

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Rada Naukowa Dyscypliny  
Technologia Żywności i Żywienia UP  
ul. Skromna 8  
20-704 Lublin  
za pośrednictwem:  
**Rady Doskonałości Naukowej**  
pl. Defilad 1  
00-901 Warszawa  
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Ewa Baranowska-Wójcik  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka  
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

## Wniosek

z dnia 22.02.2023r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie **nauk rolniczych** w dyscyplinie **technologia żywności i żywienia**.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

Cykl pięciu monotematycznych prac, ujętych pod wspólnym tytułem

### **Dwutlenek tytanu (E171/TiO<sub>2</sub>) w żywności - badania w modelu przewodu pokarmowego *in vitro***

Wnioskuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym**\*<sup>1</sup>

*Zostałem poinformowany, że:*

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*

*Kontakt za pośrednictwem e-mail: [kancelaria@rdn.gov.pl](mailto:kancelaria@rdn.gov.pl), tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie [www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html](http://www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html)*

*Ewa Baranowska-Wójcik*  
(podpis wnioskodawcy)

<sup>1</sup> \* Niepotrzebne skreślić.

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy
2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora
3. Autoreferat
4. Wykaz osiągnięć naukowych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny
5. Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe
6. Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie prac stanowiących osiągnięcie naukowe
7. Wykaz publikacji i cytowań potwierdzony przez Bibliotekę UP w Lublinie
8. Dokumenty podpisane podpisem zaufanym (format pdf)
9. Wersja elektroniczna przedłożonych danych x 2

## Autoreferat

1. Imię i nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	2
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.	3
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (autor/autorzy, rok wydania, tytuł, nazwa wydawnictwa)	5
4.3. Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia	5
4.3.1. Wstęp	7
4.3.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań	14
4.3.3. Podsumowanie	18
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	24
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.	24
6.1. Działalność dydaktyczna	25
6.2. Działalność organizacyjna	25
6.3. Działalność popularyzująca naukę lub sztukę	25
7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej	25
7.1. Dorobek publikacyjny	26
7.2. Udział w konferencjach	27
7.3. Udział w projektach badawczych	27
7.4. Współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym	27
7.5. Współpraca z jednostkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi, działalność międzynarodowa	28
7.6. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism, wykonane recenzje prac w czasopismach krajowych i międzynarodowych	28
7.7. Otrzymane nagrody i wyróżnienia	28
7.8. Odbyte szkolenia i kursy	

**1. Imię i nazwisko**

Ewa Baranowska-Wójcik

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

**07.1998 r.** - **magister inżynier ochrony środowiska**, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Akademia Rolnicza w Lublinie;

- tytuł pracy: „Badania akumulacji wymywania Cu, Co, Cr w glebach mineralnych metodą dynamiczną;
- promotor pracy magisterskiej: prof. dr hab. Ryszard Gąszczyk.

**01.2007 r.** - **doktora nauk rolniczych** w zakresie agronomii-kształtowanie środowiska, Wydział Agrobioinżynierii, Akademia Rolnicza w Lublinie; - tytuł

rozprawy doktorskiej: „Zmiany wybranych właściwości gleb obszaru objętego powodzią”;

- promotor: Prof. dr hab. Stanisław Baran.

**3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych**

- **18.06.2001 r. - 31.05.2015 r.** **specjalista**  
Instytut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie;
- **01.06.2015 r. - 31.09.2020 r.** **specjalista**  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie;
- **01.10.2019 r.** **asystent (1/2 etatu)**  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie;
- **01.10.2019 r.** **specjalista (1/2 etatu)**  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, pracownia dietetyczna;
- **01.10.2020 r.** - obecnie **asystent**  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

W okresie 12.02.2009-01.07.2009; 11.03.2011-11.08.2011 przebywałam na urlopie macierzyńskim; W okresie 01.10.2009-31.03.2010, 06.10.2011-15.09.2013 przebywałam na urlopie wychowawczym

#### 4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2

##### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego na podstawie art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) jest monotematyczny cykl pięciu publikacji naukowych, ujętych pod wspólnym tytułem:

##### **Dwutlenek tytanu (E171/TiO<sub>2</sub>) w żywności - badania w modelu przewodu pokarmowego *in vitro***

Kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz oświadczenia współautorów tych publikacji zostały zawarte w Załączniku 5.

##### 4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (autor/autorzy, rok wydania, tytuł, nazwa wydawnictwa)

- [1] **Baranowska-Wójcik E.** Factors conditioning the potential effects TiO<sub>2</sub> NPs exposure on human microbiota: a Mini-Review. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199 (12), 4458-4465, <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02578-5>

**(Punkty MNiSW\* = 70; IF\*\* = 4,081; IF 5-letni = 3,755)**

*Opracowanie koncepcji pracy, przygotowanie manuskryptu, korespondencja z redakcją;*

- [2] **Baranowska-Wójcik, E., Gustaw, K. Szwajgier, D., Oleszczuk, P., Pawlikowska-Pawłęga, B., Pawelec, J., Kapral-Piotrowska, J.** Four types of TiO<sub>2</sub> reduced the growth of selected lactic acid bacteria strains. *Foods*, 2021, 10(5), 939; <https://doi.org/10.3390/foods10050939>

**(Punkty MNiSW\* = 100; IF\*\* = 5,561; IF 5-letni = 5,940)**

*Opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie eksperymentów, dominujący udział w wykonaniu analiz i opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu, korespondencja z redakcją; Mój udział szacuję na 60%\*\*\*.*

- [3] **Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Gustaw, K.** Effect of TiO<sub>2</sub> on selected pathogenic and opportunistic intestinal bacteria. *Biological Trace Element Research*, 2022, 200, 2468–2474. [doi.org/10.1007/s12011-021-02843-7](https://doi.org/10.1007/s12011-021-02843-7)

**(Punkty MNiSW\* = 70; IF\*\* = 4,081; IF 5-letni = 3,755)**

*Opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie eksperymentów, wykonanie oraz opracowanie większej części wyników, udział w interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu, korespondencja z redakcją; Mój udział szacuję na 75%\*\*\*.*

- [4] **Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Joško, I., Pawlikowska-Pawłęga, B., Gustaw, K.** Smoothies reduce the “bioaccessibility” of tio<sub>2</sub> (e 171) in the model of the *in vitro* gastrointestinal tract. *Nutrients*, 2022, 14, 3503. <https://doi.org/10.3390/nu14173503>

**(Punkty MNiSW\* = 140; IF\*\* = 6,706; IF 5-letni = 7,185)**

*Opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie eksperymentów, dominujący udział w wykonaniu analiz i opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu, korespondencja z redakcją; Mój udział szacuję na 65%\*\*\*.*

- [5] **Baranowska-Wójcik, E.**, Sz wajgier, D., Gustaw, K., Joško, I., Pawlikowska-Pawłęga, B., J. Kapral-Piotrowska. Reduced bioaccessibility of TiO<sub>2</sub> (E 171) during puree soup digestion in a gastrointestinal tract simulated *in vitro*. Food Research International, 2023, 164, 112189, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112189>.

**(Punkty MNiSW\* = 140; IF\*\* = 7,425; IF 5-letni = 7,716)**

*Opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie eksperymentów, dominujący udział w wykonaniu analiz i opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu, korespondencja z redakcją; Mój udział szacuję na 65%\*\*\*.*

**Sumaryczny Impact Factor (IF)** dla wymienionych publikacji naukowych, stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi **27,854**

**Suma punktów** według punktacji MNiSW wynosi **520**

---

\*Punkty MNiSW przydzielono zgodnie z Komunikatem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych, z liczbą punktów przyznawanych za publikacje w tych czasopismach.

\*\*Impact Factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania.

\*\*\*Oświadczenia współautorów, określające ich indywidualny wkład w powstanie wymienionych publikacji zebrano w Załączniku 6.



### 4.3. Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia

#### 4.3.1. Wstęp

Ditlenek tytanu klasy spożywczej ( $\text{TiO}_2$ ) jest powszechnie stosowany jako dodatek do żywności (E171 w UE), np. w celu poprawy smaku, aromatu i koloru (Gultekin i in., 2020). Jest białym pigmentem i środkiem rozjaśniającym stosowanym w dużych ilościach w produktach cukierniczych, białych sosach i glazurach (Weir i in., 2012).

Zawartość  $\text{TiO}_2$  (E171) w słodyczach, gumach do żucia, czekoladzie i produktach z białą powłoką jest bardzo wysoka i ukryta dla przeciętnego konsumenta. W porównaniu z innymi produktami spożywczymi, może wynosić 2,5 mg Ti/g żywności (EFSA 2016; Weir i in., 2012). Ze względu na szczególnie powszechne stosowanie barwnika (E171) w wyrobach cukierniczych, na szczególne ryzyko ekspozycji narażone są osoby młode, szczególnie dzieci. Szacuje się, że dziecko może spożywać nawet 2-4 razy więcej  $\text{TiO}_2$  dziennie na kilogram masy ciała (BW- body weight) niż osoba dorosła (Weir i in., 2012). Szacowane dzienne spożycie zależy od wieku, masy ciała i miejsca zamieszkania. Na przykład, w USA i Wielkiej Brytanii dzienne spożycie  $\text{TiO}_2$ /kg wynosi odpowiednio 0,2-0,7 mg i 1 mg BW. Natomiast dzieci poniżej 10 roku życia mieszkające w tych krajach, ze względu na mniejszą masę ciała i większe spożycie słodyczy, mogą konsumować nawet 1-3 mg  $\text{TiO}_2$ /kg BW dziennie (Weir i in., 2012). Dlatego też, w opisanych badaniach, eksperymenty zostały zaprojektowane tak aby stężenia E171 dostosować do możliwych stężeń  $\text{TiO}_2$  jakie mogą zaistnieć w przewodzie pokarmowym dziecka. Również dyskusje wyników biorą pod uwagę ten istotny element mojego postępowania naukowego.

Cząsteczki  $\text{TiO}_2$  są dodawane do żywności w różnych zakresach wielkości, w tym w postaci nanofrakcji, tj. o wielkościach poniżej 100 nm. Weir i in. (2012) stwierdzili, że około 36% cząstek  $\text{TiO}_2$  wykrytych w produktach spożywczych miało rozmiar mniejszy niż 100 nm (NP - nanoparticle). Dufouir i in. (2017) wykazali, że w siedmiu komercyjnych próbkach żywności zawierających  $\text{TiO}_2$  jako dodatek, frakcja NPs stanowiła 17-36% całkowitego obecnego  $\text{TiO}_2$ . To właśnie obecność  $\text{TiO}_2$  NPs w powszechnie spożywanej żywności budzi obawy dotyczące ich potencjalnego wpływu na zdrowie człowieka (Winkler i in., 2018) po przedostaniu się tych nanocząstek do przewodu pokarmowego (Yada i in., 2014).

Wcześniejsze badania *in vitro* i *in vivo* potwierdziły, że  $\text{TiO}_2$  NPs działają toksycznie na organizm człowieka, m.in. w zakresie zmiany cyklu komórkowego, obniżenia grubości błon jądrowych i apoptozy (Acar i in., 2015; Coccini i in., 2015). Badania wskazują na szkodliwy wpływ E171 na barierę nabłonka jelitowego w warunkach *in vitro* (Derrien i van Hylckama Vlieg 2015; Proquin i in., 2016). Obecność nanowymiarowej frakcji stwarza ryzyko zakłócenia bariery jelitowej, ponieważ  $\text{TiO}_2$  NPs (E171) mogą wchodzić w interakcje ze śluzem, protagonistą bariery jelitowej (Talbot i in., 2018). Agans i in. (2019) nie wykluczyli potencjalnych zmian w ludzkich jelitach po ekspozycji na  $\text{TiO}_2$  NPs, ponieważ aglomerowanie NPs w błonach komórkowych może hamować podziały komórkowe lub zakłócać wchłanianie składników odżywczych. Niemniej jednak, w 2016 roku Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) ustalił, że  $\text{TiO}_2$  NPs w żywności nie budzą obaw dotyczących zagrożeń dla zdrowia ludzi i ustalono margines bezpieczeństwa na poziomie 2,25 mg  $\text{TiO}_2$  NPs/kg BW/dzień (EFSA, 2016). Równocześnie jednak Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC), na

podstawie mechanizmów działania oraz badań na zwierzętach dotyczących narażenia przez wdychanie, uznała  $\text{TiO}_2$  stosowany w żywności jako potencjalny czynnik rakotwórczy 2B (prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi) (Dudefoi i in., 2017b; IARC 2010). W związku z tym Francja podjęła decyzję o całkowitym zakazie stosowania E171 w 2019 roku ze względu na jego potencjalną szkodliwość (Cao i in., 2020). Również EFSA, w 2021 roku, opublikowała opinię uznającą obecną niepewność dotyczącą dopuszczalnych poziomów stosowania nanocząstek  $\text{TiO}_2$  (obecnych w E171) i stwierdziła, że stosowanie E171 jako dodatku do żywności nie może być dłużej uznawane za bezpieczne (EFSA 2021). Decyzja została przyjęta z zadowoleniem przez państwa członkowskie, które w październiku 2021 r. zaakceptowały zalecenie Komisji Europejskiej dotyczące zakazu, od stycznia 2022 r., importu żywności zawierającej E171. Decyzja wprowadziła sześciomiesięczny okres przejściowy prowadzący do całkowitego zakazu jego stosowania w produktach spożywczych do czerwca 2022 roku (EFSA 2021). Z powyższych powodów niektóre firmy spożywcze zastępują E171 innymi środkami rozjaśniającymi (Zhou i in., 2019). Natomiast w Stanach Zjednoczonych, agencja Food and Drug Administration (FDA) nadal dopuszcza stosowanie  $\text{TiO}_2$  jako dodatku do żywności pod warunkiem, że jego ilość stanowi nie więcej niż 1% całego produktu spożywczego (Heringa i in., 2016). **W związku z zasadniczymi rozbieżnościami przedstawionymi powyżej, dotyczącymi oceny toksyczności  $\text{TiO}_2$  NPs przez szanowane, opiniotwórcze instytucje, dalsze badania są nieuniknione i bardzo pożądane.**

