



ZAŁĄCZNIK 2

AUTOREFERAT

AGNIESZKA NOWAK



1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Agnieszka 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

1992 Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej
Stopień magistra inżyniera
Specjalność: chemia i technologia spożywcza
Praca magisterska: Izolacja i czyszczenie celulaz grzybowych
Kierujący pracą: prof. dr hab. inż. Edward Galas

2001 Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Stopień doktora nauk technicznych w zakresie technologii chemicznej
Praca doktorska: Tworzenie siarkowodoru przez drożdże w procesie fermentacji moszczów owocowych
Promotor: dr hab. inż. Danuta Kusewicz, prof. PŁ

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.03.2002 - 31.12.2003 Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii,
Asystent

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

4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

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

a) Tytuł osiągnięcia

***Brochothrix thermosphacta* w mięsie i produktach mięsnych – zagrożenie oraz metody eliminacji**

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

H1 Nowak A., Rygala A., Oltuszek-Walczak E., Walczak P. (2012) The prevalence and some metabolic traits of *Brochothrix thermosphacta* in meat and meat products packaged in different ways. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92, 1304-1310. IF₂₀₁₂: 1,759, MNiSW₂₀₁₂: 35pkt

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Agnieszka	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	80
Rygala Anna	Udział w oznaczaniu stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego mięsa i produktów mięsnych.	10
Oltuszek-Walczak Elżbieta	Udział w identyfikacji bakterii metodami genetycznymi.	5
Walczak Piotr	Konsultacja podczas pisania manuskryptu.	5

H2 Nowak A., Piotrowska M. (2012) Biochemical activities of *Brochothrix thermosphacta*. Meat Science, 90(2), 410-413. IF₂₀₁₂: 2,754, MNiSW₂₀₁₂: 40pkt

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Agnieszka	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	80
Piotrowska Małgorzata	Udział w oznaczaniu aktywności proteaz oraz lipaz.	20

H3 Nowak A., Czyżowska A. (2011) In vitro synthesis of biogenic amines by *Brochothrix thermosphacta* isolates from meat and meat products and the influence of other microorganisms, *Meat Science*, 88, 571-574. **IF₂₀₁₁: 2,275, MNiSW₂₀₁₁: 40pkt**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Agnieszka	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	90
Czyżowska Agata	Udział w modyfikacji metody oznaczania amin biogennych.	10

H4 Nowak A., Kalemba D., Krala L., Piotrowska M., Czyżowska A. (2012) The effect of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essentials oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-216. **IF₂₀₁₂: 3,407, MNiSW₂₀₁₂: 35pkt**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Agnieszka	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	70
Krala Lucjan	Konsultacja w zakresie pakowania w atmosferze modyfikowanej oraz oceny sensorycznej mięsa.	10
Kalemba Danuta	Konsultacja w zakresie określenia składu olejku tymiankowego i rozmarynowego.	10
Piotrowska Małgorzata	Udział w oznaczaniu wrażliwości <i>Brochothrix thermosphacta</i> na olejki eteryczne metodą barwienia fluorescencyjnego.	5
Czyżowska Agata	Udział w wykonaniu analiz mikrobiologicznych.	5

H5 Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M., Krala L. (2016) Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and black currant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives of meat products. Food Microbiology, 59, 142-149. **IF_{5-letni}: 4,214, MNiSW₂₀₁₅: 35pkt**

Autor	Indywidualny wkład	Udział %
Nowak Agnieszka	Koncepcja pracy, planowanie doświadczeń, prowadzenie badań, opracowanie wyników, przygotowanie publikacji. Autor korespondencyjny.	80
Czyżowska Agata	Udział w wykonaniu analiz składu polifenoli ekstraktów roślinnych	10
Efenberger Szmechtyk Magdalena	Udział w wykonaniu analiz mikrobiologicznych produktów mięsnych.	5
Krala Lucjan	Konsultacja w zakresie technologii produktów mięsnych.	5

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

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych zostało przedstawione w publikacjach o łącznej wartości współczynnika **IF = 14,409** (185 pkt MNiSW)

Ponadto pozostałe osiągnięcia naukowe przedstawione zostały w publikacjach o wartości współczynnika **IF = 17,871** (335 pkt MNiSW)

Sumaryczny Impact Factor wynosi **IF = 32,280**, łączna liczba punktów zgodnie z kryteriami MNiSW wynosi **520**

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Scopus wynosi 5, zaś liczba cytowań 56 (bez autocytowań)

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 5, zaś liczba cytowań 50 (bez autocytowań).

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

Gwarancją bezpieczeństwa żywności jest odpowiednia jakość mikrobiologiczna produktów spożywczych. Zgodnie z Rozporządzeniem 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającym ogólne zasady prawa żywnościowego, środek spożywczy uważany jest za niebezpieczny nie tylko wówczas gdy zawiera mikroorganizmy patogenne, ale również gdy doszło w nim do nadmiernego namnożenia mikroflory saprofitycznej, powodującej obniżenie jakości organoleptycznej. Jednocześnie psucie żywności pociąga za sobą ogromne straty ekonomiczne. Wg. danych FAO rocznie w Europie tracone jest 280 kg żywności/osobę, w tym około 20% stanowi mięso i jego przetwory.

Mięso ze względu na bogaty skład chemiczny, jak również wysoką aktywność wody ($a_w > 0,98$) oraz pH w granicach 5,5 – 6,5 jest doskonałym środowiskiem rozwoju wielu mikroorganizmów. W mięsie i produktach mięsnych mogą występować liczne gatunki drobnoustrojów chorobotwórczych: *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica* czy patogenne szczepy *Escherichia coli*. Izolowane są również liczne gatunki drobnoustrojów saprofitycznych, rozkładających podstawowe składniki żywności. Podczas przechowywania mięsa i produktów mięsnych w atmosferze powietrza dominującą mikroflorę stanowią bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, a najczęściej izolowanym gatunkiem jest *P. fragi*. Dominacja tego gatunku w mięsie związana jest ze zdolnością do wykorzystania różnych źródeł żelaza oraz specyficznym mechanizmem sekrecji egzoproteaz. W atmosferze wzbogaconej w CO₂ maleje szybkość wzrostu *Pseudomonas* sp., a zaczynają dominować bakterie z rodzajów *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, *Leuconostoc* oraz ***Brochothrix*** (Borch, 1996).

Należące do rodziny *Listeriaceae* bakterie z gatunku *Brochothrix thermosphacta* mogą pełnić istotną rolę w procesie psucia mięsa i produktów mięsnych, w tym pakowanych w modyfikowanej atmosferze (Berruga i wsp., 2005, Rodriguez-Calleja i wsp., 2005; Witek i wsp., 2005, Leszczyńska-Fik i Fik 2002). Po raz pierwszy bakterie *Brochothrix thermosphacta* zostały wyizolowane przez Sulzbacher'a i McLean'a (1951) z kiełbas wieprzowych. Są gramodatnimi, nieprzetrwalnikującymi pałeczkami (0,6-0,7 x 1-2 μm), nie wykazującymi zdolności ruchu. Bakterie *Brochothrix thermosphacta* są zdolne do wzrostu w przedziale temperatury od 0 do 30°C (optimum 20-25°C), zakres pH wzrostu wynosi 5-9

(opt. pH 7). Są zdolne do wzrostu w środowiskach zawierających 6,5% (niektóre szczepy nawet do 10%) NaCl. Ich rozwój jest hamowany przez azotany (III), a stopień inhibicji rośnie wraz z obniżeniem pH i temperatury (Collins-Thompson, Rodriguez-Lopez, 1980).

Bakterie *B. thermosphacta* mogą rozwijać się zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych. Przy ograniczonym dostępie tlenu z glukozy wytwarzają głównie kwas mlekowy oraz etanol. W warunkach tlenowych oprócz glukozy mogą wykorzystywać inne źródła węgla: aminokwasy (kwas glutaminowy, walina, leucyna, izoleucyna), rybozę, glicerol, a wśród produktów metabolizmu dominują wtedy acetoina, kwas octowy, izomasłowy i izowalerianowy. Zdolność do wykorzystania przez *B. thermosphacta* innych niż glukoza źródeł węgla pozwala na zniesienie w mięsie i produktach mięsnych współzależności konkurencyjnej pomiędzy tym mikroorganizmem a bakteriami fermentacji mlekowej. Źródłem *B. thermosphacta* w mięsie może być gleba, która jest naturalnym środowiskiem bytowania tego gatunku, jak również trawa, siano, skąd mogą dostawać się na skórę zwierząt, a następnie podczas uboju do mięsa.

W literaturze naukowej istnieje wiele sprzecznych informacji na temat warunków jakie pozwalają *Brochothrix thermosphacta* na zdominowanie środowiska mięsa i produktów mięsnych. Może to wynikać ze zmienności szczepowej, jak również z istnienia szczepowej zgodności ekologicznej tych bakterii z różnymi rodzajami mięsa. Jednocześnie prawdopodobne jest, że w mięsie i produktach mięsnych będą prowadziły metabolizm nie tylko sacharydów ale również innych składników, takich jak białka czy lipidy.

Hipotezy te stały się motywacją do podjęcia badań których **celem było określenie typu produktów mięsnych dostępnych na polskim rynku w których dominuje *Brochothrix thermosphacta* oraz oszacowanie skali problemu. Istotnym aspektem było również zbadanie czy *B. thermosphacta* wpływa na bezpieczeństwo mięsa jedynie poprzez pogorszenie cech organoleptycznych produktu w wyniku aktywności enzymatycznej, czy może pogorszyć jakość zdrowotną produktu poprzez tworzenie amin biogennych, bądź intensyfikację ich tworzenia przez inne mikroorganizmy.** Badania takie nie były wcześniej prowadzone. Wyrazem moich zainteresowań naukowych zmierzających do określenia wpływu *B. thermosphacta* na bezpieczeństwo mięsa i produktów mięsnych było przygotowanie w 2007 roku projektu badawczego pt. „*Brochothrix thermosphacta* a bezpieczeństwo mięsa i produktów mięsnych”, którego realizacja pod moim kierownictwem miała miejsce w latach 2008-2010 w ramach grantu finansowanego przez

KBN (N N312 160834). W trakcie realizacji projektu badawczego odpowiedziałam na postawione pytania co pozwoliło na oszacowanie skali problemu, jak również na określenie aktywności psucia *Brochothrix thermosphacta*. Pojawiły się jednak nowe pytania, związane z możliwością eliminacji *B. thermosphacta* z badanej żywności, co stało się motywacją do podjęcia kolejnych prac badawczych, których **celem było wykazanie, czy możliwe jest ograniczenie namnożenia *B. thermosphacta* w mięsie i produktach mięsnych z zastosowaniem naturalnych preparatów roślinnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym (olejki eteryczne, polifenole).**

Publikacje prezentujące wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektu badawczego uzupełnione o wyniki kolejnych badań ukazały się w druku w latach 2011 – 2016 (H1-H5). Badania, o charakterze aplikacyjnym, nad eliminacją drobnoustrojów psujących z produktów mięsnych stały się podstawą do przygotowania dwóch zgłoszeń patentowych (P.413062, P.413063).

Przeprowadzone badania naukowe i aplikacyjne i uzyskane wyniki określają osiągnięcie naukowe „***Brochothrix thermosphacta* w mięsie i produktach mięsnych – zagrożenie oraz metody eliminacji**”, zaprezentowane w monotematycznym zbiorze obejmującym pięć publikacji. Kolejność przedstawienia publikacji w autoreferacie wynika z ich merytorycznej zawartości.

W chwili obecnej w prawodawstwie Unii Europejskiej brak jest kryteriów mikrobiologicznych wskazujących dopuszczalne poziomy zanieczyszczeń bakteriami saprofitycznymi, w tym *Brochothrix thermosphacta*, mięsa i produktów mięsnych znajdujących się w obrocie handlowym. Wielu producentów ogranicza się do oznaczania obecności drobnoustrojów patogennych, co skutkuje brakiem wiedzy na temat stopnia zanieczyszczenia tej grupy produktów drobnoustrojami saprofitycznymi, które mogą mieć wpływ na trwałość i bezpieczeństwo produktu. Skłoniło mnie to do podjęcia badań, które miały przynieść odpowiedź na pytanie jak często i w jakiej ilości *Brochothrix thermosphacta* występuje w mięsie i produktach mięsnych, niepakowanych oraz pakowanych w zmodyfikowanej atmosferze, dostępnych na polskim rynku. Wyniki badań przedstawiłam w publikacji H1:

Nowak A., Rygala A., Oltuszek-Walczak E., Walczak P. (2012) The prevalence and some metabolic traits of *Brochothrix thermosphacta* in meat and meat products packaged in

different ways. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92, 1304-1310, (IF₂₀₁₂: 1,759, MNiSW₂₀₁₂: 35pkt)

Przebadalam 61 próbek mięsa wieprzowego, trzech asortymentów, tj. schab (*musculus longissimus*), łopatka (*musculus supraspinatus*, *m. infraspinatus*, *m. subscapularis*, *m. triceps brachii*), szynka (*musculus semimembranosus*, *m. quadriceps femoris*, *m. gluteobiceps*, *m. semitendinosus*) - w tym 21 próbek mięsa niepakowanego (NP), 20 próbek pakowanych próżniowo (VP) oraz 20 próbek mięsa pakowanego w atmosferze modyfikowanej (MAP).

