

Załącznik 2

Autoreferat z opisem dorobku i osiągnięć
naukowych związanych z postępowaniem
habilitacyjnym

Adriana Nowak

Politechnika Łódzka
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

Łódź 2016

1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Adriana Maryla Nowak**
 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 tytuł rozprawy doktorskiej)

27.06.2002 Tytuł magistra biologii w zakresie fizjologii – genetyki
 Uniwersytet Łódzki
 Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
 Praca magisterska: „Analiza mutagennych właściwości ethoxyquinu poddanego aktywacji metabolicznej w teście mikrojądrowym *in vitro* wykonanym na limfocytach krwi obwodowej człowieka”.
 Kierujący pracą: dr hab. Alina Błaszczuk, prof. UŁ

29.01.2008 Stopień doktora nauk technicznych w zakresie biotechnologii
 Politechnika Łódzka
 Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
 Praca doktorska: „Rozkład karcynogennych metabolitów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*”.
 Promotor rozprawy: prof. dr hab. Zdzisława Libudysz

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

18.02.2008 – 30.11.2008 Politechnika Łódzka
 Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
 Asystent

01.12.2008 Politechnika Łódzka
 - do chwili obecnej Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
 Adiunkt

4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest cykl publikacji naukowych.

4.1. Tytuł osiągnięcia

„Probiotyki i prebiotyki – właściwości antygenotoksyczne i cytoprotekcyjne”

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego

Osiągnięcie naukowe jest przedstawione w cyklu 6 publikacji o łącznej wartości *Impact Factor* **12,883** i punktów MNiSW **150**:

H1. Nowak A., Śliżewska K., Klewicka E. (2012) Effect of probiotic lactobacilli on faecal enzyme and genotoxic activity in human faecal water in the presence of the carcinogen PhIP *in vitro*. International Journal of Dairy Technology 65(2), 300-307. IF₂₀₁₂ = 1,179; MNiSW = 25 pkt.

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	85
Śliżewska Katarzyna	Pomoc w oznaczaniu aktywności enzymów β -glukuronidazy i β -glukozydazy w wodzie kałowej.	10
Klewicka Elżbieta	Konsultacja merytoryczna dotycząca oznaczania aktywności enzymów β -glukuronidazy i β -glukozydazy w wodzie kałowej.	5

H2. Nowak A., Śliżewska K. (2014) β -Glucuronidase and β -glucosidase activity and human fecal water genotoxicity in the presence of probiotic lactobacilli and the heterocyclic aromatic amine IQ *in vitro*. Environmental Toxicology and Pharmacology 37, 66-73. **IF₂₀₁₄ = 2,084; MNiSW = 20 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	90
Śliżewska Katarzyna	Pomoc w oznaczaniu aktywności enzymów β -glukuronidazy i β -glukozydazy w wodzie kałowej.	10

H3. Nowak A., Śliżewska K., Błasiak J., Libudysz Z. (2014) *Lactobacillus casei* DN 114 001 reduces the activity of faecal enzymes and genotoxicity of faecal water in the presence of heterocyclic aromatic amines. Anaerobe 30, 129-136. **IF₂₀₁₄ = 2,479; MNiSW = 25 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	81
Śliżewska Katarzyna	Pomoc w oznaczaniu aktywności enzymów β -glukuronidazy i β -glukozydazy w wodzie kałowej.	9
Błasiak Janusz	Konsultacja merytoryczna metodyki testu komety oraz korekta manuskryptu.	5
Libudysz Zdzisława	Konsultacja merytoryczna podczas pisania manuskryptu.	5

H4. Nowak A., Czyżowska A., Stańczyk M. (2015) Protective activity of probiotic bacteria against 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) – An *in vitro* study. Food Additives and Contaminants Part A 32(11),1927-1938. **IF_{5-letni} = 2,197; MNiSW = 25 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	80
Czyżowska Agata	Identyfikacja heterocyklicznych amin aromatycznych w wodzie kałowej metodą HPLC.	15
Stańczyk Małgorzata	Konsultacja merytoryczna dotycząca oksydacyjnych uszkodzeń DNA w teście komety.	5

H5. Nowak A., Czyżowska A., Huben K., Sójka M., Kuberski S., Otlewska A., Śliżewska K. (2016) Prebiotics and age, but not probiotics affect transformation of 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ) by faecal microbiota – An *in vitro* study. *Anaerobe* 39, 124-135. **IF_{5-letni} = 2,628; MNiSW = 25 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	60
Czyżowska Agata	Identyfikacja 7-OH-IQ w wodzie kałowej metodą LC-MS.	14
Huben Krzysztof	Identyfikacja 7-OH-IQ w wodzie kałowej metodą NMR.	6
Sójka Michał	Pomoc w przeprowadzaniu chromatografii preparatywnej w celu izolacji 7-OH-IQ.	5
Kuberski Sławomir	Identyfikacja 7-OH-IQ w wodzie kałowej metodą FT-IR.	5
Otlewska Anna	Identyfikacja genetyczna bakterii <i>Enterococcus</i> sp.	5
Śliżewska Katarzyna	Udostępnienie do badań szczepów <i>Clostridium difficile</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> oraz <i>Enterococcus faecium</i> .	5

H6. Nowak A., Śliżewska K., Otlewska A. (2015) Antigenotoxic activity of lactic acid bacteria, prebiotics, and products of their fermentation against selected mutagens. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73, 938-946. **IF_{5-letni} = 2,316; MNiSW = 30 pkt.**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Adriana	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji do druku, autor korespondencyjny.	85
Śliżewska Katarzyna	Identyfikacja krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych metodą HPLC.	10
Otlewska Anna	Identyfikacja genetyczna bakterii <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> oraz <i>Lactobacillus mucosae</i> .	5

Wyniki badań przedstawione w publikacjach H1 – H5 były całkowicie lub częściowo wynikiem realizacji projektu własnego MNiSW/NCN (NN 312 203836) „Detoksyfikacja heterocyklicznych amin aromatycznych przez bakterie probiotyczne z rodzaju *Lactobacillus*”, którego byłam kierownikiem.

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

4.3. Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Sposób żywienia modyfikuje zespół mikroorganizmów jelitowych człowieka. Spożywanie produktów wzbogaconych w szczepy probiotyczne oraz/lub substancje prebiotyczne pozwala na ukształtowanie prawidłowego ekosystemu mikroorganizmów jelitowych, co może chronić przed wieloma schorzeniami oraz wpływać na ogólną poprawę stanu zdrowia.

Organizacja Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) (2002) definiują probiotyki, jako żywe mikroorganizmy, które w postaci preparatów farmaceutycznych lub dodane do żywności, korzystnie wpływają na organizm gospodarza poprzez poprawę równowagi jego ekosystemu jelitowego (FAO/WHO, 2002). Definicja ta została potwierdzona w 2014 roku przez *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (Hill i wsp., 2014; Reid, 2016). Bakterie probiotyczne z reguły należą do grupy bakterii fermentacji mlekowej. Nie wszystkie jednak szczepy wywołują w organizmie człowieka jednakowy efekt prozdrowotny (Nowak i wsp., 2010a). Szczep można uznać za probiotyczny jedynie wtedy, gdy zostanie poddany szeregowi długotrwałych i kosztownych badań, których przebieg został ściśle ustalony przez FAO/WHO (FAO/WHO, 2002). Korzyści zdrowotne wynikające ze stosowania probiotyków scharakteryzowałam w publikacji przeglądowej (Nowak i wsp., 2010b).

Do modulowania zespołu mikroorganizmów jelitowych są wykorzystywane także preparaty prebiotyczne. W 2007 roku eksperci z FAO/WHO określili prebiotyki, jako niezdolne do życia składniki pokarmowe, które wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza w związku z modulacją zespołu mikroorganizmów jelitowych (FAO, 2007) (Śliżewska i wsp., 2013).

Modulacja zespołu mikroorganizmów jelitowych poprzez spożywanie prebiotyków i probiotyków powinna być traktowana jako istotny czynnik ochrony zdrowia człowieka.

Jedną z cech bakterii probiotycznych oraz prebiotyków może być ich aktywność przeciwnowotworowa. Nowotwory jelita grubego są trzecią najczęstszą przyczyną zgonów na świecie (Nistal i wsp., 2015). Zaobserwowano, iż schorzenie to dotyczy głównie cywilizację zachodnią, w której spożywa się największe ilości produktów pochodzenia zwierzęcego, w tym czerwonego mięsa, natomiast niewiele owoców i warzyw. Badania z ostatnich kilkunastu lat wykazały, że spośród wszystkich nowotworów, rak jelita grubego, obok uwarunkowań genetycznych, jest w największym stopniu skorelowany ze stylem życia, a w szczególności z dietą oraz szkodliwymi związkami spożywanymi z żywnością (Nistal i wsp., 2015).

Szczególnie groźne mogą być heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA).

HCA to grupa związków będących produktami pirolizy aminokwasów i białek, które powstają podczas termicznej obróbki mięsa czerwonego oraz ryb (gotowanie, smażenie, pieczenie, grillowanie). Pomimo, że związki te powstają w żywności w śladowych ilościach, ich obecność jest bardzo istotna, biorąc pod uwagę ich silne właściwości mutagenne i rakotwórcze. 2-Amino-3-metylo-3H-imidazo[4,5-f]chinolina (IQ) oraz 2-amino-1-metylo-6-fenilo-1H-imidazo[4,5-b]pirydyna (PhIP) to jedne z najbardziej rozpowszechnionych HCA, powstających w największej ilości podczas termicznej obróbki mięsa. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała IQ za substancję prawdopodobnie rakotwórczą (klasa 2A), natomiast PhIP jako substancję możliwie rakotwórczą (klasa 2B) dla człowieka.

Szczepa probiotyczne oraz prebiotyki mogą wykazywać aktywność przeciwnowotworową poprzez szereg mechanizmów, takich jak: modyfikacja (hamowanie lub zmiana metabolizmu) zespołu mikroorganizmów jelitowych, hamowanie aktywności bakteryjnych enzymów, tzw. fekalnych (np.: β -glukozydazy, β -glukuronidazy, azoreduktazy, nitroreduktazy), przekształcających związki prokarcynogenne w karcynogenne, wiązanie karcynogenów, obniżenie cyto- i genotoksyczności, zmiana warunków fizykochemicznych w jelicie grubym (obniżenie pH, które powoduje zmianę aktywności np.: bakteryjnej 7- α -dehydroksylazy przekształcającej pierwszorzędowe kwasy żółciowe w rakotwórcze drugorzędowe), produkcja związków o działaniu cytoprotekcyjnym (krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych – SCFA), aktywność antyproliferacyjna oraz indukcja apoptozy komórek rakowych, modyfikacja metabolizmu składników żywności lub aktywacja odpowiedzi immunologicznej gospodarza do działania przeciwnowotworowego (Sunkata i wsp., 2014; Kumar i wsp., 2015).

Wiek jest jednym z najważniejszych czynników determinujących ekosystem jelitowy. Wraz ze starzeniem się organizmu, zmianą nawyków żywieniowych oraz stylem życia, następują niekorzystne zmiany w układzie mikrobioty jelitowej, takie jak obniżone zróżnicowanie gatunkowe mikrobioty, niestabilność, obniżenie ilości „pożytecznych” bakterii z rodzajów *Lactobacillus* sp. i *Bifidobacterium* sp., a wzrost liczebności w obrębie takich rodzajów jak *Clostridium* i *Eubacterium*, które mogą być zaangażowane w transformację i aktywację związków promutagennych. Większość produktów probiotycznych dostępnych na rynku jest przeznaczonych dla zdrowych dzieci i osób dorosłych. W moich badaniach chciałam stwierdzić, czy istnieje potrzeba konstrukcji preparatów probiotycznych i/lub żywności funkcjonalnej przeznaczonej dla różnych grup wiekowych, a szczególnie dla seniorów.

Jako materiał badawczy wybrałam kał, ponieważ najlepiej odzwierciedla warunki panujące w jelicie grubym *in vivo*, jest łatwo dostępny i dostarcza wielu oryginalnych wyników. W badaniach zastosowałam linię komórkową nabłonka jelitowego Caco-2,

ponieważ jest to najbardziej rozpowszechniony system komórkowy imitujący ludzki nabłonek jelitowy. Ponadto komórki te mają bezpośredni kontakt z treścią jelitową, a więc z bakteriami probiotycznymi oraz związkami rakotwórczymi z diety.

Do tej pory nie prowadzono badań zmierzających do wykazania, czy probiotyki działają ochronnie w odniesieniu do ludzi w różnym wieku (dzieci do 24 miesiąca życia, dorośli – 30-40 lat i seniorzy – 75-85 lat) oraz czy jednocześnie obniżają aktywność enzymów fekalnych i znoszą cyto- i genotoksyczność wody kałowej po ekspozycji na IQ oraz PhIP. Nie badano również zdolności szczepów probiotycznych do zapobiegania uszkodzeniom DNA w komórkach Caco-2 oraz ich aktywności antyoksydacyjnej w teście komety, a także wpływu probiotyków i prebiotyków na transformację IQ przez mikrobiotę kałową. Brak jest również doniesień dotyczących zdolności prebiotyków do stymulacji napraw DNA w komórkach Caco-2 po ekspozycji na mutageny.

Celem badań stanowiących osiągnięcie naukowe było wykazanie, czy i w jaki sposób bakterie probiotyczne oraz substancje prebiotyczne (fermentowane i niefermentowane) wykazują w stosunku do mikrobioty kałowej dzieci (do 24 miesiąca życia), osób dorosłych (w wieku 30-40 lat) oraz seniorów (w wieku 75-85 lat) aktywność cytoprotekcyjną i antygenotoksyczną w obecności wybranych mutagenów (badania *in vitro*).