Potencjalne zagrożenia dla zdrowia związane ze spożywaniem żywności zawierającej NPs są nadal dość słabo poznane, ale przypuszcza się, że toksyczność  $\text{TiO}_2$  NPs zależy od ich wielkości, morfologii, szybkości migracji i ekspozycji. Te zagadnienia szczegółowo opisałam w pracy [1]. E171 dostaje się do organizmu jako składnik produktów spożywczych i napojów (Chen i in., 2012), co oznacza, że przewód pokarmowy (GIT - gastrointestinal tract) stanowi kluczowe połączenie pomiędzy organizmem a środowiskiem zewnętrznym, w którym ten dodatek do żywności jest wchłaniany (Guo i in., 2017). Aktualne dane dotyczące wchłaniania E171 są niespójne, ale większość badań wskazuje, że po połknięciu cząstek  $\text{TiO}_2$ , część z nich nie jest wchłaniana do krwiobiegu, lecz raczej wydalana (Warheit i Donner, 2015). Charakter i rodzaj żywności zawierającej  $\text{TiO}_2$  NPs może wpływać na losy nanocząstek w przewodzie pokarmowym (McClements i in., 2017a; 2017b). Zanim NPs zostaną wchłonięte, muszą przejść przez rejony GIT, które mogą zmienić ich właściwości, jak również potencjalną toksyczność (McClements i in., 2016). Stopień wychwytu i absorpcji  $\text{TiO}_2$  NPs z GIT do układu krążenia może zależeć od wielu czynników, takich jak rodzaj cząstek/NPs, ich wielkość i ładunek czy stopień rozproszenia (Warheit i Donner 2015; Xiong i in., 2012). Substancje obecne w treści pokarmowej (takie jak białka, węglowodany, lipidy, składniki mineralne, związki o charakterze kwasów czy zasad) zmieniają stopień zagregowania NPs, strukturę ich powierzchni oraz ładunek, co zostało powiązane ze zmianami potencjalnej toksyczności NPs (Lichtenstein i in., 2015; Di Silvio i in., 2016). Obecność NPs może zaburzać normalne funkcje GIT, takie jak enzymatyczne trawienie i wchłanianie makroskładników, lipidów, białek i węglowodanów (McClements i in., 2016; Li i in., 2017) poprzez zaburzenie funkcji kosmków jelitowych i komórek nabłonka, prowadząc do niedrożności jelit i zaparc (Wang i in., 2012). Guo i in. (2017) wykazali, że ekspozycja na  $\text{TiO}_2$  NPs znacząco zwiększyła transport jonów  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ , wychwyty kwasów tłuszczowych, aktywność jelitowej fosfatazy alkalicznej (IAP) oraz funkcjonalność



ściślych połączeń między komórkami (poprzez powiększenie szczeliny lub przerwanie integralności połączeń). Ekspozycja zmieniała również poziomy ekspresji białek transportujących składniki odżywcze oraz obniżała liczbę mikroskopów jelitowych, zmniejszając powierzchnię dla absorpcji składników odżywczych. Ponieważ badania tego typu są niepełne, ważne jest ustalenie, czy obecność TiO<sub>2</sub> NPs wpływa na losy tych składników odżywczych w GIT. Ilość wody może również wpływać na uwalnianie NPs z matrycy pokarmowej, natomiast przetwarzanie żywności przed jej wprowadzeniem do układu trawiennego może powodować istotne zmiany w strukturze i właściwościach niektórych makroskładników, np. białek (McMaclements i in., 2016; Rahaman i in., 2016). Bing i in. (2021) wykazali, że białka roślinne (glutenina, gliadyna, zeina i białko sojowe) oddziaływały z TiO<sub>2</sub> NPs, tworząc duże kompleksy składające się z NPs pokrytych białkami. Zdolność tych polimerów roślinnych do interakcji z TiO<sub>2</sub>, jak również do uwięzienia TiO<sub>2</sub> wewnątrz trójwymiarowej sieci jest wysoce prawdopodobna. Wykazano także, że TiO<sub>2</sub> NPs mogą tworzyć kompleksy z polifenolami poprzez enediolowe grupy funkcyjne (Cao i in., 2016), co z kolei może wpływać na biodostępność polifenoli (Li i in., 2021).

Przewód pokarmowy jest również najsilniej skolonizowanym organem, zawierającym ponad 70% wszystkich mikroorganizmów bytujących w naszym ciele (Malik i in., 2020). Badania które opisałam w pracy [4] i [5] uwzględniły bakterie jako nieodzowny element jelitowy oraz udowodniły iż obecność TiO<sub>2</sub> obniża bądź hamuje wzrost bakterii, co potwierdzają również badania innych autorów (Kim i in., 2008; Radziwiłł i in., 2018).

#### 4.3.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań

Los TiO<sub>2</sub> NPs w złożonej matrycy żywnościowej, po spożyciu doustnym i podczas trawienia, nie jest jeszcze w pełni poznany. Ilość zmiennych istotnych podczas procesów trawienia jest nieograniczona, dlatego metodyka oceny trawienia i biodostępności w GIT jest wciąż rozwijana i wymaga ciągłego doskonalenia. Ze względu na złożoność matrycy żywnościowej istnieje duże prawdopodobieństwo, że TiO<sub>2</sub> NPs mogą oddziaływać ze składnikami żywności. Dlatego też **celem badań było określenie wpływu wybranych przetworów spożywczych na „biodostępność” Ti, prowadzone w opracowanym modelu przewodu pokarmowego *in vitro*, z uwzględnieniem dodatku, na etapie „jelita grubego”, odpowiednio dobranego szczepu bakterii.**

Przed rozpoczęciem badań dokonałam wraz ze współpracownikami skrupulatnego zgłębienia tematu badawczego, efektem czego są prace przeglądowe (Baranowska-Wójcik i in., 2020a; Baranowska-Wójcik i in. 2020b; Baranowska-Wójcik i in. 2022) z czego jedna stanowi pracę w przedstawionym osiągnięciu naukowym [1]. Praca [1] szczegółowo przedstawia badania z ostatnich lat dotyczące wpływu E171/TiO<sub>2</sub> NPs na mikrobiotę jelitową człowieka jak również omawia czynniki które mogą mieć wpływ na powyższe interakcje. Takie informacje są niezbędne by jednoznacznie określić potencjalną toksyczność tych nieorganicznych nanocząstek [1]. W obrębie przewodu pokarmowego jelito grube odgrywa szczególnie ważną rolę dla zdrowia człowieka ze względu na znaczne ilości i różnorodność mikroorganizmów. Korzystna mikrobiota jelitowa nie tylko bierze udział w łańcuchu degradacji złożonych związków (np.

częściowej degradacji błonnika pokarmowego), ale również silnie oddziałuje z komórkami nabłonkowymi, by utrzymać skuteczną barierę jelitową oddzielającą ciało gospodarza od otoczenia zewnętrznego (Lamas i in., 2020). Niewielki rozmiar NPs pozwala im na przekraczanie bariery komórkowej leżącej na linii przewodu pokarmowego lub warstwy śluzu (Limage i in., 2020; Pradhan i in., 2015).

Nanocząstki oddziałując z bakteriami, generują reaktywne formy tlenu (ROS - reactive oxygen species), które z kolei mogą uszkadzać DNA, RNA i białka jak również inne cząstki *in vivo*. Należy także wziąć pod uwagę, że na toksyczność  $\text{TiO}_2$  NPs wpływ mogą mieć interakcje międzyfazowe elektrostatyczne, jak i fizykochemiczne, zależne od warunków panujących w przewodzie pokarmowym (pH, enzymy, sole, temperatura itp.) (Waller i in. 2017; Jones i in., 2015).

Jest niewiele badań oceniających interakcje NPs z mikrobiotą jelitową i wpływu na zdrowie gospodarza, większość z nich koncentruje się na bezpośrednich interakcjach z komórkami nabłonka jelit, powodujących problemy takie jak nieswoiste zapalenie jelit, otyłość czy zaburzenia immunologiczne (Pietroiusti, i in. 2016; Pietroiusti i in., 2017).

Złożoność, zmienność i indywidualność osobnicza mikrobioty powoduje, iż niemożliwe jest dokładne ocenienie wpływu dodatków do żywności. Jednakże bakterie są nieodłącznym elementem uczestniczącym w trawieniu i przyswajaniu związków odżywczych, i jako organizmy jednokomórkowe stanowią bardzo dobry model do badania toksyczności nanocząstek. Dlatego w pierwszej części badań (prace [2], [3]) skupiłam się wraz z zespołem badawczym na sprawdzeniu, czy  $\text{E171/TiO}_2$  NPs mogą wpływać na wzrost wybranych bakterii mlekowych i patogennych.

Przed rozpoczęciem eksperymentów szczegółowo przeanalizowałam dotychczasową literaturę (zacytowaną w pracach [2] i [3]) w celu doboru wspomnianych, kluczowych parametrów hodowli drobnoustrojów. Zarówno rodzaj jak i zastosowane dawki użytego  $\text{TiO}_2$  oraz dobór szczepów bakterii użytych w badaniach był przemyślany; w obydwu pracach wykorzystaliśmy 4 różne, pod względem charakterystyki,  $\text{TiO}_2$ : trzy E171 klasy spożywczej i  $\text{TiO}_2$  o ściśle zdefiniowanym rozmiarze NPs (21 nm). Zawiesiny każdego typu  $\text{TiO}_2$  były przygotowywane w dejonizowanej wodzie, w szklanych butelkach, w następujących stężeniach: 60, 150, 300 i 600 mg/L. Następnie każda z próbek została poddana 30-minutowej sonikacji. Scharakteryzowaliśmy wielkości cząstek za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), i wykazaliśmy, iż rozmiary wszystkich próbek badanych tlenków tytanu mieściły się w zakresie od 40 do 283 nm. Około 25-40% cząstek wykazało wymiary poniżej 100 nm. Frakcja cząstek  $\text{TiO}_2$  NPs (21 nm) mieściła się w całości w zakresie nano (10-50 nm) w  $\text{TiO}_2$  NPs (21 nm).

W pracy [2] wykorzystaliśmy 17 szczepów bakterii kwasu mlekowego, dostępnych w kolekcji Katedry Biotechnologii Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka (Tabela 1). Każdy ze szczepów bakterii był traktowany  $\text{TiO}_2$  w 4 stężeniach (60, 150, 300 i 600 mg/L  $\text{TiO}_2$ ). Wybrany zakres stężeń był wynikiem badań przesiewowych (screeningowych), które uwzględniały zarówno brak wpływu jak i ich hamowanie wzrostu drobnoustrojów. Doświadczenie przeprowadzono przez 72 godz., mierząc wzrost bakterii (OD<sub>600nm</sub>) co 2 godz. (Bioscreen C Labsystem, Helsinki, Finlandia). Pożywki były dobrane odpowiednio do wymagań wzrostowych

rodzaju/gatunku bakterii. Wpływ nanocząstek na dany szczep był określany względem pożywki kontrolnej bez dodatku nanocząstek. Na podstawie uzyskanych wyników określiliśmy wartości kinetyki wzrostu bakterii przy użyciu skryptu PYTHON dla poszczególnych szczepów i każdego wariantu podłoża.

### Tabela. 1

Lista wybranych szczepów bakterii użytych w doświadczeniu.