Badaniom poddałam również 71 próbek wędlin (trzy asortymenty, wędzonki gotowane nierozdrobnione, kiełbasy drobnorozdrobnione, kiełbasy średniorozdrobnione) - w tym 29 próbek produktów niepakowanych, 20 próbek pakowanych próżniowo oraz 22 próbki pakowane w atmosferze modyfikowanej. Pozyskane z obiegu handlowego próbki pochodziły od 12 różnych producentów.

Jak wspomniałam wcześniej w Polsce brak jest prawnie obowiązujących kryteriów obecności bakterii saprofitycznych w mięsie i produktach mięsnych. Aby sklasyfikować przebadane próbki założyłam system dwuklasowy z wartościami granicznymi 10^6 jtk/g w przypadku mięsa oraz 10^5 jtk/g dla produktów mięsnych. Wartości te przyjął bazując na obowiązujących w Polsce przed akcesją do Unii Europejskiej rozporządzeniach: Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych dla mięsa mielonego i surowych wyrobów mięsnych oraz Ministra Zdrowia z 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności.

Przyjęte wartości pozwoliły mi na stwierdzenie, że 48% próbek (10) mięsa niepakowanego, 45% (9) mięsa pakowanego w atmosferze modyfikowanej i 30% (6) pakowanego próżniowo wykazuje niezadawalającą jakość mikrobiologiczną. We wszystkich 71 przebadanych próbkach mięsa pałeczki *Brochothrix thermosphacta* były obecne w ilości od 10^3 do 10^7 jtk/g. W trzech próbkach mięsa niepakowanego oraz dziesięciu próbkach mięsa pakowanego w wysokotlenowej atmosferze modyfikowanej brak było statystycznie istotnych różnic pomiędzy liczbą drobnoustrojów mezofilnych a *B. thermosphacta*, co świadczy o dominacji bakterii z tego gatunku w badanym środowisku. W przypadku mięsa

pakowanego próżniowo *Brochothrix thermosphacta* stanowił od 11 do 50% mikroorganizmów mezofilnych.

W grupie przebadanych wędlin 86% produktów (25) niepakowanych, 91% (20) pakowanych w systemie MAP oraz 100% (20) pakowanych próżniowo nie spełniało przyjętego przeze mnie kryterium obecności bakterii mezofilnych (poniżej 10^5 jtk/g). Bakterie *Brochothrix thermosphacta* obecne były w 69 z 71 przebadanych produktów. Ich dominację stwierdzono w 41% (12) produktów niepakowanych. W produktach pakowanych próżniowo i w atmosferze modyfikowanej pozbawionej tlenu bakterie *B. thermosphacta* stanowiły od 0,01 do 47% mikroflory mezofilnej, z reguły pomiędzy 1 a 10%.

W prowadzonych po raz pierwszy w Polsce na tak szeroką skalę badaniach dowiodłam, że *Brochothrix thermosphacta* stanowi bardzo częste zanieczyszczenie mięsa i produktów mięsnych dostępnych na naszym rynku. Analizując dane producentów na temat składu atmosfery otaczającej badane produkty udowodniłam, że głównym czynnikiem wpływającym na dominację bakterii *Brochothrix thermosphacta* jest zawartość w niej tlenu.

Aby stwierdzić czy istnieje zgodność ekologiczna pomiędzy poszczególnymi szczepami *Brochothrix thermosphacta* a badanym produktem, w kolejnym etapie określiłam profil biochemiczny 40 wyizolowanych szczepów w oparciu o metabolizm 49 źródeł węgla. Uzyskane wyniki pozwoliły na podział szczepów na trzy główne grupy, reprezentujące odmienne profile biochemiczne. Grupowania dokonałam metodą Warda z zastosowaniem odległości euklidesowych. **Stwierdziłam brak korelacji pomiędzy środowiskiem z jakiego zostały wyizolowane poszczególne szczepy *Brochothrix thermosphacta* a ich profilem biochemicznym obejmującym metabolizm związków węgla.** Wszystkie wyizolowane szczepy były zdolne do fermentacji podstawowego źródła węgla – glukozy oraz innych związków takich jak: ryboza, fruktoza, maltoza, N-acetyloglukozamina, eskulina, sacharoza, trehaloza, gentobioza. Niektóre szczepy *Brochothrix thermosphacta* wykazywały różnice w zdolności do asymilacji następujących związków: inozytol, mannitol, arbutyna, D-tagatoza, amigdalina, salicyna, celobioza. Dla wybranych z każdej z grup szczepów określiłam sekwencję genu 16S rRNA. Uzyskane sekwencje zostały opublikowane w bazie GenBank pod numerami HQ890943.1; HQ890944.1; HQ890945.1.

Ze względu na to, że doniesienia na temat aktywności proteolitycznej i lipolitycznej *Brochothrix thermosphacta* są nieliczne i często niejednoznaczne postanowiłam ocenić

zdolność wszystkich wyizolowanych szczepów do rozkładu białek i tłuszczu. Aktywność proteaz badałam w stosunku do kazeiny i żelatyny, natomiast lipaz w stosunku do tributyriny. Wykazałam, że 85% szczepów (34) cechują uzdolnienia lipolityczne w 25°C, a 33% (13) w 4°C. Odnotowałam również, że dwa szczepy są zdolne do lipolizy jedynie w niskiej temperaturze (4°C). Labadie (1999) wykazał, że *Brochothrix thermosphacta* syntetyzuje lipazy, które wykazują aktywność głównie w stosunku do estrów glicerolu zawierających krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Natomiast Braun i Sutherland (2004) stwierdzili brak aktywności lipolitycznej tych bakterii w temperaturze poniżej 20°C. W moich badaniach, prowadzonych na dużej liczbie szczepów wyizolowanych z mięsa i produktów mięsnych **dowodłam, że bakterie z gatunku *Brochothrix thermosphacta* mogą wytwarzać lipazy hydrolizujące wiązania estrowe glicerolu i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych również w temperaturze chłodniczej, która stosowana jest w trakcie produkcji i dystrybucji mięsa i produktów mięsnych.**

Nie wykazałam zdolności do rozkładu kazeiny ani żelatyny u żadnego z badanych szczepów. Ze względu na to, że w literaturze naukowej można znaleźć informacje o aktywności proteolitycznej *B. thermosphacta* postawiłam hipotezę, że może to być związane ze specyficnością substratową proteaz tworzonych przez te organizmy i rozszerzyłam badania aktywności proteolitycznej stosując większą liczbę substratów (albumina, L-leucylo-2-naftyloamid, L-walinylo-2-naftyloamid, L-cystynylo-2-naftyloamid, N-benzylo-DL-arginino-2-naftyloamid, N-glutarylo-fenylalanino-2-naftyloamid). Postanowiłam również zweryfikować, czy *Brochothrix thermosphacta* może hydrolizować wiązania estrowe w estrach glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych, które występują w mięsie zwierząt rzeźnych.

Zastosowanie większej liczby substratów, oraz badanie zarówno zawiesin komórek jak i płynów pochodzących pozwoliło na określenie/zweryfikowanie zdolności bakterii z tego gatunku do rozkładu podstawowych składników mięsa i produktów mięsnych. Wyniki badań przedstawiłam w publikacji **H2**:

Nowak A., Piotrowska M. (2012) Biochemical activities of *Brochothrix thermosphacta*. Meat Science, 90(2), 410-413, IF₂₀₁₂: 2,754, MNiSW₂₀₁₂: 40pkt

Materiał do badań stanowiło 40 szczepów bakterii z gatunku *Brochothrix thermosphacta* uprzednio wyizolowanych ze środowiska mięsa. Badałam aktywność hydrolaz

w zawiesinie komórek w soli fizjologicznej, z zastosowaniem testów API ZYM. Oznaczałam również aktywność proteaz i lipaz w płynach pochodzących uzyskanych po hodowli badanych drobnoustrojów w temperaturze 4 i 25°C. Aktywność proteaz oznaczałam w stosunku do albuminy, zmodyfikowaną metodą Bhaskar'a i wsp. (2007), natomiast aktywność lipolityczną metodą reflektometryczną z użyciem testów Reflectoquant firmy Merck. Substratem dla lipaz zastosowanym w tej metodzie był bromo-chloro-indolilo-kaprylan (Braun i wsp., 2001).

Test API ZYM pozwala na badanie aktywności trzech enzymów należących do podpodklasy hydrolaz estrów karboksylowych (EC 3.1.1). Określiłam, że 39 z 40 badanych szczepów wykazywało aktywność esterazy lipazy C4 w stosunku do 2-naftylomaślanu i esterazy lipazy C8 w stosunku do 2-naftylokaprylanu (38 z 40). Żaden z badanych szczepów nie hydrolizował wiązania estrowego w cząsteczce 2-naftylomirystynianu (brak aktywności esterazy lipazy C14). Wyniki moich badań potwierdziły zdolność do syntezy przez *Brochothrix thermosphacta* lipaz wykazujących aktywność głównie w stosunku do estrów glicerolu zawierających krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe.

Dowodłam zatem, że psucie mięsa zwierząt rzeźnych i produktów z niego wytworzonych, prowadzone z udziałem *Brochothrix thermosphacta*, nie jest związane z lipolizą, gdyż w mięsie występują przede wszystkim estry długołańcuchowych kwasów tłuszczowych.

Aby stwierdzić czy lipazy aktywne w stosunku do estrów krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych są wydzielane do środowiska czy też pozostają związane z komórką w metodzie reflektometrycznej zastosowałam płyny pochodzące, po oddzieleniu komórek bakterii. Po inkubacji w temperaturze 25°C jedynie u 12,5% (5) badanych szczepów stwierdziłam aktywność zewnątrzkomórkowej esterazy lipazy C8, aktywnej w stosunku do bromo-chloro-indolilo-kaprylanu, aktywności zewnątrzkomórkowych lipaz nie wykryłam po hodowli w temperaturze 4°C. Aktywność esterazy lipazy C8 była sprawdzana również w zawiesinach komórek z zastosowaniem testu APIZYM i tam, aż u 95% (38) szczepów, stwierdziłam jej obecność. Zatem **jako pierwsza wykazałam, że esteraza lipaza C8 nie jest wydzielana przez *Brochothrix thermosphacta* do środowiska lecz pozostaje związana z komórką.**

Test API ZYM pozwala na określenie aktywności pięciu enzymów z subklasy peptydaz (EC 3.4) o różnej specyficzności substratowej: arylamidazy leucyny, arylamidazy waliny,

arylamidazy cystyny, trypsyny i α -chymotrypsyny. 20% (8) z przebadanych szczepów wykazywało aktywność aryamidazy (aminopeptydazy) leucyny. Leucyna, której uwalnianie jest efektem aktywności aryamidazy leucynowej, w roztworze wodnym charakteryzuje się wysokim progiem wyczuwalności, powyżej 2000 ppm. Aminokwas ten może być jednak metabolizowany do wielu produktów o niskim progu wyczuwalności, takich jak: kwas α -hydroksykapronowy, 2-metylopropanal, 2-metylopropanol, kwas 2-metylopropionowy, 3-metylobutanal, 3-metylobutanol. Dwa ostatnie związki są wymieniane wśród metabolitów tworzonych przez *Brochothrix thermosphacta* (Dainty i Hibbard, 1983, Nychas i wsp., 2008). Związki te odpowiedzialne są za powstawanie, niepożądanego w mięsie i produktach mięsnych, słodkiej, owocowej nuty zapachowej, ich próg wyczuwalności wynosi odpowiednio 0,06 i 4,75 ppm.

Kolejnym enzymem wykrytym u 65% (26) badanych przez mnie szczepów *B. thermosphacta* jest proteaza α -chymotrypsyno-podobna. Enzym ten oprócz udziału w rozkładzie białek mięsa może również rozkładać bakteriocyny syntezowane przez bakterie fermentacji mlekowej. Abdelbasset i Djamila (2008) wykazali, że bakteriocyny tworzone przez *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis* i *Leuconostoc mesenteroides* w obecności α -chymotrypsyny tracą swoją aktywność w stosunku do *Listeria monocytogenes*. Na tej podstawie stwierdziłam, że ***Brochothrix thermosphacta* może negatywnie wpływać na bezpieczeństwo fermentowanych produktów mięsnych poprzez znoszenie aktywności antagonistycznej bakteriocyn bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do patogenów, np. *Listeria monocytogenes*.**

Aby potwierdzić możliwość udziału zewnątrzkomórkowych proteaz *B. thermosphacta* w psuciu mięsa i produktów mięsnych przeprowadziłam badanie ich aktywności w płynach pochodowlanych. 33% (13) przebadanych szczepów wykazywało aktywność proteolityczną w stosunku do albuminy w temperaturze 4°C, a 23% (9) szczepów w temperaturze 25°C. Uzyskane przez mnie wyniki są sprzeczne z wcześniejszymi doniesieniami Braun'a i Sutherland'a (2004), którzy stwierdzili, iż egzoproteazy nie są tworzone przez *B. thermosphacta* w temperaturze poniżej 6°C.

W swoich badaniach dowiodłam, że *Brochothrix thermosphacta* może wykazywać aktywność proteolityczną również w temperaturach chłodniczych stosowanych podczas przetwarzania i dystrybucji mięsa. Proteazy wytwarzane przez bakterie z tego gatunku wykazują różną specyficzność substratową.