Cel i zakres badań obejmował:

1. Wykazanie, czy probiotyki w treści kałowej ludzi w różnym wieku (dzieci, osoby dorosłe i seniorzy) obniżają lub podwyższają aktywność tzw. enzymów fekalnych (β -glukozydazy i β -glukuronidazy), także w obecności heterocyklicznych amin aromatycznych IQ i PhIP.
2. Stwierdzenie, czy probiotyki są zdolne do obniżania cytotoksyczności oraz ograniczania ilości uszkodzeń DNA w komórkach nabłonka jelitowego Caco-2 indukowanych przez IQ i PhIP, oraz czy obniżają ich stężenie w wodzie kałowej ludzi w różnym wieku, łącznie z wyjaśnieniem mechanizmu zaobserwowanych efektów.
3. Wykazanie, czy martwe komórki bakterii probiotycznych, podobnie jak żywe, wpływają na genotoksyczność wody kałowej.
4. Wykazanie, czy szczepy probiotyczne oraz prebiotyki wpływają na transformację IQ do mutagenu bezpośredniego 7-OH-IQ (2-amino-3,6-dihydro-3-metylo-7H-imidazo[4,5-f]chinolina-7-on) w obecności mikrobioty kałowej ludzi w różnym wieku.
5. Wykazanie zdolności prebiotyków oraz końcowych produktów ich fermentacji do obniżania genotoksyczności wody kałowej oraz indukowania napraw DNA w komórkach nabłonka jelitowego Caco-2 po ekspozycji na wybrane mutageny

obecne w wodzie kałowej, nadtlenuk wodoru oraz N-metylo-N'-nitro-N-nitrozoguanidynę (MNNG).

6. Sprawdzenie, czy ilość i rodzaj końcowych produktów fermentacji prebiotyków (krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych) wytwarzanych przez bakterie probiotyczne jest skorelowana z aktywnością antygenotoksyczną.

Wpływ bakterii probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus* na aktywność β -glukozydazy i β -glukuronidazy należących do tzw. enzymów fekalnych oraz genotoksyczność wody kałowej osób w różnym wieku (łącznie 15), dodatkowo indukowaną 2-amino-1-metylo-6-fenilo-1H-imidazo[4,5-b]pirydyną (PhIP) przedstawiłam w publikacji **H1: Nowak A., Śliżewska K., Klewicka E. (2012) Effect of probiotic lactobacilli on faecal enzyme and genotoxic activity in human faecal water in the presence of the carcinogen PhIP *in vitro*. International Journal of Dairy Technology 65(2), 300-307 (IF₂₀₁₂ = 1,179; MNiSW = 25 pkt.).**

Aktywność β -glukuronidazy i β -glukozydazy badałam metodą spektrofotometryczną. Zaobserwowałam, że aktywność obu enzymów w treści kałowej była najniższa w grupie dzieci, natomiast wyższa, choć na podobnym poziomie, w grupie osób dorosłych i seniorów. Inkubacja kału z PhIP z reguły kilkakrotnie zwiększała aktywność β -glukuronidazy (we wszystkich grupach wiekowych) i β -glukozydazy, zwłaszcza u seniorów (w przedziale wiekowym 75-85 lat). Efektu tego nie zaobserwowałam u dzieci do 24 miesiąca życia, co może wskazywać na prokarcynogenne działanie mikrobioty kałowej osób w zaawansowanym wieku. Wykazałam, że probiotyczne szczepy *Lactobacillus* (*Lb. casei* 0900, *Lb. casei* 0908 oraz *Lb. paracasei* 0919 reklasyfikowane obecnie jako *Lb. rhamnosus* 0900, *Lb. rhamnosus* 0908 oraz *Lb. casei* 0919) (Aleksandrak-Piekarczyk i wsp., 2013a; Aleksandrak-Piekarczyk i wsp., 2013b; Koryszewska-Bagińska i wsp., 2014) obniżały aktywność β -glukuronidazy i β -glukozydazy treści kałowej osób w różnym przedziale wiekowym, do poziomu w próbie kontrolnej (kał bez PhIP), w największym stopniu u seniorów, a w najmniejszym u dzieci. Szczepy te z reguły nie miały istotnego wpływu na aktywność β -glukuronidazy i β -glukozydazy w grupie osób dorosłych (w przedziale wiekowym 30-40 lat), w której ponadto zaobserwowano największy rozrzut wyników, zależnie od badanej osoby. Może to być spowodowane ogromną różnorodnością w obrębie indywidualnej, dominującej i subdominującej mikrobioty kałowej, która jest odzwierciedleniem specyficznej diety i stylu życia ludzi w tym wieku

Badane szczepy obniżały ogólny poziom uszkodzeń DNA indukowanych aminą PhIP w komórkach nabłonka jelitowego Caco-2 po inkubacji z kałem osób w różnym wieku, co wykazałam w alkalicznej wersji testu elektroforezy pojedynczych komórek w żelu agarozowym (testu kometowego) i wyraziłam jako % DNA w ogonie komety.

Zaobserwowałam, że PhIP istotnie (3-krotnie) w kale pochodzącym od grupy dzieci oraz dorosłych zwiększała ilość uszkodzeń DNA w komórkach nabłonka jelitowego Caco-2 w porównaniu do genotoksyczności w próbie kontrolnej (kał bez dodatku PhIP). Dwa szczepy, tj. *Lb. rhamnosus* 0908 i *Lb. casei* 0919 istotnie obniżały genotoksyczność wody kałowej w obu tych grupach. W grupie seniorów już sama genotoksyczność wody kałowej była 2 – 2,5-krotnie wyższa w porównaniu do grupy dorosłych i dzieci (w której była najniższa) i to prawdopodobnie było powodem braku efektu działania PhIP, która nie podwyższała genotoksyczności wody kałowej w sposób istotny. Tylko jeden szczep (*Lb. rhamnosus* 0900) obniżał poziom uszkodzeń DNA w komórkach Caco-2 w kale pochodzącym od grupy seniorów. Wykazałam więc, że działanie ochronne bakterii probiotycznych może polegać na modulowaniu składu mikrobioty jelitowej w kierunku obniżania aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy (szczególnie u seniorów) oraz genotoksyczności wody kałowej, co może ograniczać ryzyko występowania nowotworów jelita grubego.

Obecność samego szczepu probiotycznego, bez karcynogenu, nie wpływała na aktywność obu enzymów, co przedstawiłam w publikacji **H2: Nowak A., Śliżewska K. (2014) β -Glucuronidase and β -glucosidase activity and human fecal water genotoxicity in the presence of probiotic lactobacilli and the heterocyclic aromatic amine IQ *in vitro*. Environmental Toxicology and Pharmacology 37, 66-73 (IF₂₀₁₄ = 2,084; MNiSW = 20 pkt.)**. Stwierdziłam, że w wyniku inkubacji kału z IQ następuje kilkukrotne zwiększenie aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy w grupie dzieci i seniorów, ale nie osób dorosłych. β -Glukuronidaza jest niezbędna do aktywacji IQ do mutagenu bezpośredniego (Humblot i wsp., 2007). Jednocześnie wykazałam, że w obecności szczepów probiotycznych z reguły występuje istotne obniżenie aktywności obu enzymów (w największym stopniu u seniorów – nawet do 90%, następnie w grupie dzieci do 76%, ale nie u dorosłych) do poziomu w próbie kontrolnej. W grupie seniorów zauważyłam, że wraz z wiekiem, aktywność β -glukuronidazy w obecności probiotyków maleje. Ponadto wykazałam, że im młodsze dziecko, tym istotniejsze jest obniżenie aktywności tego enzymu. Zauważyłam, że wśród badanych szczepów, *Lb. casei* 0919 najskuteczniej obniżał aktywność enzymów fekalnych u osób w wieku 75-85 lat.

Największą efektywność probiotyków w obniżaniu genotoksyczności wody kałowej zaobserwowałam w grupie osób dorosłych, mniejszą u dzieci, natomiast najmniejszą u seniorów. Efektywność probiotyków była specyficznie zależna od osoby i jej indywidualnej mikrobioty kałowej. Przebadane szczepy *Lactobacillus* to jedyne polskie probiotyki wyizolowane w zespole ITFiM PŁ (objęte ochroną patentową) o klinicznie udokumentowanym działaniu (stosowane w atopowym zapaleniu skóry u dzieci) (Cukrowska i wsp., 2009; Cukrowska i wsp., 2010).

Analogiczne badania (w celu porównawczym) przeprowadziłam z zastosowaniem znanego na całym świecie, komercyjnego szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* DN 114 001, obecnego w jogurcie *Actimel*. Wyniki tych badań opublikowałam w artykule **H3: Nowak A., Śliżewska K., Błasiak J., Libudziś Z. (2014) *Lactobacillus casei* DN 114 001 reduces the activity of faecal enzymes and genotoxicity of faecal water in the presence of heterocyclic aromatic amines. *Anaerobe* 30, 129-136 (IF₂₀₁₄ = 2,479; MNiSW = 25 pkt.). Jest to jedyna publikacja dotycząca tego szczepu i biomarkerów nowotworów jelita grubego w wodzie kałowej.** Podobnie jak w przypadku pozostałych szczepów, obecność samego probiotyku (bez karcynogenu) nie wpływała istotnie na aktywność badanych enzymów w wodzie kałowej. Zaobserwowałam natomiast, że modulował on korzystnie mikrobiotę kałową w kierunku obniżenia aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy w obecności IQ i PhIP, przy czym w największym stopniu dotyczyło to wody kałowej osób w wieku 75-85 lat. W przypadku IQ, *Lb. casei* DN 114 001 nie wpływał na aktywność obu enzymów, ale w obecności PhIP obserwowałam obniżenie aktywności β -glukuronidazy w wodzie kałowej osób w wieku 30-40 lat (w przeciwieństwie do wcześniej omawianych szczepów). *Lb. casei* DN 114 001 najefektywniej (nawet do 77%) obniżał poziom uszkodzeń DNA indukowanych w komórkach Caco-2, również w grupie osób dorosłych.

Wyniki przedstawione w publikacjach H1-H3 dowiodły, że działanie ochronne probiotyków zachodzi poprzez modulowanie składu mikrobioty kałowej, co prowadzi z kolei do obniżania aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy oraz genotoksyczności wody kałowej ludzi. Wykazałam również, że probiotyki w obecności karcynogenów mogą korzystnie modyfikować ekosystem jelitowy. Potwierdziłam zatem, że jednym z mechanizmów ochronnego działania probiotyków może być modyfikacja mikrobioty kałowej ograniczająca liczebność bakterii o wysokiej aktywności enzymów fekalnych. Po inkubacji z bakteriami probiotycznymi obniżenie aktywności tych enzymów prawie zawsze było dodatnio skorelowane z obniżeniem genotoksyczności wody kałowej. Otrzymane wyniki potwierdzają, że β -glukuronidaza i β -glukozydaza bakterii kałowych są zaangażowane w powstawanie lub aktywację związków potencjalnie toksycznych i rakotwórczych do bardziej genotoksycznych i bezpośrednio oddziałujących z DNA, a bakterie probiotyczne oddziałując na mikrobiotę jelitową ograniczają ich tworzenie.

Największą efektywność obniżania genotoksyczności obserwowałam w grupie osób w wieku 30-40 lat. Natomiast u osób w wieku 75-85 lat stwierdziłam najwyższą skuteczność obniżania aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy w wodzie kałowej. Działanie protekcyjne probiotyków zależy zatem w dużym stopniu od wieku osoby, jej indywidualnej mikrobioty kałowej (jej skład ulega niekorzystnym zmianom wraz ze starzeniem się

organizmu), karcynogenu oraz szczepu probiotycznego, co wskazuje na celowość doboru szczepów probiotycznych specyficznie dla danej osoby lub grupy osób.

Celem następnego etapu badań było wykazanie, czy szczepy probiotyczne są zdolne do działania ochronnego w stosunku do komórek nabłonka jelitowego Caco-2 i czy efekt ten jest wynikiem obniżania cytotoksyczności IQ, PhIP oraz wody kałowej zależnie od wieku osoby. Zmierzano także do ustalenia mechanizmu zaobserwowanych efektów, związanych z obniżeniem stężenia IQ i PhIP, wiązaniem do powierzchni ścian komórkowych, zapobieganiem uszkodzeniom DNA oraz aktywnością antyoksydacyjną szczepów probiotycznych. Wyniki przedstawiłam w publikacji **H4: Nowak A., Czyżowska A., Stańczyk M. (2015) Protective activity of probiotic bacteria against 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1H-imidazo [4,5-b]pyridine (PhIP) – An *in vitro* study. Food Additives and Contaminants Part A 32(11), 1927-1938 (IF_{5-letni} = 2,197; MNiSW = 25 pkt.)**. Cytotoksyczność badałam testem wychwytu czerwieni obojętnej (NRU). Tak jak w przypadku genotoksyczności zaobserwowałam, że woda kałowa osób w wieku 75-85 lat z reguły wykazywała największą cytotoksyczność, niższą u osób w wieku 30-40 lat, a najniższą u dzieci do 24 miesiąca życia. Obecność samego szczepu probiotycznego (bez ekspozycji na związek karcynogeny) z reguły obniżała cytotoksyczność wody kałowej we wszystkich grupach wiekowych, ale nie było to istotne statystycznie. Cytotoksyczność w obecności IQ lub PhIP wzrastała, a szczepy probiotyczne z reguły zwiększały żywotność komórek Caco-2 w obecności karcynogenów we wszystkich grupach wiekowych. Jednakże porównanie średnich pomiędzy grupami wykazało, że nie było to zjawisko istotne statystycznie. Stwierdziłam natomiast, że obniżenie cytotoksyczności wody kałowej w obecności IQ i PhIP jest specyficzne dla osoby i szczepu probiotycznego i dla niektórych osób z każdej grupy wiekowej jest istotne statystycznie, a zatem każdy przypadek należy rozpatrywać indywidualnie.