Gatunek i szczep
1. <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> B-1445
2. <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> IB
3. <i>Bifidobacterium bifidum</i> B 41410
4. <i>Lactococcus lactis</i> PCM 2678
5. <i>Bifidobacterium adolescentis</i> DSM 20086
6. <i>Lactobacillus acidophilus</i> DSM 20079
7. <i>Bifidobacterium longum</i> B-41409
8. <i>Pediococcus pentosaceus</i>
9. <i>Lactobacillus johnsonii</i> DSM 10553
10. <i>Lacticaseibacillus casei</i> Lby
11. <i>Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus</i>
12. <i>Lactobacillus gasseri</i> PCM 2500
13. <i>Limosilactobacillus fermentum</i> PCM 491
14. <i>Lactobacillus helveticus</i> DSM 20075
15. <i>Lactobacillus intermedicus</i> B 3693
16. <i>Levilactobacillus brevis</i> B 1139
17. <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> B 4496

Krzywa wzrostu drobnoustrojów, przy dodatku każdego typu  $\text{TiO}_2$  w najniższym stężeniu (60 mg/L), była w przypadku 12 szczepów zbliżona do hodowli kontrolnych (bez dodatku  $\text{TiO}_2$ ). Natomiast szczepy *B. adolescentis*, *L. delbrueckii*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. intermedius* już przy tak niskich stężeniach  $\text{TiO}_2$  wykazały spowolnienie wzrostu. Różnice w krzywych wzrostu pomiędzy zastosowanymi czterema rodzajami E171/ $\text{TiO}_2$  NPs, przy stężeniu 60 mg/L, były nieznaczące. Dodatkowo, w przypadku *L. delbrueckii sp. bulgaricus* ( $\text{TiO}_2$  NPs), zaobserwowano znaczne opóźnienie wejścia w fazę intensywnego podziału komórek w porównaniu z kontrolą. Przy aplikacji dwóch kolejnych stężeń: 150 mg/L i 300 mg/L, wszystkie szczepy wykazały pewien stopień zahamowania wzrostu. Co ciekawe, oba te stężenia niekiedy działały hamująco na bakterie w tym samym stopniu - krzywe wzrostu uzyskane przy dodatku 150 mg/L i 300 mg/L do hodowli danego szczepu często nakładały się na siebie. Przy wyższych stężeniach lepiej widoczne były różnice pomiędzy różnymi rodzajami  $\text{TiO}_2$ ; przy stężeniu 150 mg/L odnotowano to w przypadku szczepów *L. rhamnosus*, *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, natomiast dla stężenia 300 mg/L w przypadku *B. longum*, *L. rhamnosus* i *L. acidophilus*. Przy stężeniu 600 mg/L wykazano znaczne obniżenie wzrostu lub wydłużenie czasu fazy lag dla wszystkich badanych szczepów na pożywce MRS, z dodatkiem 4 różnych rodzajów  $\text{TiO}_2$ . **W tych badaniach, w przypadku większości badanych szczepów, stwierdziłam że dodatek**

**E171/TiO<sub>2</sub> NPs negatywnie wpłyną na wzrost badanych szczepów bakteryjnych, względem kontroli. Wykazałam, iż różnice w obniżeniu szybkości wzrostu poszczególnych szczepów spowodowane były zarówno rodzajem TiO<sub>2</sub>, jak i zastosowanymi stężeniami. W większości badanych szczepów po aplikacji E171 i TiO<sub>2</sub> NPs nastąpiło zahamowanie wzrostu drobnoustrojów już przy stężeniu 150 i 300 mg/L, natomiast wyraźne obniżenie gęstości optycznej (liczebności komórek) stwierdzono przy stężeniu 600 mg TiO<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> (niezależnie od rodzaju tlenu). Należy nadmienić, iż ze względu na ogromną różnorodność mikrobioty u każdego człowieka, w tym zróżnicowane wymagania co do warunków beztlenowych części mikroorganizmów, nie jest łatwo scharakteryzować liczebność poszczególnych grup mikroorganizmów jelitowych. Niemniej jednak zastosowane przez nas stężenia mogą rzeczywiście zaistnieć w jelicie, na przykład po zjedzeniu przez dziecko deseru, co może wpłynąć negatywnie na mikrobiotę. W moich badaniach celowo skupiałam się na posiłkach dla dzieci (zwłaszcza w publikacjach [4] i [5]), ponieważ w doniesieniach literaturowych wskazano, że dzieci są szczególnie narażone na zwiększone spożycie TiO<sub>2</sub> w różnych produktach. Po drugie, dzieci są bardziej wrażliwe na działanie TiO<sub>2</sub> niż dorośli. Przy założeniu, że do jelita dociera 2 dm<sup>3</sup> treści pokarmowej (Gawęcki 2012 str. 62), można stwierdzić że u dziecka będzie to pomiędzy 0,5-1,5 dm<sup>3</sup>. Zatem wybrane przeze mnie do badań stężenia są zgodne z wyliczeniem ilości TiO<sub>2</sub> zjedzonego przez dziecko o masie ciała 40 kg. Wyliczenie to jest prawidłowe zarówno przy dopuszczalnej dawce 2,25 mg TiO<sub>2</sub> NPs/kg BW/dzień (EFSA, 2016; wg przeliczeń jest to 90 mg TiO<sub>2</sub> NPs) jak i przy 10-krotnie wyższym spożyciu (900 mg TiO<sub>2</sub> NPs). Przedstawione wyżej wyliczenia realnego spożycia TiO<sub>2</sub> przez dzieci nie jest tak popularne w publikacjach w dziedzinie jak można byłoby się spodziewać. Dlatego też uważam że wyliczenie to przeze mnie wykonane jest bardzo użyteczne w celu dokładnego oszacowania wpływu TiO<sub>2</sub> na zdrowie człowieka. Z pewnością takie oszacowania wymagają ciągłych weryfikacji i potwierdzeń.**

**Nowością tej pracy jest charakterystyka znacznej liczby szczepów, należących do różnych rodzajów, które nie były wcześniej badane.** Istnieją nieliczne badania, podobne do tych przez nas prezentowanych, dlatego nasza praca bardzo dobrze wpisuje się w ten kontekst i **uzupełnia lukę w tym temacie.** Ponieważ Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka posiada w swojej kolekcji kilkadziesiąt szczepów jelitowych bakterii kwasu mlekowego, planowane jest poszerzenie skali badań na ten temat.

Oprócz bakterii komensalnych, mikrobiota przewodu pokarmowego jest regularnie narażona na obecność (przejściową) bakterii przenoszonych w żywności, które mogą również wejść w kontakt z TiO<sub>2</sub> w jelicie (Derrien i Vlieg 2015; Zhang i in., 2016). Może to wywierać negatywny wpływ na rezydującą mikrobiotę, a w konsekwencji na zdrowie człowieka. Ponieważ w publikacji [2] wykazałam, że nanocząstki wpływają negatywnie na wzrost bakterii kwasu mlekowego, to istnieje możliwość iż w momencie dysbiozy jelitowej może dojść do dalszych zaburzeń w równowadze mikrobiologicznej i związanej z nią funkcji ochronnej, jaką pełnią te drobnoustroje względem zdrowia człowieka. W kolejnej pracy [3] skupiałam się zatem na wpływie E171/TiO<sub>2</sub> NPs stosowanych w produkcji żywności na wybrane patogenne i oportunistyczne bakterie jelitowe. Monitorowanie wzrostu bakterii ujawniło różnice w obniżeniu tempa wzrostu szczepów, w zależności od rodzaju i stężenia TiO<sub>2</sub>. Procentowa inhibicja wzrostu

bakterii była wprost proporcjonalna do wzrastającego stężenia nanocząstek, w porównaniu z kontrolą. Zaobserwowałam różnice we wzroście *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* i *Salmonella anatum* na podłożu Luria-Bretani z dodatkiem czterech różnych rodzajów  $\text{TiO}_2$  przy stężeniu 300 mg/L oraz różnice przy ekspozycji na najwyższe stężenie (600 mg/L), w porównaniu z hodowlami kontrolnymi. Badany szczep *E. coli* okazał się być najbardziej odporny spośród trzech wymienionych gatunków na negatywne działanie E171/NPs, gdyż nie stwierdzono zahamowania wzrostu tej bakterii przy stężeniach 60 i 150 mg/L, jednak już przy stężeniu 600 mg/L maksymalna wartość OD obniżyła się o połowę względem kontroli. Z kolei *B. subtilis* okazał się niemal równie podatny na negatywne działanie nanocząstek jak *M. luteus*. Wyraźne obniżenie tempa wzrostu odnotowano przy najniższym stężeniu, jednak szczep *B. subtilis* z czasem przystosował się do niekorzystnego środowiska i wykazywał podobne tempo wzrostu jak w próbie kontrolnej. Szczep *M. luteus*, spośród wszystkich bakterii zbadanych w tej publikacji, był najbardziej podatny na działanie prawie wszystkich stężeń i rodzajów  $\text{TiO}_2$ . Wzrost *M. luteus* został obniżony już przy najniższym stężeniu (60 mg/L), a znaczne obniżenie wzrostu odnotowano po ekspozycji na pozostałe badane stężenia  $\text{TiO}_2$ . Szczep ten wykazywał istotne ograniczenie wzrostu we wszystkich wariantach eksperymentalnych, a rosnącemu stężeniu towarzyszył coraz większy procent obniżenia tempa wzrostu, w stosunku do kontroli, aż do całkowitego zahamowania wzrostu w najwyższym stężeniu.

**W pracy [3] wykazałam, że cztery rodzaje  $\text{TiO}_2$  zastosowane w stężeniach 300 mg/L i 600 mg/L obniżały tempo wzrostu czterech szczepów bakterii. Co ciekawe, przy stężeniu 300 mg/L wystąpiły wyraźne różnice we wzroście bakterii w obecności różnych typów E171/NPs  $\text{TiO}_2$ , przy uwzględnieniu prób kontrolnych. Stwierdziłam także, że zarówno rodzaj jak i stężenie  $\text{TiO}_2$  może mieć wpływ na wynik eksperymentu. Biorąc jednak pod uwagę otrzymane wyniki oraz wyniki innych autorów przytoczone w dyskusji, można z całą pewnością przyjąć, że  $\text{TiO}_2$  rzeczywiście wpływa na wzrost badanych mikroorganizmów. W omawianej pracy wykazałam obniżenie wzrostu bakterii spowodowane zarówno spożywcym E171, jak i  $\text{TiO}_2$  NPs w większości analizowanych szczepów.**

W trakcie transportu przez GIT pokarm ulega specyficznym zmianom strukturalnym i fizykochemicznym (McClements i in., 2016). Enzymy, płyny trawienne i zmiany pH w poszczególnych odcinkach przewodu mogą potencjalnie wpływać na absorpcję *in vivo* (Bischoff i in., 2020). Współwystępowanie bakterii, matrycy żywnościowej i  $\text{TiO}_2$  w układzie może obniżać "biodostępność"  $\text{TiO}_2$  podczas trawienia. W kolejnych pracach **skupiłam się zatem na określeniu zdolności składników żywności do wiązania  $\text{TiO}_2$  NPs by sprawdzić, czy może to wpłynąć na spowolnienie (obniżenie) wchłaniania NPs z przewodu pokarmowego poprzez obniżenie "biodostępności" (prace [4] i [5]).**

Do przeprowadzenia doświadczenia wytypowałam jeden z barwników spożywczych E171 (zawierający 25,93% frakcji <100 nm), który został wykorzystany w poprzednich dwóch pracach [2] i [3]. Moim celem było wykorzystanie barwnika spożywczego, który jest powszechnie stosowany w przemyśle spożywczym i spożywany przez ludzi. Chciałam wyjaśnić, czy możliwe jest uwięzienie  $\text{TiO}_2$  (obniżenie „biodostępności” Ti) w trójwymiarowej sieci stworzonej przez składniki takich produktów jak zupa przecierowa, smoothie owocowe itp. (głównie polimery



takie jak pektyny, białka, celuloza i inne). W celu zbadania „biodostępności” Ti w modelu przewodu pokarmowego *in vitro*, podczas „trawienia” próbek żywności, zastosowaliśmy membranę mikrofiltracyjną (przesącz jako „wchłaniana” frakcja; cut-off 200 nm). Model *in vitro* przewodu pokarmowego użyty do symulacji trawień porcji pokarmowych (zupka dla dzieci i sok wieloowocowy typu „smoothie”) przedstawiono w materiałach dodatkowych w publikacji [4] (Suppl. Material, Fig S2). Ponieważ wybrany do doświadczeń barwnik spożywczy E171 zawierał ok. 75% cząstek przekraczający wymiary nano, przygotowaliśmy zawiesinę barwnika spożywczego E171 i przeprowadziliśmy mikrofiltrowanie tej zawiesiny (cut-off 200 nm), uzyskując frakcję która mogła swobodnie przemieszczać się przez membranę (imitującą „nabłonek jelitowy”). Odtworzyliśmy w sposób modelowy możliwość badania „biodostępności” Ti. Tak przygotowany mikrofiltrat użyliśmy (bezpośrednio po przygotowaniu) jako rozpuszczalnik dla wszystkich składników niezbędnych do prowadzenia trawień *in vitro*, opisanych w pracach [4] i [5]. Jak wspomniałam wyżej, „biodostępność” w przeprowadzonych trawieniach *in vitro* zbadaliśmy za pomocą mikrofiltrowania prowadzonego dokładnie za pomocą takiej samej membrany jaką użyto podczas wstępnego przygotowania mikrofiltratu. Założyłam, że nanocząstki które uprzednio przemieściły się przez membranę, ponownie będą przechodzić. Założyliśmy więc, że wszelkie obserwowane obniżenie migracji TiO<sub>2</sub> przez membranę w trakcie trawienia *in vitro* będzie związane z interakcjami TiO<sub>2</sub> ze składnikami smoothie bądź zupki (obniżającymi „biodostępność” TiO<sub>2</sub>). Pompa perystaltyczna pracująca w czasie trawienia *in vitro* w trybie bardzo wolnym (ok. 20 obrotów/min.) była używana zarówno do prowadzenia mikrofiltrowania jak również naśladowała ruchy perystaltyczne w modelu przewodu pokarmowego. W doświadczeniu zastosowaliśmy 5-krotnie wyższą dawkę TiO<sub>2</sub> niż dawkę dopuszczalną (2,5 mg TiO<sub>2</sub> NPs/kg m.c./dobę) sugerując się tym, że dziecko może spożyć znacznie wyższą dawkę niż dopuszczalna (Weir i in., 2012). Dawkę przeliczyłam na masę ciała dziecka wynoszącą 40 kg (450 mg TiO<sub>2</sub>/dzień).

