

dr Tomasz Sawoszczuk
Katedra Mikrobiologii
Wydział Towaroznawstwa
Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie

Załącznik 1

AUTOREFERAT

Dotyczący osiągnięć w pracy naukowo – badawczej,
dydaktycznej i organizacyjnej

Kraków 2017

Spis treści

1. Imię i Nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.	2
a. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,	3
b. Cykl publikacji.....	3
c. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.	4
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo badawczych (artystycznych), dydaktycznych i organizacyjnych.	26
a. Pozostałe osiągnięcia naukowo - badawcze.....	26
b. Osiągnięcia w zakresie działalności organizacyjnej	38
c. Osiągnięcia dydaktyczne	41
6. Podsumowanie.....	43

1. Imię i Nazwisko

Tomasz Sawoszczuk

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 25.06.2002** Tytuł zawodowy licencjat, Wydział Chemii, Uniwersytetu Jagielloński, praca licencjacka pt. *Metodyka testów starzeniowych uwzględniająca utlenianie i kwaśną hydrolizę celulozy*, opiekun naukowy Prof. dr hab. Andrzej Barański.
- 16.06.2004** Tytuł zawodowy magister chemii, Wydział Chemii, Uniwersytetu Jagielloński, praca magisterska pt. *Badania morfologii włókien celulozowych zawartych w próbkach papieru naturalnie starzonego i w próbkach poddanych testom przyspieszonego starzenia*, opiekun naukowy Prof. dr hab. Andrzej Barański.
- 22.10.2009** Stopień naukowy doktor nauk chemicznych, Wydział Chemii, Uniwersytetu Jagielloński, praca doktorska pt. *Metodyka przyspieszonego postarzenia papieru w układach zamkniętych. Lotne produkty degradacji*, promotor Prof. dr hab. Andrzej Barański.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

- 10.2005 – 10.2009 doktorant, Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński
- 01.2010 – 09.2010 pracownik naukowy, Dział Konserwacji, Państwowe Muzeum Auschwitz – Birkenau w Oświęcimiu
- 10.2010 – 09.2012 asystent, Katedra Mikrobiologii, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie
- 06.2011 – 06.2012 specjalista, Biblioteka Jagiellońska, projekt *Bezpieczne i kompleksowe udostępnienie zasobów cyfrowych Uniwersytetu Jagiellońskiego w sieci Internet*, projekt realizowany w ramach Programu Ramowego Unii Europejskiej
- od 10.2012 adiunkt, Katedra Mikrobiologii, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Innowacyjne badania towaroznawcze w zakresie ochrony dóbr materialnych o szczególnej wartości

b. Cykl publikacji

- i. **Sawoszczuk Tomasz**, 2013, Ocena możliwości zastosowania analizy lotnych związków organicznych do detekcji aktywności mikrobiologicznej na przykładzie badań przeprowadzonych w Muzeum Narodowym w Krakowie, Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, 918, 83-104 (IF: 0; liczba punktów MNiSW: 6)
- ii. **Sawoszczuk Tomasz**, Syguła-Cholewińska Justyna, del Hoyo-Meléndez Julio M., 2015, Optimization of Headspace Solid Phase Microextraction for the Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds Emitted by Fungi: Application to Historical Objects, Journal of Chromatography A, 10.1016/j.chroma.2015.07.059, 1409 (40), 30-45. (IF: 3,926; liczba punktów MNiSW: 40, liczba punktów MNiSW wg udziału procentowego 36)
- iii. **Sawoszczuk Tomasz**, Syguła-Cholewińska Justyna, del Hoyo-Meléndez Julio M., 2016, Application of solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry for the early detection of active moulds on historical woollen objects, Journal of Separation Science, doi: 10.1002/jssc.201601018, 40(4), 858-868, (IF: 2,741; liczba punktów MNiSW: 30, liczba punktów MNiSW wg udziału procentowego 27)
- iv. **Sawoszczuk Tomasz**, Syguła-Cholewińska Justyna, del Hoyo-Meléndez Julio M., 2017, Application of HS-SPME-GC-MS method

for the detection of active moulds on historical parchment, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, doi:10.1007/s00216-016-0173-x, 409(9), 2297-2307, (IF: 3,125; liczba punktów MNiSW: 35, liczba punktów MNiSW wg udziału procentowego 31,5)

- v. **Sawoszczuk Tomasz**, Syguła-Cholewińska Justyna, del Hoyo-Meléndez Julio M., 2017, The detection of active moulds on historical silk by the means of the headspace–solid phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry method, *Textile Research Journal*, doi: 10.1177/0040517517693984, 1-13, (IF: 1,299; liczba punktów MNiSW: 40, liczba punktów MNiSW wg udziału procentowego 36)

c. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Rozwój gospodarczy, postępy osiągane w nauce oraz rozwój nowoczesnych technologii w połączeniu z konsumpcjonistycznym podejściem do życia sprzyjają masowemu wzrostowi produkcji dóbr materialnych. Niewątpliwie wszystkie towary podlegają procesom degradacji w tempie uzależnionym od intensywności działania różnych czynników. Można wśród nich wymienić czynniki zewnętrzne – środowiskowe, jak temperatura, wilgotność względna, promieniowanie, zanieczyszczenie środowiska, mikroorganizmy, oraz wewnętrzne, do których należy zaliczyć m.in. skład chemiczny towaru. Większość z wymienionych czynników determinuje fizykochemiczną degradację towarów, natomiast mikroorganizmy powodują ich niszczenie w drodze procesu nazywanego biodeteriacją. Zadaniem producenta, jaki i konsumenta, jest podejmowanie wszelkich działań chroniących produkty przed niszczeniem, które może być spowodowane procesami fizykochemicznymi, procesem biodeteriacji, bądź obydwoma tymi zjawiskami równocześnie. Działania prewencyjne muszą być podejmowane na etapie produkcji, magazynowania, dystrybucji czy ostatecznie użytkowania produktów, a więc w ich całym tzw. cyklu życia. W przypadku czynników fizycznych, takich jak: temperatura i wilgotność, zabezpieczenie towarów może być realizowane poprzez zapewnienie odpowiednich warunków mikroklimatycznych, w których są przechowywane, dobranych właściwie do specyficznych wymagań, przewidzianych dla określonego typu towaru. Z kolei zabezpieczenie przed zanieczyszczeniami środowiska czy

oddziaływaniem promieniowania, może być realizowane poprzez zastosowanie odpowiednio dobranych opakowań.

Niewątpliwie, obok powyższych, poważnym zagrożeniem dla trwałości towarów jest biodeterioracja, będąca konsekwencją niszczącego działania mikroorganizmów. Zarówno bakterie jak i grzyby, w sprzyjających warunkach mikroklimatycznych, rozwijają się w miejscach przechowywania towarów i na samych towarach, powodując ich niszczenie. Opisany proces biodeterioracji dotyczy produktów zawierających w swoim składzie substancje organiczne, które rozkładane są przez mikroorganizmy za pomocą enzymów, stając się dla nich źródłem organicznego węgla, azotu czy fosforu. Zniszczenia spowodowane działaniem mikroorganizmów mogą obejmować zmiany w wyglądzie produktów (np. zmiana barwy), obniżenie ich właściwości wytrzymałościowych, czy też ostatecznie ich całkowite zniszczenie. Oznacza to, że postępująca biodeterioracja prowadzi do obniżenia wartości rynkowej towaru lub do jej całkowitej utraty. Niszcząca działalność mikroorganizmów może dotyczyć również produktów nie zawierających w swoim składzie materii organicznej. W tym przypadku metabolity wytwarzane przez mikroorganizmy, jak na przykład kwasy organiczne, powodują niszczenie produktu w drodze tzw. korozji mikrobiologicznej.

Dokładne wyliczenie strat ekonomicznych wynikających z niszczącego działania mikroorganizmów jest bardzo trudne. Jednakże przegląd literatury przedmiotu wskazuje, że straty spowodowane przez mikroorganizmy odnotowywane są prawie w każdej gałęzi przemysłu. Przyjmuje się obecnie, że straty w polskiej gospodarce spowodowane niszczącą działalnością mikroorganizmów sięgają 5% PKB. Statystyki podawane dla rynku niemieckiego wskazują, iż biodeterioracja materiałów budowlanych przynosi straty w budownictwie sięgające corocznie 20 mln euro. Innym przykładem, opisującym wysokość strat poniesionych w wyniku niszczącej działalności mikroorganizmów, może być zdarzenie, jakie miało miejsce w kanadyjskim Muzeum Nauki i Techniki. Muzeum zostało zamknięte w 2014 roku z powodu rozwoju grzybów pleśniowych na całej powierzchni poddasza, po zalaniu spowodowanym nieszczelnością dachu. Koszty renowacji budynku oszacowano na 80 mln dolarów kanadyjskich. Przyniesione argumenty pokazują, iż straty ekonomiczne spowodowane niszczącą działalnością mikroorganizmów są znaczne. Dlatego obowiązujące systemy zarządzania produkcją i produktem powinny uwzględniać analizę ryzyka wystąpienia skażenia mikrobiologicznego oraz definiować działania prewencyjne, które należy podjąć, w celu wczesnego wykrycia aktywnych form mikroorganizmów i ograniczenia strat spowodowanych ich niszczącą aktywnością.

