* sp., determinującą właściwości adhezyjne i zdolność tworzenia biofilmu przez drożdże (Blanco i wsp., 2010).

Powyższa hipoteza stała się podstawą do podjęcia badań z zakresu oceny aktywności przeciwdrożdżowej wybranych olejków eterycznych wobec izolowanych z żywności szczepów *Candida* sp. w aspekcie właściwości hydrofobowych drożdży. Wyniki przedstawiłam w publikacji **B2: Rajkowska K., Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2017) Selected essential oils as antifungal agents against antibiotic-resistant *Candida* spp.: *in vitro* study on clinical and food-borne isolates. Microbial Drug Resistance 23(1), 18–24. IF<sub>5-letni</sub>=2,283; MNiSW 25 pkt.**

W badaniach, poza 18 szczepami drożdży pochodzącymi z żywności, wykorzystałam także 27 klinicznych izolatów *Candida* sp., reprezentujących przede wszystkim gatunek *C. albicans*.

Działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec *Candida* sp. określiłam dla 4 olejków eterycznych, które naturalnie mogą znajdować się w żywności, wprowadzane z przyprawami i produktami roślinnymi albo mogą stanowić dodatek do żywności, tj. olejku drzewa herbacianego (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel), tymiankowego (*Thymus vulgaris* L.), mięty pieprzowej (*Mentha piperita* L.) oraz goździkowego (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry). Wybrane olejki eteryczne charakteryzowały się odmiennym składem chemicznym, określonym metodą chromatografii gazowej ze spektrometrią masową GC-MS-FID. Olejki eteryczne zawierały od 6 do 29 związków: w składzie olejku drzewa herbacianego dominował terpinen-4-ol (41,9%) i  $\gamma$ -terpinen (17,8%), a olejku tymiankowego – tymol (48,6%), p-cymen (18,4%) oraz  $\gamma$ -terpinen (8,8%). Działanie olejku mięty pieprzowej i goździkowego wiązane jest z ich głównymi składnikami, tj. odpowiednio mentolem, mentonem i ich pochodnymi (72%) oraz eugenolem i (E)- $\beta$ -kariofilenem (95,1%). Olejek drzewa herbacianego i olejek mięty pieprzowej zawierały głównie alkohole terpenowe (odpowiednio 46% i 49% składu olejków). Olejki tymiankowy i goździkowy charakteryzowały się wysoką zawartością związków fenolowych (odpowiednio 48,6% i 85%).

Stwierdziłam, że **wszystkie badane szczepy *Candida* sp., zarówno izolaty z żywności, jak i kliniczne były wrażliwe na testowane olejki eteryczne.** Wartości MIC (minimalne stężenie hamujące) dla olejku tymiankowego i goździkowego mieściły się w zakresie od 0,03% do 0,25% v/v, a dla olejku drzewa herbacianego od 0,12% do 2,0% v/v. Wyjątek stanowił wyizolowany z żywności szczep *C. tropicalis*, którego wzrost był hamowany dopiero po zastosowaniu olejków eterycznych w stężeniu 8% v/v. Olejek mięty pieprzowej wykazywał najniższą aktywność przeciwdrobnoustrojową z wartościami MIC wynoszącymi 0,03–8,0% v/v, zależnie od szczepu drożdży *Candida* sp. Aktywność przeciwdrożdżowa badanych olejków eterycznych, wskazuje na ich przydatność w zapobieganiu rozwojowi *Candida* sp., zarówno szczepów przenoszonych przez żywność, jak i klinicznych. Ponadto, uzyskane wartości MIC wskazują na wyższą aktywność przeciwdrożdżową związków fenolowych, dominujących w składzie olejku tymiankowego i goździkowego w porównaniu do alkoholi terpenowych, głównych składników olejku drzewa herbacianego i miętowego.

Na podstawie zróżnicowanej wrażliwości drożdży na olejki eteryczne, przy zastosowaniu statystycznej analizy składowych głównych, opracowałam diagram rozrzutu szczepów *Candida* sp. W oparciu o diagram wyodrębniłam pięć grup drożdży, przy czym każda zawierała szczepy izolowane z żywności oraz izolaty kliniczne. **Wspólne przestrzenne statystyczne pogrupowanie drożdży różnego pochodzenia wskazuje**

**na wysoką homologię pod względem wrażliwości na olejki eteryczne pomiędzy izolatami pozyskanymi z żywności i szczepami klinicznymi.**

Podobnie jak wrażliwość na olejki eteryczne, również właściwości hydrofobowe drożdży były zróżnicowane. 50% badanych szczepów izolowanych z żywności i 37% klinicznych charakteryzowało się wysoką hydrofobowością. Hierarchiczna analiza skupień, którą zastosowałam do oceny podobieństwa *Candida* sp. pod kątem ich właściwości hydrofobowych, pogrupowała badane drożdże w pięć głównych klastrów. **Podział drożdży na podstawie indeksów hydrofobowości był zbliżony do przestrzennego rozkładu szczepów** w analizie składowych głównych, **opartego na ich wrażliwości na olejki eteryczne.** Średnia i niska hydrofobowość drożdży związana była z ich niższą wrażliwością na olejki eteryczne. W jednym klastrze występowały izolaty charakteryzujące się średnią hydrofobowością (indeks adherencji 70,0–72,9%) i niższą wrażliwością na olejki. W obydwu modelach został wyodrębniony szczep *C. tropicalis* wyizolowany z ogórków kiszonych, wykazujący najniższą wrażliwość na olejki eteryczne (wartości MIC wynoszące 8% v/v) i niską hydrofobowość (indeks hydrofobowości 22,4%). Natomiast drożdże cechujące się wysoką hydrofobowością (75,2–92,3%) wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na olejki eteryczne.

Na podstawie przeprowadzonych badań **stwierdziłam wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową olejku drzewa herbacianego, goździkowego, mięty pieprzowej i tymiankowego wobec drożdży *Candida* sp. różnego pochodzenia. Wrażliwość *Candida* sp. na olejki eteryczne może być częściowo związana z właściwościami hydrofobowymi powierzchni komórki drożdży. Ponadto, uzyskane wyniki wskazują na wysoką homologię szczepów pozyskanych z żywności i izolatów klinicznych w zakresie ich właściwości hydrofobowych oraz wrażliwości na olejki eteryczne.**

Celem kolejnych badań było ustalenie wpływu badanych olejków eterycznych na morfologię, uzdolnienia biochemiczne i aktywność enzymatyczną drożdży na przykładzie olejku tymiankowego i drzewa herbacianego. Wyniki przedstawiłam w publikacji **B3: Rajkowska K., Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M., Dąbrowska M. (2014) The effect of thyme and tea tree oils on morphology and metabolism of *Candida albicans*. Acta Biochimica Polonica 61(2), 305–310. IF<sub>2014</sub>=1,153; MNiSW<sub>2014</sub> 15 pkt.**

Badania przeprowadziłam dla kolekcyjnego szczepu *C. albicans* ATCC 10231, który jest standardowo stosowany jako modelowy szczep referencyjny w badaniach czynników o aktywności przeciwgrzybowej (PN-EN 1275:2000, FP X 2014). Po działaniu olejku tymiankowego i drzewa herbacianego, zastosowanych w stężeniach poniżej ich wartości

MIC (0,0075–0,5% v/v), wyizolowałam 11 subpopulacji drożdży różniących się morfologią kolonii. Liczba morfologicznie odmiennych kolonii wynosiła od 15% po działaniu 0,03% v/v roztworu olejku drzewa herbacianego do 100% w obecności 0,015% v/v olejku tymiankowego. Różne morfotypy kolonii były związane ze zmianami wielkości komórek drożdży, wyrażonymi jako indeks morfologiczny. Zmiany te zależały od rodzaju olejku oraz jego stężenia, nie miały jednak wyraźnego charakteru kierunkowego.

Stwierdziłam także wpływ badanych olejków eterycznych na profile enzymatyczne i zdolność wykorzystania źródeł węgla przez drożdże, przy czym rozległe różnice odnotowałam w aktywności enzymatycznej drożdży. Zmiany w profilach enzymatycznych (testy API-ZYM) izolatów morfologicznych dotyczyły przede wszystkim utraty aktywności alkalicznej fosfatazy (7 izolatów), esterazy (5), esterazy lipazy (1), arylamidazy leucyny (1), arylamidazy waliny (5), arylamidazy cystyny (8), fosfohydrolazy naftolowej (1),  $\alpha$ -glukozydazy (5) lub zmniejszenia aktywności tych enzymów. Ponadto, jedynie dla trzech z jedenastu izolatów stwierdziłam dodatkową aktywność N-acetylo- $\beta$ -glukozaminidazy,  $\alpha$ -mannozydazy,  $\alpha$ -fukozydazy i trypsyny, której nie wykazywał szczep nie poddany działaniu olejków eterycznych. Badanie uzdolnień asymilacyjnych (testy API 20C AUX) wykazało utratę zdolności wykorzystania D-ksylozy i D-trehalozy po działaniu 0,03% olejku drzewa herbacianego oraz dodatkowo D-sorbitolu w obecności 0,015% olejku drzewa herbacianego.

**Najważniejszym rezultatem przeprowadzonych badań było wykazanie, indukowanych przez olejek tymiankowy i drzewa herbacianego w stężeniach podprogowych, zmian w profilach enzymatycznych oraz utraty zdolności wykorzystania niektórych źródeł węgla przez drożdże, co może przyczyniać się do ograniczenia ich rozwoju w żywności.**

Dalsze badania zmierzały do określenia, czy zmiana morfologii i profilu metabolicznego drożdży po działaniu olejków eterycznych w stężeniach znacznie poniżej wartości MIC jest uniwersalnym zjawiskiem, odnoszącym się także do innych olejków eterycznych. Do badań wybrałam olejek mięty pieprzowej i goździkowy, dla których wcześniej wykazałam wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *Candida* sp. (publikacja B2). W celu ustalenia działania tych olejków eterycznych i w świetle stwierdzonych uprzednio zmian aktywności metabolicznej drożdży, zbadalam także zmiany w profilach białek i kariotypach drożdży w odpowiedzi na olejki eteryczne. Wyniki badań przedstawiłam w publikacji **B4: Rajkowska K., Otlewska A., Kunicka-Styczyńska A., Krajewska A. (2017) *Candida albicans* impairments induced by peppermint and clove oils at sub-inhibitory concentrations. International Journal of Molecular Sciences 18, 1307–1317. IF<sub>5-letni</sub>=3,482; MNiSW 30 pkt.**



Badania, podobnie jak w publikacji B3, przeprowadziłam dla modelowego szczepu drożdży *C. albicans* ATCC 10231. Dla olejku mięty pieprzowej i goździkowego zastosowanych w stężeniach podprogowych (0,0075–0,25% v/v) stwierdziłam zmiany morfologii kolonii, właściwości enzymatycznych oraz zdolności wykorzystania źródeł węgla przez drożdże. Zmiany morfologiczne związane były przede wszystkim z różnicami w wielkości kolonii w odniesieniu do szczepu nie poddanemu działaniu olejków eterycznych. Najmniejsze kolonie, typowe dla mitochondrialnych mutantów oddechowych drożdży, obserwowałam po działaniu olejku mięty pieprzowej w stężeniu 0,0075% i 0,25% oraz 0,125% v/v olejku goździkowego. Do dalszych badań wybrałam siedem izolatów drożdży reprezentujących zmieniony morfotyp.

Zgodnie z hipotezą, że zmiany morfologii kolonii *C. albicans* mogą wynikać z rearanżacji chromosomalnego DNA, sprawdziłam wpływ badanych olejków w stężeniach podprogowych na kariotyp drożdży, stosując do rozdziału DNA metodę elektroforezy w zmiennym polu pulsowym PFGE. Wykazałam, że profil chromosomalnego DNA *C. albicans* ATCC 10231 zawiera 8 prążków o wielkości 780–3570 kb, a działanie olejku mięty pieprzowej i goździkowego, niezależnie od ich stężenia, nie indukuje zmian w kariotypie drożdży. Zatem **morfologiczne i metaboliczne zmiany drożdży *C. albicans* w obecności olejków eterycznych nie są wynikiem rozległych modyfikacji w chromosomalnym DNA drożdży, ale powinny być raczej rozpatrywane w kontekście ich odpowiedzi fenotypowej.**

Badane olejki eteryczne w stężeniu poniżej ich wartości MIC właściwie nie wpływały na zdolność *C. albicans* do asymilacji różnych źródeł węgla. Jedynie izolat pozyskany po działaniu 0,25% olejku goździkowego utracił zdolność wykorzystania ksylitolu.