Moim celem w opisanych doświadczeniach z użyciem modelu przewodu pokarmowego *in vitro* było również sprawdzenie, czy dodanie bakterii na etapie „jelita grubego” spowoduje obniżoną „biodostępność” Ti. Do trawień wybrałam *L. plantarum* B 4469, ponieważ jak wynika z publikacji [2], szczep ten wykazywał proporcjonalne obniżenie wzrostu względem wrastającego stężenia dla wszystkich badanych rodzajów TiO<sub>2</sub> oraz charakteryzował się jednocześnie najlepszym wzrostem na pożywce kontrolnej. Jako że zdolności gatunku *L. plantarum* do adaptacji i zajmowania zróżnicowanych środowisk są potwierdzone (Martino i in. 2016, Siezen i in. 2010) wybór tego szczepu pozwolił na uzyskanie zadowalającego wzrostu w niekorzystnych warunkach trawienia *in vitro* zarówno w próbach kontrolnych jak i w obecności nanocząstek.

W pierwszej pracy w tej części badań [4] „trawieniu” poddaliśmy owocowe smoothie. Produkt został wybrany po wstępnych badaniach 8 podobnych produktów, biorąc pod uwagę złożoność składu oraz podatność na mikrofiltrowanie. „Biodostępność” Ti symulowano przy użyciu membrany mikrofiltracyjnej (0,2 μm), jak opisano wyżej. Przed trawieniem, jak również na etapie „jamy ustnej”, można było zaobserwować, że Ti przechodził przez membranę mikrofiltracyjną w wyższych stężeniach, jeśli nie dodano smoothie. Ponieważ TiO<sub>2</sub> jest, w tym przypadku, chemicznie neutralny, podejrzewa się, że tlenek nie reagował chemicznie ze



składnikami smoothie, ale został mechanicznie uwięziony i dlatego nie mógł być "wchłonięty" w tym prostym modelu "biodostępności" wykorzystującym membranę mikrofiltracyjną. Należy jeszcze raz przypomnieć, że  $\text{TiO}_2$  obecny w "trawionych" próbkach został wyselekcjonowany z komercyjnego E171 poprzez mikrofiltrowanie za pomocą tej samej membrany mikrofiltracyjnej, która była używana podczas "trawienia". **Tak więc wykazałam, że obecność smoothie w płynie "pokarmowym", podczas trawienia *in vitro*, obniżyło zdolność  $\text{TiO}_2$  do przechodzenia przez membranę mikrofiltracyjną 0,2  $\mu\text{m}$ . Uznałam, że dodatek smoothie doprowadził do uwięzienia  $\text{TiO}_2$  w trójwymiarowej strukturze tworzonej przez polimery obecne w smoothie (głównie nieskrobiowych polisacharydów, takich jak pektyny, celuloza i hemiceluloza, a także polifenoli).**

Zaobserwowałam również, że zawartość  $\text{TiO}_2$  w "płynie trawiennym" była niższa, w porównaniu z próbą kontrolną, dzięki obecności szczepu *L. plantarum* na etapie "jelita grubego" (powodem było wiązanie na powierzchni bakterii). Liczebność komórek obliczona metodą posiewu płytkowego wykazała, iż w obecności  $\text{TiO}_2$  znacząco obniżyła się liczba bakterii po 10 godz. trawienia na etapie "jelita grubego", natomiast obrazowanie SEM wykazało dobrze widoczne zmiany morfologiczne komórek po ekspozycji na  $\text{TiO}_2$  (głębokie wgłębienia w zdeformowanych komórkach oraz zapadnięte ściany w wyniku wycieku zawartości). Z przedstawionych badań wynika że bakterie obecne w jelicie grubym mogą skutecznie wiązać  $\text{TiO}_2$  co może ograniczać wchłanianie tego tlenku.

W ostatniej z przedstawianych prac [5] trawieniu *in vitro* poddaliśmy mięsno-warzywną zupę przecierową dla dzieci. Podczas „trawienia” staraliśmy się sprawdzić, czy składniki zawarte w zupie mogą obniżyć "biodostępność"  $\text{TiO}_2$  z przewodu pokarmowego. Produkt ten charakteryzuje się rozległą degradacją tkanki surowców - powierzchnia i objętość właściwa polimerów (takich jak polisacharydy nieskrobiowe) jest znacznie zwiększona. Od samego początku "trawienia" można zaobserwować, iż stężenia Ti przechodzącego przez membranę mikrofiltracyjną były wyższe w "trawionych" próbkach kontrolnych bez dodatku zupy, w porównaniu ze stężeniami obserwowanymi w mikrofiltracie uzyskanym w obecności zupy. Podobne efekty zaobserwowałam w równoległej pracy, w której badaliśmy "biodostępność" Ti ze smoothie [4]. Jednak w przypadku zupy stwierdziłam zdecydowanie niższą "biodostępność" Ti we wszystkich odcinkach "przewodu pokarmowego", w porównaniu z "biodostępnością" w płynach "trawiennych" badanych bez dodatku zupy. W obecności zupy,  $\text{TiO}_2$  był zatrzymywany wewnątrz „trawionej” treści pokarmowej. Oprócz powyższych zjawisk, do innych ważnych czynników wpływających na zachowanie  $\text{TiO}_2$  podczas jego pasażu w przewodzie pokarmowym należą zawartość soli, różnorodność matrycy pokarmowej oraz wahania pH. Podczas trawienia *in vitro*  $\text{TiO}_2$  NPs znajdują się w środowisku o niskim pH (3,0 lub niższym) i w złożonych roztworach elektrolitów, w obecności różnych frakcji organicznych (białek, lipidów itp.), co wpływa na właściwości fizykochemiczne nanocząstek. Niskie pH w żołądku ułatwia aglomerowanie cząstek  $\text{TiO}_2$  ze względu na ładunek powierzchniowy NPs. Zjawisko to mogliśmy zaobserwować również w naszych badaniach, gdyż na etapie „żołądka” najpierw odnotowano obniżenie stężenia  $\text{TiO}_2$ , po czym wraz ze wzrostem pH w "dwunastnicy" stężenie  $\text{TiO}_2$  w mikrofiltracie wzrastało, co wskazywało na wyższą "biodostępność" sugerującą degradowanie dużych aglomeratów  $\text{TiO}_2$  do mniejszych form.

Zjawisko wiązania NPs z polimerowymi składnikami żywności zostało już udowodnione w ostatnich latach. Na przykład, zdolność do wiązania NPs przez polifenole została dobrze udokumentowana przez Li i in. (2021b, 2022). W moim przekonaniu w publikacjach [4] i [5] wskazałam, że  $\text{TiO}_2$  został zatrzymany wewnątrz „trawionej” treści pokarmowej, co uniemożliwiło mu dotarcie do powierzchni membrany mikrofiltracyjnej, a więc naturalnie także uniemożliwiło jego transfer transmembranowy w naszym autorskim modelu "biodostępności". Kupiony do tego eksperymentu komercyjny  $\text{TiO}_2$  klasy spożywczej zawierał bardzo szeroki zakres frakcji (wielkości cząstek), przekraczający wymiary nano. Jednak przed eksperymentem został on starannie przygotowany (jak opisano powyżej), a uzyskany mikrofiltrat został wykorzystany w badaniach. Stąd w "trawieniach" używano tylko frakcji  $\text{TiO}_2$  uprzednio mikrofiltrowanej. W ten sposób wyeliminowano możliwość, że  $\text{TiO}_2$  nie przeniknie przez membranę podczas "trawienia" z powodu czynników innych niż interakcje ze składnikami zupy czy też smoothie. Innymi słowy, każde obniżenie zawartości  $\text{TiO}_2$  w mikrofiltracie uzyskanym podczas "trawienia" można przypisać zjawiskom zachodzącym pomiędzy składnikami w "trawionym" płynie, a nie interakcjom z membraną mikrofiltracyjną. Zaobserwowałam, że na etapie "jelita grubego", po dodaniu *inoculum* (*L. plantarum*), w obecności matrycy pokarmowej, stężenie Ti w mikrofiltracie uległo znacznemu obniżeniu w porównaniu z próbą kontrolną (płynny trawienne, bakterie, brak zupy). Uważam, że mogło to wynikać ze zwiększonej tendencji  $\text{TiO}_2$  do gromadzenia się na powierzchni komórek bakteryjnych. Obrazowanie SEM wykazało iż na powierzchni niektórych komórek widoczne były skupiska NPs i obserwowano zmiany morfologiczne komórek. Zaobserwowaliśmy również, że już po 10 godz. inkubacji bakterii w obecności  $\text{TiO}_2$  na etapie „jelita grubego”, nastąpiło obniżenie liczebności bakterii o 34,5% w odniesieniu do czasu zero. Jest to potwierdzenie wstępnych badań nad hamującym działaniem E171/ $\text{TiO}_2$  NPs w stosunku do bakterii kwasu mlekowego i bakterii patogennych (prace [2] i [3]).

#### 4.3.3. Podsumowanie

W prezentowanych w badaniach, w pracach [2] i [3] **wykazałam, iż wzrost bakterii był hamowany zarówno przez spożywczy E171 jak i  $\text{TiO}_2$  NPs w przypadku większości badanych szczepów.** Wykazałam, że właściwości antybakteryjne NPs mogą prowadzić do zmiany mikrobioty jelita, dlatego potrzebna są dalsze badania w celu lepszego zrozumienia mechanizmu toksyczności NPs względem mikrobioty człowieka. W dalszej części badań, w celu określenia możliwości interakcji z E171/ $\text{TiO}_2$  NPs ze składnikami produktów spożywczych i jelitowych bakterii kwasu mlekowego, przeprowadziliśmy "trawienie" *in vitro* matrycy żywnościowej (smoothie, mięsno-warzywna zupa przecierowa) przy użyciu zaawansowanego modelu *in vitro* "przewodu pokarmowego". Rozważałam kwestię, czy obecność  $\text{TiO}_2$  wraz ze strawioną porcją pożywienia i bakteriami może prowadzić do obniżonego uwalniania  $\text{TiO}_2$  z matrycy pokarmowej, co testowaliśmy przy użyciu mikrofiltracji, w celu modelowania "biodostępności". **Stanowi to *novum* gdyż nie spotkano się do tej pory w pracach naukowych z przeprowadzeniem tego rodzaju eksperymentu.** Zaobserwowałam zmiany zawartości  $\text{TiO}_2$  w mikrofiltratach uzyskanych na różnych etapach trawienia *in vitro*, zależne od etapu procesu. **Stwierdziłam, że musi dochodzić do interakcji  $\text{TiO}_2$  ze składnikami żywności, gdyż**

**zaobserwowaliśmy obniżony transfer TiO<sub>2</sub> przez membranę mikrofiltracyjną. Skaningowa mikroskopia elektronowa natomiast ujawniła widoczne zmiany morfologiczne komórek bakteryjnych w obecności TiO<sub>2</sub> [4, 5].**

Przeprowadzone badania mają charakter innowacyjny, określenie wpływu E171/TiO<sub>2</sub> NPs na wzrost bakterii pozwoliło na wstępne określenie ryzyka związanego z obecnością tych NPs w pożywieniu. Zaplanowane przeze mnie i przeprowadzone badania są nowatorskie i ich realizacja pozwoliła na pozyskanie nowej wiedzy, dotyczącej wiązania NPs przez składniki porcji pożywienia podlegającej trawieniu lub/i przez komórki bakterii. Wzbogaciłam, wraz ze współpracownikami, model trawienia *in vitro* o nowe elementy metodyki, dzięki czemu model ten może być użyty przez kolejne zespoły naukowców w celu zrealizowania podobnych badań. Nowością jest sposób wstępnego przygotowania frakcji nanocząstek (wstępne mikrofiltrowanie) oraz prowadzenia trawień (z uwzględnieniem mikroorganizmów), w celu zbadania biodostępności Ti. Niemniej jednak, potrzebne są zaawansowane modele *in vivo* w warunkach eksperymentalnych, by umożliwić systematyczne badania niezbędne do lepszego zrozumienia różnic w toksyczności między NPs a mikrobiotą człowieka.