Bez wątpienia klasyczne badania mikrobiologiczne pozwalają na zidentyfikowanie i ocenę zagrożenia mikrobiologicznego. Badania te opierają się na analizie jakościowej i ilościowej mikroorganizmów występujących w i na towarach, w i na produktach, na opakowaniach, w miejscach przechowywania produktów oraz w środowisku produkcyjnym. Pozwalają one również ocenić potencjał niszczący wyizolowanych mikroorganizmów. Mimo wielu zalet, klasyczne badania mikrobiologiczne posiadają również kilka ograniczeń. Badania te prowadzi się przy wykorzystaniu metod hodowlanych, które mogą dostarczać niepełną informację odnośnie obecności mikroorganizmów, ponieważ tylko niewielki procent drobnoustrojów występujących w różnych środowiskach udaje się wyhodować na podłożach, w warunkach laboratoryjnych. Dodatkowo metoda hodowlana jest długotrwała, a następująca po niej klasyczna identyfikacja mikroorganizmów, która jest niezbędna do oceny ich potencjału niszczącego, jest żmudna i może być obciążona dużym błędem. Dlatego można uznać, że bardzo pomocnym byłoby wdrożenie do badań towaroznawczych innowacyjnych metod pomiarowych, które pozwolą na wczesne i szybkie wykrycie obecności aktywnych form mikroorganizmów na samym produkcie lub w środowisku jego produkcji. Dzięki temu możliwym będzie podjęcie działań naprawczych już na samym początku powstania zagrożenia mikrobiologicznego, a co za tym idzie zostaną zminimalizowane negatywne skutki działania mikroorganizmów, czyli biodeterioracji. Należy wspomnieć, że proces ten może być spowodowany aktywnością metaboliczną zarówno grzybów jak i bakterii. Jednak z uwagi na fakt, że bakterie potrzebują do rozwoju bardzo wysokiej aktywności wody w produkcie w porównaniu z grzybami, można przyjąć, iż grzyby są częściej odpowiedzialne za biodeteriorację produktów, w szczególności produktów nieżywnościowych.

Metoda pomiarowa, która spełnia przedstawione powyżej wymagania odnośnie szybkiej i wczesnej detekcji aktywnych grzybów pleśniowych to chromatografia gazowa w połączeniu ze spektrometrią mas. Metoda ta jest dobrze znana i od dawna stosowana w badaniach towaroznawczych. Jednak w tym przypadku znalazła ona całkowicie nowe zastosowanie, zaimplementowano ją do pomiarów mikrobiologicznych lotnych związków organicznych (MLZO), wtórnych lotnych metabolitów, które emitowane są przez żywe formy grzybów na każdym etapie ich rozwoju. Dlatego poprzez pomiar MLZO możliwe jest wykrycie ich aktywnych form, odpowiedzialnych za biodeteriorację. Zaletą tej metody jest przede wszystkim jej wysoka czułość, dokładność oraz znaczne skrócenie czasu analizy, w porównaniu do klasycznych mikrobiologicznych metod hodowlanych. Jednak samo

zastosowanie chromatografii gazowej w połączeniu ze spektrometrią mas, do zaproponowanych, innowacyjnych badań aktywności grzybów pleśniowych na produktach, wymagało przeprowadzenia złożonej procedury optymalizacji całej metody pomiarowej. Należało dostosować, m.in.: metodę pobierania i przygotowania próbek do analizy, parametry pracy obu urządzeń pomiarowych, program temperaturowy pomiarów, czy też metodę analizy wyników. Dodatkowo trzeba było również zidentyfikować wśród MLZO związki chemiczne, które mogą być uniwersalnymi wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych tak, aby opracowana metoda badawcza miała uniwersalne zastosowanie.

Celem opisywanego osiągnięcia naukowego było zoptymalizowanie metody pomiarowej mikroekstrakcja do fazy stałej – chromatografia gazowa – spektrometria mas (SPME-GC-MS) na potrzebę wykonywania pomiarów mikrobiologicznych lotnych związków organicznych (MLZO) emitowanych przez grzyby pleśniowe oraz zidentyfikowanie wśród MLZO tzw. związków wskaźnikowych, które pozwalają potwierdzić obecność żywych form grzybów pleśniowych na obiektach materialnych, o szczególnej wartości.

Niewątpliwie można uznać, iż obiekty dziedzictwa kulturowego jak również obiekty sztuki to szczególnego rodzaju towary, wytwarzane przez rodzaj ludzki na przestrzeni tysięcy lat. Niejednokrotnie są to obiekty unikatowe, posiadające bardzo wysoką wartość rynkową, lub cenne obiekty historyczne, o dużej wartości społecznej, będące swoistego rodzaju zapisem działalności różnych kultur i społeczeństw od początku istnienia ludzkości. Zbiory bibliotek i archiwów to nieskończone źródło informacji o sposobie funkcjonowania minionych społeczeństw, spisanej na obiektach materialnych, takich jak: gliniane tabliczki, papirus, pergamin czy papier. Zbiory muzeów i kościołów to kolekcje obrazów, rzeźb oraz tkanin będących materialnym dowodem aktywności kulturowej i religijnej ludzkości w różnych częściach świata. Mnogość informacji naukowej, technologicznej, historycznej, społecznej, ekonomicznej, religijnej, artystycznej i kulturowej, jaką dostarczają obiekty dziedzictwa kulturowego oraz niejednokrotnie ich bezcenna wartość materialna, legły u podstaw podjęcia przeze mnie próby opracowania innowacyjnej metody pomiarowej, która umożliwi ich efektywniejszą ochronę przed niszczącą działalnością grzybów pleśniowych.

Przed przystąpieniem do realizacji założonych celów badawczych przeprowadziłem szczegółowy i dogłębny przegląd literatury przedmiotu, czego efektem jest artykuł pt. „Ocena możliwości zastosowania analizy lotnych związków organicznych do detekcji aktywności

mikrobiologicznej na przykładzie badań przeprowadzonych w Muzeum Narodowym w Krakowie” opublikowany w Zeszytach Naukowych Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie (punkt 4.b. poz.i oraz Załącznik 2, punkt I.B.1). Pomimo, że artykuł ten jest napisany w języku polskim jego znaczenie w mojej karierze naukowej jest bardzo duże, ponieważ to właśnie on dał początek całemu procesowi opracowania innowacyjnej metody pomiarowej. Dodatkowo środowisko konserwatorskie korzysta głównie z literatury polskojęzycznej, więc jest to jedyna okazja, aby konserwatorzy mogli się zapoznać z możliwościami pomiarowymi proponowanej metody. We wspomnianym artykule nakreśliłem problematykę niszczenia, przez grzyby pleśniowe, historycznych dóbr materialnych przechowywanych w muzeach, bibliotekach czy archiwach.. Opisałem źródła zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza w wymienionych instytucjach, jak również podałem metody badawcze, które są stosowane w analizie ilościowej i jakościowej mikroorganizmów obecnych w powietrzu i na powierzchni obiektów. Wśród tych metod wymieniłem alternatywną metodę wykrywania grzybów pleśniowych, opartą o badanie mikrobiologicznych lotnych związków organicznych (MLZO). Opisane zostały wszystkie zalety proponowanej metody badawczej, w szczególności skrócenie czasu badania (w stosunku do klasycznych mikrobiologicznych metod hodowlanych) oraz możliwość wykrycia grzybów rozwijających się w miejsca trudno dostępnych, z których nie można pobrać próbek do klasycznych badań mikrobiologicznych. Dodatkowo opisano wady opracowywanej metody badawczej, które powinny być wyeliminowane poprzez przeprowadzenie odpowiedniej optymalizacji metody. W dalszej części wymienione zostały różne metody poboru próbek związków lotnych (do rurek wypełnionych sorbetem lub na włókna do mikroekstrakcji do fazy stałej – SPME) oraz metody analityczne stosowane w badaniach MLZO (chromatografia cieczowa, chromatografia gazowa, e-nos). Zamieszczono również informacje podsumowujące dane literaturowe na temat rodzajów materiałów technicznych i budowlanych, jakie były najczęściej stosowane, do hodowli grzybów pleśniowych, w badaniach MLZO. Lista przebadanych materiałów jest bardzo ograniczona, a ich wybór podyktowany był faktem, że badania dotyczyły wzrostu mikroorganizmów wewnątrz zawilgoconych budynków, zamieszkałych przez osoby uskarżające się na problemy ze zdrowiem, tzw. syndrom chorego budynku (ang. Sick Building Syndrome). Niewątpliwie w sytuacji zagrożenia zdrowia ludzkiego ważna jest szybka detekcja aktywności mikroorganizmów. Opisywane w literaturze wyniki pomiarów MLZO przeprowadzonych dla materiałów budowlanych były dla mnie inspiracją do podjęcia badań, przeprowadzonych w