**Znacznie rozleglejsze zmiany odnotowałam natomiast w profilach enzymatycznych badanych izolatów *C. albicans*** i były one związane z utratą aktywności alkalicznej fosfatazy (2 izolaty), esterazy lipazy (1), arylamidazy waliny (5) i arylamidazy cystyny (7). Ponadto, 2 izolaty wykazywały dodatkową aktywność N-acetylo- $\beta$ -glukozaminidazy, a jeden –  $\alpha$ -fukozydazy w porównaniu z drożdżami nie poddanymi działaniu olejków eterycznych. W przypadku esterazy, arylamidazy leucyny, fosfohydrolazy naftolowej i  $\alpha$ -glukozydazy odnotowałam zmniejszenie ilości wytwarzanych enzymów o 5 do 35 nmoli, w zależności od enzymu i izolatu.

**Wykazałam także rozległe zmiany w profilach białkowych *C. albicans* w odpowiedzi na olejek mięty pieprzowej i goździkowy** w stężeniach 0,125–0,25% v/v. Aby określić podobieństwo profili białkowych, wyznaczyłam indeks Dice'a i stwierdziłam 25,0% podobieństwo dla izolatu po działaniu 0,25% roztworu olejku mięty pieprzowej oraz

13,3% podobieństwo dla izolatu po działaniu olejku goździkowego w stężeniu 0,125 i 0,25% v/v w porównaniu do szczepu nie poddanemu działaniu olejków.

W powyższej pracy (B4) **wykazałam, że olejek mięty pieprzowej i olejek goździkowy, zastosowane w stężeniach poniżej ich wartości MIC, indukują zmiany fenotypu przejawiające się zróżnicowaniem morfologii kolonii i aktywności enzymatycznej *C. albicans*. Zmiany te nie są efektem rozległych rearanżacji chromosomalnych w karyotypie. Stwierdzone zmiany profili enzymatycznych i obniżenie aktywności enzymatycznej drożdży oraz redukcję liczby frakcji białkowych w ich profilach należy uznać za fenotypową odpowiedź drożdży na badane olejki eteryczne.**

W publikacjach B3 i B4 wykazałam zmiany morfologii, aktywności enzymatycznej, zdolności asymilacji różnych źródeł węgla oraz profili białkowych *C. albicans* indukowanych przez olejki eteryczne. Złożoność składu chemicznego olejków eterycznych uzasadnia hipotezę o ich wielokierunkowym działaniu na komórkę eukariotyczną, ale również o zbliżonych kierunkach działania olejków różniących się składem chemicznym. Powyższa hipoteza stała się podstawą do podjęcia przeze mnie badań zmierzających do określenia, czy analizowane olejki eteryczne wpływają na integralność błon biologicznych oraz syntezę i strukturę ściany komórkowej drożdży, a także, czy badane olejki eteryczne wykazują aktywność cyto- i genotoksyczną wobec linii ludzkich komórek nowotworowych HeLa. Wyniki przedstawiłam w publikacji **B5: Rajkowska K., Nowak A., Kunicka-Styczyńska A., Siadura A. (2016) Biological effects of various chemically characterized essential oils: investigation of the mode of action against *Candida albicans* and HeLa cells. RSC Advances 6, 97199–97207. IF<sub>2016</sub>=3,108; MNiSW<sub>2016</sub> 30 pkt.**

W badaniach zastosowałam dwa modele komórek eukariotycznych, tj. używane w poprzednich badaniach (publikacje B3 i B4) drożdże *C. albicans* ATCC 10231 jako modelowy organizm w badaniu mechanizmów infekcji i interakcji gospodarz-patogen oraz komórki ludzkiego raka szyjki macicy HeLa, modelową linię ludzkich komórek nowotworowych, jedną z najczęściej stosowanych linii komórkowych w badaniach *in vitro* substancji biologicznie czynnych.

W analizie przeciwdrożdżowego działania olejków eterycznych wobec *C. albicans* określiłam żywotność drożdży, dyfuzję DNA i białek z komórki drożdży w celu sprawdzenia integralności błony komórkowej, interakcje olejków ze składnikami ściany komórkowej (test z sorbitolem) oraz struktur błonowych drożdży (test z ergosterolem). Wobec ludzkich komórek nowotworowych HeLa określona została cyto- i genotoksyczność olejków eterycznych, aby sprawdzić potencjalną aktywność przeciwnowotworową badanych olejków.

Po zastosowaniu olejku tymiankowego, drzewa herbacianego, mięty pieprzowej i goździkowego w stężeniach MIC stwierdziłam uwalnianie wewnątrzkomórkowych składników, co skutkowało redukcją liczby żywych komórek drożdży. Stężenie uwolnionych składników wewnątrzkomórkowych, obliczone jako ilość DNA, wynosiło 42,75 µg/ml po 3 godzinach działania olejku tymiankowego, 8,11 µg/ml dla olejku goździkowego i 15,38 µg/ml dla olejku drzewa herbacianego i mięty pieprzowej. Ponadto, stężenie uwolnionych z komórek białek po 3 godzinach działania olejku drzewa herbacianego, mięty pieprzowej i tymiankowego wynosiło odpowiednio 15,36, 15,98 i 70,36 µg/ml. Ekspozycja na olejek goździkowy skutkowałą znacząco wyższą dyfuzją białek, a ich stężenie wynosiło aż 1251,96 µg/ml. Wzrost stężenia uwalnianych składników wewnątrzkomórkowych oraz obniżenie liczby żywych komórek drożdży o 1–1,5 log po 3 godzinach działania badanych olejków świadczy o ich **cytotoksycznym działaniu na *C. albicans* poprzez zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej i wypływ składników wewnątrzkomórkowych.**

Ponadto, **wykazałam, że badane olejki eteryczne nie oddziałują ze składnikami ściany komórkowej drożdży ani nie hamują jej syntezy. Natomiast wiążą się z ergosterolem, składnikiem błony komórkowej *C. albicans*, co może skutkować zwiększoną przepuszczalnością struktur błonowych i ograniczać żywotność drożdży.**

**Badane olejki eteryczne wykazywały również aktywność cytotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych HeLa** nawet w niskim stężeniu 0,015% v/v. Olejek mięty pieprzowej charakteryzował się niższą cytotoksycznością niż pozostałe olejki eteryczne. Mniej niż 4% komórek HeLa pozostawało żywych po działaniu 0,06% olejku goździkowego oraz 0,25% olejku drzewa herbacianego i tymiankowego. **Wszystkie badane olejki eteryczne wykazywały także genotoksyczne działanie na komórki nowotworowe HeLa.** Uszkodzenia DNA wyznaczone w teście kometowym i wyrażone jako procent DNA w ogonie komety wynosiły od 7,80 do 71,10. Nawet działanie badanych olejków w niskim stężeniu 0,015% v/v skutkowało uszkodzeniami na poziomie 7,80–37,59%. W przypadku olejków zastosowanych w stężeniu 1% v/v, najniższą genotoksyczność stwierdziłam dla olejku tymiankowego (46,80%), a najwyższą dla olejku mięty pieprzowej (71,10%).

**Stwierdziłam, że zarówno olejki zawierające głównie alkohole terpenowe (olejek drzewa herbacianego i mięty pieprzowej), jak i olejki o wysokiej zawartości związków fenolowych (olejek tymiankowy i goździkowy) wykazywały podobną aktywność w stosunku do komórek *C. albicans*, działając na te same struktury komórkowe drożdży.** Cytotoksyczność olejków eterycznych w stosunku do *C. albicans* była wynikiem zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej drożdży, co może wyjaśniać ich letalne działanie na *C. albicans*. Żaden z badanych olejków eterycznych nie oddziałował

ze składnikami i nie hamował syntezy ściany komórkowej drożdży. Wszystkie badane olejki wykazywały także aktywność cyto- i genotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych HeLa, co wskazuje na ich potencjalne działanie przeciwnowotworowe.

W publikacji B5 **wykazałam, że olejki eteryczne różniące się rodzajem i zawartością związków aktywnych oddziałują na te same struktury komórkowe, co wskazuje na podobny mechanizm ich działania.** Można przypuszczać, że podobna aktywność różnych pod względem chemicznym olejków eterycznych wynika raczej z ich złożonego składu chemicznego niż zawartości konkretnego związku i może być efektem modulowania aktywności dominujących związków przez składniki śladowe.

Moje najbliższe plany naukowe stanowią kontynuację badań nad zastosowaniem olejków eterycznych jako naturalnych konserwantów w żywności i opakowaniach żywności. Planuję także określić bezpieczeństwo stosowania olejków eterycznych w oparciu o badania na ludzkich prawidłowych komórkach nabłonka jelitowego.

**Za najważniejsze osiągnięcia opisanych badań zawartych w cyklu publikacji (B1–B5) uważam wykazanie, że:**

1. W badanych produktach żywnościowych (jogurty owocowe, ogórki kiszone, kapusta kiszona, drożdże piekarskie, sałatka śledziowa, drożdże paszowe) występują drożdże reprezentujące różne gatunki nie-*albicans Candida*, takie jak *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. boidinii*, *C. famata*, *C. colliculosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. pelliculosa*, *C. rugosa*.
2. Występujące w żywności drożdże *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. colliculosa*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* wykazują wysokie podobieństwo do klinicznych izolatów *C. albicans* w zakresie badanych cech wirulencji, tj. właściwości hemolitycznych, zdolności wzrostu w temperaturze 37° i 42°C, profili enzymatycznych, tworzenia biofilmu na matrycach stałych.
3. Występujące w żywności szczepy nie-*albicans Candida* i kliniczne izolaty *C. albicans* wykazują podobieństwo w zakresie właściwości hydrofobowych oraz wrażliwości na olejki eteryczne.
4. Olejek drzewa herbacianego, goździkowy, mięty pieprzowej i tymiankowy charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwdrożdżową wobec szczepów *Candida* sp. izolowanych z żywności oraz izolatów klinicznych.
5. Badane olejki, zastosowane nawet w stężeniach poniżej minimalnych wartości hamujących, indukują zmiany morfologii modelowego szczepu *C. albicans*, przyczyniają się do zmiany profilu i zmniejszenia aktywności enzymatycznej oraz

zdolności wykorzystania różnych źródeł węgla, co może ograniczać rozwój drożdży w żywności.

6. Aktywność olejku drzewa herbacianego, goździkowego, mięty pieprzowej i tymiankowego wobec *C. albicans* związana jest z ich cytotoksycznym działaniem poprzez zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej drożdży. Badane olejki eteryczne nie oddziałują ze składnikami i nie hamują syntezy ściany komórkowej drożdży, nie indukują także rozległych rearanżacji chromosomalnych w kariotypie *C. albicans*.
7. Wysoka aktywność przeciwdrożdżowa olejków eterycznych wobec *Candida* sp. wskazuje na celowość wzbogacania żywności w tego rodzaju substancje aktywne biologicznie pochodzenia roślinnego.
8. Dodatkowo, olejek drzewa herbacianego, goździkowy, mięty pieprzowej i tymiankowy wykazują aktywność cyto- i genotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych HeLa, co wskazuje na ich potencjalne działanie przeciwnowotworowe.