Wykonanie zaplanowanych w niniejszym projekcie badań wiązało się z pojawieniem się nowych wątków badawczych i pytań naukowych. W związku z tym doświadczeniem wyniki uzyskane w projekcie posłużyły mi do złożenia kolejnego wniosku (Opus 24, NCN nr 2022/47/B/NZ9/00015) w celu pozyskania środków finansowych i przeprowadzenia szerszych badań. Obecnie podjęłam dalsze prace badawcze we współpracy z ośrodkami w Polsce i za granicą, dotyczące m.in. badania *in vitro* z udziałem linii komórkowych pozyskanych z jelita (Caco-2/HT29-MTX). Wyniki prowadzonych badań zostaną opublikowane w ciągu najbliższego czasu.

### Literatura

1. Gultekin F., Oner. M. E., Savas. H. B., Dogan. B. (2020). Food additives and microbiota. *North Clin Istanbul*, 7(2), 192–200. doi: 10.14744/nci.2019.92499.
2. Weir. A., Westerhoff. P., Fabricius. L., Hristovski. K., & von Goetz. N. (2012). Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environmental Science & Technology*, 46(4), 2242–50. <https://doi.org/10.1021/es204168d>.
3. EFSA (2016). Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food. Scientific opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E171) as a food additive. *EFSA Journal*, (Vol. 14 p. 4545). <https://doi:10.2903/j.efsa.2016.4545>.
4. Dufouir. W., Terrisse. H., Richard-Plouet. M., Gautron. E., Popa. F., Humbert. B., & Ropers. M. H. (2017). Criteria to define a more relevant reference sample of titanium dioxide in the context of food: a multiscale approach. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1–13. doi:10.1080/19440049.2017.1284346.
5. Winkler, H. C., Notter, T., Meyer, U., & Naegeli, H. (2018). Critical review of the safety assessment of titanium dioxide additives in food. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1). doi:10.1186/s12951-018-0376-8
6. Yada, R. Y., Buck, N., Canady, R., DeMerlis, C., Duncan, T., Janer, G., ... Thurmond, S. (2014). Engineered Nanoscale Food Ingredients: Evaluation of Current Knowledge on Material Characteristics Relevant to Uptake from the Gastrointestinal Tract. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 730–744. doi:10.1111/1541-4337.12076.
7. Acar, M., Bulut, Z., Ateş, A., Nami, B., Koçak, N., & Yıldız, B. (2014). Titanium dioxide nanoparticles induce cytotoxicity and reduce mitotic index in human amniotic fluid-derived cells. *Human & Experimental Toxicology*, 34(1), 74–82. doi:10.1177/0960327114530742.

8. Coccini, T., Grandi, S., Lonati, D., Locatelli, C., & De Simone, U. (2015). Comparative cellular toxicity of titanium dioxide nanoparticles on human astrocyte and neuronal cells after acute and prolonged exposure. *NeuroToxicology*, 48, 77–89. doi:10.1016/j.neuro.2015.03.006.
9. Derrien, M., & van Hylekama Vlieg, J. E. T. (2015). Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends in Microbiology*, 23(6), 354–366. doi:10.1016/j.tim.2015.03.002.
10. Proquin, H., Rodríguez-Ibarra, C., Moonen, C. G. J., Urrutia Ortega, I. M., Briedé, J. J., de Kok, T. M., ... Chirino, Y. I. (2016). Titanium dioxide food additive (E171) induces ROS formation and genotoxicity: contribution of micro and nano-sized fractions. *Mutagenesis*, 32(1), 139–149. doi:10.1093/mutage/gew051.
11. Talbot, P., Radziwill-Bienkowska, J. M., Kamphuis, J. B. J., Steenkeste, K., Bettini, S., Robert, V., ... Mercier-Bonin, M. (2018). Food-grade TiO<sub>2</sub> is trapped by intestinal mucus in vitro but does not impair mucin O-glycosylation and short-chain fatty acid synthesis in vivo: implications for gut barrier protection. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1). doi:10.1186/s12951-018-0379-5.
12. Agans, R. T., Gordon, A., Hussain, S., & Paliy, O. (2019). Titanium dioxide nanoparticles elicit lower direct inhibitory effect on human gut microbiota than silver nanoparticles. *Toxicological Sciences*. doi:10.1093/toxsci/kfz183
13. IARC (2010) carbon black, titanium dioxide, and talc. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Lyon, France. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono93.pdf>
14. Dedefoi, W., Moniz, K., Allen-Vercocoe, E., Ropers, M.-H., & Walker, V. K. (2017b). Impact of food grade and nano-TiO<sub>2</sub> particles on a human intestinal community. *Food and Chemical Toxicology*, 106, 242–249. doi:10.1016/j.fct.2017.05.050.
15. Cao, X., Han, Y., Gu, M., Du, H., Song, M., Zhu, X., ... Xiao, H. (2020). Foodborne Titanium Dioxide Nanoparticles Induce Stronger Adverse Effects in Obese Mice than Non-Obese Mice: Gut Microbiota Dysbiosis, Colonic Inflammation, and Proteome Alterations. *Small*, 2001858. doi:10.1002/sml.202001858.
16. EFSA Panel on Food Additives and Flavourings „Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive.” *EFSA J* 19 (5) (2021) 6585.
17. Zhou, H., Pandya, J. K., Tan, Y., Liu, J., Peng, S., Muriel Mundo, J., ... McClements, D. J. (2019). Role of Mucin on Behavior of Food-Grade TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Under Simulated Oral Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. doi:10.1021/acs.jafc.9b01732
18. Heringa, M., Geraets, L., van Eijkeren, J., Vandebriel, R., de Jong, W., & Oomen, A. (2017). Risk assessment of titanium dioxide nanoparticles via oral exposure, including toxicokinetic considerations. *Toxicology Letters*, 280, S236. doi:10.1016/j.toxlet.2017.07.653.
19. Chen, X.-X., Cheng, B., Yang, Y.-X., Cao, A., Liu, J.-H., Du, L.-J., ... Wang, H. (2012). Characterization and Preliminary Toxicity Assay of Nano-Titanium Dioxide Additive in Sugar-Coated Chewing Gum. *Small*, 9(9-10), 1765–1774. doi:10.1002/sml.201201506.
20. Guo, Z., Martucci, N. J., Moreno-Olivas, F., Tako, E., & Mahler, G. J. (2017). Titanium dioxide nanoparticle ingestion alters nutrient absorption in an in vitro model of the small intestine. *NanoImpact*, 5, 70–82. doi:10.1016/j.impact.2017.01.002.
21. Warheit, D. B., & Donner, E. M. (2015). Risk assessment strategies for nanoscale and fine-sized titanium dioxide particles: Recognizing hazard and exposure issues. *Food and Chemical Toxicology*, 85, 138–147. doi:10.1016/j.fct.2015.07.001.
22. McClements, D. J., Xiao, H., & Demokritou, P. (2017a). Physicochemical and colloidal aspects of food matrix effects on gastrointestinal fate of ingested inorganic nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 246, 165–180. doi:10.1016/j.cis.2017.05.010.
23. McClements, D. J., & Xiao, H. (2017b). Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. *Npj Science of Food*, 1(1). doi:10.1038/s41538-017-0005-1
24. McClements, D. J., DeLoid, G., Pyrgiotakis, G., Shatkin, J. A., Xiao, H., & Demokritou, P. (2016). The role of the food matrix and gastrointestinal tract in the assessment of biological properties of ingested engineered nanomaterials (iENMs): State of the science and knowledge gaps. *NanoImpact*, 3-4, 47–57. doi:10.1016/j.impact.2016.10.002.
24. Xiong, S., George, S., Yu, H., Damoiseaux, R., France, B., Ng, K. W., & Loo, J. S.-C. (2012). Size influences the cytotoxicity of poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) and titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles. *Archives of Toxicology*, 87(6), 1075–1086. doi:10.1007/s00204-012-0938-8.



25. Lichtenstein, D., Ebmeyer, J., Knappe, P., Juling, S., Böhmert, L., Selve, S., ... Lampen, A. (2015). Impact of food components during in vitro digestion of silver nanoparticles on cellular uptake and cytotoxicity in intestinal cells. *Biological Chemistry*, 396(11). doi:10.1515/hsz-2015-0145.
26. Di Silvio, D., Rigby, N., Bajka, B., Mackie, A., & Baldelli Bombelli, F. (2016). Effect of protein corona magnetite nanoparticles derived from bread in vitro digestion on Caco-2 cells morphology and uptake. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 75, 212–222. doi:10.1016/j.biocel.2015.10.019.
27. Li, Q., Li, T., Liu, C., DeLoid, G., Pyrgiotakis, G., Demokritou, P., ... McClements, D. J. (2017). Potential impact of inorganic nanoparticles on macronutrient digestion: titanium dioxide nanoparticles slightly reduce lipid digestion under simulated gastrointestinal conditions. *Nanotoxicology*, 11(9-10), 1087–1101. doi:10.1080/17435390.2017.1398356.
28. Wang, Y., Chen, Z., Ba, T., Pu, J., Chen, T., Song, Y., ... Jia, G. (2012). Susceptibility of Young and Adult Rats to the Oral Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles. *Small*, 9(9-10), 1742–1752. doi:10.1002/sml.201201185.
29. Rahaman, T., Vasiljevic, T., & Ramchandran, L. (2016). Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 24–34. doi:10.1016/j.tifs.2016.01.001.
30. Bing, J., Xiao, X., McClements, D. J., Biao, Y., & Chongjiang, C. (2021). Protein corona formation around inorganic nanoparticles: Food plant proteins-TiO<sub>2</sub> nanoparticle interactions. *Food Hydrocolloids*, 115, 106594. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106.
31. Cao, X., Ma, C., Gao, Z., Zheng, J., He, L., McClements, D. J., & Xiao, H. (2016). Characterization of the interactions between titanium dioxide nanoparticles and polymethoxyflavones using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(49), 9436-9441. doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03906
32. Li, Q., Duan, M., Liu, L., Chen, X., Fu, Y., Li, J., Zhao, Z., & McClements, D. J. (2021b). Impact of polyphenol interactions with titanium dioxide nanoparticles on their bioavailability and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(33), 9661-9670. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01970.
33. Lamas, B., Martins Breyner, N., & Houdeau, E. (2020). Impacts of foodborne inorganic nanoparticles on the gut microbiota-immune axis: potential consequences for host health. *Particle and Fibre Toxicology*, 17(1). doi:10.1186/s12989-020-00349-z.
34. Limage, R., Tako, E., Kolba, N., Guo, Z., García-Rodríguez, A., Marques, C. N. H., & Mahler, G. J. (2020). TiO<sub>2</sub> Nanoparticles and Commensal Bacteria Alter Mucus Layer Thickness and Composition in a Gastrointestinal Tract Model. *Small*, 2000601, doi:10.1002/sml.202000601.
35. Pradhan, N., Singh, S., Ojha, N., Shrivastava, A., Barla, A., Rai, V., & Bose, S. (2015). Facets of Nanotechnology as Seen in Food Processing, Packaging, and Preservation Industry. *BioMed Research International*, 1–17. doi:10.1155/2015/365672.
36. Waller, T., Chen, C., & Walker, S. L. (2017). Food and Industrial Grade Titanium Dioxide Impacts Gut Microbiota. *Environmental Engineering Science*, 34(8), 537–550. doi:10.1089/ees.2016.0364.
37. Pietroiusti, A., Magrini, A., & Campagnolo, L. (2016). New frontiers in nanotoxicology: Gut microbiota/microbiome-mediated effects of engineered nanomaterials. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 299, 90–95. doi:10.1016/j.taap.2015.12.017.
38. Pietroiusti, A., Bergamaschi, E., Campagna, M., Campagnolo, L., De Palma, G., Iavicoli, S., ... Iavicoli, I. (2017). The unrecognized occupational relevance of the interaction between engineered nanomaterials and the gastro-intestinal tract: a consensus paper from a multidisciplinary working group. *Particle and Fibre Toxicology*, 14(1), doi:10.1186/s12989-017-0226-0.
39. Derrien, M., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2015). Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends in microbiology*, 23(6), 354-366. doi: 10.1016/j.tim.2015.03.002.
40. Zhang, C., Derrien, M., Levenez, F., Brazeilles, R., Ballal, S. A., Kim, J., ... Veiga, P. (2016). Ecological robustness of the gut microbiota in response to ingestion of transient food-borne microbes. *The ISME Journal*, 10(9), 2235–2245. doi:10.1038/ismej.2016.13
41. Bischoff, N.S., de Kok, T.M., Sijm, D.T.H.M., van Breda, S.G., Briedé, J.J., Castenmiller, J.J.M., Opperhuizen, A., Chirino, Y.I., ... van Loveren, H. (2020). Possible Adverse Effects of Food Additive E171