Jednym z mechanizmów cytoprotekcyjnego oddziaływania probiotyków może być obniżanie stężenia karcynogenów poprzez ich wiązanie do powierzchni ścian komórkowych (Zhao i wsp., 2013). Stężenie IQ i PhIP po ekstrakcji z próbek kału badałam metodą HPLC. **Za moje istotne osiągnięcie uważam opracowanie metody izolacji, oczyszczania i oznaczania obu HCA z materiału fekalnego.** Obniżanie stężenia IQ i PhIP było zależne zarówno od szczepu, jak i osoby. *Lb. rhamnosus* 0900 najefektywniej obniżał stężenie IQ, podczas gdy *Lb. casei* 0919 – PhIP. Obniżenie stężenia amin było skorelowane z obniżeniem cytotoksyczności wody kałowej, w zależności od osoby. Wykazałam, że badane szczepy w zakresie od około 2 do 30% wiązały IQ i PhIP do powierzchni ścian komórkowych. Również preinkubacja komórek Caco-2 ze szczepami probiotycznymi w bardzo dużym stopniu zapobiegała uszkodzeniom DNA w ww. komórkach po późniejszej ekspozycji na IQ i PhIP. Dodatkowo *Lb. rhamnosus* 0908 zapobiegał uszkodzeniom

oksydacyjnym indukowanym przez nadtlenuk wodoru. Szczep ten obniżał również poziom oksydacyjnych uszkodzeń DNA indukowanych przez IQ i PhIP rozpoznawanych przez enzymy naprawcze DNA: endonukleazę III (Endo III) oraz formamidopirymidyno-DNA-glikozylazę (Fpg), co wykazałam w modyfikowanej wersji testu kometowego. Stwierdziłam, iż szczep ten wykazuje właściwości antyoksydacyjne. **Uważam to za ważne osiągnięcie**, ponieważ jednym z mechanizmów toksyczności HCA może być produkcja wolnych rodników tlenowych, które mogą przyczyniać się do inicjacji procesu karcynogenezy.

Dane literaturowe wskazują na zdolność mikrobioty jelitowej do aktywacji IQ do mutagenu bezpośredniego (bezpośrednio oddziałującego z DNA) – 7-hydroksy-IQ (7-OH-IQ, tj. 2-amino-3,6-dihydro-3-metylo-7H-imidazo[4,5-f]chinolina-7-on) (Carman i wsp., 1988; Van Tassel i wsp., 1989; Humblot i wsp., 2005). Celem badań zamieszczonych w publikacji **H5: Nowak A., Czyżowska A., Huben K., Sójka M., Kuberski S., Otlewska A., Śliżewska K. (2016) Prebiotics and age, but not probiotics affect transformation of 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ) by faecal microbiota – An *in vitro* study. Anaerobe 39, 124-135 (IF_{5-letni} = 2,628; MNiSW = 25 pkt.)** było wykazanie, czy szczepy probiotyczne oraz prebiotyki mogą wpływać na transformację IQ do 7-OH-IQ przez mikrobiotę kałową osób w różnym przedziale wiekowym. Detekcję 7-OH-IQ po ekstrakcji z próbek kału przeprowadzałam z wykorzystaniem trzech metod: chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MSⁿ), spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz spektroskopii w podczerwieni (FTIR). **To pierwsza publikacja wykorzystująca metodę FTIR do identyfikacji 7-OH-IQ. Za istotne osiągnięcie uważam opracowanie metody izolacji, oczyszczania i oznaczania 7-OH-IQ z materiału fekalnego.** Metoda ta pozwoliła na otrzymanie wystarczającej ilości metabolitu do oznaczeń NMR. Obecność pochodnej IQ stwierdziłam w kale 6 z 27 badanych osób, tj. u 22% dzieci (do 18 miesiąca życia) oraz u 50% seniorów (77-83 lata), przy czym u tych osób ilość powstałego 7-OH-IQ była dwukrotnie wyższa, niż w grupie dzieci. Wykazałam więc, że związek ten powstaje głównie w wyniku aktywności mikrobioty kałowej, przede wszystkim osób w zaawansowanym wieku, ale także dzieci, u których układ mikroorganizmów jelitowych jest niestabilny. **Badania z tego zakresu są w pełni oryginalne.**

Z kału osób, u których stwierdziłam intensywną transformację IQ do 7-OH-IQ, wyizolowałam i zidentyfikowałam dwa szczepy *Enterococcus faecium* i dwa *Enterococcus faecalis* o takiej aktywności. **Jest to pierwsze doniesienie wskazujące na zdolność bakterii z rodzaju *Enterococcus* do takiej transformacji.** W teście kometowym wykazałam, że 7-OH-IQ był nawet do trzech razy bardziej genotoksyczny od IQ. Bakterie probiotyczne (*Lb. rhamnosus* 0900, *Lb. rhamnosus* 0908, *Lb. casei* 0919 i *Lb. casei* DN 114 001) nie hamowały powstawania 7-OH-IQ. Stwierdziłam więc, że badane szczepy nie działają protekcyjnie poprzez hamowanie syntezy 7-OH-IQ, jednakże same go nie

wytwarzają. Jest to istotne podczas konstrukcji preparatów probiotycznych – ważna jest nie tylko zdolność bakterii probiotycznych do hamowania syntezy związków mutagennych, ale także brak zdolności ich formowania lub aktywacji. Wykazałam natomiast efekt ochronny prebiotyków (Frutafit HD, laktuloza, Raftilose P95, oporna dekstryna). W ich obecności nie wykryłam 7-OH-IQ, a stężenie IQ również nie ulegało zmianie. Potwierdza to hipotezę, że prebiotyki korzystnie zmieniają profil fermentacyjny jelita grubego i przez to hamują aktywność bakterii „niekorzystnych”. **Jest to ważne osiągnięcie**, zwłaszcza, że niektórzy ludzie często praktykują złe nawyki żywieniowe, polegające na konsumpcji większej ilości produktów pochodzenia zwierzęcego, niż błonnika z owoców i warzyw. **Jest to również pierwsze doniesienie dotyczące wpływu probiotyków i prebiotyków na transformację IQ przez mikrobiotę kałową.** Sekwencje izolatów *Enterococcus* zdolnych do wytwarzania 7-OH-IQ zostały zgłoszone do NCBI GenBank z numerami akcesyjnymi KT180316, KT180317, KT180318 oraz KT180319.

Obecność SCFA w jelicie grubym, jako końcowych produktów fermentacji prebiotyków przez bakterie *Lactobacillus* sp. jest pożądana ze względu na ich działanie prozdrowotne, zwłaszcza jako czynników antykarcinogennych (Raman i wsp., 2013; Patel i DuPont, 2015). Celem badań reprezentowanych w publikacji **H6: Nowak A., Śliżewska K., Otlewska A. (2015) Antigenotoxic activity of lactic acid bacteria, prebiotics, and products of their fermentation against selected mutagens. Regulatory Toxicology and Pharmacology 73, 938-946 (IF_{5-letni} = 2,316; MNiSW = 30 pkt.)** było wykazanie czy szczepy probiotyczne (komercyjne), izolaty bakterii fermentacji mlekowej (*Lactobacillus* sp.), prebiotyki (siedem różnych) oraz końcowe produkty ich fermentacji (SCFA) wykazują antygenotoksyczną – protekcyjną aktywność w stosunku do komórek nabłonka jelitowego Caco-2. Jako czynnik mutageny zastosowałam wodę kałową o wysokim poziomie genotoksyczności, co stwierdziłam w badaniach wstępnych. Trzy szczepy probiotyczne (*Lb. casei* DN 114 001, *Lb. rhamnosus* GG, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12) oraz jeden nieprobiotyczny (*Lb. mucosae* 0988) obniżały genotoksyczność wody kałowej o ponad 70%. Żywe komórki bakterii charakteryzowały się większą zdolnością protekcyjną, niż inaktywowane termicznie. Zdolność ta była jednak zróżnicowana nawet w obrębie szczepu. Same prebiotyki (sacharydy niefermentowane) istotnie obniżały genotoksyczność wody kałowej, przy czym inulina oraz oporna dekstryna w największym stopniu. Stwierdziłam również, że największą aktywność antygenotoksyczną wykazywały końcowe produkty fermentacji prebiotyków przez *Lb. casei* DN 114 001 (zwłaszcza inuliny) oraz *Lb. mucosae* 0988 (w najwyższym stopniu po fermentacji odpornej dekstryny i laktulozy).

Następnym etapem było wykazanie, czy aktywność antygenotoksyczna wybranych szczepów była dodatnio skorelowana z ilością SCFA wytwarzanych podczas fermentacji, co oszacowałam z zastosowaniem metody HPLC. Według doniesień literaturowych kwas

masłowy (w największym stopniu), a w następnej kolejności kwas octowy, przyczyniają się do obniżania genotoksyczności wody kałowej (Rosignoli i wsp., 2001; Verbeke i wsp., 2015). **Jednakże z moich rezultatów wynika, że ilość powstałego kwasu masłowego nie zawsze jest proporcjonalna do stopnia obniżania genotoksyczności wody kałowej.** Zjawisko to może zatem zależeć nie tylko od stężenia kwasu masłowego, ale także proporcji wytwarzanych SCFA.

Szczepy bakteryjne (*Lb. casei* DN 114 001 i *Lb. mucosae* 0988) oraz prebiotyki (inulina i oporna dekstryna) o najwyższej aktywności antygenotoksycznej wybrałam do zbadania mechanizmu tego działania, tj. stymulacji napraw DNA w komórkach Caco-2 po ekspozycji na trzy mutageny – wodę kałową, nadtlenek wodoru oraz MNNG. Zaobserwowałam, że produkty fermentacji inuliny i odpornej dekstryny były skorelowane z większą efektywnością napraw DNA, niż prebiotyki niefermentowane, przy czym fermentowana oporna dekstryna najefektywniej stymulowała naprawę uszkodzeń DNA indukowanych wodą kałową oraz MNNG. **Warto zaznaczyć, iż jest to pierwsze doniesienie dotyczące wpływu odpornej dekstryny na naprawę DNA oraz jej aktywności antygenotoksycznej.**

Wynioskowałam, że probiotyki wykazują najsilniejsze działanie antygenotoksyczne i cytoprotekcyjne w połączeniu z prebiotykami (synbiotyki). Sekwencje izolatów z rodzaju *Lactobacillus* zdolnych do obniżania genotoksyczności wody kałowej, zostały zgłoszone do NCBI GenBank z numerami akcesyjnymi KP773469 oraz KP773480.

Badania w publikacjach H1-H5 były całkowicie lub częściowo wynikiem realizacji projektu własnego MNiSW/NCN (NN 312 203836) „Detoksyfikacja heterocyklicznych amin aromatycznych przez bakterie probiotyczne z rodzaju *Lactobacillus*” (w latach 2009-2012), którym kierowałam.

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

1. Bakterie probiotyczne *Lb. rhamnosus* 0900, *Lb. rhamnosus* 0908, *Lb. casei* 0919, *Lb. casei* DN 114001 działają antygenotoksycznie i cytoprotekcyjnie w stosunku do wody kałowej ludzi w różnym wieku – w największym stopniu u osób dorosłych w wieku 30-40 lat, ale tylko w obecności karcynogenów IQ i PhIP. Bakterie probiotyczne korzystnie modyfikują mikrobiotę kałową osób w różnym przedziale wiekowym (zwłaszcza u seniorów), prowadząc do obniżania aktywności β -glukuronidazy i β -glukozydazy po ekspozycji na IQ i PhIP. Obecność samego szczepu probiotycznego nie wpływa na aktywność enzymów. Działanie ochronne probiotyków jest wynikiem obniżania stężenia mutagenów IQ

i PhIP w wodzie kałowej oraz zdolności badanych probiotyków do wiązania IQ i PhIP do ścian komórkowych.

Działanie ochronne probiotyków zależy nie tylko od wieku osoby, jej indywidualnego zespołu mikrobioty kałowej, lecz także aminy heterocyklicznej oraz szczepu probiotycznego. Szczep probiotyczny powinien być zatem dobrany specyficznie dla osoby (personalizacja probiotyków) lub grupy osób, a każdy przypadek należy rozpatrywać indywidualnie.

2. Badane probiotyki wykazują działanie antygenotoksyczne, zapobiegając uszkodzeniom DNA w komórkach Caco-2 po ekspozycji na IQ i PhIP. Niektóre szczepy mogą wykazywać działanie antyoksydacyjne zapobiegając uszkodzeniom oksydacyjnym DNA indukowanym przez mutageny (nadtlenek wodoru i PhIP).
3. Mikrobiota kałowa niektórych osób w wieku 75-85 lat jest zdolna do transformacji IQ do 7-OH-IQ – mutagenu o znacznie wyższej aktywności genotoksycznej. Związane jest to z obecnością w ich kale szczepów takich jak *Enterococcus faecium* i *Enterococcus faecalis*.

Bakterie probiotyczne *Lb. rhamnosus* 0900, *Lb. rhamnosus* 0908, *Lb. casei* 0919 oraz *Lb. casei* DN 114001 nie działają ochronnie poprzez hamowanie powstawania mutagenu bezpośredniego – 7-OH-IQ, choć same go nie wytwarzają.

4. Prebiotyki (Frutafit HD, laktuloza, Raftilose P95, oporna dekstryna) wykazują aktywność protekcyjną, ponieważ w ich obecności obserwowane jest zahamowanie transformacji IQ do 7-OH-IQ, prawdopodobnie poprzez modyfikację składu mikroorganizmów kałowych i wynikającą stąd zmianę profilu fermentacyjnego. Żywe komórki bakterii probiotycznych oraz izolatów *Lactobacillus* sp. z reguły wykazują wyższą aktywność antygenotoksyczną, niż inaktywowane termicznie, a zdolność ta jest specyficzna dla gatunku i szczepu.
5. Prebiotyki (Frutafit HD, inulina, laktuloza, Raftilose P95, Raftilose L60/65, pektyny jabłkowe i oporna dekstryna) obniżają genotoksyczność wody kałowej, przy czym inulina i oporna dekstryna w największym stopniu. Produkty fermentacji prebiotyków (w zależności od prebiotyku i szczepu), obniżają genotoksyczność wody kałowej w większym stopniu, niż prebiotyki niefermentowane. Produkty fermentacji prebiotyków – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe wykazują aktywność antygenotoksyczną w stosunku do wody kałowej, ale nie jest ona proporcjonalna do ich ilości, w tym ilości kwasu masłowego.
6. Probiotyki (*Lb. casei* DN 114001), izolaty bakterii mlekowych (*Lb. mucosae* 0988), prebiotyki (inulina i oporna dekstryna) oraz produkty ich fermentacji mogą wykazywać działanie protekcyjne poprzez indukowanie napraw DNA w komórkach Caco-2 po ekspozycji na mutageny. Ponadto produkty fermentacji prebiotyków (inulina i oporna

dekstryna) wykazują efektywniejszą zdolność indukowania napraw DNA niż prebiotyki niefermentowane.