Kolejnym pytaniem, które wymagało odpowiedzi było: czy bakterie *Brochothrix thermosphacta* mogą wpływać na jakość zdrowotną produktu poprzez syntezę amin biogennych, bądź intensyfikację ich syntezy przez inne mikroorganizmy. Wyniki badań przedstawiłam w publikacji **H3**:

Nowak A., Czyżowska A. (2011) *In vitro* synthesis of biogenic amines by *Brochothrix thermosphacta* isolates from meat and meat products and the influence of other microorganisms, Meat Science, 88, 571-574, IF₂₀₁₁: 2,275, MNiSW₂₀₁₁: 40pkt

Aminy biogenne obecne w żywności nie są jedynie wskaźnikami zanieczyszczenia mikrobiologicznego, ale mogą powodować zatrucia pokarmowe. Innym ważnym aspektem związanym z obecnością amin biogennych w produktach spożywczych jest możliwość ich przekształcania w związki kancerogenne takie jak N-nitrozoaminy. W literaturze światowej brak jest danych na temat udziału *Brochothrix thermosphacta* w syntezie amin biogennych w mięsie zwierząt rzeźnych i przetworach mięsnych. Pośredni dowód na możliwy udział tych drobnoustrojów przedstawili Paleologos i wsp., (2004). Autorzy izolowali *Brochothrix thermosphacta* z mięsa okonia przechowywanego w lodzie, w którym jednocześnie stwierdzili zwiększoną zawartość amin biogennych - putrescyny, kadaweryny, tyraminy, tryptaminy. Nie ustalili jednak bezpośredniej zależności pomiędzy przyrostem stężenia amin, a namnożeniem *Brochothrix thermosphacta*.

Badaniom poddałam dwadzieścia szczepów *Brochothrix thermosphacta* wyizolowanych z mięsa i produktów mięsnych oraz bakterie czterech innych gatunków, charakterystycznych dla środowiska mięsa. Prowadziłam hodowle monokultur *Brochothrix thermosphacta* oraz *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas* sp. (ATCC 51821), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Lactobacillus sakei* (ATCC 15521), jak również hodowle wspólne sześciu szczepów *B. thermosphacta* z wymienionymi wcześniej bakteriami w pożywkach suplementowanych histydyną i tyrozyną. W płynach pohodowlanych oznaczałam zawartość putrescyny (PUT), kadaweryny (CAD), histaminy (HIS) i tyraminy (TYR) metodą HPLC z zastosowaniem derywatyzacji przedkolumnowej z użyciem chlorku dansylu. Wyizolowane ze środowiska mięsa szczepy *Brochothrix thermosphacta* tworzyły niewielkie ilości histaminy (6,6 do 16,2 ppm) oraz tyraminy (18,7-35,4 ppm). Żaden z badanych szczepów nie tworzył

putrescyny i kadaweryny. W przypadku hodowli wspólnych z innymi bakteriami charakterystycznymi dla środowiska mięsa stężenie histaminy w płynach wzrosło i wynosiło od 7,6 do 69,6 ppm, a tyraminy nie uległo istotnym zmianom (3,33-34,6 ppm). Dawka toksyczna histaminy i tyraminy w żywności jest bardzo trudna do ustalenia, ponieważ zależy od indywidualnej wrażliwości człowieka. Santos (1996) określił, że stężeniem toksycznym tyraminy jest 100-800 ppm. Z kolei bazując na kryteriach dla żywności (Rozporządzenie UE 2073/2007) można założyć, że zawartość histaminy w stężeniu do 200 ppm jest bezpieczna dla konsumenta. Zatem można stwierdzić, że ***Brochothrix thermosphacta* nie wpływa na bezpieczeństwo zdrowotne mięsa i produktów mięsnych poprzez syntezę amin biogennych w ilościach mogących stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumenta.**

W mikrobiologii żywności stosowane jest określenie „potencjał psucia” definiowane jako zdolność mikroorganizmów do tworzenia metabolitów wpływających na jakość organoleptyczną produktu. Jednymi z takich związków są właśnie aminy biogenne. Hernandez - Jover i wsp. (1996) zaproponowali klasyfikację mięsa w oparciu o indeks amin biogennych (BAI), będący sumą zawartości PUT, CAD, HIS i TYR. Zgodnie z tymi kryteriami dla BAI<5 ppm mięso należy uznać za świeże, 5-20 ppm – mięso akceptowalne, ale z początkowymi objawami zepsucia, 20-50ppm – mięso o złej jakości, BAI>50 ppm – mięso zepsute. Oznaczona przez mnie suma stężeń opisywanych amin (21,4-206,7 ppm) zarówno w hodowlach monokultur *Brochothrix thermosphacta* jak i w hodowlach wspólnych z bakteriami stanowiącymi zanieczyszczenie mięsa i produktów mięsnych świadczy o tym, że **jednym z czynników determinujących potencjał psucia *Brochothrix thermosphacta* jest ich zdolność do wytwarzania, a także aktywacji syntezy przez inne mikroorganizmy, amin biogennych.**

Za ważne osiągnięcie uważam udowodnienie, że *Brochothrix thermosphacta* przyczynia się do pojawienia się kadaweryny wśród metabolitów *Pseudomonas*. Amina ta nie została wykryta wśród metabolitów żadnego z wymienionych mikroorganizmów podczas hodowli monokultur. Omawiane zjawisko może być odpowiedzią *Pseudomonas* na stres związany z obniżeniem pH, co prowadzi do aktywacji tzw. systemu Cad w skład którego wchodzi trzy rodzaje białek: regulatorowe CadC, transportujące CadB i enzymatyczne CadA. CadA jest dekarboksylazą lizynową (EC 4.1.1.18) katalizującą reakcję dekarboksylacji lizyny z wytworzeniem kadaweryny, czyli konsekwencją obniżenia pH może być nagromadzenie tej

aminy w środowisku. **Jest to pierwsze doniesienie wskazujące na potencjalną zdolność *Brochothrix thermosphacta* do aktywacji systemu Cad u *Pseudomonas*.**

Kolejnym problemem badawczym, który postanowiłam podjąć było wykazanie, czy możliwe jest ograniczenie namnożenia *Brochothrix thermosphacta* w mięsie przechowywanym w atmosferze modyfikowanej. Ze względu na to, że współczesny, świadomy konsument poszukuje na rynku produktów z ograniczoną zawartością syntetycznych konserwantów, akceptuje natomiast stabilizatory naturalne, do badań postanowiłam zastosować związki pochodzenia roślinnego.

W literaturze światowej znaleźć można wiele doniesień na temat przeciwdrobnoustrojowego działania olejków eterycznych. Moje wątpliwości wzbudzała jednak akceptowalność organoleptyczna produktów zabezpieczonych tymi związkami. Prowadzone na świecie badania, w większości przypadków, ograniczały się do określenia skuteczności ich działania i nie obejmowały oceny organoleptycznej produktów. Nieliczne dostępne dane literaturowe dostarczają sprzecznych informacji. Dla przykładu Ntzimani i wsp. (2010) określili, że zmiany organoleptyczne (smak) mięsa kurczaka przechowywanego w próżni z dodatkiem 0.2% olejku rozmarynowego należy uznać za pożądane. Również Martín-Sánchez i wsp. (2011) wskazują na brak zmian organoleptycznych produktów mięsnych zabezpieczanych olejkiem oregano. Z kolei Frangos i wsp. (2010) opisują nieakceptowalne zmiany smaku pstrąga z dodatkiem 0,4% tego olejku. Również Harpaz, i wsp. (2003) stwierdzili zmiany organoleptyczne okonia morskiego po 33-dniowym przechowywaniu z dodatkiem 0.05% olejku tymiankowego. Do swoich badań wybrałam olejek rozmarynowy i tymiankowy, ze względu na ich potencjalną organoleptyczną akceptowalność w produkcie mięsnym. Wyniki swoich badań przedstawiłam w publikacji **H4**:

Nowak A., Kalembe D., Krala L., Piotrowska M., Czyzowska A. (2012) The effect of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. Food Microbiology, 32, 212-216, IF₂₀₁₂: 3,407, MNiSW₂₀₁₂: 35pkt

W ramach prowadzonych badań zdefiniowałam skład olejków. Podstawowymi składnikami olejku tymiankowego były tymol i p-cymen, natomiast rozmarynowego

1,8-cyneol, limonen i β -pinen. W ramach badań **określiłam minimalne dawki hamujące (MIC) wzrost *Brochothrix thermosphacta*. W przypadku olejku tymiankowego MIC wynosił 0,05%, a rozmarynowego 0,5%.**

Opisywany w literaturze szereg aktywności przeciwdrobnoustrojowej związków wchodzących w skład olejków eterycznych przedstawia się w następujący sposób: fenole>aldehydy>ketony>alkohole>estry>węglowodory. Zatem różnice we wrażliwości bakterii na badane olejki wynikały stąd, że głównym składnikiem olejku tymiankowego był tymol – monoterypen z pierścieniem fenolowym, zaś rozmarynowego, należący do grupy estrów, 1,8-cyneol. W dalszej części badań olejki w stężeniach dwukrotnie wyższych od MIC wprowadzałam do mieszaniny gazów 80%O₂/20%CO₂ (atmosfera modyfikowana), w którą zapakowane zostały próbki mięsa wołowego. Zastosowanie olejków w stężeniu wyższym niż MIC wynikało ze spodziewanego ochronnego działania białek i tłuszczów obecnych w produkcie na komórki bakteryjne. Mięso było przechowywane w temperaturze chłodniczej przez tydzień. Po siedmiodniowym okresie przechowywania w sposób statystycznie istotny w stosunku do próby wyjściowej (czas 0 dni) zwiększyła się ilość drobnoustrojów mezofilnych, psychrotrofowych, LAB oraz bakterii z rodzaju *Brochothrix*. W sposób najbardziej znaczący (o ponad 2 rzędy logarytmiczne) wzrosła liczba LAB, jednak dominujący udział stanowiły *Brochothrix thermosphacta*. Porównując próbki przechowywane w atmosferze bez i z dodatkiem olejków stwierdziłam, że **żaden z badanych olejków nie spowodował istotnych różnic w końcowym namnożeniu *Brochothrix thermosphacta* w mięsie. Nie odnotowałam również różnic w namnożeniu innych grup drobnoustrojów psujących charakterystycznych dla tej matrycy, takich jak: *Enterobacteriaceae* czy *Pseudomonas* sp.** Wykorzystane podczas prowadzonych przeze mnie badań *in situ* olejki przyczyniły się ponadto do utraty akceptowalności organoleptycznej mięsa. Podczas oceny sensorycznej mięsa przechowywanego w atmosferze z dodatkiem olejku tymiankowego 90% panelistów odrzuciło produkt ze względu na zapach, a 60% ze względu na smak. Wołowina przechowywana w atmosferze z dodatkiem olejku rozmarynowego była nieakceptowalna dla 50% panelistów ze względu na zapach, ale już wszystkie osoby biorące udział w ocenie organoleptycznej odrzuciły ją ze względu na smak.

Reasumując należy stwierdzić, że **żaden z badanych olejków nie może znaleźć zastosowania w utrwalaniu mięsa pakowanego w atmosferze modyfikowanej ze względu**

na ochronne działanie składników mięsa na obecne w nim bakterie, jak również na brak akceptowalności organoleptycznej produktu zabezpieczanego w omawiany sposób.

W trakcie dalszych badań postawiłam hipotezę, że alternatywą dla olejków eterycznych w ochronie produktów mięsnych mogą być polifenole roślinne. Wyniki w tym zakresie przedstawiłam w publikacji H5:

Nowak A., Czyzowska A., Efenberger M., Krala L. (2016) Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and black currant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives of meat products. *Food Microbiology*, 59, 142-149, IF_{5-letni}: 3,675, MNiSW₂₀₁₅: 35pkt

W literaturze naukowej znaleźć można wiele doniesień na temat różnej aktywności biologicznej związków polifenolowych, w tym działania przeciwutleniającego, przeciwnowotworowego, przeciwzapalnego i przeciwbakteryjnego. Niektóre związki fenolowe, takie jak resweratrol, hydroksytyrozol, kwercetyna i szereg kwasów fenolowych, hamują wzrost drobnoustrojów chorobotwórczych (Bancirova, 2010; Cushine, Lamb, 2005; Perumala, Hettiarachchy, 2011; Serra i wsp., 2008). Prowadzone są również badania nad wpływem ekstraktów polifenolowych na jakość mikrobiologiczną produktów mięsnych. Hayes i wsp. (2010) stwierdzili, że ekstrakt z liści oliwek obniża ogólną liczbę drobnoustrojów w surowych pasztecikach wołowych, przechowywanych w warunkach tlenowych jak również w atmosferze modyfikowanej. Feng i wsp. (2012) wykazali, że polifenole herbaty mogą skutecznie hamować wzrost bakterii podczas chłodniczego przechowywania kantara (*Spondyliosoma cantharus*). Również według Li i wsp. (2012), polifenolowy ekstrakt z liści herbaty może przedłużyć okres przydatności do spożycia chłodniczo przechowywanego karasia. Można zatem przyjąć, że ekstrakty polifenolowe z różnych roślin mogą być wykorzystane do poprawy jakości mikrobiologicznej produktów mięsnych.

Zarówno dane literaturowe jak i badania w ramach projektu „FLAWOPIRYNA” (UDA-POIG.01.03.01-10-129/08-00), prowadzone przez zespół prof. dr hab. Marii Koziółkiewicz na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności, wskazywały że liście wielu roślin mogą być interesujące jako źródło ekstraktów polifenolowych o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwutleniającej. Bardzo istotnym dla mnie elementem badań jest możliwość wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce przemysłowej. Żeby było to

możliwe opracowana technologia musi spotkać się z akceptacją konsumentów. Współczesny konsument coraz częściej przejawia postawy etnocentryczne, sięga po kuchnię, która wyrosła z jego tradycji żywieniowych, opierającą się na surowcach pochodzących z regionu. W Polsce znane jest wykorzystanie liści wiśni i porzeczki jako dodatków do kiszzonek, zatem założyłam, że ich zastosowanie będzie w pełni akceptowalne.