- (Titanium Dioxide) Related to Particle Specific Human Toxicity, Including the Immune System, *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 207.
42. Li, Q., Liu, L., Duan, M., Chen, X., Li, J., Zhao, T., ... & Shi, J. (2022). TiO<sub>2</sub> nanoparticles negatively impact the bioavailability and antioxidant activity of tea polyphenols. *Food Chemistry*, 371, 131045. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131045>.
  43. Li, Y., Jiang, K., Cao, H., Yuan, M., & Xu, F. (2021). Influences of a standardized food matrix and gastrointestinal fluids on the physicochemical properties of titanium dioxide nanoparticles. *RSC advances*, 11(19), 11568-11582. doi:10.1039/d0ra09706c
  44. Malik, M., Subedi, S., Marques, C. N. H., & Mahler, G. J. (2020). Bacteria Remediate the Effects of Food Additives on Intestinal Function in an in vitro Model of the Gastrointestinal Tract. *Front. Nutr.*, 7. doi:10.3389/fnut.2020.00131
  45. Kim, S.-J., Cho, S. Y., Kim, S. H., Song, O.-J., Shin, I.-S., Cha, D. S., & Park, H. J. (2008). Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT - Food Sci. Tech.*, 41(3), 493-500. doi:10.1016/j.lwt.2007.03.025.
  46. Radziwill-Bienkowska, J. M., Talbot, P., Kamphuis, J. B. J., Robert, V., Cartier, C., Fourquaux, I., Lentzen, E., Audinot, J. N., Jamme, F., Réfrégiers, M., Bardowski, J. K., Langella, P., Kowalczyk, M., Houdeau, E., Thomas, M., & Mercier-Bonin, M. (2018). Toxicity of Food-Grade TiO<sub>2</sub> to Commensal Intestinal and Transient Food-Borne Bacteria: New Insights Using Nano-SIMS and Synchrotron UV Fluorescence Imaging. *Front. Microbiol.*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.00794.
  47. Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., Winiarska-Mieczan, A., (2020a). Effects of titanium dioxide nanoparticles exposure on human health - a review. *Biol Trace Elem Res* 193(2), 118-129, doi: 10.1007/s12011-019-01706-6.
  48. Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., (2020b). Alzheimer's disease: review of current nanotechnological therapeutic strategies. *Expert Rev Neurother* 20(3), 271-279, doi:10.1080/14737175.2020.1719069.
  49. Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Winiarska-Mieczan, A., (2022). A critical review of research on the impact of E171/TiO<sub>2</sub> NPs on the alimentary system. *J Trace Elem Med Biol* 72, 126988. doi:10.1016/j.jtemb.2022.126988.
  50. Gawęcki, J. (Eds.). 2011. *Żywność człowieka: podstawy nauki o żywieniu*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
  51. Martino, M. E., Bayjanov, J. R., Caffrey, B. E., Wels, M., Joncour, P., Hughes, S., ... & Leulier, F. (2016). Nomadic lifestyle of *Lactobacillus plantarum* revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats. *Environ. Microbiol.* 18(12), 4974-4989.
  52. Siezen, R. J., Tzeneva, V. A., Castioni, A., Wels, M., Phan, H. T., Rademaker, J. L., ... & van Hylckama Vlieg, J. E. (2010). Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches. *Environ. Microbiol.* 12(3), 758-773. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02119.x.

## **5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.**

Po ukończeniu studiów zostałam zatrudniona na etacie technicznym w Instytucie Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego w Lublinie. Od samego początku włączyłam się w prowadzone w Katedrze badania dotyczące zanieczyszczeń gleb. Brałam czynny udział jako wykonawca w wielu projektach badawczych (Wykaz II.9. poz.2-6) prowadzonych w Instytucie Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego czego efektem są również opublikowane prace (Wykaz II.2, II.4.1) poz.1,2, II.4.2) poz.1-7). W latach 2004-2006 byłam głównym wykonawcą grantu promotorskiego (Wykaz II.9. poz.2), efektem którego było przedłożenie pracy doktorskiej pod kierunkiem Pana Prof. Stanisława Barana pt. „Zmiany wybranych właściwości gleb obszaru objętego powodzią”.

W 2015 r., będąc zatrudniona na etacie technicznym, rozpoczęłam pracę w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywności Człowieka, w której pracuję do dnia dzisiejszego. W



okresie 01.10.2020 r. - 30.09.2020 r. byłam zatrudniona na 1/2 etatu jako asystent i 1/2 etatu jako specjalista. Od 31.09.2020 r. jestem asystentem zatrudnionym w Katedrze na cały etat.

## Inne tematy badawcze

### Prewencja żywieniowa w chorobie Alzheimerera

Od samego początku pracy w Katedrze dołączyłam do zespołu badawczego Pana Prof. Dominika Sz wajgiera, z którym współpracuję do dnia dzisiejszego. Wątek badawczy prowadzony przez zespół Pana Profesora dotyczy badań związanych z prewencją żywieniową u osób zagrożonych wystąpieniem neurodegeneracji centralnego układu nerwowego (CUN), ze szczególnym uwzględnieniem prewencji w chorobie Alzheimerera (chA). W naszej pierwszej wspólnej pracy przeglądowej omówiliśmy w sposób wyczerpujący rolę kwasów fenolowych jako inhibitorów acetylocholinoesterazy (AChE) i butyrylocholinoesterazy (BChE) oraz inhibitorów fibrylizacji  $\beta$ -amyloidu (Wykaz II.4.1) poz. 4). Naszą uwagę zwróciła również rola kwasu salicylowego oraz jego pochodnej, kwasu gentyzynowego, w prewencji chA. Oba związki chemiczne zainteresowały nas z uwagi na wysoką aktywność przeciwzapalną oraz wysoką skuteczność kwasu gentyzynowego jako inhibitora cholinoesteraz. W pracy wyznaczaliśmy, po raz pierwszy w literaturze, obniżenie aktywności AChE i BChE przez 36 czerwonych win gronowych wyprodukowanych w kilku europejskich krajach, w tym w Polsce. Wskazaliśmy różnice w zawartościach kwasu gentyzynowego i salicylowego w winach (Wykaz II.4.1) poz. 4).

Poza polifenolami, grupą związków biologicznie aktywnych, niedostatecznie zbadaną w kontekście prewencji chA, są nadal związki terpenowe. Skłoniło to nas do ich przebadania. Powstała publikacja dotycząca obniżania aktywności AChE i BChE przez 27 związków terpenowych i fenylopropanoidów (Wykaz II.4.1) poz. 8). **W tej pracy, po raz pierwszy w literaturze światowej**, zaprezentowaliśmy nowe inhibitory cholinoesteraz: jasmonian metylu, 1R(-)-nopol (obniżanie aktywności AChE i BChE) oraz 1,4-cineol, allo-aromadendren, nerolidol,  $\beta$ -jonon i (R)-(+)-pulegon (obniżanie aktywności BChE). Następnie, precyzyjnie określiliśmy wpływ etanolu i metanolu na obniżanie aktywności enzymów. Ponadto, podkreśliliśmy konieczność wykonania próby kontrolnej „fałszywie pozytywnej”, pomijanej przez przeważającą część innych autorów. Praca pozwoliła na zweryfikowanie rzeczywistej aktywności związków terpenowych oraz fenylopropanoidów jako inhibitorów cholinoesteraz, podając niezwykle istotne szczegóły metodyk oznaczania oraz weryfikując wyniki innych autorów.

W równoległych badaniach wytworzyliśmy szereg funkcjonalnych napojów owocowych typu smoothie, z przeznaczeniem do zastosowania w profilaktyce chA. Stworzone napoje funkcjonalne prezentowaliśmy na konferencjach naukowych (Wykaz II.7. poz. 13, 14 i 15).

Pan Profesor Sz wajgier był pomysłodawcą stworzenia produktu w prewencji chA- dla osoby w dowolnym wieku – smacznego żelka spożywczego. Przebadaliśmy szereg kombinacji substancji żelujących stosowanych do produkcji żywności oraz składników aktywnych i stworzyliśmy prototypowe, zoptymalizowane żelki złożone z 3 warstw. Preparat polifenolowy w postaci płynnej jak i prototypowy żelek poddaliśmy trawieniom *in vitro* w skonstruowanym przez nas dynamicznym modelu przewodu pokarmowego. Płyny „potrawienne” poddaliśmy

analizom składu (stężenia poszczególnych związków polifenolowych, stężenia grup związków polifenolowych ogółem) oraz aktywności biologicznych. **Wyniki analiz zamieściliśmy w zgłoszeniu patentowym** którego tematem jest otrzymywanie żelka spożywczego zawierającego preparat ze związkami polifenolowymi, a uwalnianie tych związków bioaktywnych jest spowolnione (Wykaz III.3). Obecnie wyniki zawarte w zgłoszeniu patentowym będą opracowywane w celu opublikowania.

W tamtym czasie intensywnie poszukiwaliśmy nowych, efektywnych źródeł inhibitorów cholinoesteraz jak bakopa (*Bacopa monnieri*), kurkuma (*Curcuma longa*), imbir (*Zingiber officinale*), niektóre zioła z rodziny *Jasnotowatych* (*Lamiaceae*), rodzime zboża, (Wykaz II.7. poz. 9,11,12). Określiliśmy obniżenie aktywności AChE i BChE przez miody obecne na polskim jak i zagranicznym rynku, wskazując miody o najwyższych aktywnościach (Wykaz II.4.1) poz. 14,35). W pracy Baranowska-Wójcik et al. 2020 (Wykaz II.4.1) poz. 16), jako jedni z pierwszych, określiliśmy wpływ warunków przygotowania naparów z 14 herbat (*Camellia sinensis*) i naparów z polskich herbat owocowych (temperatura i czas parzenia) na obniżanie aktywności AChE. Praca wskazuje, które napary wykazały najwyższą aktywność, lecz wiedza ta w moim odczuciu ma w tym wypadku drugorzędne znaczenie. Istotną rolę odgrywa kompozycja inhibitorów cholinoesteraz zawartych w produkcie, dlatego też, wraz z kolegami z innego wydziału mojej Uczelni, opublikowaliśmy pracę przeglądową omawiającą rolę innych niż polifenole składników żywności, w kontekście utrzymania równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w CUN (Wykaz II.4.1) poz. 13).

Wynikiem współpracy z ośrodkiem z Poznania (Wykaz II.14.b), poz. 6) było określenie składów oraz przeciwcholinoesterazowych aktywności ekstraktów z liści 4 odmian jeżyny, surowca do tej pory niewykorzystanego we wspomnianej roli (Wykaz II.4.1) poz. 25). W następnej pracy, jako pierwsi, wskazaliśmy bardzo wysoki potencjał biologiczny ekstraktów z porostów *Parmelia sulcata*, *Evernia prunastri*, *Cladonia uncialis* w zakresie aktywności przeciwcholinoesterazowych (Wykaz II.4.1) poz. 26).

Unikatowym wynikiem naszych badań było wykazanie wraz ze współpracą z ośrodkiem naukowym z Łodzi (Wykaz II.14.b), poz.4), że najwyższym powinowactwem i tworzeniem stabilnych wiązań z AChE charakteryzowały się frakcje z kaw po trawieniu w jelicie grubym. Obecność bakterii w układzie pokarmowym, jak wykazaliśmy w modelu *in vitro* przewodu pokarmowego, może zwiększać powinowactwo związków bioaktywnych z kawy do AChE i BChE. Wyniki z tej części badań zostały zaprezentowane na konferencjach naukowych (Wykaz II.7. poz. 17,21,30), a w przyszłości zostaną opublikowane.

W rodzimej Katedrze, w ramach projektu badawczego RID (Wykaz II.9. poz. 8) badaliśmy wierzbówkę (*Epilobium angustifolium* L.). Jest to niedoceniona roślina łąkowa szeroko rozpowszechniona w wielu środowiskach, potencjalny dodatek do żywności o cennych właściwościach biologicznych. Wykonaliśmy pełną charakterystykę składu ekstraktu z rośliny oraz wskazaliśmy obniżenie aktywności AChE i BChE przez produkty trawienia wierzbówki otrzymane w czasie symulowanego trawienia *in vitro* w modelu przewodu pokarmowego. Obniżenie to było dodatnio skorelowane z zawartością związków polifenolowych ogółem w „trawionej” treści pokarmowej (Wykaz II.4.1) poz. 20,27). Wyniki zaprezentowaliśmy również na konferencji międzynarodowej (Wykaz II.7. poz. 25).