wybranych pomieszczeniach Muzeum Narodowego w Krakowie, dotyczących możliwości zastosowania analizy MLZO do wykrywania aktywnych grzybów pleśniowych, w miejscach przechowywania lub ekspozycji obiektów zabytkowych, o szczególnej wartości materialnej. Badania te wykonano w ramach projektu Unii Europejskiej A-BIOS (FP6-SME-032192) “An innovative technology, based on UV radiation, to strongly reduce the microbial activity of the air inside the store rooms of the cultural heritage conservation institutes (Załącznik 2, punkt II.G.4). W części doświadczalnej artykułu opublikowanego w Zeszytach Naukowych UEK szczegółowo scharakteryzowano cztery miejsca poboru próbek (pomieszczenia znajdujące się w różnych budynkach Muzeum Narodowego w Krakowie), jak również opisano metodykę ich poboru. Pobór wykonywano zgodnie z zaleceniami normy EPA MO T-17, przy użyciu rurek wypełnionych sorbentem. Łącznie w każdym z badanych pomieszczeń pobrano trzy próby: jedną próbę „ślepa” (ekspozycja pasywna rurek z sorbentem przez 5 sekund), oraz dwie próby poprzez przepompowanie przez złożę rurek (pobór aktywny) piętnastu litrów powietrza. Analizę pobranych próbek przeprowadzono w zestawie: desorber termiczny – chromatograf gazowy – spektrometr mas, po dobraniu odpowiednich parametrów programu analizy. Jako wynik analizy uzyskano chromatogramy, które obrazowały skład lotnych związków organicznych obecnych w powietrzu badanych pomieszczeń. W kolejnym etapie przeprowadzono analizę jakościową chromatogramów w celu wykrycia w nich opisywanych w literaturze mikrobiologicznych lotnych związków organicznych. Wyniki tej analizy zestawiono z wynikami badań mikrobiologicznych powietrza, przeprowadzonych w tych samych pomieszczeniach. W rezultacie ustalono, iż istnieje korelacja między obecnością grzyba pleśniowego (*Aspergillus versicolor*), a obecnością określonych MLZO (limonen) w powietrzu badanego pomieszczenia. Niemniej jednak otrzymane wyniki pozwoliły wykazać, iż próbki powietrza powinny być pobierane inną metodą, ponieważ pobór na rurki sorpcyjne umieszczone w środkowej części pomieszczenia powoduje, że mierzone stężenia MLZO są bardzo niskie (na granicy wykrywalności). Jest to efekt rozcieńczenia badanych związków w powietrzu, do jakiego dochodzi na dystansie między obiektem lub ścianą, gdzie występuje grzyb, a środkiem pomieszczenia. Oznacza to, iż proponowana metoda wymagała dopracowania, szczególnie w obszarze stosowania badań MLZO do detekcji aktywności grzybów pleśniowych, powodujących biodeteriorację obiektów o szczególnej wartości materialnej. Dodatkowym argumentem potwierdzającym tę potrzebę był fakt, że dostępne dane literaturowe dotyczą wyłącznie badań wybranych materiałów budowlanych i wykończeniowych, nie zaś zabytkowych dóbr materialnych. Było to podstawą do rozpoczęcia

projektu: „Badania biodeterioracji obiektów zabytkowych na podstawie analizy lotnych związków organicznych emitowanych przez grzyby pleśniowe”, przyznanego mi przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu OPUS na lata 2013 – 2016 (Załącznik 2, punkt II.G.11). Spodziewanym efektem końcowym projektu miało być ustalenie składu tzw. wskaźnikowych mikrobiologicznych lotnych związków organicznych, które mogą być indykatorami aktywności grzybów pleśniowych. Wymierną korzyścią dla społeczeństwa osiągniętą z badań przeprowadzonych w zaproponowanym wymiarze miało być stworzenie cennego instrumentu ochrony dziedzictwa kulturowego, który będzie odpowiednio wcześniej ostrzegał o występowaniu skażenia mikrobiologicznego obiektów i pomieszczeń muzealnych. Wydaje się oczywistym, że wprowadzane coraz chętniej w instytucjach kultury systemy zarządzania ryzykiem, powinny być zaopatrzone w metody badawcze pozwalające na szybkie wykrycie zagrożenia mikrobiologicznego. Warunek ten spełniać miała metoda opracowywana w ramach projektu. Dodatkowo wyniki uzyskane w projekcie miały dać możliwość wykorzystania wskaźnikowych MLZO oraz kompleksowo opracowanej metody badawczej do detekcji zagrożeń mikrobiologicznych w pomieszczeniach zamieszkiwanych przez ludzi dotkniętych tzw. syndromem chorego budynku. W końcu, z założenia, miało to być również cenne narzędzie nie tylko dla kustoszy w muzeach, ale także dla producentów, hurtowników i właścicieli magazynów z różnego typu towarami, ponieważ pozwala ono wcześniej wykryć zagrożenie mikrobiologiczne. Na podstawie tej informacji mogą być podjęte działania naprawcze, które obniżą straty materialne.

Problemy wykryte w trakcie badań prowadzonych w Muzeum Narodowym w Krakowie, związane z zastosowaniem proponowanej metody badawczej (chromatografia gazowa – spektrometria mas) do analizy MLZO rozwiązano, przeprowadzając żmudną optymalizację całej metody pomiarowej, w ramach przyznanego przez NCN projektu badawczego „Badania biodeterioracji obiektów zabytkowych na podstawie analizy lotnych związków organicznych emitowanych przez grzyby pleśniowe”. Cały proces optymalizacji metody został opisany w artykule pt. *“Optimization of Headspace Solid Phase Microextraction for the Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds Emitted by Fungi: Application to Historical Objects”*, Journal of Chromatography A (punkt 4.b.poz.ii oraz Załącznik 2, punkt I.B.2). Już we wstępie artykułu zaproponowano, aby próbki powietrza do analizy MLZO pobierać nie do rurek wypełnionych sorbentem, a na włókna do mikroekstrakcji do fazy stałej, z ang. solid phase microextraction (SPME). Zalety metody

SPME, szczegółowo opisane w artykule, to przede wszystkim możliwość poboru prób tuż z nad powierzchni obiektu, na której stwierdzono zmianę, wskazującą na obecność grzyba. Dodatkową możliwością jest przyłożenie włókna wprost do powierzchni zmienionej. Jest to bezpieczne dla obiektu, ponieważ włókno składa się wyłącznie z sorbentu. Taki sposób poboru próbek eliminuje zjawisko rozcieńczenia MLZO, które opisano w poprzednim akapicie. Optymalizację zaproponowanej metody poboru próbek przeprowadziłem zgodnie ze schematem, który został przedstawiony przez prof. J. Pawliszyna, twórcę metody, w trakcie warsztatów: „Mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME) w badaniach żywności i analizie środowiskowej” (Załącznik 2, punkt III.L)b.1.), w których brałem udział. W pierwszej kolejności do badań wyselekcjonowano cztery, dostępne na rynku, typy włókien SPME: PDMS (polidimetylosiloksan), CAR/PDMS (węgiel aktywny, polidimetylosiloksan), PA (poliakryl), DVB/CAR/PDMS (diwinylobenzen, węgiel aktywny, polidimetylosiloksan – tzw. włókno kanapkowe). Następnie przygotowano zestaw próbek modelowych: papier Whatmana o ustalonym składzie (celuloza), pergamin (kolagen), tkanina jedwabna (fibroina), tkanina wełniana (keratyna). Próbkę te umieszczono selektywnie na trzech różnych podłożach mikrobiologicznych: Weary and Canby (W&C), Czapek – Dox (Cz&D), Synthetic Nutrient-Poor Agar (SNA), przygotowanych w postaci skosu w zamykanych, 20 ml fiolkach. Wymienione podłoża nie zawierały źródła organicznego węgla, azotu i siarki. Jedynym źródłem materii organicznej dla grzybów były próbki materiałów organicznych umieszczonych na powierzchni podłoża. Jak opisano w artykule, próbki materiałów poddano przed eksperymentem intensywnej dezynfekcji, np. tkanina wełniana i jedwabna były trzykrotnie dezynfekowane nasyconą parą wodną w autoklawie. Dzięki temu zmiany w strukturze materiału spowodowane dezynfekcją zbliżyły właściwości próbek modelowych do właściwości obiektów zabytkowych, które niszczej na drodze naturalnej degradacji fizykochemicznej, zachodzącej w czasie ich przechowywania. Po umieszczeniu sterylnych próbek materiałów modelowych na podłożach we fiolkach, próbki zaszczepiono wybranymi grzybami pleśniowymi zakupionymi, jako gatunki zidentyfikowane i certyfikowane, w Belgijskiej Skoordinowanej Kolekcji Mikroorganizmów (IHEM Culture Collection, Bruksela, Belgia). Następnie fiolki zamykano wykorzystując zakrętki z otworem i uszczelką wykonaną z PTFE i Teflonu[®]. Dzięki takiej konstrukcji zakrętki możliwe było pobieranie próbek fazy gazowej z wnętrza fiolek, po przekłuciu uszczelki. Przygotowano zestawy *Alternaria alternata* – tkanina jedwabna – W&C; *Aspergillus niger* – pergamin – Cz&D; *Chaetomium globosum* – papier Whatmana – Cz&D; *Chaetomium globosum* – tkanina

węlniana – W&C; *Cladosporium herbarum* – papier Whatmana – SNA. Zestawy zaszczerpionych próbek, przygotowanych we fiolkach, umieszczono w cieplarkach. Hodowlę prowadzono w 25°C. MLZO emitowane przez grzyby w trakcie ich wzrostu na próbkach modelowych były zatrzymywane we fiolkach. Próbkę związków lotnych obecnych wewnątrz fiolek pobierano na włókna SPME techniką headspace, czyli z fazy nadpowierzchniowej, tuż nad grzybną, po sześciu dniach hodowli. Wcześniej ustalono, że najwyższy poziom emisji MLZO jest mierzony między 5 a 7 dniem hodowli. Próbkę MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe pobierano na wszystkie cztery typy włókien SPME. Po przebicium uszczelki w zakrętce igłą włókna, włókno wysuwano z igły na głębokość, przy której sorbent znajdował się tuż nad rozwiniętą grzybną. Po zakończeniu sorpcji włókno wsuwano do igły, igłę wyciągano z fiolki i przenoszono do dozownika chromatografu gazowego. Następnie włókno wysuwano w dozowniku i rozpoczynano analizę MLZO. Związki lotne desorbowały z włókna pod wpływem działania wysokiej temperatury utrzymywanej w dozowniku (por. poniżej). MLZO rozdzielano w chromatografii gazowej (GC), na kapilarnej kolumnie chromatograficznej (30 metrów, średnica wewnętrzna 0.25mm ID, grubość złoża 0.25µm). Rozdzielone związki analizowano przy użyciu detektora - spektrometru mas (MS). Parametry pracy układu GC – MS utrzymywane w trakcie analizy, w szczególności temperaturowy program rozdziału w GC, zostały dobrane tak, aby możliwy był pełen rozdział MLZO oraz ich analiza ilościowa i jakościowa. Jako wynik analizy uzyskiwano chromatogramy, w których poszczególne piki przypisywano określonym MLZO, na podstawie biblioteki widm masowych, dołączonej do oprogramowania obsługującego pracę spektrometru mas (MS). W niektórych przypadkach stosowano substancje wzorcowe, kiedy identyfikacja związku wymagała potwierdzenia. Jak opisano w artykule, w pierwszym kroku procesu optymalizacji ustalono, że spośród czterech badanych włókien, tzw. włókno kanapkowe (DVB/CAR/PDMS) absorbuje największy zakres MLZO emitowanych przez grzyby, rosnące na różnych materiałach modelowych. Jednocześnie związki te są adsorbowane na ten typ włókna w dużych ilościach, w porównaniu z ilościami wyznaczonymi dla pozostałych trzech typów włókien. Dlatego uznano, iż włókno kanapkowe jest najbardziej odpowiednie do badań MLZO. W kolejnym etapie optymalizacji zbadano czy czas sorpcji MLZO na włókno SPME wpływa na możliwość przeprowadzenia analizy jakościowej i ilościowej badanych związków. W trakcie eksperymentu sorpcję prowadzono przez 1, 2, 4, 8, 12, 24 i 48 godzin. Wyniki analizy pozwoliły wykazać, iż najbardziej optymalna jest sorpcja 24-godzinna. Wówczas na włókno absorbuje się największy zakres MLZO i są one sorbowane w dużych stężeniach.