7. Probiotyki wykazują najsilniejsze działanie antygenotoksyczne i cytoprotekcyjne w połączeniu z prebiotykami (synbiotyki). Może to wskazywać na uzasadnione ich stosowanie w profilaktyce nowotworów jelita grubego.
8. Uzyskane wyniki potwierdzają korzystny wpływ badanych bakterii probiotycznych oraz prebiotyków na zdrowie człowieka, co wskazuje na celowość ich spożywania w codziennej diecie.

Literatura:

1. Aleksandrak-Piekarczyk T., Koryszewska-Bagińska A., Bardowski J. (2013a) Genome sequence of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* (formerly *Lactobacillus casei*) LOCK900. *Genome Announcements* 1(4), 1-2.
2. Aleksandrak-Piekarczyk T., Koryszewska-Bagińska A., Bardowski J. (2013b) Genome sequence of probiotic strain *Lactobacillus casei* (formerly *Lactobacillus paracasei*) LOCK919. *Genome Announcements* 1(5), 1-2.
3. Carman R.J., Van Tassell R.L., Kingston D.G.I., Bashir M., Wilkins T.D. (1988) Conversion of IQ, a dietary pyrolysis carcinogen to a direct – acting mutagen by normal intestinal bacteria in humans. *Mutation Research* 206, 335-342.
4. Cukrowska B., Motyl I., Kozakova H., Schwarzer M., Górecki R.K., Klewicka E., Śliżewska K., Libudysz Z. (2009) Probiotic *Lactobacillus* strains: *in vitro* and *in vivo* studies. *Folia Microbiologica* 54(6), 533-537.
5. Cukrowska B., Rosiak I., Klewicka E., Motyl I., Schwarzer M., Libudysz Z., Kozakova H. (2010) Impact of heat-inactivated *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* strains on cytokine responses in whole blood cell cultures of children with atopic dermatitis. *Folia Microbiologica* 55, 277-280.
6. FAO Technical Meeting on Prebiotics.: Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAO Technical Meeting Report, 15-16.09.2007.
7. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Marenstein D.J., Pot B., Morelli L., Canani, R.B., Flint H.J., Salminen S., Calder P.C., Sanders M.E. (2014) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 11, 506-514.
8. Humblot C., Combourieu B., Väisänen M.L., Furet J.P., Delort A.M., Rabot S. (2005) 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy-based studies of the metabolism of food-borne carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline by human intestinal microbiota. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 5116-5123.
9. Humblot C., Murkovic M., Rigottier-Gois L., Bensaada M., Bouclet A., Andrieux C., Anba J., Rabot S. (2007) β -glucuronidase in human intestinal microbiota is necessary for the colonic genotoxicity of the food-borne carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in rats. *Carcinogenesis* 28, 2419-2425.
10. Koryszewska-Bagińska A., Bardowski J., Aleksandrak-Piekarczyk T. (2014) Genome sequence of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* (formerly *Lactobacillus casei*) LOCK908. *Genome Announcements* 2(1), 1-2.
11. Kumar K.S., Sastry N., Polaki H., Mishra V. (2015) Colon cancer prevention through probiotics: an overview. *Journal of Cancer Science & Therapy* 7, 081-092.
12. Nistal E., Fernández-Fernández N., Vivas S., Olcoz J.L. (2015) Factors determining colorectal cancer: the role of the intestinal microbiota. *Frontiers in Oncology* 5, article 220.

13. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. (2010a) Probiotyki – historia i mechanizm działania. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 4(71), 5-19.
14. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z., Socha J. (2010b) Probiotyki – efekty zdrowotne. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 4(71), 20-36.
15. Patel R., DuPont H.L. (2015) New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clinical Infectious Diseases* 60(S2), 108-121.
16. Reid G. (2016) Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 30, 17-25.
17. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Kanada, 30 kwietnia i 1 maja 2002, (dostępne na: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).
18. Rosignoli P., Fabiani R., De Bartolomeo A., Spinozzi F., Agea E., Pelli M.A., Morozzi G. (2001) Protective activity of butyrate on hydrogen peroxide-induced DNA damage in isolated human colonocytes and HT29 tumour cells. *Carcinogenesis* 22, 1675-1680.
19. Śliżewska K., Nowak A., Barczyńska R., Libudzisz Z. (2013) Prebiotyki – definicja, właściwości i zastosowanie w przemyśle. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 1(86), 5-20.
20. Sunkata R., Herring J., Walker L.T., Verghese M. (2014) Chemopreventive potential of probiotics and prebiotics. *Food and Nutrition Sciences* 5, 1800-1809.
21. Van Tassell R.I., Carman R.J., Kingston D.G.I., Wilkins T.D. (1989) Bacterial metabolism in humans of the carcinogen IQ to the direct acting mutagen hydroxyl-IQ. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2, 123-129.
22. Verbeke K.A., Boobis A.R., Chiodini A., Edwards C.A., Franck A., Kleerebezem M., Nauta A., Raes J., van Tol E.A.F., Tuohy K.M. (2015) Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 28, 42-66.
23. Zhao H., Zhou F., Qi Y., Dziugan P., Bai F., Walczak P., Zhang B. (2013) Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to bind benzo(a)pyrene and the mechanism of the process. *Food and Chemical Toxicology* 59, 67-71.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

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

1. Aktywność biologiczna karcynogenów (badania w ramach rozprawy doktorskiej).
2. Adherencja mikroorganizmów do powierzchni biotycznych i abiotycznych oraz czynniki ją warunkujące.
3. Preparat probiotyczny i ocena jego skuteczności antygenotoksycznej.
4. Genotoksyczność i cytotoksyczność wody kałowej zwierząt oraz czynniki modulujące.
5. Bakterie mlekowe jako składnik mikrobioty jelitowej człowieka – izolacja z różnych środowisk, identyfikacja, a także badanie ich właściwości probiotycznych.
6. Izolacja i dobór szczepów oraz konstrukcja preparatu do dezodoryzacji drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych.
7. Cyto- i genotoksyczność olejków eterycznych.
8. Udział w opracowaniu ekspertyzy dotyczącej żywności funkcjonalnej w ramach projektu: Strategia rozwoju sektora spożywczego do roku 2030.
9. Genotoksyczność poliooli oraz elagotanin z maliny właściwej *Rubus idaeus* L.

5.1. Aktywność biologiczna karcynogenów (badania w ramach rozprawy doktorskiej)

W toku studiów doktoranckich na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ przedmiotem moich zainteresowań naukowych były związki promutagenne i mutagenne przedostające się do jelita grubego człowieka wraz z pożywieniem lub syntetyzowane *in vivo* w wyniku aktywności mikrobioty jelitowej oraz ich wpływ na bakterie jelitowe z rodzaju *Lactobacillus*. Badałam takie związki, jak (w stężeniach do 500 µg/ml): N-nitrozodimetyloamina, produkty przemian aminokwasów aromatycznych, takie jak tj. fenol, p-krezol, indol, a także niektóre HCA (2-amino-3-metylo-3H-imidazo[4,5-f]chinolina; 2-amino-3,8-dimetylo-3H-imidazo[4,5-f]chinoksolina; 2-amino-1-metylo-6-fenilo-1H-imidazo[4,5-b]pi-rydyna) na plon komórek bakterii *Lactobacillus*, dynamikę wzrostu i zamierania, przeżywalność (w różnych pożywkach i układach, w zależności od czasu inkubacji, stanu fizjologicznego i gęstości komórek, pH, składu medium hodowlanego) oraz zdolność do ich wykorzystania jako źródeł węgla i/lub azotu. Podjęłam również wstępne badania dotyczące zdolności bakterii *Lactobacillus* do rozkładu ww. związków oraz obniżania ich genotoksyczności po hodowli w pożywce wzrostowej MRS na układzie modelowym linii komórek promielocytów białaczkowych HL60.

Wykazałam, że żaden z badanych związków w zakresie testowanych stężeń nie wpływał istotnie na plon komórek oraz na dynamikę wzrostu bakterii podczas hodowli w pożywce MRS. Nie zaobserwowałam również istotnego wpływu związków na żywotność szczepów *Lactobacillus* po inkubacji w buforze fosforanowym, co pozwala na zachowanie

żywności i aktywności bakterii *Lactobacillus* podczas długotrwałego kontaktu z tymi związkami w przewodzie pokarmowym człowieka. Badane szczepy najefektywniej wykorzystywały w fazie stacjonarnej hodowli w pożywce MRS indol, do 75%, zależnie od szczepu. *Lactobacillus plantarum* ŁOCK 0945 wykazywał zdolność aktywnego metabolizowania fenolu (do 58%), p-krezolu (około 14%) oraz indolu (do 70%). Wszystkie szczepy wykazywały niewielką zdolność adsorpcji fenolu (do 10%), p-krezolu (do 13%) oraz indolu (do 18%). W modyfikowanych pożywkach MRS największe obniżenie stężenia związków obserwowano w fazie logarytmicznej, natomiast w fazie zamierania bakterii adsorpcję lub desorpcję mutagenów do pożywki, zależnie od szczepu. Również komórki nierosnące, w stopniu zależnym od szczepu, były zdolne do obniżania stężeń badanych związków: NDMA do 40%; fenolu do 20%; p-krezolu do 15% oraz indolu do 40%. Wykazałam, że związki te są wykorzystywane przez bakterie lub ulegają rozkładowi do produktów pochodnych, bądź też adsorpcji zależnie od szczepu, fazy rozwojowej bakterii, medium hodowlanego, czasu hodowli/inkubacji, stężenia danego związku, pH i gęstości komórek.

Efektem badań była rozprawa doktorska pt.: „Rozkład karcynogennych metabolitów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*” wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisławy Libudysz, obroniona z wyróżnieniem w styczniu 2008 roku w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii.

5.2. Adherencja mikroorganizmów do powierzchni biotycznych i abiotycznych oraz czynniki ją warunkujące

Ważnym obszarem mojej pracy naukowej są badania zdolności adhezyjnych mikroorganizmów, w tym bakterii probiotycznych. Jest to jedna z najbardziej pożądanых cech tych mikroorganizmów, ponieważ przeciwdziała adhezji bakterii patogennych. Wysokie zdolności adhezyjne bakterii probiotycznych do komórek nabłonka jelitowego gwarantują skuteczne zasiedlenie przewodu pokarmowego i w efekcie przedłużoną aktywność prozdrowotną. W ramach projektu rozwojowego NCBiR (nr 12010110) przy współpracy z Instytutem „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie, Instytutem Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie oraz Instytutem Biotechnologii Surowic i Szczepionek BIOMED (Kraków) „Innowacyjny produkt probiotyczny o działaniu antyalergicznym” (w latach 2011-2014, kierownik dr inż. Ilona Motyl) jako wykonawca, kontrolowałam i doбираłam szczepy probiotyczne zdolne do adherencji do monowarstwy komórek nabłonka jelitowego Caco-2 oraz do hamowania adherencji patogenów. Wykazałam, że badane szczepy probiotyczne silnie adherowały do komórek Caco-2, ponadto w największym stopniu hamowały adherencję *Salmonella* Typhimurium, a najslabiej *Candida albicans*, natomiast *Escherichia coli* w zróżnicowany sposób. Wykazałam, że

zdolności antyadhezyjne bakterii probiotycznych są szczepozależne – zarówno pod względem patogenu, jak i probiotyku.

W zespole kierowanym przez dr hab. inż. Katarzynę Śliżewską w ramach badań dotyczących wpływu prebiotycznych opornych dekstryn na mikrobiotę jelitową szczurów, sprawdzałam adherencję patogenów jelitowych oraz bakterii probiotycznych do linii komórek Caco-2 w obecności opornej dekstryny. Zaobserwowałam, że obecność opornych dekstryn powodowała wzrost adherencji *Clostridium perfringens*, natomiast obniżenie *Salmonella Typhimurium*. Dekstryny nie wpływały na adherencję badanych bakterii probiotycznych *Lactobacillus* oraz *Escherichia coli*.

Z kolei w zespole kierowanym przez dr hab. inż. Alinę Kunicką-Styczyńską w ramach badań dotyczących biobójczych właściwości olejków eterycznych, sprawdzałam wpływ olejku herbacianego, tymiankowego i goździkowego na adherencję patogennych szczepów drożdży *Candida albicans* do komórek nabłonka macicy HeLa. Wykazałam, że wszystkie badane stężenia olejków istotnie obniżały adherencję *Candida albicans* do komórek HeLa, przy czym olejek tymiankowy w największym, natomiast olejek herbaciany w najmniejszym stopniu.

We współpracy z Instytutem Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie badałam adherencję bakterii probiotycznych (w tym szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0919 z oraz po usunięciu plazmidu LOCK Δ p z genami odpowiedzialnymi za adherencję) do powierzchni biotycznych (kolagen, śluz, żelatyna) i abiotycznych (polistyren, szkło), a także hydrofobowości i zdolności agregacji, jako czynników warunkujących adherencję. Stwierdziłam, że największą hydrofobowość wykazał szczep najbardziej adherentny, tj. *Lactobacillus casei* ŁOCK 0919, podczas gdy ten sam szczep, ale pozbawiony plazmidu 0919 Δ p nie był w ogóle hydrofobowy. Szczep ten wykazywał również mniejszą zdolność agregacji, a po usunięciu plazmidu zawsze istotnie i w mniejszym stopniu wykazywał zdolności adhezyjne do wszystkich badanych powierzchni biotycznych i abiotycznych, niż szczep z plazmidem.