#### Cytowana literatura

1. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem. Toxicol.* 2008, 46, 446–475.
2. Barclay G.R., McKenzie H., Pennington J., Parratt D., Pennington C.R. The effect of dietary yeast on the activity of stable chronic Crohn's disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 1992, 27, 196–200.
3. Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. *Yeasts: Characteristics and Identification*. 3<sup>rd</sup> Edition, Wyd. Cambridge University Press, 2000.
4. Barriga E.J.C., Libkind D., Briones A.I., Iranzo J.Ú., Portero P., Roberts I., James S., Morais P.B., Rosa C.A. *Yeasts Biodiversity and Its Significance: Case Studies in Natural and Human-Related Environments, Ex Situ Preservation, Applications and Challenges*. W: Grillo O., Venora G. (red.) *Changing Diversity in Changing Environment*. Wyd. InTech, Chorwacja, 2011, 55–86.
5. Blanco M.T., Sacristán B., Lucio L., Blanco J., Pérez-Giraldo C., Gómez-García A.C. Cell surface hydrophobicity as an indicator of other virulence factors in *Candida albicans*. *Rev. Iberoam. Micol.* 2010, 27, 195–199.
6. Clancy C.J., Nguyen M.H. Systemic candidiasis: candidemia and deep-organ infections. W: Calderone R.A., Clancy C.J. (red.) *Candida and Candidiasis*. Wyd. ASM Press, Washington, 2012, 429–442.
7. Dalle F., Wächtler B., L'Ollivier C., Holland G., Bannert N., Wilson D., Labruère C., Bonnin A., Hube B. Cellular interactions of *Candida albicans* with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cell. Microbiol.* 2010, 12, 248–271.
8. Daniel H.M., Lachance M.A., Kurtzman C.P. On the reclassification of species assigned to *Candida* and other anamorphic ascomycetous yeast genera based on phylogenetic circumscription. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2014, 106, 67–84.
9. *Farmakopea Polska*. Badanie skuteczności ochrony przeciwdrobnoustrojowej. 2014, wyd. 10, 696–697.
10. Fleet G.H., Balia R. The public health and probiotic significance of yeasts in foods and beverages. W: Querol A., Fleet G.H. (red.) *Yeasts in Food and Beverages*. Wyd. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006, 381–398.

11. Grand View Research. Essential Oils Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Orange, Corn, Mint, Eucalyptus, Citronella, Pepper Mint, Lemon, Clove Leaf, Lime, Spearmint), By Application, And Segment Forecasts, 2018 - 2025. 2018.
12. Kalemba D., Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 2003, 10, 813–829.
13. Khan W., Muntimadugu E., Jaffe M., Domb A.J. Implantable medical devices. W: Domb A., Khan W. (red.) *Focal Controlled Drug Delivery. Advances in Delivery Science and Technology.* Wyd. Springer, Boston, MA, 2014, 33–59.
14. Kieliszek M., Kot A.M., Bzducha-Wróbel A., Błażej S., Gientka I., Kurcz A. Biotechnological use of *Candida* yeasts in the food industry: A review. *Fungal Biol. Rev.* 2017, 31, 185–198.
15. Lanciotti R., Gianotti A., Patrignani F., Belletti N., Guerzoni M.E., Gardini F. Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally processed fruits. *Trends Food Sci. Technol.* 2004, 15, 201–208.
16. Levine J., Dykoski J. *Candida* associated diarrhoea: a syndrome in search of credibility. *Clin. Infect. Dis.* 1995, 21, 881–886.
17. Nielsen P.V., Rios R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and their possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 2000, 60, 219–229.
18. Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M. Sposób peklowania mięsa przeznaczonego na farsz do kielbas. Zgłoszenie patentowe P413062, data zgłoszenia 8.07.2015, 2015a.
19. Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M. Sposób peklowania mięsa przeznaczonego na farsz do kielbas. Zgłoszenie patentowe P413063, data zgłoszenia 8.07.2015, 2015b.
20. Pan American Health Organization PAHO. Health in the Americas. Epidemiological surveillance of food-borne diseases. Wyd. Pan American Health Organization, Washington, DC, 1998, 236–238.
21. Państwowy Zakład Higieny PZH. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2016 roku. Wyd. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, 2017.
22. Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D.R., Clancy C.J., Marr K.A., Ostrosky-Zeichner L., Reboli A.C., Schuster M.G., Vazquez J.A., Walsh T.J., Zaoutis T.E., Sobel J.D. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2016, 62, 1–50.
23. PN-EN 1275:2000 Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne -- podstawowe działanie grzybobójcze.
24. Rogala A. Czynniki wpływające na zakupy żywności lokalnej. *Marketing i Rynek.* 2014, 6, 633–646.
25. Rogalski P. Kandydoza przewodu pokarmowego – fakty i mity. *Gastroenterol. Klin.* 2010, 2, 87–97.
26. Romani L., Bistoni F., Puccetti P. Adaptation of *Candida albicans* to the host environment: the role of morphogenesis in virulence and survival in mammalian hosts. *Curr. Opin. Microbiol.* 2003, 6, 338–343.
27. Segal E. Experimental infection. W: Segal E., Baum G.L. (red.) *Pathogenic Yeasts and Yeast Infections.* Wyd. CRC Press, Inc., 1994, 71–79.
28. Silva S., Negri M., Henriques M., Oliveira R., Williams D.W., Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2012, 36, 288–305.
29. Talwar P., Chakrabarti A., Chalwa A., Mehta S., Walza B.N.S., Lumar L., Chung K.S. Fungal diarrhoea: association of different fungi and seasonal variation and their incidence. *Mycopathologia.* 1990, 110, 101–105.
30. Tortorano A.M., Kibbler C., Peman J., Bernhardt H., Klingspor L., Grillot R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2006, 27, 359–366.

31. Vazquez B.I., Fente C., Franco C.M., Vazquez M.J., Cepeda A. Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 67, 157–163.
32. World Health Organization WHO. Foodborne disease outbreaks: Guidelines for investigation and control. Wyd. World Health Organization, France, 2008, 54–93.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Moje pozostałe zainteresowania naukowo-badawcze mieszczą się w następujących obszarach tematycznych:

1. Przydatność technologiczna drożdży w procesach fermentacyjnych
2. Właściwości probiotyczne drożdży z rodzaju *Saccharomyces*
3. Identyfikacja grzybów z zastosowaniem metod klasycznych i genetycznych
4. Czynniki wirulencji środowiskowych bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, *Serratia*, *Burkholderia* oraz drożdży *Candida* sp.
5. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa ekstraktów roślinnych
6. Biodeterioracja i ochrona obiektów zabytkowych

### 5.1. Przydatność technologiczna drożdży w procesach fermentacyjnych

W ramach pracy doktorskiej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ przedmiotem moich zainteresowań naukowych była przydatność technologiczna przemysłowych ras drożdży winiarskich oraz ich hybrydów w aspekcie wymagań produkcyjnych, stabilności cech fenotypowych oraz genotypowych.

Badania, realizowane we współpracy z dr hab. inż. Aliną Kunicką-Styczyńską, prowadziłam dla przemysłowych szczepów drożdży winiarskich gatunków *Saccharomyces cerevisiae* i *S. bayanus* oraz ich hybrydów międzygatunkowych i wewnątrzgatunkowych. Stabilność cech określiłam w warunkach stresu środowiskowego związanego z podwyższoną kwasowością. W celu prześledzenia zmian w genomowym DNA stosowałam techniki biologii molekularnej, tj. oznaczenie kariotypów metodą elektroforezy pulsacyjnej, analizę restrykcyjną mitochondrialnego DNA oraz określenie zawartości DNA w komórkach drożdży metodą cytometrii przepływowej. Badałam także stabilność cech fenotypowych, profile biochemiczne oraz stabilność technologiczną drożdży.

Dla wszystkich badanych drożdży stwierdziłam niestabilność profili biochemicznych, przy czym zmiany przejawiały się nabywaniem zdolności do wykorzystania nowych związków jako źródeł węgla i azotu. Aktywność fermentacyjna testowanych drożdży i ocena wytwarzanych win w zakresie normatywnych parametrów technologicznych świadczyła o wysokiej przydatności technologicznej dziewięciu spośród dziesięciu badanych szczepów. Ponadto, na podstawie różnic parametrów chemicznych win wytworzonych przy udziale drożdży wykazałam zmienność ich profili fermentacyjnych. Największą stabilnością technologiczną charakteryzował się szczep *S. cerevisiae* W-13 oraz hybryd *S. cerevisiae* HG3-2. Porównanie podobieństwa kariotypów i profili elektroforetycznych mtDNA szczepów wyjściowych oraz segregantów wykazało wysoką stabilność genotypową szczepu



*S. cerevisiae* W-13 oraz szczepu hybrydowego *S. cerevisiae* HG3-2. Jednocześnie, dla obu szczepów stwierdziłam zmiany w zawartości DNA w odpowiedzi na stres środowiskowy.

Efektom przeprowadzonych badań była rekomendacja drożdży *S. cerevisiae* W-13 oraz hybrydu wewnątrzgatunkowego *S. cerevisiae* HG3-2 do prowadzenia procesów fermentacji winiarskiej moszczów o podwyższonej kwasowości. Wskazanie szczepów opornych na stres związany z zakwaszeniem środowiska jest szczególnie ważnym osiągnięciem w aspekcie specyfiki polskiego winiarstwa, opartego na surowcach o wysokiej zawartości kwasów organicznych.

Badania wykonane w ramach pracy doktorskiej były częściowo finansowane ze środków Komitetu Badań Naukowych jako grant promotorski (nr 2 P06T 029 26), którego byłam wykonawcą. Wyniki badań były przedmiotem 6 publikacji w czasopismach naukowych oraz 10 doniesień prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Ponadto jestem współautorem rozdziału książki, w którym przedstawiłam charakterystykę drożdży winiarskich z perspektywy winiarstwa polskiego. Sumaryczny Impact Factor publikacji z tego zakresu wynosi **IF=5,140 (114 pkt. MNiSW)**.

#### **Publikacje:**

1. Kunicka-Styczyńska A., Czyżowska A., **Rajkowska K.**, Wilkowska A., Dziugan P. (2016) The Trends and Prospects of Winemaking in Poland. W: Morata A., Loira I. (red.) Grape and Wine Biotechnology, InTechOpen Science, 401–413. **MNiSW 5 pkt.**
2. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2012) Fermentative diversity of yeast selected for acidic musts. African Journal of Microbiology Research 6(16), 3768–3773. **IF<sub>5-letni</sub>=0,564; MNiSW 15 pkt.**
3. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2012) Phenotypic and genotypic diversity of wine yeasts used for acidic musts. World Journal of Microbiology and Biotechnology 28, 1929–1940. **IF<sub>2012</sub>=1,262; MNiSW 20 pkt.**
4. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2012) Fermentative stability of wine yeast *Saccharomyces sensu stricto* complex and their hybrids. Food Technology and Biotechnology 50(2), 222–230. **IF<sub>2012</sub>=0,977; MNiSW 25 pkt.**
5. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2011) Physiological and genetic stability of hybrids of industrial wine yeasts *Saccharomyces sensu stricto* complex. Journal of Applied Microbiology 110, 1538–1549. **IF<sub>2011</sub>=2,337; MNiSW 30 pkt.**
6. **Rajkowska K.**, Kunicka A. (2005) Ewolucja i zmienność genomu drożdży winiarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Postępy Mikrobiologii 44 (2), 145–156. **MNiSW 4 pkt.**
7. **Rajkowska K.**, Kunicka A. (2005) Analiza profili fermentacyjnych i cech genotypowych mezofilnych szczepów drożdży winiarskich. ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość 43, 164–174. **MNiSW 15 pkt.**

**Doniesienia na konferencjach:**

1. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2017) Wine yeast demalication activity improvement. 44<sup>th</sup> Annual Conference on Yeast, Smolenice, Słowacja. Materiały konferencyjne, str. 53.
2. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2012) Technological stability of wine yeasts with extended deacidification ability. 40<sup>th</sup> Annual Conference on Yeasts, Smolenice, Słowacja. Yeast 61(1), 12–13.
3. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2012) Acidic stress as a potential factor in adaptive evolution of wine yeasts. 40<sup>th</sup> Annual Conference on Yeasts, Smolenice, Słowacja. Yeast 61(1), 11.
4. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2011) Fermentative stability of wine yeasts *Saccharomyces sensu stricto* complex and their hybrids. 7<sup>th</sup> International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija, Chorwacja. Materiały konferencyjne, str. 178.
5. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2010) Biochemical and physiological stability of wine yeast with accelerated deacidification activity. II Ogólnopolskie Warsztaty MIKROBIOT „Mikrobiologia w ochronie zdrowia i środowiska”, Łódź. Sepsis 3(4), 266.
6. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2010) Genetic changes in wine yeast hybrids to acidic stress. Ogólnopolskie Warsztaty MIKROBIOT „Mikrobiologia w ochronie zdrowia i środowiska”, Łódź. Sepsis 3(4), 267.
7. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2008) L-malic acid biodegradation by genetically engineered wine yeast. 36<sup>th</sup> Annual Conference on Yeast, Smolenice, Słowacja. Materiały konferencyjne, str. 47.
8. **Rajkowska K.**, Kunicka A. (2006) Stabilność aktywności fermentacyjnej przemysłowych ras drożdży winiarskich. XXXVII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN “Doskonalenie jakości żywności i żywienia w perspektywie potrzeb konsumenta XXI wieku”, Gdynia. Materiały konferencyjne, str. 75.
9. Kunicka A., **Rajkowska K.** (2005) Genetic stability of wine yeast and their hybrids. XXII International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology, Bratislava, Słowacja. Yeast 22 (S1), 39.
10. **Rajkowska K.**, Kunicka A. (2004) Genetyczna analiza stabilności drożdży winiarskich. XXXV Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN “Żywność, Aspekty Technologiczne i Prozdrowotne”, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 108.