Zawartość polifenoli w badanych przeze mnie ekstraktach z liści wiśni i czarnej porzeczki wynosiła odpowiednio 3,17 i 2,17 mg/g w przeliczeniu na kwas galusowy. Skład ekstraktów oznaczyłam stosując technikę LC-MS i HPLC. W ekstrakcie z liści wiśni obecne były kwasy fenolowe: galusowy, protokatechowy, neochlorogenowy, chlorogenowy i kumarowy oraz flawonoidy: epigalokatechina oraz glikozydy kwercetyny i kamferolu. Głównym składnikiem był kwas kumarowy (32%). W ekstrakcie z liści czarnej porzeczki znajdowało się pięć kwasów fenolowych (galusowy, neochlorogenowy, syringowy, chlorogenowy, pochodna kwasu kawowego) i pięć związków z grupy flawonoidów (epigalokatechina, glikozyd kwercetyny oraz trzy pochodne kamferolu: galaktozyd, rutynozyd i glukozyd). Głównymi składnikami były kwas galusowy (35%) i pochodna kwercetyny (40%).

Badane ekstrakty roślinne posłużyły do przygotowania średniorozdrobnionych, wędzonych kiełbas doświadczalnych, w których zastąpiły azotany (III) w mieszance peklującej. Ekstrakt z liści wiśni dodawałam w ilości odpowiadającej 1,59 mg polifenoli/100 g kiełbasy, a z liści porzeczki 2,17 mg polifenoli/100 g kiełbasy. W trakcie badań wstępnych określiłam, że są to stężenia wpływające na parametry wzrostu (obniżenie maksimum swoistej szybkości wzrostu, wydłużenie trwania lagfazy) *Brochothrix thermosphacta* (Nowak i wsp., 2015). Próbkami odniesienia były kiełbasy wykonane z dodatkiem azotanu (III) sodu oraz bez żadnego z omawianych dodatków. Po pierwszych dwóch tygodniach przechowywania zapakowanej próżniowo kiełbasy w warunkach chłodniczych dodatek ekstraktów polifenolowych pozwolił na obniżenie liczebności *Brochothrix thermosphacta* o ponad dwa rzędy logarytmiczne w stosunku do próbki przygotowanej bez żadnego z dodatków. Znacząco niższa była również liczebność innych grup drobnoustrojów charakterystycznych dla matrycy mięsnej (ogólna liczba mezofili, psychrotrofów, liczba bakterii fermentacji mlekowej). Po kolejnych dwóch tygodniach przechowywania jakość mikrobiologiczna kiełbas była podobna, niezależnie od metody peklowania. Dzięki zastosowaniu analizy chemometrycznej wykazałam, że po 14 dniach produkt przygotowany bez dodatków wykazuje jakość mikrobiologiczną zbliżoną do kiełbas peklowanych

z zastosowaniem azotanu (III) i ekstraktów roślinnych przechowywanych chłodniczo o dwa tygodnie dłużej. **Dowiodłam, że skuteczność przeciwdrobnoustrojowa badanych ekstraktów polifenolowych jest zbliżona do skuteczności azotanu (III) sodu.**

Badalam również wpływ ekstraktów polifenolowych na złożony mikrobiologiczny ekosystem produktów mięsnych. Zastosowałam metodę opartą na zdolności mikroorganizmów do katabolizowania różnych źródeł węgla (Community Level Physiological Profiling). Zawiesiną zawierającą złożoną populację drobnoustrojów, uzyskaną z badanych produktów po 2 oraz po 28 dniach przechowywania chłodniczego, inokulowałam płytki Biolog EcoPlate™, zawierające 31 źródeł węgla. W analizie wyników wykorzystałam metodę Garland'a i Mills'a (1991) gdzie miarą aktywności metabolicznej drobnoustrojów jest parametr AWCD (Average Well Color Development). Wartość AWCD obniżała się w trakcie przechowywania kiełbas wytworzonych z azotanem (III) sodu oraz z polifenolami z liści, podczas gdy w produkcie bez żadnego z tych dodatków zwiększała się. **Dowiodłam, że zastosowanie ekstraktów polifenolowych z liści pozwala, poprzez obniżenie aktywności metabolicznej drobnoustrojów obecnych w produkcie, na spowolnienie procesu psucia.**

W prowadzonych badaniach nie ograniczyłam się jedynie do określenia wpływu ekstraktów na wskaźniki mikrobiologiczne. Określenie zawartości dialdehydu malonowego pozwoliło mi na udowodnienie, że **ekstrakty polifenolowe z liści wiśni i porzeczki zabezpieczają produkt przed zmianami oksydacyjnymi.** Jakość organoleptyczna produktu była bardzo wysoka przez 14 dni przechowywania. Barwa produktów zawierających ekstrakty dopiero po czterech tygodniach uległa nieznacznemu pogorszeniu, w stosunku do kiełbas z azotanem (III) sodu. Korelowało to z analizą CIELab, podczas której stwierdzono, że kiełbasy peklowane z zastosowaniem azotanów (III) wykazują znacznie wyższą składową czerwoną barwy, jednakże obniżenie ich jasności w trakcie przechowywania wpłynęło na pojawienie się różnicy barw w przestrzeni CIELab na poziomie odbieranym przez obserwatora jako dwie różne barwy, podczas gdy w kiełbasach z dodatkiem ekstraktów roślinnych różnica ta była mniejsza.

Bardzo obiecujące wyniki badań, ich oryginalność i charakter aplikacyjny pozwoliły na wniesienie dwóch zgłoszeń patentowych dotyczących sposobu peklowania mięsa z zastosowaniem ekstraktów roślinnych.

P413062 Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M. Sposób peklowania mięsa przeznaczonego na farsz do kielbas, data zgłoszenia 8.07.2015

P413063 Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M. Sposób peklowania mięsa przeznaczonego na farsz do kielbas, data zgłoszenia 8.07.2015

Pierwsze ze zgłoszeń dotyczy zastosowania w mieszance peklującej ekstraktu z liści wiśni, natomiast drugie ekstraktu z liści czarnej porzeczki. Mój indywidualny wkład w oba zgłoszenia patentowe wynosi po 60%.

Moje najbliższe plany naukowe stanowią kontynuację badań nad zastosowaniem preparatów polifenolowych z liści drzew i krzewów owocowych rosnących w Polsce w procesie utrwalania produktów mięsnych. Już pierwsze wyniki wskazują na wysoki potencjał przeciwdrobnoustrojowy ekstraktów liści jabłoni oraz pigwowca, a szczególnie zawierających oprócz polifenoli również grupę irydoidów ekstraktów z liści derenia. Podczas dalszych badań określając, z zastosowaniem mikroskopii sił atomowych (AFM), nanomechaniczne i fizyczne właściwości komórek bakteryjnych, takie jak elastyczność, siły adhezji, moduł Younga postaram się wyjaśnić mechanizm działania polifenoli na bakterie gramdodatnie i gramujemne. Planuję również określenie wpływu ekstraktów polifenolowych na syntezę kwasów nukleinowych przez bakterie charakterystyczne dla środowiska mięsa.

Za najważniejsze osiągnięcia opisanych badań zawartych w jednotematycznym cyklu publikacji uważam wykazanie, że:

- Bakterie *Brochothrix thermosphacta* powszechnie (w 98% przebadanych próbek) występują w mięsie i produktach mięsnych dostępnych na polskim rynku. Ich poziom namnożenia w mięsie z reguły wynosi od 10^5 do 10^6 jtk/g, a w produktach mięsnych od 10^5 do 10^7 jtk/g, jednak może sięgać nawet 10^8 jtk/g. Najwyższy poziom zanieczyszczenia występuje szczególnie licznie w wędlinach niepakowanych.
- Bakterie *Brochothrix thermosphacta* stanowią dominującą część mikroflory mięsa pakowanego w atmosferze modyfikowanej o zwiększonej zawartości tlenu i produktów mięsnych przechowywanych w atmosferze powietrza (do 98% mikroflory mezofilnej).

- Wszystkie szczepy *Brochothrix thermosphacta* fermentują glukozę, rybozę, fruktozę, maltozę, sacharozę, trehalozę i gentobiozę. Różnice międzyszczepowe wynikają ze zdolności do asymilacji następujących związków: inozytol, mannitol, arbutyna, D-tagatoza, amigdalina, salicyna, celobioza.
- Lipazy *Brochothrix thermosphacta* hydrolizują wiązania estrowe glicerolu i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Lipaza esteraza C8 nie jest wydzielana przez bakterie do środowiska lecz pozostaje związana z komórką. Pałeczki *Brochothrix thermosphacta* nie są więc odpowiedzialne za proces lipolizy w mięsie zwierząt rzeźnych, gdyż w surowcu tym występują przede wszystkim estry długołańcuchowych kwasów tłuszczowych.
- *Brochothrix thermosphacta* tworzy proteazy o różnej specyficzności substratowej, również w temperaturze chłodniczej (4°C) stosowanej podczas przetwarzania i dystrybucji mięsa, zatem aktywność psucia *Brochothrix thermosphacta* może być związana z rozkładem białek obecnych w produkcie.
- *Brochothrix thermosphacta* syntetyzuje proteazę α -chymotrypsyno podobną. Ponieważ enzym ten rozkłada bakteriocyny produkowane przez bakterie fermentacji mlekowej, *Brochothrix thermosphacta* potencjalnie może wpływać na bezpieczeństwo fermentowanych produktów mięsnych poprzez znoszenie aktywności antagonistycznej bakteriocyn bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do patogenów, np. *Listeria monocytogenes*.
- *Brochothrix thermosphacta* tworzy histaminę i tyraminę w ilości nie przekraczającej dawek toksycznych, jednak aminy tworzone przez *Brochothrix thermosphacta* mogą wpływać na jakość organoleptyczną produktów, co oznacza, że jednym z czynników determinujących potencjał psucia tych drobnoustrojów jest ich zdolność do tworzenia amin biogennych.
- *Brochothrix thermosphacta* aktywuje tworzenie przez bakterie *Pseudomonas* kadaweryny w ilości mogącej w sposób znaczący obniżyć jakość organoleptyczną produktów.
- *Brochothrix thermosphacta* jest wrażliwy na olejek tymiankowy (MIC 0,05%) oraz rozmarynowy (MIC 0,5%). Jednakże żaden z wymienionych olejków nie może znaleźć

zastosowania w utrwalaniu mięsa pakowanego w atmosferze modyfikowanej ze względu na brak akceptowalności organoleptycznej produktu zabezpieczanego z ich udziałem.

- Skuteczność przeciwdrobnoustrojowa polifenoli obecnych w ekstraktach z liści wiśni i czarnej porzeczki jest zbliżona do skuteczności azotanu (III) sodu. Powodują one obniżenie namnożenia mikroflory saprofitycznej podczas pierwszych dwóch tygodni przechowywania o 1 do 3 rzędów logarytmicznych.
- Zastosowanie ekstraktów z liści wiśni i czarnej porzeczki pozwala na obniżenie aktywności metabolicznej mikroorganizmów obecnych w produktach mięsnych, a co za tym idzie na spowolnienie procesu psucia produktu. Ekstrakty te zabezpieczają również produkt mięsny przed zmianami oksydacyjnymi lipidów.
- Namnożenie powszechnie występujących w mięsie i produktach mięsnych bakterii *Brochothrix thermosphacta*, których potencjał psucia nie jest związany jedynie z metabolizmem węglowodanów, ale również z aktywnością proteolityczną i zdolnością do tworzenia amin biogennych, może być skutecznie ograniczane z zastosowaniem ekstraktów polifenolowych z liści wiśni i czarnej porzeczki

Cytowana literatura

1. Abdelbasset, M., Djamil, K. (2008). *Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk "Raïb"*. Afr. J. Biotechnol., 7, 2908–2914.
2. Bancirova, M., (2010). *Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea*. Food Res. Int. 43, 1379–1382
3. Berruga M. I., Vergara H., Gallego L. (2005) *Influence packaging condition on microbial and lipid oxidation in lamb meat*, Small Rum. Res., 57, 257-264
4. Bhaskar, N., Sudeepa, E.S., Rashmi, H.N. & Tamil Selvi A., (2007). *Partial purification and characterization of protease of Bacillus proteolyticus CFR3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities*. Bioresur. Technol., 98, 2758-2764.
5. Borch E., Kant-Muermans M.L., Blixt Y., (1996) *Bacterial spoilage of meat and cured meat products*, Int. J. Food Microbiol., 33, 103-120
6. Braun P., Sutherland J.P., (2004) *Predictive modelling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of Brochothrix thermosphacta*, Int. J. Food Microbiol., 95, 169-175