Rezultaty badań dotyczących zdolności adhezyjnych mikroorganizmów i czynników na nie wpływających przedstawiłam jako współautor w postaci 2 artykułów w czasopismach naukowych, 1 rozdziału w książce oraz w postaci posterów prezentowanych na 3 konferencjach międzynarodowych i 1 krajowej.

Prace oryginalne:

1. **Nowak A.**, Motyl I., Śliżewska K., Libudzisz Z., Klewicka E. (2016) Adherence of probiotic bacteria to human colon epithelial cells and inhibitory effect against enteric pathogens. International Journal of Dairy Technology; DOI: 10.1111/1471-0307.12286. **IF_{5-letni} = 1,164; MNiSW = 20 pkt.**
2. Aleksandrak-Piekarczyk T., Koryszewska-Bagińska A., Grynberg M., **Nowak A.**, Cukrowska B., Kozakova H., Bardowski J. (2015) Genomic and functional characterization of the unusual

pLOCK 0919 plasmid harboring the *spaCBAPili* cluster in *Lactobacillus casei* LOCK 0919. Genome Biology and Evolution 8(1), 202-217. **IF_{5-letni} = 4,529; MNiSW = 35 pkt.**

Rozdział w książce:

1. Rajkowska K., Maroszyńska M., **Nowak A.**, Kunicka-Styczyńska A. Essential oils as a potential anti-adhesive agent against *Candida albicans*. W: "Innovative ecological preservatives preparations with natural substances of plant origin" Kunicka-Styczyńska Alina, Rajkowska Katarzyna (eds.), ISBN 978-83-63929-28-2, 2014, str. 54-59. **MNiSW = 5 pkt.**

Prezentacje na konferencjach:

1. **Nowak A.**, Motyl I., Śliżewska K., Libudysz Z., Klewicka E. (2015) Probiotic bacteria inhibit adherence of enteric pathogens to human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. 6th International Weigl Conference on Microbiology, 08-10.07.2015, Gdańsk, Acta Biochimica Polonica 62(2S), 105.
2. **Nowak A.**, Motyl I., Śliżewska K., Klewicka E., Libudysz Z. (2013) Adhesion of probiotic *Lactobacillus* strains to the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. The Intestinal Microbiota and Probiotics: Exploring Their Influence on Health. 7th International Yakult Symposium. Londyn, Wielka Brytania, 22-23.04.2013. Materiały str. 70.
3. Lipińska L., Śliżewska K., **Nowak A.** (2013) Adherencja bakterii jelitowych do komórek nabłonka jelitowego Caco-2 w obecności prebiotyku. ATRINBIOTECH II Ogólnopolski Zjazd Młodych Biotechnologów. Katowice, 16-17.03.2013. Materiały poster nr 1.18.
4. **Nowak A.**, Motyl I., Śliżewska K., Klewicka E., Libudysz Z. (2012) Adhesion of probiotic preparation 'LATOPIC' to the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. Konferencja International Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease (SOMED). Walencja, Hiszpania 15-17.05.2012. Materiały poster nr P58.

5.3. Preparat probiotyczny i ocena jego skuteczności antygenotoksycznej

W latach 2011-2014 w ramach projektu rozwojowego NCBiR (nr 12010110) „Innowacyjny produkt probiotyczny o działaniu antyalergicznym” (kierownik dr inż. Ilona Motyl) jako wykonawca, badałam w teście komety genotoksyczność wody kałowej na gnotobiotycznym modelu zwierzęcym (myszy *germ-free* – GF i myszy konwencjonalne zasiedlone fizjologiczną mikrobiotą jelitową – CV) oraz wody kałowej dzieci z wypryskiem atopowym na tle alergii na białka mleka krowiego (wieloośrodkowe badania kliniczne randomizowane z podwójną ślepą próbą) w grupach dzieci do drugiego roku życia z interwencją (preparat probiotyczny) i bez interwencji (placebo).

W badaniach uczestniczyło 200 dzieci przed podaniem probiotyku/placebo oraz po 3 miesiącach przyjmowania i 9 miesiącach od zakończenia przyjmowania probiotyku/placebo. Badania prowadzono we współpracy z Zakładem Immunologii, Gnotobiologii i Mikrobiologii Akademii Nauk Republiki Czeskiej w Novym Hradku oraz Instytutem „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie.

Wykazałam, że produkt probiotyczny obniżał genotoksyczność wody kałowej myszy konwencjonalnych, zarówno po jednorazowym, jak i po 7-dniowym cyklu podawania, natomiast spożywanie produktu probiotycznego przez myszy „germ-free” powodowało znaczny wzrost genotoksyczności wody kałowej w porównaniu do grupy konwencjonalnej.

Średnia genotoksyczność wody kałowej myszy „germ-free” była 3-krotnie wyższa, niż ta obserwowana w grupie myszy konwencjonalnych. Stwierdziłam, że bakterie probiotyczne mogą produkować metabolity i związki, które w przypadku braku obecności w przewodzie pokarmowym konkurencyjnej mikrobioty (konwencjonalnej), mogą zwiększać genotoksyczność wody kałowej.

Wykazałam również, iż woda kałowa dzieci z atopowym zapaleniem skóry indukowała w komórkach nabłonka jelitowego Caco-2 uszkodzenia DNA o różnym nasileniu i była to cecha indywidualna danego dziecka, a średnia genotoksyczność wody kałowej dzieci w grupie przyjmującej probiotyk oraz placebo była zbliżona zarówno po 3 miesiącach stosowania, jak i po 9 miesiącach od zakończenia podawania preparatu. Rezultaty badań przedstawiłam jako współautor w postaci 5 posterów na konferencjach międzynarodowych.

Prezentacje na konferencjach:

1. **Nowak A.**, Motyl I., Śliżewska K., Klewicka E., Schwarzer M., Kozakova H., Cukrowska B., Libudzisz Z. (2014) Effect of probiotic preparation on genotoxicity of faecal water (FW) of mice. International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics – IPC2014. Budapeszt, Węgry, 24-26.06.2014. Materiały str. 134.
2. Śliżewska K., Motyl I., **Nowak A.**, Klewicka E., Libudzisz Z., Srutkova D., Schwarzer M., Kozakova H., Cukrowska B. (2014) β -Glucosidase and β -glucuronidase activity after supplementation of germ-free and conventional mice with probiotic *Lactobacillus* strains International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics – IPC2014. Budapeszt, Węgry, 24-26.06.2014. Materiały str.152-153.
3. Motyl I., Schwarzer M., Kozakova H., Śliżewska K., **Nowak A.**, Cukrowska B. (2013) Fluorescence *in situ* hybridisation for identification of intestinal bacteria of mice. Microbial Diversity 2013, Microbial Interactions in Complex Ecosystems. Turyn, Włochy, 23-25.10.2013. Materiały str. 357-358.
4. Motyl I., Śliżewska K., **Nowak A.**, Klewicka E., Libudzisz Z. (2013) Effect of probiotic preparation on microbiota of mice. The Intestinal Microbiota and Probiotics: Exploring Their Influence on Health. 7th International Yakult Symposium. Londyn, Wielka Brytania, 22-23.04.2013. Materiały str. 87.
5. Śliżewska K., Motyl I., **Nowak A.**, Klewicka E., Libudzisz Z. (2013) Effect of probiotic preparation on the amount and type of SCFA in faeces mice. The Intestinal Microbiota and Probiotics: Exploring Their Influence on Health. 7th International Yakult Symposium. Londyn, Wielka Brytania, 22-23.04.2013. Materiały str. 88.

5.4. Genotoksyczność i cytotoksyczność wody kałowej zwierząt oraz czynniki modulujące

Biomarkery ryzyka nowotworów występujące w kale mogą wskazywać na niekorzystną aktywność mikrobioty jelitowej zwierząt i ludzi. Jednymi z nich są testy określające cyto- i genotoksyczność ekstraktów kałowych (tzw. wody fekalnej, czyli fazy wodnej kału). Podwyższona cyto- i genotoksyczność wody kałowej wskazuje na niekorzystne zmiany metaboliczne. Woda kałowa może zawierać związki promujące proces karcynogenezy (np.: drugorzędowe kwasy żółciowe, nasycone kwasy tłuszczowe, związki N-nitrozowe, mykotoksyny), jak i czynniki jej zapobiegające (np.: błonnik, polifenole, SCFA,

substancje prebiotyczne, związki antyoksydacyjne), korzystnie modulujące profil mikrobioty jelitowej. Ważnym obszarem mojej pracy naukowej jest badanie cyto- i genotoksyczności ekstraktów kałowych pochodzących od zwierząt, którym w badaniach *in vivo* podawano wraz z dietą związki karcynogenne oraz/lub jednocześnie preparaty lub związki pozytywnie modulujące ekosystem jelitowy, znoszące efekt wywołany przez substancje toksyczne.

5.4.1. Genotoksyczność wody jelitowej świń poddanych eksperymentalnej mykotoksykozie fuzaryjnej

W latach 2011-2013 testem komety, na komórkach świńskich nerek LLC-PK1 badałam genotoksyczność wody jelitowej świń poddanych eksperymentalnej mykotoksykozie fuzaryjnej. Badania prowadziłam w ramach pracy naukowo-badawczej zleconej przez Katedrę Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pt.: „Wpływ mykotoksyn na skład zespołu mikroorganizmów jelita grubego świń” i realizowaną w ramach projektu pt.: „Określenie wpływu eksperymentalnej mykotoksykozy fuzaryjnej na wybrane wskaźniki diagnostyczno-morfologiczne przewodu pokarmowego świń” (kierownik prof. dr hab. Maciej Gajęcki).

Wykazałam, że genotoksyczność wody jelitowej wszystkich grup warchlako-loszek karmionych mykotoksynami systematycznie wzrastała od 3 tygodnia eksperymentu. Po 6 tygodniach podawania świniom mykotoksyn genotoksyczność wody jelitowej zarówno w części proksymalnej, jak i dystalnej okrężnicy wzrosła dwukrotnie, w porównaniu do genotoksyczności w grupie kontrolnej. Moje badania wskazały, że obecność mykotoksyn w paszy zwierząt hodowlanych powoduje w efekcie ich szkodliwe działanie na zdrowie.

5.4.2. Wpływ preparatu probiotycznego na cyto- i genotoksyczność kałomoczu kurcząt karmionych aflatoksyną B₁ oraz ochratoksyną A

W ramach badań w zespole kierowanym przez dr hab. inż. Katarzynę Śliżewską brałam udział w badaniu geno- i cytotoxyczności kałomoczu kurcząt karmionych paszą skażoną aflatoksyną B₁ i ochratoksyną A z i bez dodatku preparatu probiotycznego (zawierającego bakterie z rodzaju *Lactobacillus* sp., drożdże oraz ekstrakty roślinne). W teście kometowym wykazałam, że dodatek preparatu probiotycznego do paszy skażonej mykotoksynami istotnie obniżał poziom uszkodzeń DNA. W teście MTT stwierdziłam, że w obecności preparatu probiotycznego również cytotoxyczność istotnie ulegała obniżeniu. Moje badania wskazały, że preparat probiotyczny przyczynia się do detoksykacji mykotoksyn i może być stosowany prewencyjnie w hodowli drobiu.

5.4.3. Wpływ prebiotycznych opornych dekstryn na genotoksyczność wody kałowej szczurów

W latach 2010-2013 w ramach projektu NCN (nr NN 312 335339) pt.: „Modyfikacja zespołu mikroorganizmów jelitowych ludzi w różnym wieku pod wpływem prebiotycznych dekstryn (badania *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach doświadczalnych)” kierowanego przez dr hab. inż. Katarzynę Śliżewską, jako wykonawca badałam genotoksyczność wody kałowej szczurów po podaniu prebiotyku (opornych dekstryn) o działaniu prozdrowotnym. Materiał badawczy stanowiły samce szczurów rasy Wistar, które podzielono na grupy doświadczalne pod względem przyjmowanej diety oraz wieku (młode, dorosłe, stare). Wykazałam, że oporne dekstryny cechowały właściwości prozdrowotne, ponieważ w największym stopniu, bo nawet 3-krotnie, obniżały genotoksyczność wody kałowej szczurów dorosłych, a 2,5-krotnie szczurów starych.

5.4.4. Wpływ fermentowanego soku z buraka ćwikłowego na cyto- i genotoksyczność wody kałowej szczurów indukowaną PhIP oraz N-nitrozo-N-metylomocznikiem (MNU)

W latach 2008-2010, jako wykonawca w projekcie MNiSW (nr 3569/B/P01/2008/34) pt.: „Detoksyfikacyjne i przeciwnowotworowe właściwości soku z buraka ćwikłowego poddanego fermentacji przez probiotyczne bakterie *Lactobacillus* (w modelu *in vivo*)” (kierownik dr hab. inż. Elżbieta Klewicka), badałam wpływ fermentowanego soku z buraka ćwikłowego w diecie szczurów rasy Wistar na cyto- i genotoksyczność wody kałowej w teście MTT, NRU (wychwyty czerwieni obojętnej) oraz kometowym, na linii komórek nabłonka jelitowego Caco-2. Wykazałam, że fermentowany sok z buraka ćwikłowego prawie 3-krotnie obniżał genotoksyczność wody kałowej szczurów indukowaną obecnością PhIP oraz MNU w diecie zwierząt, natomiast cytotoksyczność obniżał tylko w obecności MNU.

5.4.5. Wpływ preparatu probiotycznego wzbogaconego w selen organiczny na cyto- i genotoksyczność wody kałowej szczurów

W ramach badań dotyczących opracowania probiotycznego preparatu selenowego, (badania kierowane przez dr inż. Ilonę Motyl) sprawdzałam, czy cyto- i genotoksyczność ekstraktów z przewodu pokarmowego szczurów rasy Wistar ulega zmianie po suplementacji karmy selenem nieorganicznym oraz probiotycznym preparatem selenowym. Ocenę cytotoksyczności prowadziłam z zastosowaniem testu MTT, natomiast genotoksyczności z użyciem testu kometowego, z wykorzystaniem linii komórkowej nabłonka jelitowego Caco-2. Wykazałam, że dieta wzbogacona w selen w postaci probiotycznego preparatu selenowego istotnie obniżała cytotoksyczność oraz genotoksyczność wody kałowej szczurów po 28 dniach suplementacji.