**5.2. Właściwości probiotyczne drożdży z rodzaju *Saccharomyces***

W latach 2007-2010 prowadziłam badania mechanizmów aktywności probiotycznej drożdży, w ramach projektu finansowanego ze środków Komitetu Badań Naukowych, którego byłam kierownikiem (nr N312 043 32/2614).

Badałam drożdże o zróżnicowanym pochodzeniu środowiskowym, tj. szczepy izolowane z kału dzieci i zwierząt, z kefirów, szczepy probiotyczne pozyskane z suplementów diety oraz kolekcyjne szczepy *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Określiłam interakcje pomiędzy drożdżami a bakteriami patogennymi i saprofitami stanowiącymi naturalną mikrobiotę człowieka. Oznaczyłam także adhezję patogennych

i oportunistycznych szczepów bakterii do komórek drożdży oraz zdolność przeżycia drożdży w warunkach przewodu pokarmowego człowieka. Ponadto, szczepy zostały szczegółowo scharakteryzowane, a ich przynależność gatunkowa zweryfikowana metodami klasycznymi i molekularnymi.

Badane izolaty drożdży nie wykazywały aktywności antagonistycznej w stosunku do bakterii *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*. Obecność drożdży powodowała jedynie zmniejszenie szybkości wzrostu bakterii oraz skrócenie ich fazy adaptacyjnej. Wykazałam, że prozdrowotny wpływ drożdży nie wynika z antagonizmu wobec patogennych szczepów bakterii, ale ze zdolności drożdży do wiązania komórek chorobotwórczych szczepów bakterii do powierzchni ich ściany komórkowej. Adhezję do komórek drożdży odnotowałam dla *E. coli*, *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *C. jejuni* i *E. faecalis*.

Ponadto, stwierdziłam, że drożdże wyizolowane z kału dzieci i zwierząt oraz probiotyczne i kolekcyjne szczepy drożdży wykazywały wysoką adaptację do warunków przewodu pokarmowego człowieka. Przeżywalność tych szczepów w środowisku o niskim pH (1,5 oraz 2,5), w obecności żółci wołowej, pepsyny i pankreatyny była wysoka i wynosiła 85,3–97,3%. Wszystkie szczepy wykazywały zdolność do wzrostu w temp. 37°C. Drożdżami słabiej przystosowanymi do warunków przewodu pokarmowego człowieka były szczepy wyizolowane z kefirów, a czynnikami najsilniej ograniczającymi ich wzrost było pH poniżej 2,5 oraz temp. 37°C.

Dodatkowym efektem przeprowadzonych badań było opatentowanie wyizolowanego z kału kury nioski szczepu *S. cerevisiae* o właściwościach stabilizatora mikroflory jelitowej, jako dodatku zootechnicznego w żywieniu zwierząt (patent „Szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae*” PL 217492). Właściwości probiotyczne szczepu wykazałam w oparciu o badania *in vitro*, przeprowadzone zgodnie z właściwymi wytycznymi Scientific Committee on Animal Nutrition EC do oceny dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt.

Wyniki badań są przedmiotem 3 publikacji w czasopismach naukowych (łącznie **IF=1,928; 55 pkt. MNiSW**) oraz 5 doniesień prezentowanych na konferencjach międzynarodowych.

#### **Publikacje:**

1. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Rygała A. (2012) Probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens. *Food Technology and Biotechnology* 50(2), 230–237. **IF<sub>2012</sub>=0,977; MNiSW 25 pkt.**
2. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2010) Probiotic properties of yeasts isolated from chicken faeces and kefir. *Polish Journal of Microbiology* 59(4), 257–263. **IF<sub>2010</sub>=0,660; MNiSW 15 pkt.**

3. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2009) Phenotypic and genotypic characterization of probiotic yeasts. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23/SE, 662–665. **IF<sub>2009</sub>=0,291; MNiSW 15 pkt.**

**Patent:**

**Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. „Szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae*” PL 217492, 20.12.2013. **(70%) MNiSW 17,5 pkt.**

**Doniesienia na konferencjach:**

1. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2011) Probiotic action of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* against human pathogens. 7<sup>th</sup> International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija, Chorwacja. Materiały konferencyjne, str. 82.
2. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2009) Phenotypic and genotypic characterization of probiotic yeasts. XI Anniversary Scientific Conference „Biology – Traditions and Challenges”, Sofia, Bułgaria. Materiały konferencyjne, str. 132.
3. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2008) Bacterial adhesion to probiotic yeasts cells. 36<sup>th</sup> Annual Conference on Yeast, Smolenice, Słowacja. Materiały konferencyjne, str. 47.
4. **Rajkowska K.**, Lis K. (2007) Antibacterial activity of yeast isolated from human faeces. 2<sup>nd</sup> Polish-Ukrainian Conference "Microbiology in the XXI Century", Warszawa. Materiały konferencyjne, str. 268.
5. **Rajkowska K.**, Lis K., Libudzisz Z., Kunicka A. (2007) Influence of probiotic yeast on pathogenic bacteria. 2<sup>nd</sup> Polish-Ukrainian Conference "Microbiology in the XXI Century", Warszawa. Materiały konferencyjne, str. 269.

### **5.3. Identyfikacja grzybów z zastosowaniem metod klasycznych i genetycznych**

W procesach technologicznych ze względu na zróżnicowanie cech mikroorganizmów, dla właściwego doboru ras produkcyjnych kluczowe jest uzyskanie pełnej charakterystyki oraz identyfikacji szczepu. Zastosowanie klasycznych metod taksonomicznych nie zawsze umożliwia jednoznaczne określenie przynależności gatunkowej drobnoustrojów. Dodatkowo, tradycyjna taksonomia często nie pozwala na identyfikację i zróżnicowanie na poziomie szczepu i nie odzwierciedla genetycznego pokrewieństwa. W celu oznaczenia międzyszczepowego zróżnicowania drożdży, co wiąże się z ich unikatowymi właściwościami i walorami aplikacyjnym, poza klasycznymi metodami mikrobiologicznymi, zastosowałam także techniki oparte na analizie DNA, tj. kariotypowanie oraz analizę restrykcyjną mtDNA. Analizę chromosomalnego DNA metodą elektroforezy w zmiennym polu pulsowym PFGE przeprowadziłam m.in. dla drożdży winiarskich, browarniczych oraz środowiskowych szczepów drożdży, wyizolowanych z owoców, kału, fermentowanych produktów mlecznych. Wykazałam przydatność tej techniki jako metody szybkiego i rutynowego typowania grzybów.

Moja wiedza i doświadczenie w zakresie genetycznego typowania drożdży zdecydowały o moim udziale jako wykonawcy w granicie „Właściwości grzybobójcze gemini surfaktantów”, finansowanym ze środków Narodowego Centrum Nauki (nr N N401 027736). W ramach projektu dopracowałam metodykę izolacji oraz rozdziału chromosomów o wielkości nawet 11 Mb i uzyskałam kariotypy grzybów strzępkowych gatunków *Aspergillus niger* i *Penicillium chrysogenum*.

Analizy z zakresu oznaczenia i identyfikacji drożdży wyizolowanych z żywności, napojów alkoholowych i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia medycznego oraz ustalenia źródeł zanieczyszczeń mikrobiologicznych wykonałam także na potrzeby przemysłu. Badania przeprowadzone dla partnerów przemysłowych miały charakter aplikacyjny i posłużyły do polepszenia jakości mikrobiologicznej badanych produktów. Wyniki tych prac miały charakter poufny i nie mogły być publikowane.

Efektom przeprowadzonych badań są 3 publikacje naukowe oraz 5 doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Łączny Impact Factor publikacji z tego zakresu wynosi **IF=2,259 (29 pkt. MNiSW)**.

#### **Publikacje:**

1. Berłowska J., Kręgiel D., **Rajkowska K.** (2015) Biodiversity of brewery yeast strains and their fermentative activities. *Yeast* 32 (1), 289–300. **IF<sub>2015</sub>=2,259; MNiSW 20 pkt.**
2. **Rajkowska K.** (2012) Zastosowanie metod klasycznych i molekularnych do identyfikacji mikroorganizmów środowiska naturalnego. *Ochrona przed Korozją 9s/A*, 233–238. **MNiSW 6 pkt.**
3. **Rajkowska K.**, Kunicka A., Cebula B., Robak T., Smolewski P. (2005) Charakterystyka hybrydowych szczepów drożdży winiarskich. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis. Scientia Alimentaria* 246 (4), 241–254. **MNiSW 3 pkt.**

#### **Doniesienia na konferencjach:**

1. **Rajkowska K.** (2010) Genetic identification of yeasts isolated from animal faeces. II Ogólnopolskie Warsztaty MIKROBIOT „Mikrobiologia w ochronie zdrowia i środowiska”, Łódź. *Sepsis* 3(4), 283–284.
2. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2009) Charakterystyka drożdży wyizolowanych z fermentowanych produktów mlecznych. V Międzynarodowa Konferencja Naukowa “Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych”, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 118.
3. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2008) Application of pulsed field electrophoresis in yeasts identification. 42. Międzynarodowa Konferencja Naukowa “Postępy w mikrobiologii i higienie środowiska”, Bydgoszcz. Materiały konferencyjne, str. 152–153.
4. **Rajkowska K.**, Kunicka A. (2007) Genetic identification of wine yeast. 13<sup>th</sup> European Congress on Biotechnology "Symbiosis. Science. Industry and Society", Barcelona, Hiszpania.

5. **Rajkowska K.**, Kunicka A., Lis K. (2007) Identification and characterization of yeast isolated from human faeces. 13<sup>th</sup> European Congress on Biotechnology "Symbiosis. Science. Industry and Society", Barcelona, Hiszpania.

Partnerzy przemysłowi (19), z którymi współpracowałam i współpracuję: Marinex International Sp. z o.o. w Łodzi, Coca-Cola HBC Polska Sp. z o.o. w Warszawie, J.S. Hamilton Poland S.A. w Gdyni, Danone PDPA w Bucureşti (Rumunia), Nutritia Z-dy Produkcyjne Sp. z o.o. w Opolu, Obory Sp. z o.o. w Koźlenicach, Pepsi-Cola General Bottlers Poland Sp. z o.o. w Warszawie, Bakoma-Bis Sp. z o.o. w Koźlenicach, Danone Sp. z o.o. w Bieruniu, Mars Polska Sp. z o.o. w Sochaczewie, Jars Sp. z o.o. w Legionowie, Eurofins Polska Sp. z o.o. w Malborku, SM Mlekovita w Kościanie, Lisner Sp. z o.o. w Poznaniu, Merck Sp. z o.o. w Warszawie, Nestle Polska S.A. w Kaliszu, Sequoia Sp. z o.o. w Warszawie, Kompania Piwowarska S.A. w Poznaniu, Hoop Polska Sp. z o.o. w Kutnie, PPHU Rose-Win sp. z o.o. w Bełchatowie.