7. Braun, P., Buchner, S. & Fehlhaber K., (2001). *Quantitative Bestimmung von Lipasen und deren Hitzestabilität in Lebensmitteln tierischer Herkunft*. Berl. Munch. Tierarztl., 115, 24-29.
8. Collins-Thompson D.L., Rodriguez-Lopez G., (1980) *Influence of sodium nitrite, temperature and lactic acid bacteria on the growth of Brochothrix thermosphacta under anaerobic condition*, Can. J. Microbiol., 26, 1416-1421
9. Cushine, T.P.T., Lamb A.J., (2005). *Antimicrobial activity of flavonoids*. Int. J. Antimicrob. Ag. 26, 343–356
10. Dainty, R. H., Hibbard, C. M. (1983). *Precursor of the major end products of aerobic methabolism of Brochothrix thermosphacta*, J. Appl. Bacteriol., 545, 127–133
11. Feng L., Jiang T., Wang Y., Li J. (2012) *Effect of tea polyphenol coating combined with ozone water washing on the storage quality of black sea bream (Sparus macrocephalus)*, Food Chem., 135, 2915-2921
12. Frangos L., Pyrgotou N., Giatrakou V., Ntzimani A., Savvaidis I.N. (2010) *Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets*. Meat Sci., 27, 115–121
13. Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V., & Gelman, A., (2003). *Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwaterreared Asian sea bass fish (Lates calcarifer)*. J. Food Prot., 66, 410–417.
14. Hayes J.E., Stepanyan V., Allen P., O'Grady M.N., Kerry J.P. (2010) *Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties*. Meat Sci., 84, 613-620
15. Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Vecina-Ngues, M. T., Vidal-Carou, M. C. (1996). *Biogenic amine source in cooked cured shoulder pork*. J. Agric. Food Chem., 44, 3097–3101
16. Labadie J., (1999) *Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche*, Meat Sci., 52, 299-305
17. Leszczyńska-Fik A., Fik M., (2002) *Jakość mikrobiologiczna próżniowo pakowanych wędlin plasterkowanych*, Żywność, 33, 52-60
18. Li T., Li J., Hu W., Zhang X., Li X., Zhao J., (2012) *Shelf-life extension of crucian carp (Carassius auratus) using natural preservatives during chilled storage*. Food Chem., 135, 140-145
19. Martín-Sánchez A. M., Chaves-López C., Sendra E., Sayas E, Fenández-López J., Pérez-Álvarez J. A. (2011) *Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor*. Meat Sci., 89, 35–44
20. Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M., (2015) *The impact of polyphenolic extracts from blackcurrant and cherry leaves on Brochothrix thermosphacta growth*. International Conference, Biologically Active compounds in Food, Łódź, Biotechnology and Food Science, Book of Abstracts, 67
21. Nowak A., Rygała A., (2006) *Brochothrix thermosphacta jako organizm odpowiedzialny za psucie produktów mięsnych*, Kalejdoskop Mięsny, 4, 54-57

22. Ntzimani, A.G., Gitrakou, V.I., & Savvaidis, I.N. (2010). *Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4°C: Microbiological and sensory evaluation*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 11, 187-196.
23. Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, Ch. C., Koutsoumanis, K. P. (2008). *Meat spoilage during distribution*. *Meat Sci.*, 78, 77–89.
24. Paleologos E.K., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., (2004) *Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*)*, *Food Microbiol.*, 21, 549-557
25. Perumala ,A.V.S, Hettiarachchy N.S., (2011). *Green tea and grape seed extracts – Potential applications in food safety and quality*. *Food Res. Int.* 44, 827–839.
26. Rodriguez-Calleja J.M., Garcia-Lopez M.L., Santos J.A., Otero A., (2005) *Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat*, *Meat Sci.*, 70, 389-394
27. Santos M.H.S., (1996) *Biogenic amines: Their importance in foods*, *J. Food Microbiol.*, 29, 213-231
28. Serra, A.T., Matias, A.A., Nunes, A.V.M., Leitao, M.C., Brito, D., Bronze, R., Silva, S., Pires, A., Crespo, M.T., San Romao, M.V., Duarte C.M., (2008). *In vitro evaluation of olive and rapebased extracts as potential preservatives for food*. *Innov. Food Sci. Emerg.* 9, 311–319
29. Sultzbacher W.L., McLean R.A., (1951) *The bacterial flora of fresh pork sausage*, *Food Technol.*, 5, 7-8
30. Witek A., Guertzoni M.E., Robak M., (2005) *Wpływ pakowania w modyfikowanej atmosferze na rozwój mikroflory mielonego mięsa króliczego*, *Acta Sci. Pol. Biotech.*, 4, 33-42

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

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

1. Tworzenie siarkowodoru przez drożdże w procesie fermentacji moszczów owocowych
2. Mikroorganizmy w procesach fermentacji alkoholowej
3. Systemy pakowania a trwałość produktów spożywczych
4. Chitozan w przetwórstwie mięsa
5. Analiza ryzyka mikrobiologicznego
6. Dekontaminacja surowców przyprawowych z zastosowaniem ozonu

7. Prawo żywnościowe

5.1. Tworzenie siarkowodoru przez drożdże w procesie fermentacji moszczów owocowych (badania w ramach rozprawy doktorskiej)

Badania, które prowadziłam w ramach mojej pracy doktorskiej były skoncentrowane na metabolizmie związków siarki przez drożdże winiarskie. Dokonałam oceny wpływu związków siarki (IV), w tym w obecności różnych stężeń jonów amonowych, na dynamikę wzrostu drożdży winiarskich. Stwierdziłam, że obniżenie zawartości azotu w środowisku oraz wzrost stopnia sulfitacji intensyfikuje proces tworzenia siarkowodoru przez kultury winiarskie, w stopniu zależnym od rasy drożdży. Różnice w uzdolnieniach poszczególnych populacji do nadprodukcji H₂S potwierdziłam badaniami nad aktywnością reduktazy siarczynowej drożdży (EC 1.8.1.2), enzymu bezpośrednio uczestniczącego w tworzeniu siarkowodoru. Wyniki badań prowadzonych przeze mnie w tym zakresie były opublikowane w *European Food Research and Technology* (IF₂₀₀₄ 1,084) i cytowane w prestiżowych czasopismach naukowych, takich jak *Food Chemistry* (IF 4,052), *Applied Microbiology and Biotechnology* (IF 3,376), *FEMS Yeast Research* (IF 2,479) czy *Journal of Food Science* (IF 1,649).

Ze względu na stwierdzony, silny wpływ źródła azotu na tworzenie siarkowodoru prowadziłam fermentację moszczów jabłkowych wzbogaconych różnymi preparatami azotowymi. Wykazałam, że preparaty zawierające autolizaty drożdżowe intensyfikują tworzenie H₂S, ze względu na wysoką zawartość cysteiny. Badane drożdże poddałam ocenie pod kątem przydatności technologicznej, prowadząc analizę chemiczną oraz organoleptyczną otrzymanych przy ich udziale win. W badaniach nad tworzeniem głównych i ubocznych produktów fermentacji wykorzystałam technikę HPLC. Efektem była rekomendacja wybranych szczepów drożdży winiarskich do fermentacji moszczów sulfitowanych w oparciu o przyjęte kryteria – odporność na siarkowanie oraz na niedobór azotu, tworzenie małych ilości siarkowodoru, wydajna konwersja substratów cukrowych do etanolu, tworzenie produktów ubocznych nadających winom pozytywne cechy organoleptyczne. Część badań wykonanych w ramach pracy doktorskiej była finansowana przez KBN w ramach Grantu Promotorskiego (5 P06G 031 18), którego byłam wykonawcą. Wyniki badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej były przedmiotem publikacji w *European Food Research and*

Technology (IF₂₀₀₄ 1,084) oraz w Przemśle Fermentacyjnym i Owocowo-Warzywnym. Były również prezentowane na jednej konferencji międzynarodowej i pięciu krajowych (*załącznik 4, II.A.1, II.D.3, III.B.1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9*).

Ważniejsze publikacje:

1. **Nowak A**, Kusewicz D., Kalinowska H., Turkiewicz M., Patelski P. (2004), Production of H₂S and properties of sulfite reductase from selected strains of wine-producing yeasts, *European Food Research and Technology*, 219 (1), 84-89, IF₂₀₀₄: 1,084, MNiSW₂₀₀₄: 30pkt
2. Kusewicz D., **Nowak A.**, Rokiciński E., (2002) Wpływ SO₂ na morfologię i fizjologię drożdży winiarskich. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 49 (12), 29-31

5.2. Mikroorganizmy w procesach fermentacji alkoholowej

Tematykę związaną z wykorzystaniem drobnoustrojów w procesach fermentacji alkoholowej kontynuowałam we współpracy z dr hab. inż. Eugeniuszem Pogorzelskim, prof. PŁ. Badania te dotyczyły wykorzystania drożdży kriotolerancyjnych w winiarstwie owocowym. Dowiodłam, że ilość produktów ubocznych (glicerol, kwasy organiczne, inne lotne składniki) zależy od temperatury fermentacji i specyficznych uzdolnień szczepów drożdży winiarskich. Szczepy zimnolubne stosowane w winiarstwie owocowym pozwalają na uzyskanie produktu końcowego o bogatszym profilu związków aromatu. Prowadziłam także badania dotyczące tworzenia karbaminianu etylu przez drożdże winiarskie. Wykazałam, że zastosowanie autolizatów drożdżowych w celu suplementacji moszczu w związki azotu pozwala na ograniczenie tworzenia karbaminianu etylu. W przypadku niektórych ras drożdży winiarskich obserwowane było nawet trzykrotnie niższe stężenie tego niekorzystnego związku w winie w stosunku do fermentacji suplementowanych fosforanem (V) diamonu. Wyniki prowadzonych badań były publikowane w *Biotechnology and Food Science* oraz *Przemśle Fermentacyjnym i Owocowo-Warzywnym*. Były również prezentowane w postaci jednego komunikatu na konferencji międzynarodowej oraz trzech na konferencjach krajowych (*załącznik 4, II.D.2, 3, 4; III.B.29, 38, 39, 40*). W ostatnich latach prowadziłam badania nad przydatnością drożdży do produkcji cydrów. Wieloletnie doświadczenie w zakresie fermentacji moszczów jabłkowych zaowocowało współpracą z przedsiębiorstwem **Ambra S.A.**, Wola Duża. Jako wykonawca biorę udział w badaniach w ramach pracy

naukowo-badawczej „Poprawa jakości procesu fermentacyjnego” (I-31/399/B/2013). Zakres prowadzonych badań objęty jest klauzulą poufności.

W latach 2005-2007 uczestniczyłam jako główny wykonawca w projekcie KBN 2 P06T 01326 **Interakcje polifenoli i drożdży w procesie fermentacji moszczów owocowych** (kierownik dr inż. Agata Czyżowska). W ramach projektu zajmowałam się charakterystyką β -glukozydazy (antocyjanazy) izolowanej z komórek drożdży winiarskich. Dobrałam metodę izolacji enzymu, wyznaczyłam energię aktywacji oraz stałe: Michaelisa i katalityczną, zbadałam wpływ temperatury, pH na aktywność i stabilność enzymu, jak również: wpływ stężenia glukozy i etanolu na jego aktywność. Określiłam lokalizację enzymu w komórce drożdżowej. Dowiodłam, że antocyjanaza jest enzymem związanym ze ścianą komórkową drożdży. Izolacja białka prowadzi do zmiany jego struktury i utraty aktywności. Enzym wykazuje aktywność w stosunku do barwników antocyjanowych występujących zarówno w winach gronowych jak i porzeczkowych. Jednocześnie izolowana z komórek drożdży winiarskich β -glukozydaza jest około 100-krotnie bardziej aktywna w stosunku do pNPG (p-nitrofenylo- β -D-glukuronid), niż do barwników antocyjanowych. Świadczy to o tym, że drożdże *Saccharomyces cerevisiae* są zdolne do wzmacniania aromatu wina przy jednoczesnej niskiej utracie barwy wyrobu. We współpracy z dr inż. Agatą Czyżowską prowadziłam również badania wpływu drożdży na zawartość związków bioaktywnych w winach z owoców dzikiej róży oraz owoców derenia. Ponadto w ramach badań dotyczących mechanizmu detoksykacji ochratoksyny A (OTA) przez drożdże w procesie fermentacji winiarskiej prowadzonych przez zespół dr hab. inż. Małgorzaty Piotrowskiej wykazałam, że toksyna ta wpływa na tempo wzrostu drożdży głównie przez wydłużenie lag-fazy. Zastosowanie odpowiednio dobranych szczepów drożdży pozwala na ograniczenie zanieczyszczenia moszczy przez OTA (adsorpcja toksyny na ścianach komórkowych), przy jednocześnie wydajnym prowadzeniu procesu. Wyniki były przedmiotem publikacji w *European Food Research and Technology* (IF₂₀₁₃ 1,436), *Journal of Food Composition and Analysis* (IF₂₀₁₅ 2,780) oraz doniesienia na konferencji międzynarodowej (załącznik 4, II.A.2, 4; III.B.17).

W latach 2014-2015 brałam udział jako wykonawca w realizacji projektu PBS2/B8/9/2013 **Nowoczesne technologie produkcji okowit uwzględniające ich**

przyspieszone dojrzewanie oraz poprawę stabilności fizyko-chemicznej (kierownik dr hab. inż. Maria Balcerek). W ramach zadania 2 „Fermentacja etanolowa zacierów śliwkowych i zbożowych” oraz zadania 5 „Otrzymywanie destylatów zbożowych – próby w warunkach przemysłowych”, określiłam wpływ sposobu zacierania oraz składu surowcowego zacierów na układ mikroflory w procesie fermentacji. Dowiodłam wysoką skuteczność α -kwasów chmielowych w ograniczaniu wzrostu, niepożądanych w procesie fermentacji, bakterii fermentacji mlekowej. Wykazałam również, że ze względu na niski poziom namnożenia drożdży fermentacyjnych na surowcach (śliwkach i rodzynekach) proces spontanicznej fermentacji śliwowej jest o 11 do 12 dni dłuższy niż w przypadku fermentacji prowadzonych z wykorzystaniem handlowych preparatów drożdży *Saccharomyces bayanus*. Ponadto obecne na rodzynekach drożdże *Kloeckera apiculata* przyczyniały się do intensyfikacji tworzenia octanu etylu. Wyniki otrzymane w ramach badań są przedmiotem publikacji w Journal of the Institute of Brewing (IF_{5-letni} 1.363) oraz doniesień na konferencji międzynarodowej (załącznik 4, II.A.6; III.B.18, 20). Kolejna publikacja, zatytułowana „The evaluation of fermentation efficiency and microbial contamination of distillery mashes prepared with amylolytic enzymes of microbial and plant origin by using different methods of starch liberation” w chwili obecnej znajduje się w recenzji w Journal of the Science of Food and Agriculture (IF 2,076).