Rezultaty powyższych badań, jako współautor lub autor korespondencyjny, przedstawiłam w postaci 5 artykułów w czasopismach naukowych, 2 komunikatów ustnych oraz 5 posterów prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Prace oryginalne:

1. Śliżewska K., **Nowak A.** (2016) Probiotic preparation reduces faecal water genotoxicity and cytotoxicity in chickens fed ochratoxin A contaminated feed (*in vivo* study). *Acta Biochimica Polonica*; DOI: x.doi.org/10.18388/abp.2015_1094. **IF_{5-letni} = 1,463; MNiSW = 15 pkt.**
2. **Nowak A.**, Śliżewska K., Gajęcka M., Piotrowska M., Żakowska Z., Zielonka Ł., Gajęcki M. (2015) The genotoxicity of cecal water from gilts following experimentally induced *Fusarium* mycotoxicosis. *Veterinarni Medicina* 60(3), 133-140. **IF_{5-letni} = 0,818; MNiSW = 20 pkt.**
3. Klewicka E., **Nowak A.**, Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Cukrowska B., (2012) Protective effect of lactofermented red beetroot juice against aberrant crypt foci formation, genotoxicity of fecal water and oxidative stress induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine in rats model. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 34, 895-904. **IF₂₀₁₂ = 2,005; MNiSW = 20 pkt.**
4. Klewicka E., **Nowak A.**, Cukrowska B., Zduńczyk Z., Błasiak J. (2012) Protective effect of lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of faecal water in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64, 599-604. **IF₂₀₁₂ = 2,622; MNiSW = 25 pkt.**
5. Śliżewska K., **Nowak A.**, Libudzisz Z., Błasiak J. (2010) Probiotic preparation reduces the faecal water genotoxicity in chickens fed with aflatoxin B₁ contaminated fodder. *Research in Veterinary Science* 89, 391-395. **IF₂₀₁₀ = 1,330; MNiSW = 32 pkt.**

Prezentacje na konferencjach:

1. Śliżewska K., **Nowak A.** (2013) Effect of resistant dextrin on faecal water genotoxicity in rats. The Intestinal Microbiota and Probiotics: Exploring Their Influence on Health. 7th International Yakult Symposium. Londyn, Wielka Brytania, 22-23.04.2013. Materiały str. 95.
2. Śliżewska K., **Nowak A.** (2011) Wykorzystanie preparatu probiotycznego do redukcji cytotoksyczności wody kałowej kurcząt karmionych paszą skażoną aflatoksyną B₁. Ogólnopolska Konferencja Naukowa *Trichoderma* i inne grzyby w nauce i praktyce. Radziejowice, 29-30.09.2011. Materiały str. 49.
3. Motyl I., **Nowak A.** (2011) Genotoxicity of selenium *in vivo* on rats. The 6th International Yakult Symposium The Gut and Its Role in Health Maintenance. Wiedeń, Austria, 26-27.05.2011. Materiały str. 66.
4. Klewicka E., **Nowak A.**, Juśkiewicz J., Zduńczyk Z. (2010) Detoxification of 2-amino-1-methylo-6phenylo-1H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) by lactofermentation beetroot juice *in vivo* in a rats model. 2nd TNO Beneficial Microbes Conference, Holandia, 15-17.03.2010. Materiały str. 80.
5. Libudzisz Z., **Nowak A.**, Śliżewska K. (2008) Probiotic preparation reduces the genotoxicity of broiler chickens faecal water after feeding with aflatoxin B₁ contaminated fodder. 9th Symposium on Lactic Acid Bacteria. Health, Evolution and Systems Biology. Holandia, 31.08-04.09.2008. Materiały D 016.

Komunikaty ustne:

1. **Nowak A.** Genotoksyczność treści jelita grubego świń poddanych eksperymentalnej mikotoksykozie fuzaryjnej. Konferencja „Pożądane i niepożądane dodatki paszowe”. Organizator UWM w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej. Łańsk, 17-18.05.2013. Materiały str. 78-79.

2. Motyl I., **Nowak A.** Cytotoksyczność selenu w badaniach *in vivo*. XIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Magnezologicznego „Dziś i jutro magnezu”. Sandomierz, 14-16.09.2012. Journal of Elementology 17(3), 47-48.

5.5. Bakterie mlekowe jako składnik mikrobioty jelitowej człowieka – izolacja z różnych środowisk, identyfikacja, a także badanie ich właściwości probiotycznych

W zespole kierowanym przez prof. dr hab. Zdzisławę Libudysz prowadzę badania polegające na izolacji szczepów bakterii fermentacji mlekowej, głównie *Lactobacillus* sp., pochodzących z różnych środowisk (przede wszystkim roślinnego i kałowego), pod kątem oceny ich właściwości probiotycznych. Bakterie te podlegają identyfikacji w oparciu o procedury zalecane przez FAO/WHO, obejmujące cechy hodowlane, biochemiczne oraz budowę genetyczną. Wynikiem tych prac jest kolekcja 14 szczepów *Lactobacillus* sp. i 2 szczepów *Leuconostoc* sp. zdeponowanych w Łódzkim Ośrodku Czystych Kultur ŁOCK 105 ITFiM PŁ. Sekwencje nukleotydowe tych szczepów zostały zdeponowane w GenBank National Center of Biotechnology Information. Efektem badań są również publikacje – 1 oryginalna, 2 przeglądowe oraz 1 doniesienie konferencyjne.

Depozycja sekwencji nukleotydowych w GenBank:

1. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0982, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773465; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
2. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus brevis* strain LOCK 0984, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773466; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
3. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus paracasei* strain LOCK 0985, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773467; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
4. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Leuconostoc mesenteroides* strain LOCK 0986, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773468; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
5. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus mucosae* strain LOCK 0988, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773469; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
6. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0989, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773470; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
7. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0990, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773471; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
8. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0991, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773472; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
9. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus paracasei* strain LOCK 0993, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773473; GenBank National Center for Biotechnology Information database.

10. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Leuconostoc mesenteroides* strain LOCK 0994, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773474; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
11. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0995, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773475; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
12. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0996, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773476; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
13. **Nowak A.**, Otlewska A. (2015) *Lactobacillus rhamnosus* strain LOCK 0997, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773477; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
14. **Nowak A.**, Otlewska A., Klewicka E. (2015) *Lactobacillus plantarum* strain LOCK 0981, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773478; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
15. **Nowak A.**, Otlewska A., Klewicka E. (2015) *Lactobacillus brevis* strain LOCK 0983, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773479; GenBank National Center for Biotechnology Information database.
16. **Nowak A.**, Otlewska A., Klewicka E. (2015) *Lactobacillus delbrueckii* strain LOCK 0987, 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; Accession number KP773480; GenBank National Center for Biotechnology Information database.

Praca oryginalna:

1. Klewicka E., Śliżewska K., **Nowak A.** (2014) Żywotność bakterii *Lactobacillus* zawartych w preparacie probiotycznym podczas pasaży w symulowanym przewodzie pokarmowym. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 97(6), 170-181. **MNiSW = 15 pkt.**

Prace przeglądowe:

1. **Nowak A.**, Śliżewska K., Libudzisz Z., Socha J. (2010) Probiotyki – efekty zdrowotne. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 4(71), 20-36. **IF = 0,157, MNiSW = 9 pkt.**
2. **Nowak A.**, Śliżewska K., Libudzisz Z. (2010) Probiotyki – historia i mechanizm działania. *ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość* 4(71), 5-19. **IF = 0,157, MNiSW = 9 pkt.**

Prezentacja na konferencji:

1. Klewicka E., Motyl I., Śliżewska K., **Nowak A.**, Libudzisz Z. (2012) Survival of LATOPIC bacteria in the model of human digestive system in the presence of food matrices. Konferencja International Symposium on Probiotics and Prebiotics in Pediatrics. Istanbuł, Turcja, 24-26.02.2012. Materiały PP-18.

5.6. Izolacja i dobór szczepów oraz konstrukcja preparatu do dezodoryzacji drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych

Od roku 2014 jestem kierownikiem i wykonawcą zadania 2 w projekcie rozwojowym NCBiR (nr PBS2/B8/14/2014) „Innowacyjny biopreparat dezodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych” (kierownik projektu dr hab. inż. Beata Gutarowska, prof. PŁ). Jest to projekt realizowany przez konsorcjum (Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie; Katedrę Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu; Katedrę Chemii Środowiska na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii UTP

w Bydgoszczy oraz firmę JHJ sp. z o.o. w Nowej Wsi). Liderem jest Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ. Projekt dotyczy wykorzystania mikroorganizmów do obniżania stężenia szkodliwych związków odorowych występujących w pomiole kurzym. Celem jest opracowanie technologii otrzymywania oraz metody stosowania innowacyjnego biopreparatu do usuwania związków odorowych powstających z odpadów organicznych w trakcie hodowli zwierząt gospodarskich na przykładzie pomiotu drobiowego.

W projekcie tym badam cytotoksyczność i genotoksyczność lotnych związków odorowych (amoniaku, di- i trimetyloaminy, kwasu masłowego, indolu, fenolu oraz mieszaniny odorów z kurników) z pomiotu drobiowego, a także kurzu pochodzącego z różnych kurników, na komórki kurzych hepatocytów LMH, stosując ilościowy kolorymetryczny test redukcji soli tetrazolowej MTT oraz PrestoBlue, a także test kometowy. Badania zmierzają do określenia wartości IC_{50} (takie stężenie związku, które powoduje obniżenie żywotności komórek o 50%) każdego ze związków składowych odorów. W obserwacjach mikroskopowych oceniam wpływ ww. związków na morfologię komórek LMH.

Wyizolowałam ponadto oraz zidentyfikowałam dwa szczepy bakterii fermentacji mlekowej, które zostały włączone do składu biopreparatu dezodoryzującego (*Lactobacillus plantarum* ŁOCK 0981 i *Lactobacillus plantarum* ŁOCK 0995). Sekwencje tych izolatów zostały zgłoszone do NCBI GenBank z numerami akcesyjnymi KP773478 oraz KP773475.

Wykazałam, że największą cytotoksycznością cechowały się w kolejności malejącej: dimetyloamina, amoniak, trimetyloamina, kwas masłowy, fenol oraz indol. Wartości IC_{50} po 24 h ekspozycji wynosiły 0,06% (dla dimetyloaminy); dla amoniaku i trimetyloaminy było podobne – odpowiednio 0,08% i 0,04%, a stopień cytotoksyczności wzrastał proporcjonalnie do stężenia. W obserwacjach mikroskopowych wykazałam, że badane związki powodowały zmniejszenie zagęszczenia komórek w hodowli, niszczenie monowarstwy, zmianę ich kształtu z dendrytycznego na nieregularny, a także kondensację chromatyny i zmianę morfologii jąder komórkowych. Przeprowadzone badania potwierdziły cytotoksyczność związków odorowych z pomiotu drobiowego w stosunku do komórek kurzych hepatocytów.

Rezultaty badań przedstawiłam jako współautor w postaci 3 artykułów w czasopismach naukowych oraz w postaci 2 komunikatów ustnych i 2 posterów prezentowanych na 2 konferencjach międzynarodowych.

Prace oryginalne:

1. **Nowak A.**, Matusiak K., Borowski S., Bakula T., Opaliński S., Kołacz R., Gutarowska B. (2016) Cytotoxicity of odorous compounds from poultry manure. Journal of Environmental Management (w recenzji).
2. Skóra J., Matusiak K., Wojewódzki P., **Nowak A.**, Sulyok M., Ligocka A., Okrasa M., Hermann J., Gutarowska B. (2016) Evaluation of microbiological and chemical contaminants in the

poultry farms. International Journal of Environmental Research and Public Health 13, 192. **IF_{5-letni} = 2,493; MNiSW = 30 pkt.**

3. Matusiak K., Oleksy M., Borowski S., **Nowak A.**, Korczyński M., Dobrzański Z., Gutarowska B. (2016) The use of *Yucca schidigera* and biopreparation for poultry manure deodorization and hygienization. Journal of Environmental Management 170, 50-59. **IF_{5-letni} = 3,895; MNiSW = 35 pkt.**

Prezentacje na konferencjach:

1. Matusiak K., Gutarowska B., **Nowak A.**, Pielech-Przybylska K., Wojewódzki P., Herman J. (2016) Volatile odorous compounds from poultry manure. Indoor Aerosols Conference, Barcelona, Hiszpania, 20-22.04.2016. Materiały (bez numeracji stron).
2. Skóra J., Gutarowska B., **Nowak A.**, Sulyok M., Wojewódzki P., Matusiak K. (2016) Fungi and their metabolites in poultry farms dust. Indoor Aerosols Conference. Barcelona, Hiszpania, 20-22.04.2016. Materiały (bez numeracji stron).

Komunikaty ustne:

1. Skóra J., Gutarowska B., **Nowak A.**, Matusiak K., Sulyok M., Wojewódzki P. Grzyby i ich metabolity w pomieszczeniach inwentarskich do hodowli drobiu. XL Międzynarodowe Seminarium Naukowo Techniczne „Chemistry for Agriculture”. Karpacz, 29.11-02.12.2015.
2. **Nowak A.**, Gutarowska B., Matusiak K. Cytotoksyczność związków odorowych z pomiotu drobiowego. XL Międzynarodowe Seminarium Naukowo Techniczne „Chemistry for Agriculture”. Karpacz, 29.11-02.12.2015.