#### **5.4. Czynniki wirulencji środowiskowych bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, *Serratia*, *Burkholderia* oraz drożdży *Candida* sp.**

Ważnym obszarem mojej pracy naukowej była charakterystyka środowiskowych szczepów mikroorganizmów pod kątem ich cech wirulencji. W literaturze dobrze rozpoznane jest zagrożenie, jakie stanowią mikroorganizmy izolowane z materiałów klinicznych. Niewiele jednak wiadomo o wirulencji szczepów reprezentujących gatunki oportunistyczne lub patogenne, ale pochodzących z innych środowisk niż próbki medyczne. Badania przeprowadziłam dla drożdży *Candida* sp. izolowanych z żywności (18 izolatów), szczepów *Pseudomonas aeruginosa* pozyskanych z zabytkowych tkanin prekolumbijskich oraz szczepów *P. aeruginosa*, *Serratia liquefaciens* i *Burkholderia cepacia* pochodzących z kosmetyków. Dla 93% drożdży *Candida* sp. wyizolowanych z żywności stwierdziłam wysoką hydrofobowość powierzchni komórek, zdolność adhezji do polistyrenu oraz ludzkich komórek HeLa, co wskazuje na ich wysoką zdolność kolonizacji powierzchni biotycznych i abiotycznych. Ponadto, drożdże te wykazywały wysoką homologię z klinicznymi szczepami *C. albicans* w zakresie uzdolnień biochemicznych i oporności na antybiotyki. Szczepy *P. aeruginosa*, *S. liquefaciens* i *B. cepacia* o różnym pochodzeniu charakteryzowały się silnymi właściwościami adhezyjnymi, wysoką zdolnością zasiedlania powierzchni abiotycznych, a izolowane z tkanin szczepy *P. aeruginosa* – dodatkowo aktywnością proteolityczną i hemolityczną, cechami typowymi dla klinicznych izolatów *P. aeruginosa*.

Wykazałam, że badane szczepy środowiskowe wykazują wysoką homologię ze szczepami klinicznymi w zakresie cech warunkujących wirulencję tych mikroorganizmów, stanowiąc potencjalne zagrożenie dla człowieka. Rezultaty badań przedstawiłam w postaci 4 artykułów w czasopismach naukowych, 1 rozdziału w monografii oraz 6 doniesień

na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Sumaryczny Impact Factor publikacji z tego zakresu wynosi **IF=3,763 (50 pkt. MNiSW)**.

**Publikacje:**

1. **Rajkowska K.**, Targalska M., Nowak A., Kunicka-Styczyńska A., Oleksy M., Siadura A. (2017) Risk factors associated with *Candida* strains contaminating food products. W: Kunicka-Styczyńska A. (red.) Microorganisms - environmental aspects. Wyd. Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Łódź, 7–18. **MNiSW 5 pkt.**
2. Zabielska J., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.**, Tyfa A. (2015) Opportunistic Gram-negative rods' capability of creating biofilm structures on polivynyl chloride and styrene-acronitrile copolymer surfaces. *Acta Biochimica Polonica* 62(4), 733–737. **IF<sub>2015</sub>=1,187; MNiSW 15 pkt.**
3. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Pęczek M. (2015) Hydrophobic properties of *Candida* spp. under the influence of selected essential oils. *Acta Biochimica Polonica* 62(4), 663–668. **IF<sub>2015</sub>=1,187; MNiSW<sub>2015</sub> 15 pkt.**
4. Maroszyńska M., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.**, Maroszyńska I. (2013) Antibiotics sensitivity of *Candida* clinical and food-borne isolates. *Acta Biochimica Polonica* 60(4), 719–724. **IF<sub>2013</sub>=1,389; MNiSW 15 pkt.**

**Doniesienia na konferencjach:**

1. **Rajkowska K.**, Kamińska P., Otlewska A., Guiamet P., Soto D., Gutarowska B. (2018) Szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowane z zabytkowych tkanin prekolumbijskich – zagrożenie dla konserwatorów? "Zabytki - Biologia - Konserwacja. Teoria a praktyka", Toruń.
2. Gnat M., **Rajkowska K.** (2017) Aktywność enzymatyczna środowiskowych szczepów *Candida* sp. w strukturze biofilmu. I Sesja Młodych Mikrobiologów Środowiska Łódzkiego, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 33.
3. Gnat M., **Rajkowska K.** (2017) Biofilm *Candida* sp. na powierzchni polimerów. VIII Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 41.
4. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2016) Yeasts contamination of food – risk for consumer? XII Science Conference „Food of XXI Century”, Kraków. Materiały konferencyjne, str. 197.
5. Zabielska J., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.**, Tyfa A. (2015) *Pseudomonas aeruginosa* ability to create biofilms on polyvinyl chloride and styrene-acronitrile copolymer surfaces. 6<sup>th</sup> International Weigl Conference on Microbiology, Gdańsk. *Acta Biochimica Polonica* 62, 147.
6. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2014) Drożdże *Candida* sp. – zagrożenie w warunkach produkcyjnych? I Ogólnopolska Konferencja „Drobnoustroje w świecie człowieka – Drobnoustroje oportunistyczne”, Bydgoszcz. Materiały konferencyjne, str. 10.

### 5.5. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa ekstraktów roślinnych

Ważnym aspektem mojej pracy naukowej była tematyka związana z aktywnością przeciwdrobnoustrojową ekstraktów roślinnych, substancji pochodzenia naturalnego, które mogą stanowić alternatywę dla związków otrzymywanych na drodze syntezy chemicznej. W zakresie moich zainteresowań znajdują się olejki eteryczne, hydrozole oraz (we współpracy z Zakładem Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi) ekstrakty pozyskane ze stosowanej w tradycyjnej medycynie chińskiej byliny *Rehmannia glutinosa* Libosch.

Poza badaniami z zakresu doboru właściwych metod i oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów roślinnych w warunkach *in vitro*, uczestniczyłam także w badaniach nad aplikacyjnym aspektem wykorzystania ekstraktów roślinnych. W ramach interdyscyplinarnych badań prowadzonych we współpracy z zespołem prof. dr hab. Beaty Gutarowskiej, dr hab. inż. Aliną Kunicką-Styczyńską, naukowcami z Instytutu Podstaw Chemii Żywności PŁ oraz Katedry Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej PŁ została dowiedziona przydatność olejku cytrynowego (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) w fazie gazowej w dezynfekcji nowych i zabytkowych tkanin. Badania metodą chromatografii GC-MS, spektroskopii FTIR i spektroskopii UV-Vis-NIR nie wykazały znaczących różnic we właściwościach optycznych, mechanicznych oraz strukturalnych badanych tkanin po działaniu olejku eterycznego, co wskazuje na możliwość zastosowania olejku cytrynowego w fazie lotnej jako skutecznej i bezpiecznej metody dezynfekcji tkanin historycznych.

Wykazałam przeciwdrobnoustrojowe działanie hydrozoli otrzymanych ze świeżych i suszonych ziół lub kwiatów *Lavandula angustifolia* Mill. w nawilżającym żelu do ciała. Wyniki testu konserwacji, zgodnie z wytycznymi Farmakopei Polskiej, dowodzą przydatności hydrozoli lawendowych jako naturalnego, ekologicznie przyjaznego składnika kosmetyków o potencjalnej aktywności konserwującej. Zastosowanie hydrozoli lawendowych jako zamiennika fazy wodnej w kosmetykach może przyczynić się nie tylko do zachowania stabilności mikrobiologicznej preparatów, ale także do obniżenia kosztów stabilizatorów chemicznych w przemyśle kosmetycznym.

Efektom badań podstawowych i aplikacyjnych z zakresu aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów roślinnych jest 6 publikacji naukowych oraz 10 doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Sumaryczny Impact Factor publikacji z tego zakresu wynosi **IF=4,781 (68 pkt. MNiSW)**.



**Publikacje:**

1. Matusiak K., Machnowski W., Wrzosek H., Polak J., **Rajkowska K.**, Śmigielski K., Kunicka-Styczyńska A., Gutarowska B. (2017) Application of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil in vapour phase for heritage textiles disinfection. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1–9. **IF<sub>5-letni</sub>=3,202; MNiSW 30 pkt.**
2. Kunicka-Styczyńska A., Śmigielski K., Prusinowska R., **Rajkowska K.**, Kuśmider B., Sikora M. (2015) Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Letters in Applied Microbiology* 60(1), 27–32. **IF<sub>2015</sub>=1,579; MNiSW 20 pkt.**
3. **Rajkowska K.**, Maroszyńska M., Nowak A., Kunicka-Styczyńska A. (2014) Essential oils as a potential anti-adhesive agent against *Candida albicans*. W: Kunicka-Styczyńska A., Rajkowska K. (red.) *Innovative ecological preservatives with natural substances of plant origin*. Wyd. Instytut Technologii Fermentacji I Mikrobiologii PŁ, Łódź, 54–59. **MNiSW 5 pkt.**
4. Kunicka-Styczyńska A., Kuśmider B., **Rajkowska K.** (2014) Hydrosols – valuable plant derivatives. W: Kunicka-Styczyńska A., Rajkowska K. (red.) *Innovative ecological preservatives with natural substances of plant origin*. Wyd. Instytut Technologii Fermentacji I Mikrobiologii PŁ, Łódź, 17–20. **MNiSW 5 pkt.**
5. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2013) Activity of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia* L.) against the yeast *Candida albicans* by various assessment methods. W: Wawer I., Trziszka T. (red.) *Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna*. Wyd. Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigionia w Krośnie, 303–311. **MNiSW 4 pkt.**
6. Maroszyńska M., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2013) Preservative activity of thyme oil in cosmetics. W: Wawer I., Trziszka T. (red.) *Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna*. Wyd. Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigionia w Krośnie, 312–320. **MNiSW 4 pkt.**

**Doniesienia na konferencjach:**

1. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Guiamet P., Otlewska A. (2017) Olejki eteryczne – naturalne substancje o właściwościach dezynfekcyjnych. Seminarium Naukowe „Dezynfekcja – od pomysłu do aplikacji”, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 18.
2. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Cholewa D. (2017) Influence of essential oils on biofilm formation by *Candida* spp. 44<sup>th</sup> Annual Conference on Yeast, Smolenice, Słowacja. Materiały konferencyjne, str. 52.
3. Matusiak K., Polak J., Machnowski W., Wrzosek H., **Rajkowska K.**, Śmigielski K., Kunicka-Styczyńska A., Gutarowska B. (2016) Essential oils as an alternative method in textiles disinfection. *International Conference of Biodeterioration and Protection of Cultural Heritage*, Łódź, Poland. Materiały konferencyjne, str. 107–110.
4. Maroszyńska M., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.**, Makowski K., Komorowski P., Walkowiak B. (2015) Antifungal properties of essential oils: True or myth? 3<sup>rd</sup> International Congress on Bacteriology and Infectious Diseases, Valencia, Hiszpania. *Journal of Bacteriology and Parasitology* 6(4), 108.

5. Piątczak E., Dębska M., Kontek B., Olas B., **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Wysokińska H. (2015) The biological activities of extracts from pRi-transformed plants of *Rehmannia glutinosa* Libosch. 4<sup>th</sup> International Conference and Workshop „Plant – the source of research material”, Lublin. Materiały konferencyjne, str. 167.
6. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Maroszyńska M. (2013) Aktywność olejku drzewa herbacianego (*Melaleuca alternifolia* L.) wobec drożdży *Candida albicans* według różnych metod oceny. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna", Krosno. Materiały konferencyjne, str. 122.
7. Maroszyńska M., Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.** (2013) Właściwości konserwujące olejku tymiankowego w kosmetykach. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna", Krosno. Materiały konferencyjne, str. 137.
8. Maroszyńska M., **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2013) Methods comparison for assessment of five essential oils activity against *Candida albicans*. The 3<sup>rd</sup> Workshop on Microbiology in Health and Environmental Protection MIKROBIOT, Łódź. Postępy Mikrobiologii 52 (Supl.1), 60.
9. **Rajkowska K.**, Maroszyńska M., Kunicka-Styczyńska A. (2013) Olejki eteryczne jako skuteczne substancje przeciwdrobnoustrojowe. III Krajowa Konferencja „Naturalne substancje roślinne - aspekty strukturalne i aplikacyjne”, Puławy. Materiały konferencyjne, str. 292–293.
10. Leończuk J., **Rajkowska K.** (2013) Aktywność przeciwdrożdżowa wybranych olejków eterycznych. IV Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 111.