Następnie ustalono, czy temperatura dozownika, w którym prowadzi się desorpcję MLZO, wpływa na ilość związków identyfikowanych w chromatogramie. Badania przeprowadzone dla temperatur 230, 240 i 250°C wykazały, iż najwyższa z badanych temperatur umożliwia zdesorbowanie wszystkich MLZO, zaadsorbowanych wcześniej na włókno. Zostało to potwierdzone po wykonaniu ponownej desorpcji tego samego włókna. Nie występowało zjawisko przenoszenia badanych związków pomiędzy kolejnymi pomiarami. Z uwagi na możliwość regulacji długości włókna, w ostatnim etapie procesu optymalizacji należało ustalić, przy jakiej długości włókno wprowadzone do dozownika znajdzie się w jego środkowej, równomiernie ogrzewanej części, z zadaną temperaturą 250°C. Wyniki analizy przeprowadzonej dla uzyskanych chromatogramów pozwoliły wykazać, iż długość włókna wynosząca 3cm jest najbardziej optymalna. W ten sposób dostosowano metodę pomiarową SPME-GC-MS do badań mikrobiologicznych lotnych związków organicznych. Należy jednak podkreślić, iż w wyniku przeprowadzonego procesu optymalizacji uzyskano innowacyjną metodę badawczą, służącą pomiarom MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe powodujące biodeteriorację różnych produktów, zawierających w składzie polimery naturalne, jak celuloza, keratyna, kolagen, fibroina. Metoda ta w następnym kroku została zaimplementowana do badania MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe rozwijające się na obiektach dziedzictwa kulturowego.

Opracowana metoda pomiarowa może być wykorzystywana do wczesnego wykrycia skażenia mikrobiologicznego towarów, jak i miejsc ich przechowywania. Może być ona również pomocna w szybkiej identyfikacji zagrożenia mikrobiologicznego w przestrzeni produkcyjnej. Pozwala zatem na odpowiednio wczesne wdrożenie działań prewencyjnych, służących ograniczeniu, lub całkowitemu wyeliminowaniu strat ekonomicznych, spowodowanych niszczącym działaniem mikroorganizmów.

Po przeprowadzeniu optymalizacji samej metody pomiarowej przystąpiłem do kolejnego etapu badań, polegającego na szczegółowej analizie jakościowej i ilościowej MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe, powodujące biodeteriorację tkaniny wełnianej, pergaminu oraz tkaniny jedwabnej. W artykule pt. *„Application of solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry for the early detection of active moulds on historical woollen objects”* opublikowanym w *Journal of Separation Science* (punkt 4.b.poz.iii oraz Załącznik 2, punkt I.B.3) w pierwszej kolejności opisano, jak poważnym zagrożeniem dla trwałości wełny jest jej biodeterioracja, spowodowana

aktywnością grzybów pleśniowych. W szczególności zagrożone są wełniane obiekty dziedzictwa kulturowego (arrasy, dywany, zasłony), które na przestrzeni lat podlegały naturalnym procesom degradacji, w związku z tym są one bardziej podatne na atak mikrobiologiczny. Ten przykład pomaga zrozumieć, jak ważnym jest, aby dysponować narzędziem badawczym, które pozwala odpowiednio szybko wykryć obecność na produktach wełnianych aktywnych metabolicznie grzybów pleśniowych. Wczesna detekcja zagrożenia mikrobiologicznego umożliwia podjęcie działań naprawczych, które ograniczą straty spowodowane procesem biodeterioracji. Jest to szczególnie istotne w przypadku bezcennych kolekcji dóbr dziedzictwa kulturowego wykonanych z wełny, jak na przykład kolekcja arrasów, które eksponowane są w jednym miejscu. W tym przypadku szybkie wykrycie aktywnych grzybów na jednym z obiektów pozwoli zastopować rozprzestrzenianie się skażenia mikrobiologicznego na pozostałe. W celu oceny możliwości zastosowania zoptymalizowanych pomiarów MLZO do wykrywania grzybów pleśniowych rozwijających się na produktach wełnianych, przeprowadzono eksperyment podsumowany w opisywanym tu artykule. Na początku przygotowano podłoża mikrobiologiczne. Do eksperymentu wyselekcjonowano dwa typy podłoży: Weary and Canby (W&C) oraz Czapek – Dox (Cz&D). Podobnie jak w poprzednich badaniach podłoża te nie zawierały źródła organicznego węgla, azotu czy siarki, ponieważ to próbki tkaniny wełnianej miały być źródłem składników odżywczych dla grzybów. Dodatkowo przygotowano podłoża, które zawierały w składzie tylko agar i aminokwasy wchodzące w skład keratyny, w proporcjach, w jakich występują one w wełnie. Podłoże z aminokwasami w założeniu naśladowało obecność zanieczyszczeń organicznych obecnych na powierzchni produktów wełnianych. Zanieczyszczenia te to głównie proste związki organiczne pochodzące z kurzu, jak i aminokwasy powstające w wyniku degradacji powierzchni włókien wełnianych. Związki te są łatwo przyswajalne dla grzybów, a ich rozkład odbywa się na drodze tzw. metabolizmu pierwotnego. W tym przypadku grzyb rośnie bardzo szybko, gwałtownie przyrasta biomasa grzybni, ale emisja MLZO jest niewielka. Stąd, podłoże to zostało użyte w badaniach, aby udowodnić, iż MLZO są głównie produktami tzw. metabolizmu wtórnego i emitowane są przez grzyby pleśniowe, które rozkładają tkaninę wełnianą, a nie zanieczyszczenia organiczne, które znajdują się na jej powierzchni. Wszystkie trzy typy podłoży przygotowano w postaci skosu w zamykanych, 20ml fiolkach. Następnie na podłożach (W&C i Cz&D) umieszczono próbki niebarwionej tkaniny wełnianej (100% wełny), o powierzchni 4cm². Próbkę poddano uprzednio intensywnej dezynfekcji nasyconą parą wodną w autoklawie,

powtarzając ją trzykrotnie. Dzięki temu próbki uległy degradacji i nabrały właściwości, które były zbliżone do właściwości naturalnie niszczących, wełnianych obiektów dziedzictwa kulturowego. W kolejnym etapie na próbki umieszczone na podłożach we fiolkach zaszczerpiono 16 gatunków grzybów pleśniowych, zakupionych w Belgijskiej Skoordynowanej Kolekcji Mikroorganizmów (IHEM Culture Collection, Bruksela, Belgia), w celu wyselekcjonowania gatunków zdolnych do rozkładu wełny. Spośród wszystkich zbadanych gatunków tylko osiem wykazało właściwości keratynolityczne: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium brevicompactum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Stachybotrys chartarum*, były one zdolne do wzrostu próbkach wełny. Następnie gatunki te zaszczerpiono na wysterylizowane próbki tkaniny wełnianej przygotowane na jałowych podłożach W&C oraz Cz&D, a także na podłoża z aminokwasami, we fiolkach. Hodowlę prowadzono zgodnie z procedurą ustaloną w trakcie optymalizacji metody pomiarowej: zamknięta fiołka, 25°C. Do każdego zestawu przygotowano również tzw. próby ślepe. Były to podłoża z próbkami tkaniny wełnianej bez grzybów. Wykorzystano je do pomiaru związków lotnych emitowanych z podłoża, tkaniny, zakrętki i znajdującej się w niej uszczelki, czyli tzw. emisji tła. Dodatkowo przygotowano próbkę zabytkowej tkaniny wełnianej, pobraną z arras. Próbkę o powierzchni 2cm² poddano sterylizacji i podzielono na dwie części. Obie umieszczono w osobnych jałowych szalkach Petriego, bez podłoża. Jedną próbkę zwilżono jałową wodą i zaszczerpiono *Chaetomium globosum*, drugą tylko zwilżono, była to próba ślepa. Hodowlę prowadzono w 23°C.