5.7. Cyto- i genotoksyczność olejków eterycznych

Olejki eteryczne to heterogenna grupa lotnych związków aromatycznych pochodzenia roślinnego o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym, stosowane w celach kosmetycznych i farmaceutycznych. Przedmiotem badań zespołu kierowanego przez dr hab. inż. Alinę Kunicką-Styczyńską jest aktywność bójcza olejków eterycznych w stosunku do różnych mikroorganizmów. Moim zadaniem w tym projekcie jest określenie cytotoksyczności olejku tymiankowego i lawendowego oraz cyto- i genotoksyczności olejku goździkowego z wykorzystaniem testów MTT i NRU oraz testu kometowego w stosunku do linii komórek nabłonka macicy HeLa. Wykazałam, że olejki lawendowy i tymiankowy charakteryzują się bardzo wysoką cytotoksycznością już po 3h ekspozycji, przy czym olejek tymiankowy był najbardziej cytotoksyczny. Olejek goździkowy wykazywał aktywność cyto- i genotoksyczną już w najniższym badanym stężeniu. Wstępne wyniki przedstawiłam w postaci rozdziału w książce oraz posteru na konferencji krajowej.

Rozdział w książce:

1. **Nowak A.**, Kunicka-Styczyńska A. Anti-proliferative activity of lavender and thyme oils on HeLa cell line. W: “Innovative ecological preservatives preparations with natural substances of plant origin” Kunicka-Styczyńska A., Rajkowska K. (eds.), ISBN 978-83-63929-28-2, 2014, str. 21-26. **MNiSW = 5 pkt.**

Prezentacja na konferencji:

1. Siadura A., Rajkowska K., **Nowak A.** (2015) Cyto- i genotoksyczność wybranych olejków eterycznych. VI Sesja Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików. Wydział BiNoŻ PŁ, Łódź, 11.06.2015. Materiały str. 105.

5.8. Udział w opracowaniu ekspertyzy dotyczącej żywności funkcjonalnej w ramach projektu: Strategia rozwoju sektora spożywczego do roku 2030

W ramach projektu europejskiego „Żywność i żywienie w XXI w – wizja rozwoju polskiego sektora spożywczego” współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka w latach 2007-2013, priorytet 1 „Badania i rozwój nowoczesnych technologii”, jako wykonawca w zespole prof. dr hab. Zdzisławy Libudziś byłam współautorem ekspertyzy pt.: „Żywność funkcjonalna”. Celem ogólnym projektu było wykonanie kompleksowej oceny technologicznej dla przemysłu spożywczego w Polsce oraz opracowanie strategicznej wizji jego rozwoju i wytypowanie priorytetowych kierunków dla prac badawczo-rozwojowych na kilkanaście najbliższych lat. Cele szczegółowe obejmowały: a) przygotowanie strategicznej wizji rozwoju oraz programu badawczego, nakierowanego na rozwój technologii żywności wysokiej jakości w Polsce; b) określenie środków, które zapewnią ścisłe powiązanie nauki i przemysłu w zakresie rozwoju nowych technologii żywności; c) wniesienie wkładu w kreowanie polityki ułatwiającej rozwój technologii żywności wysokiej jakości; d) integracja kluczowych partnerów gospodarczych i badawczych zainteresowanych technologiami w zakresie produkcji żywności wysokiej jakości; e) wsparcie producentów rolnych i firm przetwórstwa rolno-spożywczego poprzez dostarczenie im instrumentów dla budowy optymalnych strategii rozwoju. Praca w realizacji projektu utwierdziła mnie w zasadności moich dalszych kierunków badawczych. Ekspertyza pt.: „Żywność funkcjonalna” została opracowana w postaci dokumentu (<http://zywnoscizywienie.spoleczna.pl/>) i zawiera omówienie głównych grup składników żywności funkcjonalnej, produktów wytwarzanych z ich udziałem, wpływu żywności funkcjonalnej na zdrowie człowieka z uwzględnieniem chorób cywilizacyjnych, procesu legislacyjnego żywności funkcjonalnej zgodnie z FAO/WHO oraz rynku żywności funkcjonalnej na świecie.

5.9. Genotoksyczność poliooli oraz elagotanin z maliny właściwej *Rubus idaeus* L.

Od roku 2015, jako wykonawca w projekcie NCN (nr 2013/09/B/NZ9/01806) pt.: „Badanie aktywności przeciwgrzybowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w obecności polifenoli i poliooli” (kierownik dr hab. inż. Elżbieta Klewicka), w teście kometytowym na linii komórek nabłonka jelitowego Caco-2 badałam genotoksyczność poliooli oraz preparatu elagotanin z maliny właściwej *Rubus idaeus* L. niefermentowanego i fermentowanego,

z wykorzystaniem bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, z których 10 szczepów zostało przeze mnie wyizolowanych, zidentyfikowanych i zgłoszonych do GenBanku.

Wykazałam, że genotoksyczność polioli i elagotanin zwiększała się wraz ze wzrostem ich stężenia. Elagotaniny niefermentowane wykazywały kilkakrotnie wyższą genotoksyczność, niż fermentowane, w zależności od szczepu. Rezultaty wstępnych badań są zamieszczone w postaci 1 publikacji oryginalnej, 4 prezentacji na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym, 2 komunikatów ustnych oraz 1 zgłoszenia patentowego, których jestem współautorem.

Publikacja oryginalna

1. Lipińska L., Klewicki R., Klewicka E., Kołodziejczyk K., Sójka M., **Nowak A.** (2016) The antifungal activity of *Lactobacillus* sp. strains in the presence of xylitol and galactosyl xylitol. Biomed Research International, ID 5897486. **IF_{5-letni} = 1,593; MNiSW = 20 pkt.**

Prezentacje na konferencjach:

1. Lipińska L., Klewicka E., Klewicki R., Kołodziejczyk K., Sójka M., **Nowak A.** (2016) Food protection against *Alternaria brassicicola* contamination using lactic acid fermentation with polyols. Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology (VAAM), Jena, Germany, 03-16.03.2016. Materiały str. 177.
2. Lipińska L., Klewicka E., Klewicki R., Kołodziejczyk K., Sójka M., **Nowak A.** (2015) Fungistatic effect of *Lactobacillus* sp. bacteria after lactic acid fermentation with polyols and their galactosyl derivatives. VII International Conference of Biotechnology Students. XVII National Academic Seminar of Biotechnology Students, Poznań, 20-22.11.2015. Materiały str. 85.
3. Klewicka E., Sójka M., Lipińska L., Klewicki R., Kołodziejczyk K., **Nowak A.** (2015) Przeciwdrobnoustrojowa aktywność elagotanin z maliny właściwej *Rubus idaeus* L. XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk ŻYWNOŚĆ – ZDROWIE – PRZYSZŁOŚĆ. Lublin, 25-26.04.2015. Materiały str. 188-189.
4. Lipińska L., Klewicka E., Klewicki R., Kołodziejczyk K., Sójka M., **Nowak A.** (2015) Antagonistic activity of *Lactobacillus* sp. bacteria towards molds *Geotrichum candidum* in the presence of polyols. Probiotics, a proactive approach to health. 8th International Yakult Symposium. Berlin, Niemcy, 23-24.04.2015. Materiały str. 31.

Komunikaty ustne:

1. Klewicka E., Sójka M., Ścieszka S., Lipińska L., Klewicki R., Kołodziejczyk K., **Nowak A.** Wpływ elagotanin z maliny właściwej (*Rubus idaeus* L.) na wzrost i przeciwrzybową aktywność probiotycznych bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. VII Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”. Krynki/Zakopanego, 20-22.04.2016. Materiały str. 17.
2. Lipińska L., Klewicki R., Klewicka E., Kołodziejczyk K., Sójka M., **Nowak A.** Antagonistic activity of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* in the presence of xylitol and its derivatives towards molds and yeasts. 2nd Polish-Czech Probiotics Conference “Microbiology, Immunology & Allergy”. Bielawa, 24-26.05.2015. Materiały str. 25.

Zgłoszenie patentowe

1. Klewicka E., Klewicki R., Kołodziejczyk K., Lipińska L., **Nowak A.**, Sójka M. „Zastosowanie preparatu elagotanin z maliny właściwej *Rubus idaeus* L”. Zgłoszenie patentowe nr P. 410975 z dnia 16.01.2015. **MNiSW = 2 pkt.**

6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Jestem autorką lub współautorką 34 oryginalnych prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach zagranicznych i krajowych (w tym 25 w czasopismach z listy JCR), 8 publikacji przeglądowych opublikowanych w języku polskim (w tym 3 z JCR) i 1 pracy w czasopiśmie popularno-naukowym; ponadto 10 komunikatów naukowych publikowanych w suplementach czasopism w postaci streszczeń, 2 rozdziałów w książkach (w języku angielskim), 3 skryptów do zajęć laboratoryjnych oraz 1 zgłoszenia patentowego. Jestem również autorką lub współautorką 46 doniesień prezentowanych na konferencjach i seminariach międzynarodowych oraz krajowych (w tym 13 to prezentacje ustne) zamieszczonych w materiałach konferencyjnych.

Prace publikowałam w następujących czasopismach anglojęzycznych:

• Acta Biochimica Polonica	1
• Anaerobe	3
• Annals of Microbiology	1
• Biomed Research International	1
• Environmental Toxicology and Pharmacology	2
• European Journal of Nutrition	1
• Experimental and Toxicologic Pathology	1
• Food Additives and Contaminants Part A	2
• Food Technology and Biotechnology	1
• Genome Biology and Evolution	1
• International Journal of Dairy Technology	2
• International Journal of Environmental Research and Public Health	1
• Journal of Environmental Management	1
• Polish Journal of Veterinary Science	1
• Regulatory Toxicology and Pharmacology	1
• Research in Veterinary Science	1
• Toxins	1
• Veterinarni Medicina	1
• ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość (artykuł w j. angielskim)	1

oraz wydawanych w języku polskim:

• Agro Przemysł	1
• Postępy Mikrobiologii	1
• Standardy Medyczne	2
• ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość	6

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych przedstawiono w publikacjach o łącznej wartości współczynnika IF = 12,883* oraz 150** pkt. MNiSW.

Pozostałe osiągnięcia zostały przedstawione w publikacjach o wartości współczynnika IF = 33,18* oraz 482** pkt. MNiSW.

Sumaryczny *Impact Factor* wynosi 46,063*; łączna liczba punktów z kryteriami MNiSW wynosi 632**. Pragnę podkreślić, że mój najbardziej wartościowy dorobek naukowy przypada na lata 2012-2016.

*) *Impact Factor* z ISI JCR w roku ukazania się pracy lub 5-letni IF, jeżeli praca została opublikowana w latach 2015-2016.

**) Według ujednoliconego wykazu czasopism punktowanych z roku ukazania się publikacji lub punktacja aktualna, jeżeli ukazała się w 2016 roku.

Index Hirscha:

- według bazy *Web of Science* wynosi 4, a suma cytowań 62 (bez autocytowań);
- według bazy *Scopus* wynosi 5, a suma cytowań 74 (bez autocytowań).

Publikacje naukowe mojego autorstwa (z pominięciem autocytowań) były cytowane w publikacjach zamieszczonych w następujących czasopismach lub książkach: *Nutrition and Cancer*, *Journal of Breath Research*, *British Poultry Science*, *Journal of Clinical Pathology*, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, *Probiotics and Bioactive Carbohydrates in Colon Cancer Management*, *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*, *Immunotherapy*, *Medycyna Weterynaryjna*, *Journal of Functional Foods*, *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*, *Nutrients*, *Journal of Elementology*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *PLoS ONE*, *Acta Oncologica*, *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *Food Science and Technology Research*, *Toxins*, *Journal of Animal Science*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *Food Oligosaccharides: Production, Analysis And Bioactivity*, *World Journal of Gastroenterology*, *International Journal of Food Properties*, *Phytotherapy Research*, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, *Food Research International*, *Pharmacological Research*, *Pharmacological Research*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *Livestock Science*, *International Biodeterioration and Biodegradation*, *British Journal of Nutrition*, *Żywność – Nauka Technologia Jakość*, *Process Biochemistry*, *Journal of Proteome Research*, *BMC Surgery*, *Digestive Diseases and Sciences*, *Inflammatory Bowel Diseases*, *BioResources*, *World Mycotoxin Journal*, *Journal of Applied Poultry Research*, *Metabolomics*, *Beneficial Microbes*, *International Journal of Food Microbiology*, *Neurogastroenterology and Motility*, *Microbial Biotechnology*, *Molecular Systems Biology*, *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, *Postępy Mikrobiologii*, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *International Food Research Journal*, *Korean Journal of Microbiology*, *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity*, *Food Control*, *Postępy Dermatologii i Alergologii*, *Central-European Journal of*

Immunology, Gut Microbes, Current Colorectal Cancer Reports, Tryptophan: Dietary Sources, Functions and Health Benefits, Meat Science, Journal of Food Quality, Anaerobe, Zhongguo Zhongyao Zazhi.