Od 2014 roku do chwili obecnej współpracuję z browarem **Fuhrmann S.A.**, Połczyn Zdrój. W ramach współpracy określam przydatność technologiczną drożdży fermentacyjnych jak również prowadzę dobór drożdży do prowadzonych w przedsiębiorstwie procesów fermentacji brzożki piwnej.

Ważniejsze publikacje:

1. Piotrowska M., **Nowak A.**, Czyżowska A., (2013) Removal of ochratoxin A by wine *Saccharomyces cerevisiae* strains. European Journal of Food Research and Technology, 236, 441-447, IF₂₀₁₃: 1,436, MNiSW₂₀₁₂: 30pkt
2. Czyżowska A., Klewicka E., Pogorzelski E., **Nowak A.**, (2015) Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina* L., and *Rosa rugosa* Thunb. Journal of Food Composition and Analysis, 39, 62-68, IF₂₀₁₅: 2,780, MNiSW₂₀₁₅: 35pkt
3. Pielech-Przybylska K., Balcerek M., **Nowak A.**, Patelski P., Dziekońska-Kubczak U., (2016) Influence of yeast on the yield of fermentation and volatile profile of Węgierka Zwykła plum distillates. Journal of the Institute of Brewing, 122, 612-623, IF_{5-letni}: 1.363, MNiSW₂₀₁₅: 25pkt

4. **Nowak A.**, Koch-Wilk M., Pogorzelski E., Czyżowska A., (2013) Effect of nitrogen source on fermentation process and formation of hydrogen sulfide and ethyl carbamate by wine yeast., *Biotechnology and Food Science*, 77(1), 11-23, MNiSW₂₀₁₃: 2pkt
5. Kusewicz D., Rokiciński E., **Nowak A.**, (2004) Aktywność wzrostowa i fermentacyjna kriotolerancyjnych drożdży winiarskich, *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 1, 20-22,

W recenzji

Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Nowak A., Patelski P., The evaluation of fermentation efficiency and microbial contamination of distillery mashes prepared with amylolytic enzymes of microbial and plant origin by using different methods of starch liberation, *Journal of the Science of Food and Agriculture (IF₂₀₁₅ 2,076)*.

5.3. Systemy pakowania a trwałość produktów spożywczych

Ważnym obszarem mojej aktywności naukowej jest tematyka związana z bezpieczeństwem mikrobiologicznym żywności. Od ponad 14 lat zajmuję się badaniami dotyczącymi nowoczesnych technik pakowania żywności. Szczególne miejsce zajmuje tu pakowanie próżniowe i w atmosferze modyfikowanej. W ramach prowadzonych we współpracy z przemysłem dwóch prac naukowo-badawczych, których byłam kierownikiem, („**Jakość mikrobiologiczna wyrobów sojowych**” 2005, Polgrunt sp. z o.o., Dąbrówka k/Zgierza oraz „**Trwałość owoców poddanych suszeniu za pomocą energii mikrofalowej w obniżonym ciśnieniu**” 2012-2013, MicroFood Piotr Barczyk, Ostrzeszów) zajmowałam się doбором mieszanki gazów otaczających produkt oraz materiału opakowaniowego o odpowiedniej barierowości, tak aby zapewnić bezpieczeństwo i trwałość produktu gotowego. Wyniki badań są własnością partnerów przemysłowych. Moja wiedza z tego zakresu została również wykorzystana w **dwóch licencjach na stosowanie know-how** udzielonych zakładom przetwórstwa owocowo-warzywnego w 2015 roku (Gałązka-Czarnecka I., Budryn G., Czarnecki A., Nowak A., Metoda pakowania próżniowego/napełniania opakowań oraz Gałązka-Czarnecka I., Budryn G., Czarnecki A., Nowak A., Metoda pasteryzacji i pakowania próżniowego warzyw korzeniowych).

W 2014 odbyłam **6 miesięczny staż w Zakładach Przemysłu Mięnego** Miazek w Rokicinach, w ramach projektu „Nauka i biznes to dobre połączenie: POKL.08.02.01-10-

001/13, podczas którego zajmowałam się opracowaniem innowacji produktowej polegającej na zmianie sposobu pakowania produktu gotowego.

Efektom moich prac dotyczących trwałości produktów spożywczych w zależności od systemu pakowania są publikacje w czasopismach Polish Journal of Food and Nutrition, Biotechnology oraz Żywność Nauka Technologia Jakość oraz rozdział w monografii Product and packaging. Quality and logistics aspects (*załącznik 4, II.D.27, 29, 28, 30*). Wyniki badań były prezentowane na dwóch konferencjach międzynarodowych i jednej krajowej (*załącznik 4, III.B.11, 13, 21, 41*) są również przedmiotem raportów wewnętrznych z prowadzonych prac badawczych.

Ważniejsze publikacje:

1. **Nowak A.**, Krysiak E., (2005) Predominant microflora of vacuum-packed frankfurters; Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 14/55 SI 1, 91-94, *MSWiN₂₀₀₅ 6pkt*
2. **Nowak A.** (2006) Jakość mikrobiologiczna sera tofu pakowanego próżniowo, Żywność. Nauka Technologia Jakość, 1(46)Supl., 73-79; *MSWiN₂₀₀₆ 3pkt*
3. **Nowak A.**, Rygała A, (2008) Influence of packaging method on bacterial flora of meat products, International Symposium on New Research in Biotechnology, Bukareszt, Rumunia, Biotechnology, 2008, Serie F (ISSN 1224-7774), 283-288; *MSWiN₂₀₀₈ 2pkt*
4. **Nowak A.**, The effect of packaging systems on microbiological quality of products. W: Lewandowski J., Jałmużna I., Sekieta M. (red) Product and packaging. Quality and logistics aspects., Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2010, 81-106. ISBN 978-83-7283-430-0

Licencje:

1. Gałązka-Czarnecka I., Budryn G., Czarnecki A., **Nowak A.**, Metoda pakowania próżniowego/napełniania opakowań, licencjobiorca: Zakład Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Waldiben” Józef Bęben, Działoszyn, data udzielenia licencji 16.09.2015
2. Gałązka-Czarnecka I., Budryn G., Czarnecki A., **Nowak A.**, Metoda pasteryzacji i pakowania próżniowego warzyw korzeniowych, licencjobiorca: VICTUS Mielczarek i Kowalski Sp. j., Działoszyn, data udzielenia licencji 16.09.2015

5.4. Chitozan w przetwórstwie mięsa

Chitozan jest łańcuchowym poliaminosacharydem otrzymywanym w reakcji deacetylacji chityny. Jego źródłem są przede wszystkim skorupiaki, ale również grzyby strzępkowe z klasy *Zygomycetes*. Jest związkiem nietoksycznym, biodegradowalnym, biofunkcyjnym i biokompatybilnym. Istotną zaletą chitozanu jest to, że nie jest metabolizowany

w przewodzie pokarmowym człowieka i może pełnić funkcję błonnika pokarmowego. W ostatnich latach aktywność przeciwutleniająca i przeciwdrobnoustrojowa chitozanu pozostaje w kręgu zainteresowań wielu badaczy. Prowadzone są badania nad zastosowaniem chitozanu jako składnika osłonek produktów mięsnych. Dotychczas nie badano jednak skuteczności przeciwdrobnoustrojowej chitozanu dodanego do wieloskładnikowych produktów żywnościowych, w tym produktów mięsnych.

Badania dotyczące zastosowania chitozanu w przetwórstwie mięsa prowadzę od 2009 roku we współpracy z Zakładem Przechowalnictwa i Dystrybucji Żywności, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ. W badaniach prowadzonych *in vitro* wykazałam, że efekt bakteriostatyczny zależy od masy molekularnej i stężenia chitozanu jak również od rodzaju bakterii. Określiłam, że spośród badanych chitozanów (45 kDa, 68 kDa, 135 kDa) najskuteczniejsze działanie hamujące wzrost bakterii wykazywał związek o masie cząsteczkowej 135 kDa. Wykazałam, że oporność na działanie chitozanu związana jest z aktywnością egzochitynazy - N-acetylo- β -glukozamidazy (EC 3.2.1.52). Bakterie gramdodatnie z rodzajów *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Brochothrix*, *Bacillus* nie wykazujące aktywności tego enzymu, były jednocześnie najbardziej wrażliwe na działanie chitozanu. Najwyższą aktywność chitynazy oznaczono dla *Pseudomonas* sp. W przypadku bakterii z tego rodzaju obserwowano stymulację wzrostu przez chitozan o masie 45 kDa. Wraz z zespołem opracowaliśmy technologię produkcji kiełbas o obniżonej (o 50%) zawartości azotanów (III) w których zastosowano dodatek chitozanu. Obecność w produkcie chitozanu (M.c.=135kDa) pozwoliła na zabezpieczenie produktu przed nadmiernym rozwojem mikroflory psującej, typowej dla produktów mięsnych pakowanych próżniowo. Ogólna liczba bakterii mezofilnych, psychrotrofowych, bakterii kwasu mlekowego oraz *Brochothrix thermosphacta* po czterech tygodniach chłodniczego przechowywania produktu pakowanego próżniowo była podobna jak w kiełbasach peklowanych z dodatkiem azotanu (III) sodu i mieściła się w zakresie 10^4 - 10^5 jtk/g. W przypadku kiełbas wyprodukowanych bez żadnego z omawianych dodatków obserwowano o 2 do 3 rzędów logarytmicznych wyższe namnożenie wymienionych grup drobnoustrojów.

Wyniki badań są przedmiotem publikacji w czasopiśmie Żywność. Nauka Technologia Jakość i dwóch doniesień na konferencjach (załącznik 4, II.D.7; III.B.23, 42). **Jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej mgr inż. Anny Bagnowskiej „Stabilność przechowalnicza przetworów mięsnych peklowanych z dodatkiem chitozanu”.**

Ważniejsze publikacje:

1. Bagnowska A., Krala L., **Nowak A.**, (2014) Właściwości przeciwutleniające chitozanu w kiełbasach bez dodatku azotanu (III). *Żywność. Nauka Technologia Jakość*, 4, 173-187; *MSWiN₂₀₁₄ 15pkt*

5.5. Analiza ryzyka mikrobiologicznego

Wieloletnie doświadczenie i rzetelność prowadzonych badań spowodowały, że wielokrotnie byłam zapraszana przez producentów do współpracy podczas opracowywania nowych technologii czy modyfikacji istniejących. Analiza ryzyka mikrobiologicznego pozwalająca na projektowanie bezpiecznego i trwałego produktu była przedmiotem 5 prac naukowo-badawczych, którymi kierowałam w latach 2010-2015:

- **Wpływ zmiany receptury na jakość mikrobiologiczną i trwałość ciastek** (2010), Cuprod sp. z o.o, Kluczbork
- **Jakość mikrobiologiczna dań gotowych** (2010), Profi sp z o. o., Grabów n/Prosną
- **Trwałość owoców poddanych suszeniu za pomocą energii mikrofalowej w obniżonym ciśnieniu** (2012-2013), MicroFood Piotr Barczyk, Ostrzeszów
- **Wpływ procesu technologicznego na jakość mikrobiologiczną sosów majonezowych** (2012), Ocetix sp. z o. o., Grudziądz
- **Trwałość produktów owocowo-warzywnych** (2014-2015), Agros Nowa S.A., Łowicz

Wyniki badań finansowanych przez partnerów przemysłowych objęte są klauzulą poufności.

W zakresie identyfikacji zagrożeń mikrobiologicznych, ustalania źródeł zanieczyszczeń mikrobiologicznych oraz szacowania trwałości produktu współpracowałam i współpracuję również z partnerami przemysłowymi: **ZPM Grot sp. j.** (Starowa Góra), **Chipita Poland sp. z o. o.** (Tomaszów Mazowiecki), **Kerry Polska sp. z o. o.** (Kielce), **Zentis Polska sp. z o. o.** (Żelków-kolonia), **Danone sp. z o. o.** (Bieruń), **Eurofins Polska Sp. z o. o.** (Malbork), **Pepsi Cola Generals Bottlers Poland sp. z o. o.** (Michrów), **Nestle Polska S.A.** (Warszawa), **Octim**

sp. z o. o. (Olsztynek), **Karmello Rafał Dobrzański** (Bielsko Biała), **Sokołów S.A.** (oddział w Dębicy).

Jestem autorem publikacji omawiających zagadnienia jakości mikrobiologicznej produktów spożywczych w czasopismach *Biotechnology*, *Chłodnictwo*, *Kalejdoskop Mięсны*, trzech doniesień na konferencjach międzynarodowych i jednej krajowej oraz rozdziałów „Mikrobiologiczne psucie żywności” i „Zatrucia i zakażenia pokarmowe” w podręczniku akademickim *Mikrobiologia Techniczna* (załącznik 4, II.D.8, 9, 28, 33, 34; III.B. 22, 12, 14).