MLZO emitowane przez grzyby rosnące na próbkach tkaniny wełnianej we fiolkach pobierano na kanapkowe włókno SPME – DVB/CAR/PDMS, przez 24 godziny. Związki lotne emitowane przez *Ch. globosum*, zaszczerpione na próbkę zabytkowej tkaniny wełnianej, również pobierano na włókno kanapkowe. W tym przypadku włókno umieszczano tuż nad grzybnią, która wyrosła na tkaninie. Pobór trwał tylko 6 godzin, a w trakcie poboru szalka Petriego była otwarta. Próbki MLZO pobrane na włókna poddawano analizie w układzie chromatograf gazowy – spektrometr mas, stosując program analizy, który został ustalony w trakcie optymalizacji metody pomiarowej. Jako wynik analizy uzyskano chromatogramy, od których odjęto, dzięki możliwościom oprogramowania, chromatogramy zarejestrowane dla prób ślepych, charakteryzujących tzw. emisję tła. Otrzymane chromatogramy to zestaw MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe rozkładające wełnę. Analiza jakościowa chromatogramów, przeprowadzona w oparciu o dane ze spektrometru mas, pozwoliła

wykazać, iż grzyby rosnące na tkaninie wełnianej emitują około 150 związków lotnych, które należą do różnych grup związków organicznych: węglowodory (heptan, izopren), węglowodory aromatyczne (benzen, styren), alkohole (1-okten-3-ol, 3-oktanol, 3-metyl-1-butanol), aldehydy, ketony (1-oktanon, 1-okten-3-on, 3-oktanon), kwasy organiczne, etery, estry (octan butylu), terpeny (limonen), sesquiterpeny (humulen, nerolidol, bisabolen), związki organiczne zawierające siarkę i azot. Jak ustalono, lista związków emitowanych przez grzyby pleśniowe rosnące na próbkach tkaniny wełnianej była cechą gatunkową, co oznacza, że niektóre ze związków lotnych były emitowane wyłącznie przez określony gatunek grzyba. Niemniej jednak zidentyfikowano również kilka związków, które były emitowane przez wszystkie osiem gatunków grzybów rosnących na tkaninie wełnianej, niezależnie od rodzaju podłoża mikrobiologicznego, na którym umieszczone były próbki (W&C czy Cz&D). Związki te to ośmiowęglowe alkohole oraz ketony (1-okten-3-ol, 3-oktanol, 1-okten-3-on, 3-oktanon, 2-oktanon), niektóre terpeny i sesquiterpeny (np. geosmina, bisabolen). Dodatkowo stwierdzono, że wszystkie badane gatunki emitują także heptanon lub heksanon, albo oba te związki równocześnie. Wnikliwy przegląd literatury pozwolił potwierdzić fakt, iż wymienione związki są emitowane przez aktywne metabolicznie grzyby pleśniowe i przypisuje się im potencjalną rolę wskaźników aktywności metabolicznej. Wszystkie gatunki grzybów rosnących na próbkach tkaniny wełnianej emitowały także lotne organiczne związki siarki. Oznacza to, że źródłem materii organicznej dla grzybów była tkanina wełniana (keratyna zawiera atomy siarki), nie zaś podłoże, gdyż przygotowane podłoża mikrobiologiczne (W&C, Cz&D) nie zawierały źródła siarki. Natomiast grzyby rosnące na podłożach z aminokwasami emitowały znacznie mniej związków lotnych, około 100, i ich zestaw był zdecydowanie odmienny. Były to przede wszystkim małowcząsteczkowe alkohole i kwasy organiczne. Tym samym udowodniono, że MLZO są w istocie produktami metabolizmu wtórnego, a nie pierwotnego, zgodnie z założeniem przyjętym przy planowaniu składu podłoża, wykorzystanych w badaniach.

Dla uzyskanych chromatogramów przeprowadzono również analizę ilościową. Było to możliwe po przeprowadzeniu kalibracji układu pomiarowego i wyznaczeniu granicy wykrywalności oraz granicy oznaczalności dla metody. Dodatkowo, oddzielną kalibrację przeprowadzono dla każdego z wymienionych powyżej związków, które mogą być potencjalnymi wskaźnikami aktywności metabolicznej, czyli ośmiowęglowych alkoholi i ketonów, heptanonu, heksanonu, oraz dla wybranych terpenów i sesquiterpenów. Na

podstawie danych kalibracyjnych przeliczono pola powierzchni pod pikami, zarejestrowanymi dla tych związków, na ich stężenia i ustalono, że największą ilość związków emitowały gatunki: *Ch. globosum*, *S. brevicaulis*, *T. viride*, and *S. chartarum* (ułożone według malejącego stężenia). Mniejsze stężenia stwierdzono dla *A. alternata*, *A. fumigatus*, i *P. brevicompactum* (blisko dwukrotnie mniejsze). Najmniejsze stężenie zmierzono dla *A. flavus*. Wyniki te są zbieżne z danymi literaturowymi, dotyczącymi aktywności proteolitycznej badanych grzybów pleśniowych. *Ch. globosum*, *S. brevicaulis*, *T. viride* są wymieniane wśród gatunków silnie keratynolitycznych. Pozostałe gatunki wykazują średnią lub niską aktywność. Należy zaznaczyć, że grzyby pleśniowe rosnące na podłożach z aminokwasami emitowały tylko niektóre ośmiowęglowe alkohole i ketony oraz terpeny i sesquiterpeny. Wyznaczone dla nich stężenia były bardzo niskie (na poziomie granicy oznaczalności), w porównaniu do stężeń wyznaczonych dla tych samych gatunków rozkładających tkaninę wełnianą. Po raz kolejny pozwala to potwierdzić, że MLZO są produktami metabolizmu wtórnego i wytwarzane są przez grzyby rozkładające złożony materiał organiczny, w tym przypadku wełnę.

Chromatogramy uzyskane dla MLZO emitowanych przez *Ch. globosum* rozkładające próbkę zabytkowej tkaniny wełnianej również poddano ocenie jakościowej i ilościowej. Na podstawie otrzymanych wyników ustalono, iż grzyb pleśniowy rosnący bezpośrednio na próbce tkaniny wełnianej (nie zastosowano tu podłoża mikrobiologicznego) emitował również około 150 lotnych związków organicznych. Ich skład wyraźnie różnił się od zestawu związków, które zidentyfikowano w chromatogramie uzyskanym dla *Ch. globosum* rosnącego na podłożu z aminokwasami. Co najważniejsze, wśród MLZO emitowanych przez badany gatunek grzyba zidentyfikowano ośmiowęglowe alkohole i ketony, terpeny, sesquiterpeny, heptanon i heksanon, czyli związki, które potencjalnie mogą być wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych. Dodatkowo w chromatogramach zidentyfikowano lotne związki siarki. Stanowi to bezpośrednie potwierdzenie, że grzyb rozkładał keratynę, ponieważ próbka zabytkowej tkaniny wełnianej była jedynym źródłem składników odżywczych dla grzybnicy. Badania ilościowe MLZO emitowanych przez *Ch. globosum* potwierdziły, że związki będące potencjalnymi wskaźnikami aktywności metabolicznej pleśni były emitowane w stężeniu będącym zdecydowanie powyżej granicy oznaczalności. W dodatku stężenie to było wyższe, w porównaniu do stężenia wyznaczonego dla *P. brevicompactum* czy *A. flavus*

hodowanych na próbkach tkaniny wełnianej w układach zamkniętych. Wynika to z wysokiej aktywności kreatynolitycznej *Ch. globosum*.

W podsumowaniu artykułu stwierdzono, iż wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły dowieść, iż wśród MLZO emitowanych przez różne gatunki grzybów pleśniowych, zdolnych do rozkładu wełny, znajdują się trzy grupy związków lotnych: ośmiowęglowe alkohole i ketony, heksanon i heptanon, oraz terpeny i sesquiterpeny, które są emitowane przez każdy z badanych gatunków, niezależnie od typu podłoża, na jakim umieszczona była próbka tkaniny wełnianej, która ulegała biodeterioracji. W związku z tym uznano, iż te trzy grupy związków lotnych, wchodzących w skład MLZO, mogą być potencjalnymi wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych, powodujących biodeteriorację wełny. W szczególności, że stężenia zmierzone dla tych związków były wyraźnie powyżej wyznaczonych dla nich granicy oznaczalności. Stąd można wnioskować, że wykrycie obecności tych związków w warstwie powietrza w pobliżu materiału, zawierającego w składzie keratynę, wskazuje na aktywny wzrost grzybów pleśniowych, aktualnie niszczących ten materiał. Słuszność tego wniosku została dowiedziona na podstawie wyników badań uzyskanych dla gatunku *Ch. globosum*, który był zaszczerpiony bezpośrednio na próbkę zabytkowej tkaniny wełnianej (bez podłoża). W tym przypadku hodowlę prowadzono w temperaturze 23°C, w układzie otwartym (szalki Petriego), a pobór próbek MLZO na włókna SPME, przeprowadzony w sposób kontaktowy, trwał tylko 6 godzin. Mimo, iż pobór trwał krótko, a badanie przeprowadzono w warunkach, które wyraźnie wpływają na obniżenie ilości MLZO, wśród zidentyfikowanych związków stwierdzono obecność wszystkich trzech grup związków, będących potencjalnymi wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych. W dodatku ich stężenia były wyższe, niż zmierzone dla niektórych gatunków hodowanych na tkaninie wełnianej, w układach zamkniętych (we fiolkach).