## 5.6. Biodeterioracja i ochrona obiektów zabytkowych

W latach 2012–2013 brałam udział w badaniach nad korozją biologiczną obiektów na terenie Państwowego Muzeum Auschwitz-Birkenau w Oświęcimiu, realizowanych w ramach Globalnego Planu Konserwacji i finansowanych ze środków Fundacji Auschwitz-Birkenau. Interdyscyplinarne badania w zakresie rozpoznania czynników abiotycznych i biologicznych warunkujących deteriorację zabytkowych budynków prowadzone były we współpracy z naukowcami z Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ, Katedry Fizyki Budowli i Materiałów Budowlanych PŁ, Instytutu Ekologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, Pracowni Chemii Mikrobiocydów Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz Katedry Geologii Złożowej i Górniczej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie.

W ramach projektu badawczego uczestniczyłam w ocenie stanu technicznego 40 baraków drewnianych i murowanych na terenie byłego nazistowskiego obozu koncentracyjnego i zagłady Auschwitz II-Birkenau w Brzezince. W wybranych budynkach wraz ze współpracownikami dokonałam oceny stopnia skażenia biologicznego oraz identyfikacji czynników biologicznych porażających obiekty zabytkowe. Przeprowadzone badania dotyczyły także poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza

i powierzchni obiektów zabytkowych przez mikroorganizmy w zależności od pory roku (temperatura, wilgotność powietrza, nasłonecznienie). Badania obejmowały również ustalenie grup taksonomicznych mikroorganizmów, grzybów domowych, glonów, porostów i mszaków, które powodowały biologiczne skażenie konstrukcji budowlanych oraz ustalenie gatunków dominujących w określonych zbiorowiskach. Moje prace polegały na udziale w planowaniu badań, poborze próbek, pomiarze parametrów czynników fizycznych (wilgotność, temperatura), analizie ilościowej zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza i powierzchni wewnątrz baraków. Wraz z dr inż. Anną Otlewską przeprowadziłam identyfikację genetyczną 29 mikroorganizmów, a ich sekwencje nukleotydowe zostały zdeponowane w bazie GenBank NCBI.

W latach 2013–2016 uczestniczyłam w kolejnym projekcie badawczym, realizowanym ze środków Państwowego Muzeum Auschwitz-Birkenau w Oświęcimiu, nt.: Badania w zakresie doboru preparatów chemicznych do zwalczania mikroorganizmów i glonów oraz zabezpieczenia powierzchni drewnianych i mineralnych przed ich rozwojem. Moja praca polegała na udziale w zaplanowaniu badań, doborze metodyki oraz przeprowadzeniu badań z zakresu przeciwdrobnoustrojowego działania biocydów wobec bakterii na materiałach mineralnych. Efektem tego etapu badań był dobór preparatów, ich stężeń i częstości aplikacji w celu dezynfekcji powierzchni materiałów zabytkowych oraz skutecznego ograniczenia wzrostu bakterii, grzybów strzępkowych i glonów. Wymiernym efektem prowadzonych badań były także zalecenia dotyczące prac prewencyjnych oraz skuteczności zabezpieczenia i dezynfekcji materiałów technicznych.

Wyniki badań prezentowałam na dwóch seminariach naukowych organizowanych przez Państwowe Muzeum Auschwitz-Birkenau nt.: Badania konserwatorskie niezbędne do prowadzenia dalszych prac związanych z realizacją Globalnego Planu Konserwacji i zachowaniem Miejsca Pamięci Auschwitz-Birkenau. Ponadto, rezultaty badań przedstawione były w postaci 7 artykułów w czasopismach naukowych, 3 rozdziałów w monografiach naukowych oraz 18 doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Sumaryczny Impact Factor publikacji z tego zakresu wynosi **IF=14,839**; łączna liczba punktów **MNiSW 181**.

#### **Publikacje:**

1. **Rajkowska K.**, Koziróg A., Otlewska A., Piotrowska M., Nowicka-Krawczyk P., Brycki B., Kunicka-Styczyńska A., Beata Gutarowska (2016) Quaternary ammonium biocides as antimicrobial agents protecting historical wood and brick. *Acta Biochimica Polonica* 63(1), 153–159. **IF<sub>2016</sub>=1,159**; **MNiSW 15 pkt.**
2. Koziróg A., **Rajkowska K.**, Otlewska A., Piotrowska M., Kunicka-Styczyńska A., Brycki B., Nowicka-Krawczyk P., Kościelniak M., Gutarowska B. (2016) Protection of historical wood against microbial

degradation – selection and application of microbicides. *International Journal of Molecular Sciences* 17, 1364–1379. **IF<sub>2016</sub>=3,226; MNiSW 30 pkt.**

3. Piotrowska M., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Otlewska A., Brycki B., Konca P., Gutarowska B. (2015) Aktywność przeciwgrzybowa preparatów dezynfekcyjnych na materiałach budowlanych. W: Skowroński W. (red.) *Ochrona budynków przed wilgocią, korozją biologiczną i ogniem*. Monografia 11, t. XXII, 215–224. Wyd. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Wrocław. **MNiSW 4 pkt.**

4. 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<sub>2014</sub>=4,099; MNiSW 35 pkt.**

5. **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(2), 799–808. **IF<sub>2014</sub>=0,990, MNiSW 15 pkt.**

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. *PLOS ONE* 9 (10), e109402, 1–12. **IF<sub>2014</sub>=3,234; MNiSW 40 pkt.**

7. Koziróg A., Otlewska A., Piotrowska M., **Rajkowska K.**, Nowicka-Krawczyk P., Hachułka M., Wolski G.J., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Libudzisz Z., Żakowska Z., Żydzik-Białek A. (2014) Colonizing organisms as a biodegradation factor on historical wood materials at the former concentration camp of Auschwitz II–Birkenau. *International Biodeterioration & Biodegradation* 86, 171–178. **IF<sub>2014</sub>=2,131; MNiSW 30 pkt.**

8. Otlewska A., Piotrowska M., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Gutarowska B. (2013) Wytwarzanie kalcytu przez szczepy bakterii wyizolowane z materiałów budowlanych. W: Skowroński W. (red.) *Ochrona obiektów budowlanych przed wilgocią i korozją biologiczną*. Monografia 9, t. XII, 226–232. Wyd. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Wrocław. **MNiSW 4 pkt.**

9. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Hachułka M., Nowicka-Krawczyk P., Gutarowska B., Żydzik-Białek A., Żakowska Z. (2013) Warunki techniczne budowlanych obiektów zabytkowych a korozja biologiczna. W: Skowroński W. (red.) *Ochrona obiektów budowlanych przed wilgocią i korozją biologiczną*. Monografia 9, t. XII, 251–262. Wyd. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa, Wrocław. **MNiSW 4 pkt.**

10. Otlewska A., Piotrowska M., **Rajkowska K.**, Koziróg A., Gutarowska B., Żydzik-Białek A. (2012) Zanieczyszczenie mikrobiologiczne wybranych obiektów na terenie Państwowego Muzeum Auschwitz-Birkenau w Oświęcimiu. *Ochrona przed Korozją* 9s/A, 157-161. **MNiSW 4 pkt.**

#### **Opublikowane sekwencje nukleotydowe zdeponowane w bazie GenBank NCBI:**

1. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.** *Engyodontium album* strain 60/16, 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and

internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036090

2. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.** *Engyodontium album* strain 70/15, 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036091

3. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.** *Engyodontium album* strain 124/40, 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036092

4. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.** *Epicoccum nigrum* strain 114/39, 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036093

5. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Staphylococcus equorum* strain 179J/2012, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036089

6. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Sporosarcina globispora* strain I/5W/5, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036088

7. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Sporosarcina aquimarina* strain I/8/1, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036087

8. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Rhodococcus fascians* strain I/9/3, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036086

9. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Psychrobacillus psychrodurans* strain W8/159, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036085

10. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Psychrobacillus psychrodurans* strain 185/I/2012, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036084

11. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Pseudomonas fluorescens* strain I/1/1, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036083

12. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Paenibacillus terrigena* strain A1E, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036082

13. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Micrococcus luteus* strain 179D/2012, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036081

14. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus weihenstephanensis* strain 182C/2012, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036080

15. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus subtilis* strain W7/70, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036079
16. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus simplex* strain I/1W/6, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036078
17. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus safensis* strain II/10, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036077
18. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus pumilus* strain A34J, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036076
19. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus mycoides* strain P8/13, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036075
20. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus muralis* strain I/2/3, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036074
21. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus idriensis* strain 184H/2012, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036073
22. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus gibsonii* strain I/9/2, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036072
23. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus pumilus* strain A34J, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036071
24. Otlewska A., Rajkowska K., Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B., *Bacillus pumilus* strain A34J, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036071
25. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus cereus* strain II/39/2, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036070
26. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus atropheus* strain II/39/3, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036069
27. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Bacillus amyloliquefaciens* strain I/2/5, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036068
28. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Arthrobacter sulfureus* strain W4/124, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036067
29. Otlewska A., **Rajkowska K.**, Adamiak J., Piotrowska M., Koziróg, A., Gutarowska B. *Arthrobacter agilis* strain II/11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence. GenBank: KM036066

#### **Doniesienia na konferencjach:**

1. Piotrowska M., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Otlewska A., Brycki B., Konca P., Gutarowska B. (2017) Ocena skuteczności działania preparatów dezynfekcyjnych na zabytkowych materiałach budowlanych. Seminarium Naukowe „Dezynfekcja – od pomysłu do aplikacji”, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 25.
2. Gutarowska B., Piotrowska M., Koziróg A., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Nowicka-Krawczyk P., Hachułka M., Wolski G.J., Brycki B., Kunicka-Styczyńska A., Bonifay V., Aydin E., Cellikol-Aydin S., Sunner J., Beech I. (2016) Biodeterioration of historic building objects in the former Auschwitz II-Birkenau concentration and extermination camp and chemical methods of protection. International

Conference of Biodeterioration and Protection of Cultural Heritage, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 16–18.

3. Koziróg A., Piotrowska M., **Rajkowska K.**, Otlewska A., Kunicka-Styczyńska A., Brycki B., Gutarowska B. (2016) Historical wood protection against microbial growth by using quaternary ammonium compounds based disinfectants. International Conference of Biodeterioration and Protection of Cultural Heritage, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 111–112.

4. Gutarowska B., Piotrowska M., Koziróg A., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Nowicka-Krawczyk P., Hachułka M., Wolski G., Brycki B., Kościelniak M. (2016) Biodeterioration of historic buildings in the Auschwitz-Birkenau State Museum and chemical methods to control biological agents. I Scientific and Technical Conference CHEMBUD '2016, Bronisławów. Ochrona przed Korozją 1s/A, 55.

5. **Rajkowska K.**, Koziróg A., Otlewska A., Piotrowska M., Brycki B., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Nowicka-Karwczyk P. (2015) Sensitivity of environmental bacterial and fungal strains to quaternary ammonium salts. 6<sup>th</sup> International Weigl Conference on Microbiology, Gdańsk. Acta Biochimica Polonica 62, 142.

6. Nowicka-Krawczyk P., Żelazna-Wieczorek J., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Piotrowska M., Gutarowska B. (2015) Cyanobacteria and algae involved in temporal changes of anthropogenic materials' structure. 34<sup>th</sup> International Conference of the Polish Phycological Society "Algae as Indicators of Environmental Changes", Rzeszów-Polańczyk. Materiały konferencyjne, str. 32.