Prowadzę badania sprawdzające protokoły instrumentalnych metod alternatywnych dla zróżnicowanych matryc żywnościowych. Między innymi zajmowałam się określeniem przydatności systemu Tempo w analizie mikrobiologicznej żywności, we współpracy z firmą BioMerieux. W latach 2013-2014 współpracowałam z firmą Pol Skór, Łódź, w zakresie modyfikacji metody wykrywania *Salmonella* sp. w produktach spożywczych poprzez zastosowanie fluorymetrycznego systemu EnZquik. Uczestniczyłam również w projektowaniu laboratorium mikrobiologicznego w PPHU Vimax, Dobroń Przygoń. Ta część moich zainteresowań badawczych zaowocowała publikacją artykułu przeglądowego w czasopiśmie *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* (IF_{5-letni} 6,455) oraz wieloma publikacjami w czasopismach branżowych, takich jak: *Przemysł Spożywczy*, *Przegląd Mleczarski*, *Laboratorium Przegląd Ogólnopolski*, *Gospodarka Mięсны*, *Aktualności BioMerieux* (załącznik 4, II.A. 7, II.D. 6, 13, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25). Jestem również współautorem rozdziału „Analiza mikrobiologiczna żywności” w wydany przez PWN podręczniku akademickim *Mikrobiologia Techniczna*, tom 2 (załącznik 4, III.D. 36). Tę część mojego dorobku publikacyjnego uważam za bardzo ważną, ze względu na fakt, że odbiorcami są praktycy uczestniczący w produkcji żywności.

Dowodem uznania w skali międzynarodowej mojego doświadczenia w zakresie mikrobiologii żywności jest powierzenie mi recenzowania artykułów dotyczących tej tematyki w prestiżowych czasopismach, takich jak *Coloids and Surfaces B* (IF 3,902) *Food Microbiology*, (IF 3,682), *BMC Microbiology* (IF 2,581), *Journal of the Science of Food and Agriculture* (IF 2,076), *European Food Research and Technology* (IF 1,433), *Journal of Food Science and Technology* (IF 1,241), *Journal of Food Safety* (IF 0,915). Ogółem zrecenzowałam 18 publikacji z zakresu mikrobiologii żywności (złącznik 4, III.P)

Ważniejsze publikacje:

1. Efenberger-Szmechtyk M., **Nowak A.**, Kręgiel D., (2017) Implementation of chemometrics in quality evaluation of food and beverages, DOI 10.1080/10408398.2016.1276883, IF_{5-letni}: 6,455, MNiSW₂₀₁₆: 50pkt
2. Piotrowska M., **Nowak A.**; (2005) Drobnoustroje w produktach spożywczych mrożonych i przechowywanych w warunkach chłodniczych; *Chłodnictwo*, 12, 50-52; *MSWiN₂₀₀₅* 4pkt
3. **Nowak A.**, Piotrowska M., (2007) Jakość pracy laboratorium mikrobiologicznego, *Przegląd Mleczarski*, 11, 36-38; *MSWiN₂₀₀₇* 4pkt
4. **Nowak A.**, Piotrowska M., (2008) Microbial air quality as a control point in meat processing plant, International Symposium on New Research in Biotechnology, Bukareszt, Rumunia, Biotechnology, 2008, Serie F (ISSN 1224-7774), 297-302; *MSWiN₂₀₀₈* 2pkt
5. **Nowak A.**, (2012) Bezpieczeństwo, higiena i dezynfekcja w laboratorium mikrobiologicznej analizy żywności. *Laboratorium Przegląd Ogólnopolski*, 7-8, 24-26
6. **Nowak A.**, Ołtuszek Walczak E., (2012) *Listeria monocytogenes* w żywności metody wykrywania i oznaczania. *Przemysł Spożywczy*, 66, 30-33; *MSWiN₂₀₁₂* 6pkt
7. **Nowak A.**, (2013) Nowoczesne, mikrobiologiczne laboratorium przykładowe., *Przemysł Spożywczy*, 67, 12-16; *MSWiN₂₀₁₃* 5pkt
8. **Nowak A.**, (2014) Metody stosowane w mikrobiologicznej analizie mięsa i produktów mięsnych, *Gospodarka Mięsna*, 2, 28-30
9. **Nowak A.**, (2014) Przykładowe laboratorium mikrobiologiczne, *Gospodarka Mięsna*, 16-18
10. **Nowak A.**, Ołtuszek-Walczak E., (2015) *Cronobacter sakazakii* w żywności – metody wykrywania. *Przemysł Spożywczy*, 2, 38-42; *MSWiN₂₀₁₅* 5pkt
11. Efenberger-Szmechtyk M., **Nowak A.**, Kręgiel D., (2016) Chemometria w kontroli jakości produktów spożywczych. Cz. I. Żywność pochodzenie zwierzęcego. *Przemysł Spożywczy*, 3, 44-50; *MSWiN₂₀₁₆* 12pkt
12. Efenberger-Szmechtyk M., **Nowak A.**, Kręgiel D., (2016) Chemometria w kontroli jakości produktów spożywczych. Cz. II Napoje i żywność pochodzenia roślinnego. *Przemysł Spożywczy*, 5, 26-29; *MSWiN₂₀₁₆* 12pkt

5.6. Dekontaminacja surowców przyprawowych z zastosowaniem ozonu

Stosowane obecnie termiczne metody dekontaminacji surowców przyprawowych wykazują wprawdzie skuteczność w redukcji liczebności mikroorganizmów zanieczyszczających, ale przyczyniają się do utraty związków biologicznie czynnych. Zastosowanie ozonu jako czynnika wyjąłwiającego jest alternatywą, która może wyeliminować tę wadę. W związku z powyższym, we współpracy z Instytutem Podstaw Chemii Żywności, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ, od roku 2012 prowadzę badania zmierzające do opracowania technologii higienizacji surowców roślinnych ozonem. Prace rozpoczęliśmy od konstrukcji aparatury badawczej pozwalającej na dekontaminację w złożu dynamicznym, co zapewnienia dobry kontakt surowca z ozonem. Aparatura badawcza w roku 2014 została objęta zgłoszeniem patentowym (załącznik 4, III.Qb.3). Do badań wybrane zostały dwa surowce: nasiona kardamonu i szyszkogody jałowca pospolitego. Prowadzono dekontaminację surowców stosując dawki O_3 w zakresie 100-160g/m³. Wykazano, że możliwe jest obniżenie liczebności zarówno bakterii, jak i grzybów strzępkowych obecnych na surowcu o 1 do 2 rzędów logarytmicznych. Stopień redukcji zależy zarówno od zastosowanej dawki ozonu jak i od czasu kontaktu. Z surowców przed i po procesie dekontaminacji izolowano dominującą mikroflorę. Określono, że w badanych surowcach dominują laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. cereus*) oraz grzyby strzępkowe (*Cladosporium* sp., *Acremonium strictum*, *Rhizopus nigricans*, *Eupenicillium cinnamopurpureum*). Jednocześnie prowadzone badania dowiodły, że zastosowanie ozonu nie powoduje ubytków w zawartości związków biologicznie czynnych takich jak olejki eteryczne i polifenole. **Jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Brodowskiej „Dekontaminacja wybranych surowców roślinnych ozonem w złożu dynamicznym”.** Wyniki prowadzonych prac zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych PLoS ONE i Journal of Food Science (załącznik 4, II.A.3, 5), są przedmiotem czterech zgłoszeń patentowych (załącznik 4, III.Qb.1, 2, 6, 7), były również prezentowane na wielu konferencjach (załącznik 4, III.B. 16, 24, 25, 26, 27, 45, 46, 48, 52, 53, 54)

W chwili obecnej wraz z zespołem prowadzę badania zmierzające od określenia dynamiki zamierania drobnoustrojów poddanych ozonowaniu w matrycy roślinnej w złożu dynamicznym. Wyjąłowiony uprzednio surowiec poddawany jest kontaminacji zarówno

szczepami, wyizolowanymi we wcześniejszych etapach badań (*Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *Eupenicillium cinnamopurpureum*), jak i szczepami modelowymi pochodzącymi z kolekcji ATCC (*Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis, *Aspergillus niger*). W opisie kinetyki procesu stosowana jest funkcja Weibull'a dzięki czemu możliwe jest określenie wartości charakterystycznej przeżycia. Wykazano, że drobnoustrojem krytycznym podczas procesu ozonowania są laseczki z gatunku *Bacillus cereus*. Zastosowanie matematycznego opisu zamierania pozwoli na optymalizację procesu ozonowania w oparciu o dane uzyskane dla organizmów krytycznych. Wyniki tej części badań były już częściowo prezentowane na jednej konferencji międzynarodowej i siedmiu konferencjach krajowych (załącznik 4, III.B.19, 35, 36, 47, 49, 50, 51). Są one również przedmiotem publikacji znajdującej się w recenzji w czasopiśmie PLoS ONE.

Ważniejsze publikacje:

1. Brodowska A., Śmigielski K., **Nowak A.**, Brodowska K., Catthoor R., Czyżowska A., (2014) The Impact of Ozone Treatment on Changes in Biologically Active Substances of Cardamom Seeds. *Journal of Food Science*, 79, C1649–C1655, IF₂₀₁₄: 1,696, MNiSW₂₀₁₄: 30pkt
2. Brodowska A.J., Śmigielski K., **Nowak A.**, Czyżowska A., Otlewska A., (2015) The impact of ozone treatment in dynamic bed parameters on changes in biologically active substances of juniper berries, *PLoS ONE*, 10(12): e144855, 1-19, IF₂₀₁₅: 3,057, MNiSW₂₀₁₅: 40pkt
3. Brodowska A., Śmigielski K., **Nowak A.**, (2014) Porównanie metod dekontaminacji przypraw i ziół, *Chemik nauka-technika-rynek*, 2014, 68, 2, 97-102, MNiSW₂₀₁₄: 5pkt

W recenzji

Brodowska A., Nowak A., Śmigielski K., Kondratiuk-Janyska A., Modelling the ozone-based treatments for inactivation of microorganisms, *PLoS ONE* (IF₂₀₁₅ 3,057)

Zgłoszenia patentowe:

1. P.404527 Śmigielski K., **Nowak A.**, Libudzisz Z., Brodowska A., Stelmachowski M. Sposób dekontaminacji przypraw ozonem, data zgłoszenia 1.07.2013
2. P.404528 Śmigielski K., **Nowak A.**, Libudzisz Z., Brodowska A. Sposób dekontaminacji surowców roślinnych ozonem, data zgłoszenia 1.07.2013

3. P.409933 Śmigielski K., Piątkowski M., **Nowak A.**, Brodowska A., Komora do dekontaminacji surowców ozonem w złożu dynamicznym, data zgłoszenia 27.10.2014
4. P. 417337 Śmigielski K., **Nowak A.**, Brodowska A. Sposób dekontaminacji ozonem przypraw przeznaczonych dla przemysłu spożywczego, data zgłoszenia 25.05.2016
5. P. 417338 Śmigielski K., **Nowak A.**, Brodowska A.: Sposób dekontaminacji surowców zielarskich ozonem, data zgłoszenia 25.05.2016

5.7. Prawo żywnościowe

Bardzo ważnym dla mnie obszarem zainteresowań jest prawodawstwo w obszarze produkcji i dystrybucji żywności. Okres mojej aktywności zawodowej pokrywa się z czasem transformacji zapisów prawa żywnościowego i wejściem w życie wielu rozporządzeń z tego zakresu. Jednocześnie w Polsce, szczególnie bezpośrednio po akcesji do Unii Europejskiej, brak było wytycznych pozwalających przedsiębiorcom interpretować zapisy prawa. Moje doświadczenie, samodzielne studia literaturowe, jak również udział w konferencjach szkoleniowych organizowanych przez Polską Federację Producentów Żywności sprawiły, że zdobyłam głęboką wiedzę specjalistyczną w zakresie prawa żywnościowego. Zaowocowało to między innymi opracowaniem programu i organizacją w latach 2007-2008 cyklu kilkunastu szkoleń „Bezpieczeństwo żywności w świetle obowiązujących przepisów prawnych”, w których uczestniczyło kilkuset przedstawicieli zarówno producentów żywności jak i urzędowej kontroli żywności. Do chwili obecnej prowadzę cykl wykładów z zakresu prawa żywnościowego w ramach studiów podyplomowych „Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle”. Nawiązane w trakcie prowadzenia szkoleń kontakty zaowocowały współpracą z wieloma przedsiębiorstwami w zakresie **doradztwa legislacyjnego, tworzenia zakładowych kryteriów mikrobiologicznych, ustalania terminów przydatności do spożycia w oparciu o analizę ryzyka i próby przechowalnicze, opracowywania oświadczeń zdrowotnych** (m. in. Sokołów S.A., oddział w Dębicy, Profi sp z o. o., Grabów n/Prosną, Agros Nowa S.A., Łowicz, MicroFood Piotr Barczyk, Ostrzeszów). Jestem autorem publikacji z zakresu prawa żywnościowego w czasopiśmie branżowych, takich jak: Chłódnictwo, Przegląd Mleczarski, Kalejdoskop Mięsny, jak również rozdziału „Prawo Żywnościowe” w podręczniku akademickim Mikrobiologia Techniczna, tom 2 (*załącznik 4, II.D.10, 11, 12, 14, 15, 36*). Moja wiedza z zakresu prawa żywnościowego, ale również z zakresu mikrobiologii

żywności spowodowała, że zostałam powołana na biegłego sądowego przez Sąd Rejonowy dla M. St. Warszawy i Sąd Apelacyjny w Warszawie, a od 2016 roku jestem członkiem Sekcji Bezpieczeństwa Żywności Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu PAN.