Opracowana metoda pomiarowa umożliwia zatem szybkie wykrycie, w porównaniu do klasycznych metod hodowlanych, obecności aktywnych grzybów pleśniowych powodujących niszczenie produktów wykonanych z wełny: tkanin, dywanów. W związku z tym, metoda ta pozwala na wczesne odizolowanie skażonej partii produktów od pozostały, przechowywanych w tym samym miejscu, czy też na podjęcie decyzji o zmianie warunków mikroklimatycznych w miejscu ich przechowywania, w celu ograniczenia lub eliminacji aktywności metabolicznej mikroorganizmów. W każdym przypadku oznacza to szybką odpowiedź na zagrożenie mikrobiologiczne, tym samym ograniczenie strat finansowych

producenta. Dodatkowo proponowana metoda badawcza jest cennym narzędziem dla konserwatorów. Jak udowodniono, pozwala ona na wykrycie aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych na obiektach dziedzictwa kulturowego, wykonanych z wełny. Dla konserwatora kluczową jest informacja, czy zmiana zaobserwowana na obiekcie wełnianym to nieaktywny, czy też aktywny metabolicznie grzyb pleśniowy. Szybkiej odpowiedzi na to pytanie może dostarczyć zaproponowany pomiar trzech grup związków należących do MLZO, będących wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybni. Tylko w przypadku, gdy wynik pomiaru potwierdzi aktywność metaboliczną grzyba, konserwator podejmie decyzję o potrzebie przeprowadzenia dezynfekcji obiektu. Nie jest to decyzja łatwa, ponieważ keratyna, która w obiekcie zabytkowym uległa naturalnej degradacji w przeciągu lat, jest szczególnie wrażliwa na działanie wielu czynników fizykochemicznych. Stąd dezynfekcja może spowodować jej pogłębioną degradację. Jednocześnie wykluczenie aktywności metabolicznej grzyba pozwala ochronić obiekt przed tzw. dezynfekcją prewencyjną (wykonaną bez wcześniejszych badań), a tym samym zachować jego niejednokrotnie bardzo wysoką wartość rynkową.

W celu potwierdzenia, iż opracowana metoda wykrywania aktywnych grzybów pleśniowych może być stosowana również w przypadku, gdy grzyby rozkładają inne, niż wełna, materiały organiczne, przeprowadzono badania MLZO emitowanych przez grzyby zaszczerpione na próbki pergaminu i tkaniny jedwabnej. W artykule pt. „*Application of HS-SPME-GC-MS method for the detection of active moulds on historical parchment*”, opublikowanym w *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (punkt 4.b.poz.iv oraz Załącznik 2, punkt I.B.4) argumentowano, w oparciu o dane literaturowe, że do grupy czynników, powodujących degradację pergaminu i skóry, należy zaliczyć niszczące działanie mikroorganizmów, w tym przede wszystkim biodeteriorację spowodowaną aktywnością metaboliczną grzybów pleśniowych. Dlatego wczesne wykrycie grzybów rozwijających się na produktach wykonanych ze skóry pozwala na zatrzymanie procesu ich niszczenia oraz ochroni pozostałe produkty przed rozprzestrzenianiem się skażenia mikrobiologicznego. Wczesna reakcja na zagrożenie mikrobiologiczne ogranicza lub wręcz wyeliminuje straty finansowe, jakie mógłby ponieść producent, z powodu działania mikroorganizmów. Oczywiście szybkie wykrycie aktywnych metabolicznie grzybów jest również niezwykle pożądane w przypadku ich wzrostu na obiektach dziedzictwa kulturowego, wykonanych ze skóry, na przykład na pergaminie, który był używany jako materiał piśmienniczy przez setki

lat i stanowi niezwykle cenne źródło informacji o minionych kulturach i społeczeństwach. Pergamin jest szczególnie podatny na atak mikrobiologiczny, ponieważ jest to skóra niegarbowana. Dlatego wczesne rozpoznanie obecności aktywnej grzybni pozwoli na podjęcie odpowiednich działań służących ochronie kart pergaminowych przed niszczeniem. Proponowana metoda badań, oparta na pomiarze wybranych MLZO, spełnia ten wymóg. W celu potwierdzenia możliwości zastosowania tej metody, do badania aktywności grzybów pleśniowych, niszczących materiały zawierające w składzie kolagen, przeprowadzono pomiary, które były zbliżone do tych wykonanych dla tkanin wełnianych. W badaniach zastosowano takie same, jak poprzednio, podłoża mikrobiologiczne, przy czym podłoże z aminokwasami zawierało w składzie aminokwasy wchodzące w skład kolagenu, a nie keratyny. Wybrano również inną metodę sterylizacji pergaminu, ponieważ zastosowana w poprzednich badaniach, dezynfekcja nasyconą parą wodną w autoklawie, doprowadziłaby do całkowitej denaturacji próbek. Dlatego sterylizację przeprowadzono stosując naświetlanie pergaminu lampą UV, która emitowała biobójczą długość fali 253,7 nm. Próbki umieszczano w odległości 10 cm od lampy. Naświetlanie kontynuowano przez 45 min dla każdej strony próbek (lico i mizdra). Działanie biobójcze zapewniała odpowiednio dobrana długość fali oraz ozon, który był generowany w powietrzu nad próbką, w czasie naświetlania. Skuteczność sterylizacji potwierdzono poprzez umieszczenie losowo wybranych próbek pergaminu na podłożu agar ziemniaczany i prowadzeniu inkubacji w 28°C. Nawet po dwóch tygodniach hodowli nie zaobserwowano wzrostu mikroorganizmów. Próbki pergaminu umieszczano na podłożach przygotowanych w postaci skosu, w 20 ml, zakręcanych fiolkach. W tym przypadku również przeprowadzono badania dla próbki historycznej. Był to kawałek naturalnie postarzonego pergaminu, pobrany z XIX-wiecznej tory, który po sterylizacji podzielono na dwie części. Na jednej zaszczepiono grzyba z gatunku *Aspergillus fumigatus*, druga pozostała jałowa, jako próba ślepa. Spośród 16 gatunków grzybów pleśniowych wyselekcjonowano 7, które wykazywały właściwości kolagenolityczne, gdyż były zdolne do wzrostu na pergaminie. Selekcję wykonano w sposób podobny, jak w przypadku badań przeprowadzonych dla tkaniny wełnianej. Wybrane gatunki to: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium brevicompactum*, *Paecilomyces variotti* oraz *Scopulariopsis brevicaulis*. Gatunki te zaszczepiono następnie na podłoża z aminokwasami i na próbki pergaminu umieszczone na podłożach W&C oraz Cz&D, przygotowanych we fiolkach. Warunki prowadzenia hodowli grzybów na próbkach we fiolkach oraz na próbce pergaminu zabytkowego, sposób poboru próbek MLZO na włókna

SPME, oraz program analizy tych związków w układzie chromatograf gazowy – spektrometr mas, były takie same, jak w przypadku badań prowadzonych dla tkaniny wełnianej. Ocenę stosowalności proponowanej metody, pozwalającej wykryć grzyby aktywne na podstawie pomiaru MLZO, poszerzono o badania przeprowadzone dla rzeczywistego obiektu zabytkowego. Była to XVI-wieczna pergaminowa karta, na której stwierdzono zmiany barwne, wskazujące na obecność grzybni. W celu stwierdzenia, czy jest to aktywny metabolicznie grzyb pleśniowy, pobrano próbki związków lotnych z miejsca ze zmianą, poprzez przyłożenie włókna SPME bezpośrednio do zmiany. Sorpcję na włókno wykonano w pomieszczeniu, w którym karta była przechowywana, czyli bibliotece kościelnej. Pobór próbek trwał 4 godziny. Związki lotne pobrane na włókna SPME poddano badaniu w układzie chromatograf gazowy - spektrometr mas (program analizy był taki sam, jak w badaniach pozostałych próbek).

W wyniku przeprowadzonych pomiarów otrzymano chromatogramy dla MLZO pobranych z fiolek, z powierzchni próbki zabytkowego pergaminu, pochodzącego z tory, na który zaszczerpiono *A. fumigatus*, oraz dla próbek związków lotnych, pobranych z powierzchni XVI-wiecznej karty, na której stwierdzono zmiany barwne. Ocena jakościowa chromatogramów, uzyskanych dla MLZO pobranych z fiolek i znad *A.fumigatus* rosnącego na pergaminie z tory, przeprowadzona w oparciu dane pochodzące ze spektrometru mas, pozwoliła wykazać, iż grzyby rozkładające pergamin, emitują powyżej 140 związków lotnych, należących do różnych grup związków organicznych. Podobnie, jak w przypadku badań przeprowadzonych dla tkaniny wełnianej, stwierdzono, że zestaw związków emitowanych przez dany gatunek grzyba, rosnącego na pergaminie, jest jego cechą gatunkową. Wiele związków było emitowanych wyłącznie przez jeden gatunek. Najważniejszym jest jednak fakt, iż wszystkie badane gatunki grzybów pleśniowych, w tym *A. fumigatus* rosnący na próbce pergaminu pobranej z XIX-wiecznej tory, emitowały związki, uznawane za wskaźniki aktywności metabolicznej, niezależnie od rodzaju zastosowanego podłoża (W&C, Cz&D, próbka pergaminu historycznego bez podłoża). Dlatego w każdym przypadku w chromatogramach zidentyfikowano: ośmiowęglowe alkohole i ketony, heksanon i/lub heptanon, oraz terpeny i sesquiterpeny. Ocena ilościowa chromatogramów pozwoliła dowieść, że wszystkie wymienione związki, emitowane były na poziomie powyżej granicy oznaczalności. Wynik ten uprawdopodobnił możliwość uniwersalnego stosowania pomiarów

trzech wymienionych grup tzw. związków wskaźnikowych, do wykrywania aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych, rozkładających materiały organiczne.

Ocena jakościowa i ilościowa chromatogramów, uzyskanych dla próbek związków lotnych pobranych z XVI-wiecznej karty pergaminowej, na której stwierdzono zmianę barwną przypominającą grzybnie, pozwoliła wykazać, że wśród zidentyfikowanych związków lotnych nie występują wskaźniki aktywności metabolicznej grzybów. Oznaczało to, że grzybnia jest nieaktywna i nie stanowi zagrożenia dla historycznej karty pergaminowej oraz dla pracujących z nią konserwatorów. Klasyczne badanie mikrobiologiczne, przeprowadzone dla próbki pobranej z powierzchni grzybni, metodą wymazu, potwierdziło ten wynik.