## Przeciwutleniające, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe aktywności bioaktywnej żywności

Włączyłam się również w **badania aktywności przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych**, wykazywanych przez środki spożywcze. Efektem tego są prace badawcze z ośrodkami naukowymi z Poznania i z Lublina. W pierwszej pracy z cyklu zaproponowaliśmy liście jeżyny czterech odmian jako nową żywność funkcjonalną lub też składnik żywności funkcjonalnej. Podaliśmy składy ekstraktów z liści jeżyny dowodząc, że mogą one być równie bogatym źródłem związków bioaktywnych jak owoce (Wykaz II.4. poz. 25). W kolejnej pracy, **jako pierwsi, wskazaliśmy na bardzo wysoki potencjał biologiczny ekstraktów z porostów *Parmelia sulcata*, *Evernia prunastri* i *Cladonia uncialis*** w zakresie aktywności przeciwutleniających, przeciwrodnikowych, przeciwzapalnych, redukujących, oraz aktywności względem tzw. enzymów „przeciwutleniających”. Wykazaliśmy wysoką cytotoksyczność ekstraktów wobec linii komórkowych glejaka A-172 i T98G oraz o hamowaniu aktywności enzymów związanych ze wzrostem komórek i rozwojem stanu zapalnego w CUN. Wskazaliśmy, że kwasy ewernowy i (-)-usninowy przekraczają barierę krew-mózg. Zasugerowaliśmy, że ekstrakty i związki pochodzące z porostów, zwłaszcza kwas (-)-usninowy, można uznać za związek farmakologicznie czynny w obrębie OUN, zwłaszcza w terapii glejaka wielopostaciowego (Wykaz II.4. poz. 26). We współpracy z pracownikami z Zakładu Farmacji Stosowanej w UM w Białymstoku i Kliniki Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji UM w Poznaniu przeprowadziliśmy optymalizację ekstrakcji składników z rdestowca japońskiego *Polygoni cuspidati* (pod kątem resweratrolu -kombinacja ultradźwięków i dodatku cyklodekstryny). Wskazaliśmy działanie przeciwzapalne, angiogenne, neuroprotektoryjne, przeciwutleniające, przeciwrodnikowe, redukujące oraz modyfikujące aktywności tzw. enzymów „przeciwutleniających” przez ekstrakt. Biodostępność składników ekstraktu określiliśmy w modelu przewodu pokarmowego *in vitro*. Opracowaliśmy mukoadhezywną tabletkę zawierającą kombinację ekstraktu z rdestowca z nośnikiem cyklodekstrynowym do podawania podpoliczkowego. Dzięki temu uzyskaliśmy przedłużony czas działania związków biologicznie czynnych z tej rośliny w miejscu docelowym (Wykaz II.4. poz. 24).

W innych badaniach w wraz z zespołem z Politechniki Łódzkiej wskazaliśmy możliwość wchłaniania do organizmu potencjalnych inhibitorów oraz, że zielona kawa wykazuje potencjał przeciwdziałania depresji poprzez obniżanie aktywności monoaminoooksydazy-A. Zielona kawa i jej przetwory mogą być więc stosowane w terapii depresji i, potencjalnie, również w cukrzycy typu 2 (Wykaz II.7. poz. 22). Kawa zielona była bogatszym źródłem agonistów PPAR- $\gamma$  niż kawa prażona, nawet po trawieniu w modelu *in vitro*. Wyniki zaprezentowaliśmy na konferencjach (Wykaz II.7. poz. 20).

W ramach projektu badawczego RID (Wykaz II.9. poz. 8) jako pierwsi wykonaliśmy szeroką charakterystykę, biorąc pod uwagę liczbę wykonanych jednocześnie testów, właściwości biochemicznych ekstraktu z wierzbowki *Epilobium angustifolium* L. (aktywności przeciwzapalnych, przeciwutleniających, przeciwrodnikowych, redukujących oraz wpływu na

aktywności tzw. enzymów „przeciwutleniających”) (Wykaz II.4.1) poz. 20). Wyniki zaprezentowaliśmy też na konferencji międzynarodowej (Wykaz II.7. poz. 25).

W ciągu ostatnich lat, nieustannie **poszukujemy nowych źródeł związków bioaktywnych**. Opublikowaliśmy pracę przeglądową omawiającą związki bioaktywne zawarte w owocu mini kiwi *Actinidia arguta* (Wykaz II.4.1) poz. 9). Ochronie kwasów tłuszczowych poświęcona była inna praca, w której omawialiśmy wpływ suplementacji cynkiem na wyróżniki jakościowe mięsa piersi kurcząt brojlerów. Cynk jest pierwiastkiem konkurującym z żelazem podczas absorpcji w przewodzie pokarmowym, a jednocześnie jest uważany za pierwiastek pełniący rolę w procesach przeciwutleniających. Bierze udział w kilku kluczowych szlakach biochemicznych w komórce, w przeciwieństwie do żelaza, co jest ważne ze względu na znaczną zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w mięsie drobiu. Do suplementowania zastosowaliśmy chelat Zn z glicyną, ponieważ pierwiastki chelatowane związkiem organicznym charakteryzują się wyższym stopniem wchłaniania niż inne formy. Zaobserwowaliśmy istotny statystycznie wzrost zawartości indywidualnych kwasów tłuszczowych n-3 i n-6 w mięsie kurcząt otrzymujących chelat. Odnotowano pozytywny wpływ dodatku chelatu na wybrane wskaźniki oksydoredukcyjne mięsa: aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy oraz stężenie dialdehydu malonowego. Wyznaczyliśmy dawkę chelatu niezbędną dla poprawy wartości dietetycznej i wzrostu stabilności oksydacyjnej mięsa, poprawy indeksu aterogennego, indeksu trombogennego, stosunku hipocholesterolemicznego/hipercholesterolemicznego (Wykaz II.4.1) poz. 11, Wykaz II.7. poz. 19).

W innej pracy przetestowaliśmy różne kombinacje mieszanek dwóch soków wyjściowych (wytworzonych na bazie różnych odmian warzyw). Wykazaliśmy, że świeżo wyciśnięty sok z buraków/marchwi obniżał toksyczność jonów  $Cd^{2+}$  poprzez obniżenie ekspresji receptorów wrażliwych na kalretyninę w *claustrum* eksperymentalnych szczurów narażonych na ekspozycję doustną tymi jonami. Nasze wyniki badań zaprezentowaliśmy na międzynarodowej konferencji (Wykaz II.7. poz. 27). Sok miał zostać utrwalony w sposób nietermiczny, w celu zachowania wszystkich cech soku tzw. „jednodniowego”, na okres nie krótszy niż 21 dni. Produkt o najwyższych notach uzyskanych w analizie sensorycznej poddaliśmy więc obróbce metodą ciśnieniowania (High Hydrostatic Pressure), w celu utrwalenia soku. Wykazaliśmy, że proces ciśnieniowania przeprowadzony zgodnie z opracowanymi parametrami zapewnia zachowanie wartości biologicznej soku. Wynik ten potwierdziliśmy w badaniach z użyciem dwóch ludzkich linii komórkowych: grukolakoraka jelita grubego i prawidłowej linii nabłonka jelitowego (Wykaz II.4.1) poz. 28). Wyniki badań oraz szczegóły technologiczne dotyczące produkcji soku zostały przekazane przedsiębiorcy do przemysłowego zdrożenia.

Napisaaliśmy również w ostatnim czasie pracę przeglądową, w której wskazaliśmy, które markery stresu oksydacyjnego wyizolowane z płynów ustrojowych osoby z zespołem Downa mogą w wiarygodny sposób służyć do monitorowania stanu pacjenta (Wykaz II.4.1) poz. 19). Praca jest formą instrukcji – pomocy w doborze odpowiednich, łatwych do uzyskania markerów przydatnych do monitorowania stresu oksydacyjnego pacjentów z zespołem Downa (np. w badaniach żywieniowych, podczas suplementacji).

Od 2019 współpracuję z zespołem Pani dr hab. Anny Winiarskiej-Mieczan, prof. Uczelni z Zakładu Bromatologii i Fizjologii Żywienia–oraz z ośrodkiem naukowym w Ukrainie (State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Feed Additives). Nasza współpraca naukowa dotyczy przede wszystkim badania zawartości mikro- i makroelementów w żywności oraz ich wpływu na organizm człowieka. Sprawdziliśmy, czy produkty zbożowe są dobrym źródłem  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  w dietach Polaków (Wykaz II.4.1) poz. 6). Analizowaliśmy spożycie jonów  $\text{Na}^+$  z produktami zbożowymi przez ludność Polski (Wykaz II.4.1) poz. 7). Na podstawie dostępnej literatury, przeanalizowano zmiany zawartości jonów  $\text{Na}^+$  w pieczywie sprzedawanym na polskim rynku od 2009 do 2018 roku. Uzyskane wyniki, według informacji dostępnych w literaturze potwierdziły, iż zawartość jonów  $\text{Na}^+$  w pieczywie nie ulegała znaczącym zmianom. W Polsce, w odniesieniu do nadmiernego spożycia jonów  $\text{Na}^+$ , należy opracować skuteczne strategie mające na celu zwiększenie świadomości konsumentów oraz ograniczenie stosowania soli kuchennej w najbardziej popularnych produktach, a w szczególności w pieczywie. W kolejnej pracy nasze badania miały na celu ocenę znaczenia produktów zbożowych jako podstawowego źródła  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{K}^+$  w diecie Polaków (Wykaz II.4.1) poz. 10). Badaniami objęto 226 grup produktów zbożowych najbardziej popularnych w Polsce: chleb, bułki, makaron gotowany, kasza gotowana i ryż gotowany. Zawartość  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{K}^+$  oznaczono metodą FAAS. Dodatkowo, biorąc pod uwagę zalecane dzienne spożycie m.in.  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  dla dorosłej populacji Polski, określono procentowy udział poszczególnych produktów w dziennej podaży tych składników mineralnych. **Wykazaliśmy że najlepszym źródłem  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$  jest pieczywo, które w codziennej diecie Polaków dostarcza ponad 90% tych składników mineralnych spożywanych z produktami zbożowymi.** W kolejnej pracy chcieliśmy sprawdzić, czy obróbka termiczna makaronu w osolonej bądź nie wodzie oraz płukanie go po ugotowaniu pod bieżącą wodą wpływa na zawartość składników mineralnych (Wykaz II.4.1) poz. 21). Analizie poddano trzydzieści pięć próbek sześciu rodzajów makaronów. Uwzględniając obróbkę kulinarną, oceniono spożycie składników mineralnych z makaronem dla dzieci, młodzieży i dorosłych, a wartości porównano z zaleceniami dla populacji Polski. **Wykazaliśmy, że analizowane czynniki kulinarne miały istotny statystycznie wpływ na zawartość składników mineralnych.** Dodawanie  $\text{NaCl}$  do wody podczas gotowania makaronu istotnie zwiększało zawartość  $\text{Na}^+$  w produkcie, co z kolei było ujemnie skorelowane z zawartością pozostałych składników mineralnych.

Skupiliśmy się również na ocenie stopnia zanieczyszczenia miodów dostępnych na polskim rynku kadmem ( $\text{Cd}^{2+}$ ) i ołowiem ( $\text{Pb}^{2+}$ ) (Wykaz II.4.1) poz. 17). Analizami objęto 49 próbek różnogatunkowych miodów. Należy podkreślić, że spożycie 19 g miodu tygodniowo (średnie spożycie miodu w Polsce) jest bezpieczne dla zdrowia człowieka, a uzyskane przez nas wyniki prowadzą do wniosku, że ryzyko wystąpienia zaburzeń związanych z przewlekłym narażeniem na  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  spożywane z miodem jest bardzo niskie. W innej pracy opisaliśmy wpływu chelatów glicyny  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  na skład proksymalny, poziom cholesterolu, profil kwasów tłuszczowych i wartość dietetyczną mięsa z ud kurcząt brojlerów (Wykaz II.4.1) poz. 22). Wyniki nie wykazały, że stosowanie chelatów glicynowych  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$  może obniżyć wartość dietetyczną mięsa z ud u kurcząt brojlerów, gdyż uzyskane wyniki nie były gorsze niż w grupie kontrolnej. Wynikiem kilkuletniej współpracy z zespołem dr hab. Anny Winiarskiej-Mieczan prof. Uczelni, jest powołanie mnie na promotora pomocniczego rozprawy doktorskiej jej



doktorantki Pani mgr. Karoliny Jachimowicz pt. „Ocena składu chemicznego produktów zbożowych preferowanych przez dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym oraz analiza wpływu na ich rozwój i stan zdrowia.”

## **Pozostałe wątki naukowe**

Chciałabym również wspomnieć o moim zaangażowaniu w badania realizowane m.in. we współpracy z Katedrą Radiochemii i Chemii Środowiskowej Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie (Wykaz II.4.1) poz. 12,32,34, Wykaz II.7. poz. 28) oraz z Katedrą Anatomii Funkcjonalnej i Cytobiologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie (Wykaz II.4.1) poz. 32,37,40, Wykaz II.11), dzięki którym mogę pogłębiać swoją wiedzę i zdobywać nowe horyzonty badawcze.

W ostatnich latach nawiązałam również współpracę w rodzimej uczelni z dr hab. Izabelą Jośko, prof. Uczelni (Wykaz II.4.1) poz. 37,39, Wykaz II.9 poz.9), z którą mamy zbliżone zainteresowania naukowe. Efektem jest współautorstwo prac wchodzących w skład mojego dorobku, jak również uczestniczyłam w projekcie realizowanym w zespole Pani dr. hab. Jośko, prof. Uczelni będąc jednym z wykonawców zadania. Na początku 2023 r. została również opublikowana nasza wspólna praca dotycząca badań nad jakością odżywczą i bioaktywnością ziarna jęczmienia pod wpływem dolistnej aplikacji nano-mikrocząstek (nano-Cu, nano-CuO, mikro-Cu) i jonowych związków Cu (CuSO<sub>4</sub>, CuEDTA) (Wykaz II.4.1) poz. 41).