Wykonałam recenzje 7 prac dla czasopism:

- | | |
|--|---|
| • Beneficial Microbes | 1 |
| • Journal of the Science of Food and Agriculture | 1 |
| • Journal of Food and Drug Analysis | 1 |
| • Plant Foods for Human Nutrition | 1 |
| • Postępy Biochemii | 1 |
| • SDRP Journal of Food Science & Technology | 2 |

W okresie zatrudnienia w PŁ uczestniczyłam lub uczestniczę w następujących projektach badawczych (w 2 jako kierownik i w 9 jako wykonawca):

1. Projekt NCBiR w ramach Programu Badań Stosowanych nr PBS3/A8/32/2015 „Preparat synbiotyczny do profilaktyki zdrowotnej zwierząt monogastycznych i zapobiegania wystąpienia chorób bakteryjnych i zatruc pokarmowych wywołanych toksynami oraz poprawiającego bezpieczeństwo żywienia i wydajność chowu zwierząt”. Okres realizacji 2015-2018, charakter udziału – **wykonawca**.
2. Projekt GEKON NCBiR nr 2/05/267284/15/2015 „Opracowanie technologii produkcji prebiotyków z wyłoków jabłkowych jako komponentów żywności i paszy dla zwierząt”. Okres realizacji 2015-2017, charakter udziału – **wykonawca**.
3. Projekt własny NCN nr 2013/09/B/NZ9/01806 „Badania aktywności przeciwgrzybowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w obecności polifenoli i polioli”. Okres realizacji 2014-2017, charakter udziału – **wykonawca**.
4. Projekt w ramach Programu Badań Stosowanych NCBiR nr PBS2/B8/14/2014 „Innowacyjny biopreparat dezodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych”. Okres realizacji 2014-2017, charakter udziału – **wykonawca**.
5. Projekt rozwojowy NCBiR nr 12010110 „Innowacyjny produkt probiotyczny o działaniu antyalergicznym”. Okres realizacji 2011-2014, charakter udziału – **wykonawca**.
6. Projekt własny MNiSW/NCN nr NN 312 335339 „Modyfikacja zespołu mikroorganizmów jelitowych ludzi w różnym wieku pod wpływem prebiotycznych dekstryn (badania *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach doświadczalnych”. Okres realizacji 2010-2013, charakter udziału – **wykonawca**.
7. Projekt własny MNiSW/NCN nr NN 312 203836 „Detoksyfikacja heterocyklicznych amin aromatycznych przez bakterie probiotyczne z rodzaju *Lactobacillus*”. Okres realizacji 2009-2012, charakter udziału – **kierownik**.

8. Projekt finansowany z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013, priorytet 1 „Badania i rozwój nowoczesnych technologii”, charakter udziału – **wykonawca**.
9. Projekt własny KBN nr 3569/B/P01/2008/34 „Detoksyfikacyjne i przeciwnowotworowe właściwości soku z buraka ćwikłowego poddanego fermentacji przez probiotyczne bakterie *Lactobacillus* (w modelu *in vivo*)”. Okres realizacji 2008-2010, charakter udziału – **wykonawca**.
10. Projekt promotorski KBN nr 2P06T 046 30 „Rozkład karcynogennych metabolitów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*”. Okres realizacji 2006-2008, charakter udziału – **wykonawca**.
11. Projekt niskonakładowy KBN nr 2P06T 043 27 „Zdolność jelitowych bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus* do degradacji nitrozoamin”. Okres realizacji 2003-2004, charakter udziału – **kierownik**.

7. Współpraca z zagranicą i staże naukowe

Realizując wspólnie z Zakładem Immunologii, Gnotobiologii i Mikrobiologii Akademii Nauk Republiki Czeskiej w Novym Hradku projekt badawczy NCBiR nr 12010110 „Innowacyjny produkt probiotyczny o działaniu antyalergicznym” w latach 2011-2014 moim udziałem było badanie genotoksyczności wody kałowej na gnotobiotycznym modelu zwierzęcym (myszy BALB/c).

Opracowałam program i przeprowadziłam szkolenie dr Sukriye Celikkol-Aydin z Department of Microbiology and Plant Biology, University of Oklahoma Norman, OK, USA, w ramach stażu naukowego (pod kierunkiem dr inż. Anny Otlewskiej oraz dr hab. inż. Beaty Gutarowskiej, prof. PŁ), w zakresie podstaw hodowli komórek i testu cytotoksyczności MTT („Cytotoksyczność substancji pochodzenia naturalnego”) (wrzesień 2014).

Ponadto odbyłam dwa staże naukowe w Katedrze Genetyki Molekularnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza Błasiaka: „Badanie genotoksyczności związków metodą testu konformacyjnego plazmidu oraz apoptozy z wykorzystaniem cytometrii przepływowej” (02.06.–17.07.2008), a także „Genotoksyczność związków w wersji neutralnej testu kometowego oraz hodowle komórek” (1–31.10.2008).

Odbyłam również staż naukowy w Pracowni Ochrony Radiologicznej i Badań Izotopowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – PIB w Puławach, pod kierunkiem prof. dr hab. Bogdana Kowalskiego „Oznaczanie N-nitrozodimetylaminy metodą GC-TEA” (maj 2005).

8. Współpraca z przemysłem

Moja współpraca z przemysłem koncentrowała się głównie na badaniu wartości użytkowej mikroorganizmów do produkcji probiotyków i prebiotyków, czy też biopreparatu do dezodoryzacji pomieszczeń inwentarskich.

Od roku 2016 uczestniczę w projekcie NCBiR Gekon (nr 2/05/267284/15/2015) pt.: „Opracowanie technologii produkcji prebiotyków z wyłoków jabłkowych jako komponentów żywności i paszy dla zwierząt” (kierownik dr inż. Agnieszka Wilkowska) w ramach współpracy z firmą Maspex, którego celem jest opracowanie prebiotycznego preparatu z wyłoków jabłkowych przeznaczonego jako dodatek do żywności oraz pasz. Jako wykonawca badam zdolność mikroorganizmów pochodzących z różnych środowisk, do adherencji do linii komórkowej Caco-2 w obecności preparatów z wyłoków jabłkowych.

Również w roku 2016 podjęłam współpracę z firmą Proteon Pharmaceuticals S.A. z siedzibą w Łodzi, w ramach której uczestniczę w doborze szczepów probiotycznych do konstrukcji preparatu bakteriofagowo-probiotycznego zapewniającego bezpieczeństwo mikrobiologiczne w hodowli drobiu.

W ramach projektu rozwojowego NCBiR (nr PBS2/B8/14/2014) „Innowacyjny biopreparat dezodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych” (kierownik dr hab. inż. Beata Gutarowska, prof. PŁ) współpracuję z firmą JHJ Sp. z o.o. w Nowej Wsi przy konstrukcji biopreparatu do usuwania toksycznych związków odorowych z pomiotu drobiowego.

9. Działalność dydaktyczna

Od roku 2002 prowadzę zajęcia laboratoryjne oraz wykłady dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności (BiNoŻ), a także przedmioty w języku angielskim (laboratoria) dla studentów kierunku Biotechnology International Faculty of Engineering (IFE, Centrum Kształcenia Międzynarodowego) Politechniki Łódzkiej.

Kurs pedagogiczny teoretyczny (z zakresu psychologii, pedagogiki i dydaktyki) oraz praktyki pedagogiczne w szkole podstawowej i średniej, które odbyłam w toku studiów magisterskich na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, umożliwiły mi podniesienie kompetencji oraz zdobycie umiejętności w celu lepszej realizacji procesu dydaktycznego.

Opracowałam nowe programy nauczania dla następujących przedmiotów:

- Mikrobiologia środowiska – przedmiot obligatoryjny dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Biotechnologia środowiska Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, 30 godzin wykładów i 30 godzin zajęć laboratoryjnych,

- Adhesion Ability of Probiotic Bacteria – przedmiot fakultatywny dla studentów studiów stacjonarnych II stopnia kierunku Biotechnology International Faculty of Engineering, 10 godzin wykładów, 20 godzin zajęć laboratoryjnych,
- Adhesion Ability of Probiotic Bacteria – przedmiot fakultatywny dla studentów studiów stacjonarnych II stopnia kierunku Biotechnology International Faculty of Engineering, 15 godzin zajęć laboratoryjnych,
- Biofilmy bakterii mlekowych – przedmiot fakultatywny dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Biotechnologia, Technologia żywności i żywienie człowieka oraz Technologia kosmetyków, 15 godzin zajęć laboratoryjnych.

Prowadzę lub prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla studentów wydziałów: Biotechnologii i Nauk o Żywności, Chemicznego, Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, międzywydziałowego Kolegium Towaroznawstwa PŁ, Biotechnology International Faculty of Engineering z przedmiotów: Mikrobiologia ogólna, Mikrobiologia przemysłowa, Mikrobiologia środowiska, Mikrobiologia żywności, Podstawy mikrobiologii, Biologia komórki, Biologia komórki (fakultet), Inżynieria komórki (fakultet), Żywność fermentowana (fakultet), Laboratorium prac przejściowych, Cell Biology, Microbiology, Technical Microbiology. Szczegółowy opis realizowanego procesu dydaktycznego przedstawiłam w **Załączniku 4**.

W ramach Studiów Podyplomowych „Mikrobiologia, Higiena i Jakość w Przemysle” organizowanych przez Wydział BiNoŻ w latach 2010-2014 prowadziłam wykład pt.: „Zanieczyszczenia chemiczne i mikrobiologiczne żywności – skutki zdrowotne”.

Jestem współautorką 3 skryptów:

- **Nowak A.**, Gutarowska B., Skóra J. (2016) „Mikrobiologia środowiska – laboratorium. Zbiór instrukcji” (ISBN 978-83-63929-76-3) dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Biotechnologia środowiska, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, 68 stron,
- Kunicka-Styczyńska A., Rajkowska K., **Nowak A.** (2015) „Biologia komórki fakultet – laboratorium. Zbiór instrukcji” (ISBN 978-83-63929-44-2) dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Inżynieria biochemiczna, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, 55 stron,
- Kunicka-Styczyńska A., **Nowak A.** (2015) „Inżynieria komórki. Przewodnik do ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów Biotechnologii” (ISBN 978-83-63929-68-8) dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia kierunku Biotechnologia, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, 30 stron.

Moja praca dydaktyczna jest wysoko oceniana przez studentów. Według ankiety dydaktycznej przeprowadzonej w roku akademickim 2009/2010 oraz 2011/2012 uwzględniającej 14 zdefiniowanych kryteriów, zarówno prowadzone przeze mnie zajęcia z mikrobiologii ogólnej, jak i z mikrobiologii żywności zostały ocenione przez studentów na ocenę 4,3 (średnia ocena Wydziału wynosiła 3,9 w roku akademickim 2009/2010 oraz 4,2 w roku akademickim 2011/2012).

Od roku akademickiego 2013/2014 jestem opiekunem kierunku Biotechnologia (studia stacjonarne I stopnia).

Byłam opiekunem 21 prac dyplomowych (15 inżynierskich, 6 magisterskich) studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności (kierunków Biotechnologia i Ochrona środowiska), International Faculty of Engineering (IFE, Centrum Kształcenia Międzynarodowego, kierunku Biotechnology) oraz 1 pracy końcowej na Studiach Podyplomowych „Mikrobiologia, Higiena i Jakość w Przemysle”.

W latach 2008-2013 za osiągnięcia w działalności dydaktyczno-wychowawczej, a w latach 2014-2015 w działalności dydaktyczno-wychowawczej i naukowej otrzymałam nagrody JM Rektora Politechniki Łódzkiej.

W roku 2009 i 2010 otrzymałam wyróżnienie – dyplom za najlepszą pracę przeglądową z zakresu nauk o żywności pt.: „Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka” oraz „Probiotyki – efekty zdrowotne” w czasopiśmie ŻYWNOSĆ – Nauka, Technologia, Jakość Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, których byłam pierwszym autorem (korespondencyjnym).

10. Działalność organizacyjna, działalność popularyzująca naukę

W roku 2003 brałam udział w organizacji krajowej konferencji naukowej pt.: „Bakterie kwasu mlekowego – klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie”. W roku 2014 i 2016 byłam w Komitecie Organizacyjnym konferencji międzynarodowych pt.: „XVI International Biodeterioration and Biodegradation Symposium” oraz “International Conference of Biodeterioration & Protection of Cultural Heritage”. Brałam również czynny udział w organizacji obchodów 65-lecia Politechniki Łódzkiej.

Brałam udział w akcjach promujących Politechnikę Łódzką dla dzieci i młodzieży (zajęcia laboratoryjne i pokazy), w prezentacjach laboratoriów dla delegacji zagranicznych z Włoch, Niemiec i Francji na Wydziale BiNoŻ, promowałam także Wydział BiNoŻ w akcjach „Drzwi zawsze otwarte” (trzykrotnie). W 2012 roku w ramach promocji Wydziału zorganizowałam zajęcia laboratoryjne pt.: „Microorganisms around us” dla dzieci ze szkoły British International School of Cracow Spółka z o.o. w języku angielskim. Brałam również udział w organizacji nagrania krótkiego spotu reklamowego o Wydziale (przygotowanie laboratoriów i oprowadzanie ekipy realizatorskiej).

W roku 2009 i 2012 uczestniczyłam w organizacji egzaminów wstępnych na Politechnikę Łódzką oraz prowadziłam nadzór nad sprawdzianem uzdolnień plastycznych na Wydziale Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów PŁ.

W Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii byłam pomysłodawcą i organizatorem stanowiska laboratoryjnego do hodowli linii komórkowych. Odpowiadałam za zdobywanie funduszy na sprzęt, skompletowanie aparatury, uczestniczyłam w konstruowaniu specyfikacji oraz byłam członkiem komisji przetargowych dotyczących wyposażenia ww. stanowiska. Dzięki temu wprowadziłam do ITFiM metody badawcze dotyczące genotoksyczności i cytotoksyczności różnych substancji na liniach komórkowych zarówno pochodzenia ludzkiego, jak i zwierzęcego, a także badania zdolności adhezyjnych mikroorganizmów do linii komórkowych, również z zastosowaniem metod mikroskopowych (barwienie komórek). Organizacja stanowiska pozwala na zakup i przechowywanie linii komórkowych (własna kolekcja). Stanowisko pracy z liniami komórkowymi w ITFiM stwarza możliwość współpracy nie tylko w obrębie Instytutu i Wydziału, ale także z innymi jednostkami naukowymi (np. badanie genotoksyczności wody jelitowej świń we współpracy z Katedrą Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, czy też genotoksyczności wody kałowej dzieci z wypryskiem atopowym na tle alergii na białka mleka krowiego we współpracy z Instytutem „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie).

Byłam również współodpowiedzialna za koordynację prac remontowo-budowlanych oraz aranżację i wyposażenie laboratorium ProBioTest w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ.

W 2014 roku współpracowałam w komisji dotyczącej tworzenia wydziałowej strony internetowej, natomiast od roku 2015 współpracuję w komisji dotyczącej tworzenia strony internetowej promującej Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii.

Adriana Kowalczyk