Uzyskane wyniki badań pozwoliły wykazać, iż zakres stosowalności opracowanej metody wykrywania aktywnych grzybów pleśniowych nie ogranicza się tylko do tkanin wełnianych. Dodatkowo metoda ta pozwala na potwierdzenie lub wykluczenie aktywności grzybni występującej na danym materiale, nie tylko w badaniach prowadzonych w laboratorium, ale również w czasie badań wykonywanych w terenie. Można ją uznać za cenne narzędzie w walce z biodeterioracją produktów, takich jak tkanina wełniana czy pergamin, pozwala ona bowiem relatywnie szybko wykryć obecność aktywnych metabolicznie grzybów. Dzięki temu możliwym jest odpowiednio wczesne wdrożenie działań naprawczych, mających na celu ograniczenie lub wręcz wyeliminowanie strat materialnych, spowodowanych niszczącą działalnością grzybów pleśniowych. Metoda ta może być również wykorzystana do przeprowadzenia szybkiej oceny poziomu skażenia mikrobiologicznego. Wykrycie obecności aktywnych grzybów pozwoli uchronić przed zagrożeniem mikrobiologicznym nie tylko produkty, ale również pracowników, którzy mają z nimi kontakt.

W celu ostatecznego potwierdzenia, że opracowana metoda jest uniwersalna i może być stosowana również do identyfikacji zagrożeń mikrobiologicznych innych produktów, przeprowadzono badania MLZO emitowanych przez grzyby pleśniowe niszczące tkaninę jedwabną. Wyniki tych badań zostały opisane w artykule pt. „*The detection of active moulds on historical silk by the means of the headspace–solid phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry method*”, opublikowanym w *Textile Research Journal* (punkt 4.b.poz.V oraz Załącznik 2, punkt I.B.5). Podstawą do podjęcia tych badań był fakt, iż naturalny jedwab jest bardzo wrażliwy na działanie wielu czynników środowiskowych

(temperatura, promieniowanie UV), które powodują jego przyspieszoną degradację i wzrost podatności na atak mikrobiologiczny, co potwierdzają konserwatorzy. Rozwój grzybów pleśniowych na naturalnie zdegradowanych, niejednokrotnie bardzo cennych, zabytkowych tkaninach jedwabnych jest szczególnie niebezpieczny, ponieważ liczne doniesienia literaturowe wskazują, że każda, z dostępnych obecnie metod dezynfekcji, powoduje pogłębioną degradację jedwabiu, do jego całkowitego zniszczenia włącznie. Problematyka ta jest szczególnie istotna w naszym kraju. Polska posiada bardzo bogate zbiory cennych tkanin jedwabnych będących w posiadaniu muzeów i kościołów. Zbiory te zawierają głównie zabytkowe stroje oraz wszelkiego rodzaju bielizna mszalna (kapy, dalmatyki, ornaty, stuły itp.), jedwabne wykończenia ścian oraz mebli. Niestety miejsca przechowywania tych zbiorów w instytucjach kościelnych nie posiadają regulacji temperatury i wilgotności, co stwarza bardzo duże zagrożenie rozwoju grzybów na przechowywanych tam tkaninach jedwabnych, na co wskazuje doświadczenie zdobyte w trakcie badań jakości mikrobiologicznej powietrza w tych miejscach. Dlatego wydaje się zasadnym, aby niszcząca aktywność grzybów pleśniowych mogła być wykryta odpowiednio wcześnie, już we wstępnym etapie rozwoju grzybnicy. Wczesne wykrycie aktywnych grzybów pozwoli podjąć działania, które ograniczą straty materialne, związane z utratą wartości rynkowej, obiektów dziedzictwa kulturowego wykonanych z jedwabiu. Tu z pomocą mogłaby przyjść opracowana metoda wykrycia grzybów aktywnych, oparta o badania MLZO. Wcześniej jednak należało udowodnić, iż metoda ta nadaje się do wykrycia aktywności grzybów niszczących jedwab. Badania te zostały opisane w prezentowanej publikacji. Zostały one przeprowadzone zgodnie ze schematem wypracowanym przy badaniu wełny i pergaminu. Jedyną różnicą był fakt, że w tym przypadku dysponowano odpowiednio dużym kawałkiem zabytkowej tkaniny jedwabnej. Była to jedwabna podszywka pozyskana z XVII-wiecznego, silnie zniszczonego obiektu. Dzięki temu możliwym było przeprowadzenie pomiarów MLZO emitowanych przez grzyby rosnące na próbkach nowego oraz zabytkowego jedwabiu, umieszczonych na podłożach wewnątrz fiolek. próbki nowej tkaniny jedwabnej (typ habotai) zdezynfekowano nasyconą parą wodną w autoklawie (121°C, 20min, proces powtórzono trzykrotnie), natomiast zabytkowa tkanina jedwabna (tkanina typu szarmeza) została zdezynfekowana w kąpieli z wodą utlenioną (3% V/V, przez godzinę). Podobnie, jak w przypadku pomiarów wykonanych dla pergaminu i wełny, wyselekcjonowano gatunki grzybów pleśniowych, które powodują niszczenie jedwabiu. Były to: *Alternaria alternata*, *Chaetomium globosum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* oraz *Penicillium chrysogenum*. W badaniach zastosowano te

same podłoża mikrobiologiczne, jak w przypadku pomiarów wykonanych dla innych materiałów, łącznie z podłożami zawierającymi aminokwasy wchodzące w skład fibroiny, stanowiącej składnik budulcowy włókien jedwabiu. Oprócz badań MLZO emitowanych przez grzyby rosnące na tkaninach jedwabnych (zabytkowych i nowych), w zamkniętych fiolkach, przygotowano również próbkę tkaniny zabytkowej bezpośrednio w szalkach Petriego, bez podłoży mikrobiologicznych. Próbkę zwilżono jałową wodą i zaszczerpiono na nią grzyba *Aspergillus niger*. Pomiary MLZO emitowanych przez wyselekcjonowane grzyby pleśniowe rosnące: na różnych typach tkanin jedwabnych, umieszczonych na różnych podłożach (W&C, Cz&D); na podłożach z aminokwasami; na zabytkowej tkaninie jedwabnej (bez podłoża), przeprowadzono w taki sam sposób, jak w przypadku pomiarów wykonanych dla pergaminu. Warunki hodowli grzybów na wymienionych próbkach, jak i sposób poboru próbek MLZO do pomiarów chromatograficznych, również były takie same.

Analiza otrzymanych chromatogramów pozwoliła stwierdzić, iż wśród około 150 różnych związków lotnych, które emitowane są przez grzyby pleśniowe powodujące biodeteriorację tkanin jedwabnych, można zidentyfikować ośmiowęglowe alkohole i ketony, heksanon i heptanon oraz terpeny i sesquiterpeny, czyli związki lotne, zdefiniowane jako wskaźniki aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych. Zostały one również zidentyfikowane w chromatogramach uzyskanych dla MLZO emitowanych przez gatunek *Aspergillus niger* rosnący bezpośrednio na próbce zabytkowej tkaniny jedwabnej, w szalkach Petriego. Dodatkowo stwierdzono, że poziom emisji związków wskaźnikowych, zmierzony dla poszczególnych gatunków grzybów rosnących na różnych próbkach tkanin jedwabnych, był powyżej wyznaczonej granicy oznaczalności. W związku z tym uznano, że podobnie jak w przypadku wyników badań MLZO przeprowadzonych dla tkaniny wełnianej i pergaminu, opisane powyżej grupy związków lotnych są wskaźnikami aktywności metabolicznej grzybów powodujących niszczenie tkanin jedwabnych. Zatem pomiary tych związków mogą być wykorzystane do oceny zagrożenia mikrobiologicznego, jakie stanowią grzyby pleśniowe rozwijające się na produktach wykonanych z jedwabiu, przechowywanych w nieodpowiednich warunkach mikroklimatycznych. Ta metoda wczesnego ostrzegania może być z powodzeniem zaimplementowana do wykrycia grzybów aktywnych na zabytkowych obiektach jedwabnych. Ich wczesne wykrycie w obu przypadkach pozwoli na podjęcie odpowiednich działań naprawczych, co znacznie ograniczy straty materialne lub utratę wartości obiektów zabytkowych.

Wyniki pomiarów zaprezentowane w cyklu pięciu publikacji pozwalają dowieść, iż zasadniczy cel osiągnięcia naukowego został zrealizowany. Zdołano przeprowadzić optymalizację metody pomiarowej mikroekstrakcja do fazy stałej – chromatografia gazowa – spektrometria mas (SPME-GC-MS) na potrzebę wykonywania pomiarów mikrobiologicznych lotnych związków organicznych (MLZO), emitowanych przez grzyby pleśniowe, powodujące biodeteriorację produktów, wykonanych z polimerów naturalnych, w tym dóbr materialnych o szczególnej wartości. Ponadto ustalono, że wśród MLZO, które są emitowane przez grzyby pleśniowe rozkładające materiały organiczne, istnieją tzw. związki wskaźnikowe, które pozwalają potwierdzić obecność aktywnych form grzybów. Udowodniono także, że lotne wskaźniki aktywności metabolicznej grzybów pleśniowych są uniwersalnym probierzem obecności aktywnych grzybów, ponieważ są one emitowane przez wszystkie zbadane gatunki, niezależnie od rodzaju produktu, na którym rosły. Stosowana dotychczas w szerokim wachlarzu badań towaroznawczych metoda chromatografia gazowa – spektrometria mas znalazła zatem zupełnie nowe zastosowanie, jako narzędzie wczesnego wykrycia zagrożenia mikrobiologicznego, związanego z niszczącym działaniem grzybów pleśniowych. Metoda ta pozwala szybko zidentyfikować proces biodeterioracji różnych towarów, jak również skażenie mikrobiologiczne w miejscach ich przechowywania. Tym samym umożliwia odpowiednio wcześniej wdrożyć procedury naprawcze w celu ograniczenia lub wręcz wyeliminowania straty materialnych ponoszonych przez producentów. Jak udowodniono metoda ta może być również z powodzeniem wykorzystana do potwierdzenia lub do wykluczenia obecności aktywnych grzybów pleśniowych, powodujących biodeteriorację obiektów zabytkowych. Jest to bardzo ważne z ekonomicznego punktu widzenia, ponieważ wykluczenie obecności grzybów aktywnych, znacznie obniża koszty konserwacji obiektu, pozwala bowiem pominąć etap jego dezynfekcji. Zasadniczą zaletą nowej metody, w porównaniu do klasycznych metod hodowlanych jest krótki czas oczekiwania na wyniki, oraz fakt, że nie generuje ona kosztów, ponieważ nie wymaga zastosowania podłoży mikrobiologicznych i prowadzenia hodowli.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo badawczych (artystycznych), dydaktycznych i organizacyjnych.