Ważniejsze publikacje:

1. **Nowak A.**, (2007) Interpretacja rozporządzenia Komisji (WE) NR 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, Chłódnictwo, 3, 60-62, MNiSW₂₀₀₇: 4pkt
2. **Nowak A.**, (2007) *Enterobacter sakazakii* – nowe kryterium bezpieczeństwa preparatów w proszku dla niemowląt, Przegląd Mleczarski, 5, 22-25, MNiSW₂₀₀₇: 4pkt
3. **Nowak A.**, Piotrowska M., (2007) *Staphylococcus aureus* i enterotoksyny gronkowcowe – zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności, Przegląd Mleczarski, 8, 6-8, MNiSW₂₀₀₇: 4pkt
4. **Nowak A.**, (2007) „Pakiet higieniczny” w zakładach produkujących żywność pochodzenia zwierzęcego, Kalejdoskop Mięсны, 5, 61-64
5. **Nowak A.**, (2009) Bakterie *Salmonella* jako kryterium higieny w przetwórstwie mięsa, Kalejdoskop Mięсны, 2009, 5, 54-56
6. **Nowak A.**, Prawo żywnościowe W: Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. (red) Mikrobiologia Techniczna tom 2, PWN, Warszawa 2008, 370-378. ISBN 978-83-01-15223-0

6. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Mój dorobek po doktoracie obejmuje 51 prac, w tym 1 pracę przeglądową i 11 prac doświadczalnych opublikowanych w formie artykułów w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports, 59 referatów i doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych

Byłam kierownikiem 1 projektu badawczego finansowanego przez KBN oraz 6 projektów finansowanych przez partnerów przemysłowych i wykonawcą 1 projektu finansowanego przez KBN, 1 finansowanego przez NCBIr oraz 1 projektu finansowanego przez partnera przemysłowego.

Prace publikowałam w następujących czasopismach **anglojęzycznych**:

- *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*(IF_{5-letni}: 6,455)

1

- *Food Microbiology* (IF₂₀₁₂: 3,407, IF_{5-letni}: 4.214) 2
- *PLoS ONE* (IF₂₀₁₅: 3,057) 1
- *Journal of Food Composition and Analysis* (IF₂₀₁₅: 2,780) 1
- *Meat Science* (IF₂₀₁₁: 2,275, IF₂₀₁₂: 2,754) 2
- *Journal of the Science of Food and Agriculture* (IF₂₀₁₂: 1,759) 1
- *Journal of Food Science* (IF₂₀₁₄: 1,696) 1
- *European Food Research and Technology* (IF₂₀₀₄: 1,084, IF₂₀₁₃: 1,436) 2
- *Journal of the Institute of Brewing* (IF_{5-letni}: 1.363) 1
- *African Journal of Microbiology Research* 1
- *Biotechnology and Food Science* 1
- *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 1

oraz wydawanych w **języku polskim**:

- *Żywność. Nauka Technologia Jakość* 2
- *Przemysł Spożywczy* 5
- *Chłodnictwo* 2
- *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny* 2
- *Chemik nauka-technika-rynek* 1
- *Laboratorium Przegląd Ogólnopolski* 2
- *Gospodarka Mięsna* 2
- *Kalejdoskop Mięsny* 3
- *Przegląd Mleczarski* 3
- *Packaging Polska* 1
- *Aktualności BioMerieux* 2

Sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania IF wynosi 32,280 oraz 520 pkt. MNiSW. Po wyłączeniu 5 prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe (185 pkt. MNiSW, IF=14,409), wartość mojego pozostałego dorobku naukowego wynosi 335 pkt. MNiSW, IF=17,871.

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Scopus wynosi 5, zaś liczba cytowań 56 (bez autocytowań)

Wartość Indexu Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 5, zaś liczba cytowań 50 (bez autocytowań).

7. Działalność dydaktyczna

W ramach działalności dydaktycznej od 2002 roku do chwili obecnej prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, Międzywydziałowego Kierunku Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy i Kolegium Towaroznawstwa PŁ. Obejmowały one zarówno wykłady jak i seminaria oraz zajęcia laboratoryjne.

Szczegółowy opis realizowanych zadań dydaktycznych przedstawiłam w **załączniku 5**.

Opracowałam programy oraz prowadziłam bądź prowadzę następujące zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ: **Mikrobiologia żywności i biologia komórki** (wykład), dla kierunku Inżynieria Żywności i Zarządzanie w Przetwórstwie Spożywcym, **Higiena w przetwórstwie spożywczym** (wykład) dla kierunku Inżynieria Żywności i Zarządzanie w Przetwórstwie Spożywcym, **Mikrobiologia i higiena żywności** (wykład) dla kierunku Biotechnologia i Organizacja Produkcji Żywności, **Mikrobiologia żywności** (wykład i laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Higiena produkcji żywności** (wykład i laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Bezpieczeństwo produkcji żywności** (wykład i laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Mikrobiologiczne zanieczyszczenia żywności** (wykład fakultatywny) dla kierunków Ochrona Środowiska, Biotechnologia, Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Mikrobiologia chłodnicza** (wykład) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Dydaktyka szkoły wyższej** (wykład) dla studentów Studiów Doktoranckich, oraz **Seminarium Dyplomowe** dla kierunku Biotechnologia studia niestacjonarne. Opracowałam również program przedmiotu **Mikrobiologia** (wykład i laboratorium) dla studentów międzywydziałowego kolegium Towaroznawstwa, PŁ.

Dodatkowo prowadziłam lub prowadzę następujące zajęcia dydaktyczne na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ: **Biologiczna analiza żywności** (wykład) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Postępy w analityce i ocenie żywności** (wykład) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Mikrobiologia żywności** (wykład specjalizacyjny) dla kierunku Biotechnologia, **Laboratorium specjalizacyjne** (laboratorium)

dla kierunku Biotechnologia, **Mikrobiologia przemysłowa** (laboratorium) dla kierunku Biotechnologia, **Mikrobiologia ogólna** (laboratorium) dla kierunku Biotechnologia, **Toksykologia żywności** (laboratorium) dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, **Analiza mikrobiologiczna żywności** (laboratorium) dla kierunków Ochrona Środowiska, Biotechnologia. Prowadziłam również zajęcia dla studentów Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska studiujących na kierunku Inżynieria Bezpieczeństwa Pracy: **Mikrobiologia** (laboratorium). **Czynniki zagrożeń biologicznych** (laboratorium).

Łączny roczny wymiar prowadzonych przeze mnie zajęć dydaktycznych w latach 2010 -2016 wynosi od 258 do 337 godzin.

Moja praca dydaktyczna jest wysoko oceniana przez studentów. Według ankiety dydaktycznej z roku akademickiego 2014/2015, prowadzony przez mnie wykład z Mikrobiologii chłodniczej został najwyższym ocenionym wykładem na Wydziale (uzyskana ocena 4,7 przy średniej wydziałowej 4,2).

Ponadto w ramach Studiów Podyplomowych „Mikrobiologia higiena i jakość w przemyśle” opracowałam i prowadzę następujące wykłady: Prawo żywnościowe – pakiet higieniczny, Wymagania mikrobiologiczne dla żywności, Mikroorganizmy chorobotwórcze w żywności, Pobieranie i przygotowanie próbek do badań mikrobiologicznych, Wpływ systemów pakowania na jakość mikrobiologiczną żywności.

Jestem współautorką skryptu Mikrobiologia Żywności. Instrukcje do zajęć laboratoryjnych (ISBN 978-83-927960-5-3) dla studentów studiów I stopnia kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka. Jestem autorką bądź współautorką czterech rozdziałów: mikrobiologiczne psucie żywności, Zatrucia i zakażenia pokarmowe, Analiza mikrobiologiczna żywności, Prawo żywnościowe w podręczniku akademickim „Mikrobiologia Techniczna” pod redakcją Zdzisławy Libudzisz, Krystyny Kowal i Zofii Żakowskiej wydany w 2008 roku przez PWN.

W okresie mojego zatrudnienia w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii byłam opiekunem 17 dyplomowych prac magisterskich i 19 prac inżynierskich na kierunku Biotechnologia, Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka oraz Ochrona Środowiska na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności oraz 2 dyplomowych prac inżynierskich na kierunku Biotechnologia Centrum Kształcenia Międzynarodowego. Byłam również

opiekunem 40 prac końcowych słuchaczy Studiów Podyplomowych „Mikrobiologia, Higiena i Jakość w Przemysle”.

W latach 2010-2016 byłem opiekunem praktyk studenckich dla studentów studiów niestacjonarnych na kierunku Biotechnologia.

Od wielu lat biorę aktywny udział w tworzeniu programów kształcenia na Wydziale. W latach 2007-2013 byłem członkiem komisji programowej dla kierunku Biotechnologia oraz Wydziałowej Komisji Programowej, a od roku 2013 biorę udział w pracach Wydziałowej Komisji Oceny Jakości Kształcenia.

Aby doskonalić swoje umiejętności dydaktyczne brałem udział w szkoleniach: Przebudowa systemu kształcenia w oparciu o efekty kształcenia (Łódź, 2011), Aktywizujące metody nauczania w pracy nauczyciela akademickiego z elementami autoprezentacji (Klinika Wiedzy, Łódź, 2014). W roku 2014 ukończyłam ponadto Studia Podyplomowe „Zarządzanie jakością w Uczelniach”, w ramach których odbyłam zajęcia z przedmiotu „Dydaktyka w szkolnictwie wyższym”.

Za osiągnięcia w pracy dydaktyczno-wychowawczej w latach 2004-2016 otrzymałam dziesięć nagród JM Rektora Politechniki Łódzkiej. W roku 2011 zostałam odznaczona Brązowym Medalem za Długoletnią Służbę.

8. Działalność organizacyjna, działalność popularyzująca naukę

Istotnym elementem mojej aktywności zawodowej jest działalność organizacyjna. Szczegółowy wykaz podejmowanych działań przedstawiłam w **załączniku 5**, poniżej zaprezentowałam najważniejsze elementy.

Od wielu lat biorę udział w pracach podnoszących jakość kształcenia na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ. W latach 2007-2013 byłem członkiem komisji programowej dla kierunku Biotechnologia oraz Wydziałowej Komisji Programowej. W latach 2011-2012 brałem aktywny udział jako trener wydziałowy w pracach nad przebudową programów studiów w oparciu o efekty kształcenia. W roku 2013 uczestniczyłam w opracowaniu dokumentacji do konkursu „ECTS Label”, w którym Politechnika Łódzka została wysoko oceniona, a efektem było przedłużenie przez Komisję Europejską prestiżowego certyfikatu „ECTS Label”. Od 2013 roku biorę udział w pracach Wydziałowej

Komisji Oceny Jakości Kształcenia. Moje działania w obszarze podnoszenia jakości kształcenia nie ograniczają się jedynie do Wydziału. W roku 2014 brałam udział w roli eksperta w badaniach fokusowych realizowanych w ramach projektu „Edukacja dla rozwoju badań i innowacji” FSS/2013/HEI/W/0050, którego celem był rozwój zdolności edukacyjnych i organizacyjnych 5 polskich uczelni wyższych na potrzeby rynku pracy i gospodarki opartej na wiedzy.

Przez sześć lat byłam opiekunem praktyk studenckich na kierunku Biotechnologia-studia niestacjonarne. W latach 2009-2012 pełniłam funkcję Pełnomocnika Dziekana ds. studiów niestacjonarnych na kierunku Biotechnologia, a w latach 2012-2013 byłam opiekunem studentów na tym kierunku. W latach 2007 i 2010 brałam udział w przygotowywaniu wniosku o akredytację kierunku Biotechnologia w obszarze dotyczącym studiów niestacjonarnych.

W ostatnich latach moja działalność organizacyjna dotyczy przede wszystkim wdrożenia Zintegrowanego Systemu Zarządzania Jakością wg ISO na Politechnice Łódzkiej. Od roku 2013 pełnię funkcję Pełnomocnika Dziekana ds. Jakości.

Od roku 2012 jestem przedstawicielem nauczycieli w Radzie Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, a w kadencji 2016-2020 również przedstawicielem nauczycieli w Radzie Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności, PŁ.

W 2014 brałam udział w pracach komitetu organizacyjnego XVI International Biodeterioration & Biodegradation Symposium, organizowanego po raz pierwszy w Polsce (Łódź).

W trakcie mojej pracy zawodowej biorę również aktywny udział w promowaniu Wydziału. W latach 2007-2012 uczestniczyłam w akcji „Drzwi zawsze otwarte” w ramach której prowadziłam zajęcia i prezentowałam Instytut w trakcie spotkań z uczniami gimnazjów i szkół ponadgimnazjalnych regionu łódzkiego. W latach 2009-2010 prowadziłam zajęcia w ramach projektu „I ty możesz zostać Kopernikiem”. W latach 2011-2012 prowadziłam wykłady na „Festiwalu Nauki, Techniki i Sztuki” odbywającym się w Łodzi.

Brałam udział w tworzeniu programu zajęć laboratoryjnych prowadzonych w ramach lekcji biologii dla uczniów Liceum Ogólnokształcącego i Gimnazjum Politechniki Łódzkiej. Zajęcia te prowadzę od początku istnienia obu szkół, tj. od roku 2007.

W ramach współpracy z firmą Ambra S.A. od 2014 roku reprezentuję Politechnikę Łódzką na corocznym Świącie Młodego Cydru odbywającym się w Lublinie. Kilukrotnie reprezentowałam Wydział jako specjalista w dziedzinie mikrobiologii żywności w audycjach telewizyjnych i radiowych, jak również jako biegły sądowy.

Za moją działalność organizacyjną na rzecz Uczelni byłam dziewięciokrotnie nagradzana nagrodami JM Rektora Politechniki Łódzkiej.

Łódź, 25.01.2014
Nowak