7. Nowicka-Krawczyk P., Olszyński R., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Piotrowska M., Gutarowska B., Żydzik-Białek A. (2014) Does algae bloom terrestrial environment? – *Scytonema drilosiphon* case. 33<sup>th</sup> International Conference of the Polish Phycological Society „Cyanobacterial and algal blooms – effects on water management and human health”, Gdynia. Materiały konferencyjne, str. 95.

8. Piotrowska M., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Koziróg A., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Libudzisz Z., Żakowska Z., Żydzik-Białek A. (2014) Environmental aspects of biodeterioration in the former Auschwitz II-Birkenau concentration and extermination camp. XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 71.

9. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.** (2014) Characteristics of *Engyodontium album* – the uncommon species isolated from historical objects. XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 93.

10. Koziróg A., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Piotrowska M., Nowicka-Krawczyk P., Gutarowska B., Brycki B., Kunicka-Styczyńska A., Libudzisz Z., Żakowska Z. (2014) Biocides' active compounds to prevent development of microorganisms isolated from historical wooden surfaces. XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 168.

11. Nowicka-Krawczyk P., Olszyński R., Koziróg A., Otlewska A., Piotrowska M., **Rajkowska K.**, Gutarowska B., Brycki B. (2014) The influence of active chemicals on the growth of phototrophic biofilm coating brick substrates. XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 170.

12. **Rajkowska K.**, Koziróg A., Otlewska A., Piotrowska M., Brycki B., Gutarowska B., Kunicka-Styczyńska A., Libudzisz Z., Żakowska Z. (2014) Application of quaternary ammonium salts to protect

historical brick against microorganisms. XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 172.

13. Adamiak J., Gutarowska B., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Piotrowska M., Koziróg A. (2014) Molecular methods for evaluation of microbial diversity of indoor air and historic objects in the museum environments. 3<sup>rd</sup> Workplace and Indoor Aerosols Conference, Wrocław. Materiały konferencyjne, str. 75–76.

14. Schützmann U., **Rajkowska K.**, Otlewska A. (2014) Aktywność przeciwbakteryjna biocydów opartych na czwartorzędowych solach amoniowych. V Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 59.

15. Piotrowska M., Otlewska A., Koziróg A., **Rajkowska K.**, Hachułka M., Nowicka-Krawczyk P., Gutarowska B., Żydzik-Białek A., Żakowska Z. (2013) The influence of abiotic factors on colonization of historic buildings in the former Auschwitz II-Birkenau concentration camp by bacteria, fungi, algae and lichens. V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology – BioMicroWorld, Madrid, Hiszpania. Materiały konferencyjne, str. 143.

16. Koziróg A., Piotrowska M., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Nowicka-Krawczyk P., Gutarowska B., Hachułka M., Wolski G., Żydzik-Białek A., Libudzisz Z., Żakowska Z. (2013) Organisms colonizing historical wood materials in the former concentration camp Auschwitz II-Birkenau. 2<sup>nd</sup> International Conference on Biodeterioration of Wood and Wood Products BWWP, Tartu, Estonia. Materiały konferencyjne, str. 61.

17. Beśka E., **Rajkowska K.** (2013) Ocena aktywności antybakteryjnej biocydów stosowanych do ochrony murów i drewna. IV Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików, Łódź. Materiały konferencyjne, str. 104.

18. Hachułka M., Piotrowska M., Koziróg A., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Gutarowska B. (2013) Korozja biologiczna wybranych obiektów na terenie Państwowego Muzeum Auschwitz-Birkenau. 56. Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego „Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie nauk botanicznych”, Olsztyn. Materiały konferencyjne, str. 282.

## 6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Jestem autorką lub współautorką 28 oryginalnych prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach zagranicznych i krajowych (w tym 24 w czasopismach z listy JCR), 1 pracy przeglądowej, 13 komunikatów naukowych publikowanych w czasopismach w postaci streszczeń, 2 rozdziałów w książkach, 3 rozdziałów w monografiach w języku angielskim oraz 6 rozdziałów w monografiach w języku polskim, 8 skryptów do zajęć laboratoryjnych oraz 1 patentu. Jestem również autorką lub współautorką 79 doniesień prezentowanych na konferencjach i seminariach międzynarodowych oraz krajowych, zamieszczonych w materiałach konferencyjnych. Jestem także współautorką 29 sekwencji nukleotydowych zdeponowanych w bazie GenBank NCBI. Pełny wykaz dorobku habilitacyjnego przedstawiłam w załączniku 3.



Prace publikowałam w następujących czasopismach anglojęzycznych (uporządkowane według aktualnego pięcioletniego współczynnika IF):

– Science of the Total Environment (IF <sub>5-letni</sub> <b>5,102</b> )	1
– International Journal of Food Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>3,771</b> )	1
– International Journal of Molecular Sciences (IF <sub>5-letni</sub> <b>3,482</b> )	2
– PLOS ONE (IF <sub>5-letni</sub> <b>3,394</b> )	1
– RSC Advances (IF <sub>5-letni</sub> <b>3,257</b> )	1
– International Biodeterioration & Biodegradation (IF <sub>5-letni</sub> <b>3,202</b> )	2
– Journal of Applied Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>2,619</b> )	1
– Microbial Drug Resistance (IF <sub>5-letni</sub> <b>2,283</b> )	1
– Yeast (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,836</b> )	1
– World Journal of Microbiology and Biotechnology (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,818</b> )	1
– Letters in Applied Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,803</b> )	1
– Acta Biochimica Polonica (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,491</b> )	5
– Food Technology and Biotechnology (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,349</b> )	2
– Annals of Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,110</b> )	1
– Polish Journal of Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,938</b> )	1
– Biotechnology & Biotechnological Equipment (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,699</b> )	1
– African Journal of Microbiology Research (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,564</b> )	1

oraz wydawanych w języku polskim:

– Postępy Mikrobiologii (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,339</b> )	1
– ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,295</b> )	1
– Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis. Scientia Alimentaria	1
– Ochrona przed Korozją	2

Wykonałam recenzje 8 artykułów dla czasopism oraz 1 rozdziału monografii:

– Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology (IF <sub>5-letni</sub> <b>2,909</b> )	1
– Journal of Applied Microbiology (IF <sub>5-letni</sub> <b>2,619</b> )	2
– World Journal of Microbiology and Biotechnology (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,818</b> )	2
– Journal of Food Protection (IF <sub>5-letni</sub> <b>1,739</b> )	1
– Veterinarni Medicina (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,878</b> )	1
– African Journal of Microbiology Research (IF <sub>5-letni</sub> <b>0,564</b> )	1
– Rozdział w monografii „Microorganisms – environmental aspects” (Wyd. ITFiM PŁ)	1

Podsumowanie mojego dorobku przedstawiłam w tabeli zamieszczonej poniżej.

Tabela 1. Zestawienie dorobku naukowego

Dane	Przed uzyskaniem tytułu doktora	Po uzyskaniu tytułu doktora	Suma
Liczba artykułów w czasopismach z listy JCR	0	24	<b>24</b>
Liczba artykułów w czasopismach spoza listy JCR	3	2	<b>5</b>
Liczba rozdziałów w monografiach i książkach (w tym w jęz. angielskim)	0	11 (6)	<b>11 (6)</b>
Liczba referatów (w tym w jęz. angielskim)	0	17 (9)	<b>17 (9)</b>
Liczba doniesień konferencyjnych (w tym w jęz. angielskim)	3 (1)	60 (41)	<b>63 (42)</b>
Liczba patentów	0	1	<b>1</b>
Liczba zrealizowanych projektów (w tym jako kierownik/ wykonawca)	1 (0/1)	4 (1/3)	<b>5 (1/4)</b>
Liczba punktów IF	0	46,507	<b>46,507</b>
Liczba punktów MNiSW	22	640,5	<b>662,5</b>
Liczba cytowań* (bez autocytowań)	0	98 (79)	<b>98 (79)</b>
Indeks Hirsha $h^*$	0	7	<b>7</b>

\* wg Web of Science

stan liczby cytowań i indeks  $h$  z dnia 14.05.2018

## 7. Współpraca z instytucjami naukowymi i staże naukowe

W roku 2017 (26.06–7.07) odbyłam staż naukowy w Instituto de Investigaciones Físicas Químicas Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentyna. W czasie stażu wygłosiłam dwa wykłady:

1. "Selection of biocides for the protection of historical objects against the development of microorganisms" podczas konferencji Conferencias Magistrales de Investigadoras de la Universidad de Lodz, Polonia, w Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentyna;
2. "Microbial biodeterioration of historical buildings in the Former Auschwitz II-Birkenau Concentration and Extermination Camp" w Instituto de Arqueología Facultad de Filosofía y Letras Universidad de Buenos Aires, Argentyna.

Uczestniczyłam także w badaniach materiałów (metal, tkanin, ceramiki) ze stanowiska archeologicznego La Cuestecilla metodą skaningowej mikroskopii elektronowej SEM z systemem EDS. Wyniki przeprowadzonych badań były prezentowane na konferencji: Guiamet P., Soto D., Otlewska A., **Rajkowska K.**, Pietrzak K., Gutarowska B. (2018) Archaeological ceramics: a bioreceptive material analysed by different microscopic techniques. 5° Congreso Argentino de Microscopia SAMIC, La Falda, Argentyna.

Prowadzone badania kontynuowałam we współpracy z dr inż. Anną Otlewską w macierzystej uczelni, a ich efektem są także doniesienia na krajowych konferencjach naukowych:

**Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Guiamet P., Otlewska A. (2017) Olejki eteryczne – naturalne substancje o właściwościach dezynfekcyjnych. Seminarium Naukowe „Dezynfekcja – od pomysłu do aplikacji”, Łódź.

**Rajkowska K.**, Kamińska P., Otlewska A., Guiamet P., Soto D., Gutarowska B. (2018) Szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowane z zabytkowych tkanin prekolumbijskich – zagrożenie dla konserwatorów? Konferencja "Zabytki - Biologia - Konserwacja". Teoria a praktyka", Toruń.

Otlewska A., **Rajkowska K.**, Guiamet P., Soto D., Gutarowska B. (2018) Analiza metagenomiczna w ocenie struktury gatunkowej mikroorganizmów kolonizujących archeologiczną ceramikę kultury Aguada. Konferencja "Zabytki - Biologia - Konserwacja". Teoria a praktyka", Toruń.

**Rajkowska K.**, Otlewska A., Guiamet P., Gutarowska B. (2018) Taxonomic profile of fungi colonizing metal from the XVI–XVIII century. III Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne „Metagenomy różnych środowisk”, Lublin.

Otlewska A., **Rajkowska K.**, Soto D., Guiamet P., Gutarowska B. (2018) Microflora of archaeological ceramics analyzed with metagenomics. III Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne „Metagenomy różnych środowisk”, Lublin.

W latach 2012–2016 w ramach projektów badawczych pt. „Badania nad korozją biologiczną obiektów na terenie Muzeum Auschwitz-Birkenau w zakresie rozpoznania i zwalczania czynników biologicznych” oraz „Badania w zakresie doboru preparatów

chemicznych do zwalczania mikroorganizmów i glonów oraz zabezpieczenia powierzchni drewnianych i mineralnych przed ich rozwojem” uczestniczyłam w interdyscyplinarnych badaniach i współpracowałam z naukowcami z Katedry Algologii i Mikologii Uniwersytetu Łódzkiego, Katedry Geobotaniki i Ekologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego, Pracowni Chemii Mikrobiocydów Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Katedry Fizyki Budowli i Materiałów Budowlanych PŁ, Katedry Geologii Żyłowej i Górniczej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie, Akademią Sztuk Pięknych w Krakowie oraz Działem Konserwacji Państwowego Muzeum Auschwitz-Birkenau w Oświęcimiu.