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.**

### **6.1. Działalność dydaktyczna**

#### **a) Prowadzenie zajęć dydaktycznych**

W rodzimej Uczelni zajęcia dydaktyczne realizuję od października 2019 r., kiedy podjęłam pracę na stanowisku asystenta w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka UP w Lublinie. Prowadzę zajęcia dla studentów jednolitych, 5-letnich studiów magisterskich na kierunkach: Technologia Żywności i Żywienie Człowieka oraz Dietetyka. Wyszczególnienie prowadzonych zajęć przedstawiłam w Wykazie II. 17 s. 23.

#### **b) Opieka naukowa nad studentami**

W latach 2017-2021, brałam czynny udział w opiece nad dyplomantami. Lista dyplomantów jest przedstawiona w Wykazie II. 17 s. 24.

#### **c) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego, z podaniem tytułów rozpraw doktorskich**



Jestem promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Jachimowicz pt. „Ocena składu chemicznego produktów zbożowych preferowanych przez dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym oraz analiza wpływu na ich rozwój i stan zdrowia”. Promotorem rozprawy jest dr hab. Anna Winiarska-Mieczan, prof. Uczelni.

## 6.2. Działalność organizacyjna

Poza działalnością naukową i dydaktyczną, w ciągu całego okresu zatrudnienia, starałam się uczestniczyć w działalności organizacyjnej zarówno rodzimej Katedry, jak również Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu oraz Uniwersytetu.

W latach 2021 i 2022 r. zostałam powołana na członka komisji egzaminacyjnej z praktyk na kierunku Technologia Żywności i Żywienia Człowieka - studia stacjonarne i niestacjonarne I stopnia. Obecnie jestem członkiem Wydziałowej Komisji ds. Promocji Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii.

Od 2021 r. zostałam powołana na opiekuna studentów I roku kierunku Dietetyka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii. Od 10.2020 r. jestem również członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (PTTŻ), Oddział Lubelski.

## 6.3. Działalność popularyzująca naukę lub sztukę

Wielokrotnie brałam udział w wydarzeniach mających na celu popularyzację nauki, m.in. brałam udział w ogólnopolskim projekcie „ABC Zdrowego Żywienia”, jak również byłam kilkakrotnie współorganizatorem Lubelskiego Festiwalu Nauki w Lublinie którego głównym celem jest upowszechnianie, promowanie oraz popularyzowanie nauki i badań naukowych w społeczeństwie. Szczegółowe informacje przedstawiłam w Wykazie II. 17 s. 25.

## 7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej

### 7.1. Dorobek publikacyjny

Mój dorobek naukowy obejmuje **51** pozycji naukowych (w tym **42** po uzyskaniu stopnia doktora) (Wykaz II.1,2,4). Dorobek ten obejmuje łącznie autorstwo **1** rozdziału w monografii i **50** publikacji, w tym **40** artykułów opublikowanych w czasopismach z przypisanym współczynnikiem wpływu („Impact Factor”, IF) i **10** artykułów bez IF (**2** po uzyskaniu stopnia doktora). W moim dorobku aplikacyjnym znajduje się również **1 zgłoszenie patentowe** (Wykazie III. 3).

Sumaryczny IF moich publikacji, zgodny z rokiem opublikowania artykułów, wynosi **187,759** z tego **186,362** przypada na okres po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczna punktacja moich publikacji wg MEiN wynosi **3876 punktów**, w tym **3819 punktów** przypada po doktoracie. Należy wspomnieć, iż łączny IF wynoszący 2,621 (z całości zgromadzonego IF 187,759) i 101 pkt (z całości zgromadzonych punktów 3876) przypada na publikacje i konferencje z początku mojej kariery zawodowej gdy pracowałam w Instytucie Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego (Wykaz II.4.1) poz. 1,2,3; Wykaz II.4.2) poz.1-10; Wykaz II.7.

poz. 1-5). Publikacje te dotyczyły tematyki związanej z ochroną środowiska i nie mają związku z moim dorobkiem w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. Również projekty zawarte w Wykazie II.9. poz. 2-7 były realizowane w Instytucie Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego.

**Po uzyskaniu stopnia doktora**, moja aktywność publikacyjna znacząco wzrosła i obejmuje: **38** publikacji, opublikowanych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o łącznym współczynniku **IF 186,362**. Po uzyskaniu stopnia doktora znacząco rozwinęłam współpracę z innymi jednostkami naukowymi (m.in. z Katedry Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, z Katedry i Zakładu Farmakognozji, Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, czy z Instytutu Technologii i Analizy Żywności, Politechniki Łódzkiej) w celu rozwinięcia nowych tematów badawczych, poszerzenia zakresu badań i nabycia nowych umiejętności analitycznych. Z tego względu, po uzyskaniu tego stopnia naukowego, moje publikacje są w przeważającej części wieloautorskie. Jednak w znaczącej części w pracach miałam wiodącą rolę, w związku z tym w **11** publikacjach jestem pierwszym autorem, a w **13** jestem autorem korespondencyjnym.

Wskaźnikiem mojej aktywności naukowo-badawczej jest znacząca liczba cytowań **po uzyskaniu stopnia doktora**, która dnia 9.02.2023 r., według bazy Web of Science, wynosi **448** (**404** bez autocytowań), natomiast według bazy Scopus **506** (**455** bez autocytowań). Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi **10**, natomiast według bazy Scopus wynosi **11**. **Przed uzyskaniem stopnia** doktora, liczba cytowań moich publikacji w bazie Web of Science wynosiła **43** a w bazie Scopus **51**; indeks Hirscha według Web of Science wynosił **2**, według bazy Scopus **2**. Liczba cytowań moich publikacji rośnie sukcesywnie, jednak znaczące przyspieszenie wzrostu jest zauważalne od roku 2018. Powyższe wskaźniki są wynikiem rozwoju mojego warsztatu badawczego, poszerzania obszarów badawczych oraz nawiązania przeze mnie współpracy z nowymi zespołami badawczymi obejmującymi naukowców z rodzimej Uczelni oraz z innych uczelni w Polsce i za granicą. Dzięki temu publikuję w czasopiśmie o zasięgu światowym, z wysokim wskaźnikiem IF, m.in. w *Science of The Total Environment* (**IF 10,753**), *Food Chemistry* (**IF 7,514**), *Food Research International* (**IF 7,425**), *Journal of Functional Foods* (**IF 4,451**), *PLOS ONE* (**IF 2,766**), *Nutrients* (**IF 5,717**), *Current Alzheimer Research* (**3,211**), *Journal of Food Science* (**IF 3,167**), *Applied Sciences* (**IF 2,679**), *Expert Review in Neurotherapeutics* (**IF 4,618**), *Plant Foods for Human Nutrition* (**IF 3,921**), *Biological Trace Element Research* (**IF 4,081**), *Pharmaceutics* (**IF 6,321**), *Molecules* (**IF 4,412**), *Disease Markers* (**IF 3,434**), *Foods* (**IF 4,350**), *Cancers* (**IF 6,639**), *Pharmaceuticals* (**IF 6,321**), *Antioxidants* (**IF 6,313**), *International Journal of Food Science and Technology* (**IF 3,713**).

## 7.2. Udział w konferencjach

Przed uzyskaniem stopnia doktora brałam udział w 3 konferencjach naukowych w tym 2 konferencjach krajowych, na których wyniki swoich prac badawczych prezentowałam łącznie w postaci 3 plakatów (Wykaz II.7. poz. 1-3). Po obronie pracy doktorskiej uczestniczyłam w 31 konferencjach w tym 5 o zasięgu międzynarodowym, na których prezentowałam w formie plakatu lub referatu (4 wygłoszonych w języku angielskim, jedna w postaci plakatu) (Wykaz II.7.

poz. 21,25,27,30,34). Łącznie po uzyskaniu stopnia doktora jestem współautorką 21 komunikatów konferencyjnych (w tym 9 w postaci posterów, 12 prezentacja ustna) (Wykaz II.7.).

### 7.3. Udział w projektach badawczych

W trakcie pracy do uzyskania stopnia doktora brałam czynny udział – jako wykonawca – w realizacji sześciu projektów badawczych KBN (Wykaz II.9.s., poz.2-6), w którym jeden był moim projektem promotorskim (Wykaz II.9.s., poz.2) . Po uzyskaniu stopnia doktora brałam byłam **kierownikiem** jednego zakończonego projektu własnego, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (Wykaz II.9., poz.1). Byłam kilkakrotnie wykonawcą projektów naukowo-badawczych finansowanych ze środków budżetowych na naukę (Wykaz II.9.s., poz.7-10), jak również projektu międzynarodowego w kooperacji ze Szwajcarią (Wykaz II.9.s.17, poz.7). Wykaz II.9. poz. 11,12,13, wymienia projekty które składałam lub też przygotowywałam w zespole, a które nie uzyskały dofinansowania. We wszystkich projektach i wnioskach projektowych, którymi nie kierowałam, miałam merytoryczny udział w zakresie planowania zadań naukowych i ich realizacji.

### 7.4. Współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym

Od początku pracy w rodzimej Katedrze biorę czynny udział w wykonaniu ekspertyz lub innych opracowań na zamówienie przedsiębiorców dotyczących min. ochrony warzyw i owoców wykorzystywanych w przemyśle spożywczym efektem czego jest 17 prac zleconych przez przemysł (Wykaz III.5).

Aktywnie zabiegam o komercjalizację wyników badań. Osiem razy byłam wykonawcą w projektach w których współpracowałam z przedsiębiorcami (Wykaz III.2. poz.1-7). We wszystkich projektach miałam merytoryczny udział w zakresie planowania zadań naukowych i realizacji badań w projektach. W przypadku większości projektów w których uczestniczyłam, przedsiębiorstwom zostały przekazane metody produkcji nowatorskich środków spożywczych w celu wdrożenia (Wykaz III.4. poz.1-4). W jednym z projektów brał udział przedsiębiorca z zagranicy (firma SilvExpo, Łotwa) (Wykaz III.4. poz.2). W projekcie tym opracowaliśmy metodę produkcji nowatorskich olejów i cukierków twardych wzbogaconych ekstraktem z rośliny iglastej, a receptura i metoda produkcji została przekazana przedsiębiorcy do wdrożenia.

Owoce prowadzonych prac, wykonywanych w ramach projektów różnego typu (naukowo-badawczych oraz wdrożeniowych, we współpracy z przedsiębiorcami), jest **zgłoszenie patentowe**, które oczekuje na decyzję Urzędu Patentowego (Wykaz III.3.).

### 7.5. Współpraca z jednostkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi, działalność międzynarodowa

- a.) W Wykazie II.14.b) poz.1-6 zamieściłam nazwy ośrodków naukowych w Polsce i z zagranicy, z którymi współpracuję w sposób ciągły. Owocem tej współpracy są liczne publikacje naukowe i doniesienia konferencyjne wymienione w Wykazie II.14.b) poz.1-6. Również epizodycznie, po uzyskaniu stopnia doktora, prowadziłam współpracę z

innymi ośrodkami naukowymi w Polsce, czego efektem są publikacje z przypisanym IF (Wykaz II.4.1).

b.) W rodzimej Uczelni (Wykaz II.14.a), poz.2-3) prowadzę współpracę **międzyzakładową w ramach jednostek Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie** z:

1. Instytutem Żywienia Zwierząt i Bromatologii (Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki) – badania składników żywności i żywności funkcjonalnej w zakresie aktywności przeciwutleniających, przeciwzapalnych, przeciwrodnikowych i prokognitywnych.
2. Instytutem Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin (Wydział Agrobiotechnologii) – badania nanocząstek

c.) W 2022 r. odbyłam miesięczny staż w Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, w Instytucie Nauk Biologicznych (Instytutowa Pracownia Mikroskopii Elektronowej). Dzięki niemu miałam możliwość zapoznania się z przeprowadzeniem całej procedury dotyczącej pracy na mikroskopach elektronowych: skaningowym i transmisyjnym (SEM, TEM) oraz wykonałam szereg badań nanocząstek z wykorzystaniem wyżej opisanych metodyk.

#### **7.6. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism, wykonane recenzje prac w czasopismach krajowych i międzynarodowych**

Jestem redaktorem gościnnym w redakcjach czasopisma z przypisanym współczynnikiem IF (Wykaz II.12). Wykonałam w przeszłości recenzje prac naukowych wskazanych w Wykazie II.13.

#### **7.7. Otrzymane nagrody i wyróżnienia**

Moja aktywność naukowa polegająca na regularnym publikowaniu wyników badań, została doceniona przez władze rodzimej Uczelni. Trzy razy otrzymałam nagrodę za działalność naukową. Wykaz II.17. a) prezentuje listę nagród i wyróżnień, jakie otrzymałam od początku mojej aktywności zawodowej.

#### **7.8. Odbyte szkolenia i kursy**

W celu doskonalenia zawodowego, uczestniczyłam w szkoleniach specjalistycznych, językowych, kursach doszkalających i warsztatach, głównie z zakresu nowoczesnych metod analitycznych (Wykaz II.17, s.26).

...Ewa Baranowska-Wójcik  
(podpis wnioskodawcy)