W ramach badań z zakresu aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów roślinnych współpracowałam z zespołem Instytutu Podstaw Chemii Żywności PŁ, Katedry Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej PŁ oraz Zakładem Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

W 2014 roku uczestniczyłam w przedsięwzięciu „Współpraca z wyższymi uczelniami” w zakresie wspierania rozwoju Łodzi jako ośrodka naukowego i akademickiego, współpracując z naukowcami z Beijing Forestry University: School of Biological Sciences & Biotechnology, Food Biotechnology College of Biological Sciences & Biotechnology oraz Analysis Test Center. Efektem przedsięwzięcia było nawiązanie współpracy pomiędzy jednostkami naukowymi oraz wymiana myśli naukowej podczas seminariów naukowych. Jestem także współredaktorem wspólnej recenzowanej monografii naukowej pt. “Innovative ecological preservatives preparations with natural substances of plant origin” (ISBN 978-83-63929-28-2).

Od 2016 roku we współpracy z Dr George Mitchell Scott z Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Cientificas w Madrycie biorę udział w badaniach w zakresie oznaczenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej modyfikowanych cieczy jonowych. Ze względu na obiecujące wyniki badań wstępnych, złożony został wspólny projekt badawczy nt. Averting Biodeterioration of Cultural Heritage with Advanced Nanomaterials w ramach programu Horyzont 2020, FET Open 2017, w którego przygotowaniu brałam udział.

## 8. Działalność dydaktyczna

W ramach działalności dydaktycznej od 2000 roku prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, Międzywydziałowego Kierunku Inżynieria Biochemiczna PŁ oraz Kierunku Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy PŁ. Zajęcia obejmują wykłady oraz zajęcia laboratoryjne.

**Opracowałam programy** oraz prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ: **Biologia komórki** (wykład i zajęcia

laboratoryjne) dla kierunków Biotechnologia i Biotechnologia środowiska, **Naturalne stabilizatory żywności** (wykład i zajęcia laboratoryjne) dla kierunków Biotechnologia oraz Technologia żywności i żywienie człowieka, **Mikrobiologia kosmetyków** (zajęcia laboratoryjne) dla kierunku Technologia kosmetyków. Uczestniczyłam także w opracowaniu programu i materiałów dydaktycznych oraz prowadziłam zajęcia laboratoryjne **Mikrobiologia i higiena żywności** dla kierunku Biotechnologia oraz ćwiczenia **Komputerowe wspomaganie procesów biotechnologicznych** dla kierunku Biotechnologia. Dodatkowo, prowadziłam lub prowadzę następujące zajęcia laboratoryjne na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ: **Mikrobiologia żywności** dla kierunku Technologia żywności i żywienie człowieka, **Laboratorium specjalizacyjne** dla kierunku Biotechnologia, **Higiena produkcji żywności** dla kierunku Technologia żywności i żywienie człowieka, **Mikrobiologia ogólna** dla kierunku Biotechnologia, **Mikrobiologia** dla kierunku Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy, **Symulacje komputerowe procesów biotechnologicznych** dla kierunku Biotechnologia, **Biologia komórki** dla kierunku Inżynieria Biochemiczna, **Mikrobiologia kosmetyków** dla kierunku Technologia kosmetyków. Roczny wymiar prowadzonych przeze mnie zajęć dydaktycznych w latach 2010–2017 wynosił od 265 do 296 godzin.

W ramach Studiów Podyplomowych „Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle” brałam udział w opracowaniu materiałów dydaktycznych i prowadziłam zajęcia laboratoryjne: Bakterie przetrwalnikujące – morfologia, przeżywalność w środowiskach naturalnych, Morfologia bakterii i grzybów mikroskopowych, Aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejków eterycznych, Techniki mikroskopowe. Dla słuchaczy Studiów Podyplomowych „Kosmetologia” stworzyłam program, przygotowałam materiały dydaktyczne i prowadziłam zajęcia laboratoryjne z mikrobiologii kosmetyków oraz analizy mikrobiologicznej warunków produkcji.

Jestem współautorką 1 rozdziału w podręczniku akademickim Mikrobiologia techniczna oraz 8 skryptów:

1. Kunicka A., **Rajkowska K.** (2007) Charakterystyka mikroorganizmów. Drożdże. W: Mikrobiologia Techniczna. Mikroorganizmy i środowiska ich występowania. Libudziś Z., Kowal K., Żakowska Z. (red.) Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 43–59.
2. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2009) Biologia komórki – instrukcje do zajęć laboratoryjnych dla studentów I roku uzupełniających studiów magisterskich na kierunku Biotechnologia środowiska. ISBN 978-83-922014-7-2.
3. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2011) Biologia komórki – laboratorium. Zbiór instrukcji dla studentów I roku studiów inżynierskich I stopnia na kierunku Biotechnologia. ISBN 978-83-927960-8-4.

4. Kręgiel D., Otlewska A., Dybka K., Koziróg A., **Rajkowska K.** (2012) Laboratorium specjalizacyjne. Specjalizacja Mikrobiologia Techniczna dla studentów semestru VI studiów inżynierskich I stopnia na kierunku Biotechnologia. ISBN 978-83-63929-00-8.
5. Koziróg A., **Rajkowska K.**, Nowak A. (2012) Mikrobiologia i higiena żywności. Instrukcje do zajęć laboratoryjnych dla studentów V semestru niestacjonarnych studiów inżynierskich I stopnia na kierunku Biotechnologia. ISBN 978-83-930577-5-7.
6. Kunicka-Styczyńska A., **Rajkowska K.**, Nowak A. (2015) Biologia komórki – fakultet. Materiały do zajęć laboratoryjnych dla studentów IV semestru studiów inżynierskich I stopnia na kierunku Inżynieria biochemiczna. ISBN 978-83-63929-44-2.
7. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A. (2015) Biologia komórki – instrukcje do zajęć laboratoryjnych dla studentów II semestru studiów inżynierskich I stopnia na kierunku Biotechnologia. ISBN 978-83-63929-40-4
8. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Rygała A. (2016) Mikrobiologia kosmetyków – instrukcje do zajęć laboratoryjnych dla studentów studiów magisterskich II stopnia na kierunku Technologia kosmetyków. ISBN 978-83-63929-09-1.
9. **Rajkowska K.**, Kunicka-Styczyńska A., Koziróg A., Rygała A. (2017) Podstawowe zagadnienia mikrobiologii kosmetyków – ćwiczenia laboratoryjne. ISBN 978-83-63929-33-6.

W okresie zatrudnienia w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii byłam opiekunem 17 prac dyplomowych magisterskich i 18 prac inżynierskich na kierunkach Biotechnologia, Biotechnologia środowiska, Ochrona środowiska, Inżynieria biochemiczna oraz Technologia kosmetyków. Byłam również opiekunem 4 prac końcowych na Studiach Podyplomowych „Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle”. Jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej pt. „Aktywność olejków eterycznych wobec oportunistycznych pałeczek gram-ujemnych”.

Od 2014 roku biorę udział w tworzeniu programów kształcenia na Wydziale jako członek komisji programowej dla kierunku Biotechnologia oraz Wydziałowej Komisji Jakości Kształcenia.

Kurs pedagogiczny teoretyczny (z zakresu psychologii, pedagogiki i dydaktyki) oraz praktyki pedagogiczne w szkole podstawowej i średniej, które odbyłam w ramach czterosemestralnego Studium Pedagogicznego na Uniwersytecie im. Mikołaja Kopernika w Toruniu umożliwiły mi zdobycie kwalifikacji pedagogicznych. W celu podniesienia swoich kompetencji i umiejętności dydaktycznych brałam udział w szkoleniach: Design Thinking (2017), Zastosowanie mikroskopii konfokalnej w badaniach mikrobiologicznych, biotechnologicznych, mykologicznych i parazytologicznych (2017), Problem Based Learning (2015), Cytometria przepływowa (2015), Nowoczesne metody analiz żywności i napojów

(2014), Podstawowe zasady użytkowania programu STATISTICA – wybrane zagadnienia analizy danych z uwzględnieniem metod statystycznych (2010), Apoptotic processes in yeast and mammalian cells – common denominator in a very complex proces (2007), Modern Approaches for Proteome Analysis: from sample preparation to image analysis (2006), Real Time PCR: theory, chemistries, concepts (2006), Genotypowanie – technika PCR II (2002).

W latach 2007–2013 za osiągnięcia w działalności dydaktyczno-wychowawczej, a w latach 2014–2017 w działalności dydaktyczno-wychowawczej i naukowej otrzymałam jedenaście nagród JM Rektora Politechniki Łódzkiej.

### **9. Działalność organizacyjna, działalność popularyzująca naukę**

W roku 2012 brałam udział w pracach Komitetu Organizacyjnego VI Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych”, organizowanej przez Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ. W roku 2014 i 2016 uczestniczyłam w pracach Komitetu Organizacyjnego Międzynarodowych Konferencji Naukowych „XVI International Biodeterioration & Biodegradation Symposium” oraz “International Conference of Biodeterioration & Protection of Cultural Heritage”. Podczas stażu naukowego w Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentyna w 2017 roku uczestniczyłam w organizacji konferencji naukowej Conferencias Magistrales de Investigadoras de la Universidad de Lodz, Polonia.

W roku 2014 brałam także udział w organizacji seminariów naukowych realizowanych w ramach przedsięwzięcia „Współpraca z wyższymi uczelniami” w zakresie wspierania rozwoju Łodzi jako ośrodka naukowego i akademickiego, finansowanego przez Miasto Łódź.

Od 2014 roku biorę udział w pracach podnoszących jakość kształcenia na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ jako członek komisji programowej dla kierunku Biotechnologia oraz Wydziałowej Komisji Jakości Kształcenia.

W latach 2006–2010 pełniłam funkcję opiekuna studentów na kierunku Biotechnologia Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ, studia stacjonarne. W latach 2013–2016 byłam także opiekunem studentów czterech roczników na kierunku Biotechnologia, studia niestacjonarne.

W trakcie mojej pracy zawodowej biorę również aktywny udział w promowaniu Wydziału. W roku 2015, w związku z przygotowaniem nowego portalu internetowego dedykowanego kandydatom na studia na Politechnice Łódzkiej, uczestniczyłam w realizacji filmów promujących infrastrukturę i działalność naukową Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii. W latach 2007–2016 uczestniczyłam w akcji „Drzwi zawsze otwarte”, w ramach której prowadziłam zajęcia i prezentowałam Instytut w trakcie spotkań z uczniami

gimnazjów i szkół ponadgimnazjalnych regionu łódzkiego. W latach 2009-2010 prowadziłam zajęcia dla uczniów Liceum Ogólnokształcącego w ramach projektu finansowanego ze środków UE „Wśród nas rosną nowi Kopernicy”. Od roku 2009 zajmuję się organizacją zajęć laboratoryjnych z biologii z elementami mikrobiologii dla uczniów Liceum Politechniki Łódzkiej, a od 2013 roku także organizacją zajęć z biologii dla uczniów Publicznego Gimnazjum Politechniki Łódzkiej.

W 2015 roku sprawowałam opiekę naukową praktyk realizowanych w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ przez dwie studentki Uniwersytetu Łódzkiego.

W ramach działalności organizacyjnej od 2010 roku koordynuję przeprowadzanie egzaminów dyplomowych inżynierskich na kierunku Biotechnologia w Zakładzie Mikrobiologii Technicznej PŁ.

Od 2008 roku pełnię funkcję Kuratora Kolekcji Czystych Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych ŁOCK 105 Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ. Brałam również udział w opracowaniu wniosków o finansowanie działalności Kolekcji jako specjalnego urządzenia badawczego SPUB oraz wniosku o dotację na działalność związaną z utrzymaniem i poszerzaniem naukowych baz danych „Katalog Kolekcji Czystych Kultur Drobnoustrojów Przemysłowych jako część konsorcjum WFCC World Data Center for Microorganisms (WDCM)”. Ponadto, uczestniczyłam w opracowaniu koncepcji strony internetowej Kolekcji <http://mikrobiologia.p.lodz.pl/kolekcja-lock/>.

Jestem członkiem organizacji i stowarzyszeń naukowych: International Biodeterioration Biodegradation Society, American Society for Microbiology oraz Polskiego Towarzystwa Mykologicznego.

15. 06. 2018 r.

K. Lejkanko