a. Pozostałe osiągnięcia naukowo - badawcze

Studia licencjackie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego rozpocząłem w 1999 roku. W związku z bardzo dobrymi ocenami z egzaminów, uzyskanymi już po ukończeniu pierwszego semestru pierwszego roku studiów, zostałem członkiem grupy badawczej działającej w ramach Pracowni Badań nad Trwałością i Degradacją Papieru. Pracownia została utworzona ze środków funduszy Wieloletniego Programu Rządowego: „Kwaśny Papier. Ratowanie w skali masowej zagrożonych polskich zbiorów bibliotecznych i archiwalnych” realizowanego w latach 2000-2008. W programie brało udział kilka jednostek naukowych z całej polski oraz jednostek kultury. Łączne fundusze programu wynosiły 70 mln złotych, z czego 13 mln przeznaczono na realizację wszystkich przedsięwzięć na terenie Uniwersytetu Jagiellońskiego. Dzięki tym środkom wspomniana pracownia została wyposażona w aparaturę do badań mechanicznych oraz fizykochemicznych kwaśnego papieru, a przy Bibliotece Jagiellońskiej wybudowano Klinikę Papieru, w której znajduje się instalacja do masowego odkwaszania papieru. Bardzo dobrze wyposażona pracownia dała mi możliwość prowadzenia badań technologicznych papieru na światowym poziomie oraz szybkiego rozwoju naukowego. Prowadziłem badania nad szybkością degradacji celulozy w próbkach kwaśnego papieru, poddanych testom przyspieszonego postarzenia, w różnych warunkach, mierząc zmiany stopnia polimeryzacji łańcuchów celulozy. Badałem również zmiany właściwości mechanicznych tych próbek, m.in. samozerwalności, liczby podwójnych zgięć czy oporu przedarcia, zachodzące w trakcie przyspieszonego starzenia. Celem tych badań było opracowanie metod przyspieszonego postarzenia papieru, które pozwalają odtworzyć mechanizm degradacji celulozy, jaki zachodzi w rzeczywistym papierze kwaśnym (np. w książkach), w trakcie jego degradacji biegnącej w sposób naturalny, w zbiorach bibliotecznych czy archiwalnych. Jednocześnie metody starzeniowe miały umożliwić rozróżnienie mechanizmów degradacji celulozy spowodowanej utlenianiem, od tej spowodowanej kwaśną hydrolizą. Wyniki tych badań opisałem w mojej pracy licencjackiej, pt.: *„Metodyka testów starzeniowych uwzględniająca utlenianie i kwaśną hydrolizę celulozy”*. Zostały one również zaprezentowane na konferencji w Lublanie, w której brałem udział (Załącznik 2, punkt II.D)I.1)1-2.). Moje osiągnięcia naukowe zostały docenione przez Władze

Dziekańskie i przez kolejne trzy lata moich studiów licencjackich otrzymywałem stypendium I stopnia za wyniki w nauce.

W 2002 roku rozpocząłem studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W trakcie studiów kontynuowałem pracę w Pracowni Badań nad Trwałością i Degradacją Papieru. Jednocześnie w latach 2002 – 2003 odbywałem staż naukowy w Instytucie Papiernictwa i Poligrafii Politechniki Łódzkiej, pod opieką Profesora dr hab. Pawła Wandelta udział (Załącznik 2, punkt III.L)a.1.). W Instytucie prowadziłem badania technologiczne papieru wykorzystując różnego typu aparaturę, która stosowana jest rutynowo w przemyśle papierniczym. Dzięki pracy z Profesorem zdobyłem również wiedzę z zakresu nowoczesnych technologii produkcji papieru. Badania naukowe, które prowadziłem na Wydziale Chemii dotyczyły kinetyki degradacji celulozy, w próbkach papieru postarzonych różnymi metodami, w układach zamkniętych i w komorze klimatycznej. Postęp degradacji celulozy był oceniany na podstawie spadku stopnia polimeryzacji łańcuchów polimeru, jak również poprzez pomiar różnych właściwości mechanicznych próbek papieru i pomiar ich barwy, a więc przy użyciu metod pomiarowych stosowanych w badaniach towaroznawczych. Bardzo dobre wyniki w nauce, praca w dwóch jednostkach naukowych oraz czynny udział w badaniach prowadzonych w ramach Programu Rządowego były podstawą do przyznania mi na lata 2002/2003 i 2003/2004 stypendium ówczesnego Ministra Edukacji Narodowej i Sportu. Wyniki moich badań były prezentowane na konferencji w Lublanie w 2004 roku (Załącznik 2, punkt II.I)I.1)3.). Zostały one podsumowane w pracy magisterskiej, pt. *Badania morfologii włókien celulozowych zawartych w próbkach papieru naturalnie starzonego i w próbkach poddanych testom przyspieszonego starzenia*. W czerwcu 2004 roku zdałem egzamin magisterski z oceną bardzo dobrą, uzyskując tytuł zawodowy magistra chemii. Moja praca została zgłoszona do konkursu na najlepszą pracę magisterską na Uniwersytecie Jagiellońskim w 2004 roku, który został ogłoszony przez firmę Procter&Gamble, sponsora nagrody głównej. Po dojściu do finału zaprezentowałem przed komisją konkursową wyniki swoich badań, zwracając szczególną uwagę na ich praktyczne zastosowanie w przemyśle papierniczym. Dzięki temu wygrałem konkurs i otrzymałem nagrodę główną (Załącznik 2, punkt II.H)2.).

W lipcu 2004 roku złożyłem podanie o przyjęcie mnie na studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W związku z bardzo dobrymi wynikami w nauce, jakie uzyskałem na studiach magisterskich (średnia ze studiów 4,96) zostałem

zwolniony z egzaminu wstępnego i przyjęto mnie awansem na studia. Na tym etapie mojej kariery naukowej skupiłem się na badaniu lotnych produktów degradacji papieru, tak aby spośród wielu lotnych związków organicznych, emitowanych z degradującego papieru, wyodrębnić związek, który będzie wskaźnikiem stopnia jego zdegradowania. Badania te wykonywałem na zestawie desorber termiczny – chromatograf gazowy – spektrometr mas.

W trakcie studiów doktoranckich odbywałem liczne staże naukowe, aby doskonalić swoje umiejętności z zakresu zastosowania różnych technik pomiarowych w badaniach technologicznych. We wrześniu 2005 roku wyjechałem na miesięczny staż naukowy na Wydziale Chemii i Technologii Chemicznej Uniwersytetu w Lublanie, Słowenia (Załącznik 2, punkt III.L)a.2.). Odbycie tego stażu pomogło mi uszczegółwić zakres badań niezbędnych do pracy doktorskiej oraz poszerzyć wachlarz metod pomiarowych, które mogłem wykorzystać w badaniach papieru. W trakcie stażu zostałem przeszkolony z zakresu zastosowania chromatografii żelowej, chemiluminometrii oraz chromatografii gazowej w badaniach degradacji papieru. W październiku 2005 roku byłem również uczestnikiem seminarium naukowego „Mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME) w badaniach żywności i analizie środowiskowej” zorganizowanego przez Akademię Rolniczą w Poznaniu (Załącznik 2, punkt III.L)b.1.). Szkolenie poprowadził Prof. J. Pawliszyn, który jest twórcą techniki SPME. Podczas seminarium nauczyłem się jak zastosować metodę SPME do badań składu, zanieczyszczeń oraz autentyczności żywności. Metodę tę zaimplementowałem następnie do badań lotnych produktów degradacji papieru. Kolejny staż naukowy odbyłem w marcu 2006 roku w Instytucie Ekspertyz Sądowych w Krakowie (Załącznik 2, punkt III.L)a.3.). W czasie miesięcznego szkolenia zdobyłem duże doświadczenie w zakresie pomiarów wykonywanych na chromatografie gazowym i cieczowym, m.in. dotyczyły one wykrywania trucizn w żywności. W lipcu tego samego roku uczestniczyłem w tygodniowej szkole letniej Chemisty Cultural Heritage Summer School, zorganizowanej na Uniwersytecie Arystotelesa, Saloniki, Grecja (Załącznik 2, punkt III.L)b.2.). Poprzez udział w wielogodzinnych zajęciach znacznie poszerzyłem swoją wiedzę w zakresie zastosowania innych, niż chromatografia, metod pomiarowych w badaniach obiektów dziedzictwa kulturowego. W trakcie dwutygodniowego stażu zawodowego w International Paper Sp. z o.o. Kwidzyn (Załącznik 2, punkt III.L)a.4.), który odbyłem w październiku 2007 roku, zapoznałem się w praktyce z nowoczesną technologią produkcji papieru oraz zostałem przeszkolony w zakresie pomiarów różnych właściwości wytrzymałościowych papieru. Wiedza ta okazała się bardzo przydatna w czasie

badan prowadzonych do pracy doktorskiej. W listopadzie tego samego roku wyjechałem na szkolenie do Centrum Badań i Konserwacji Kolekcji przy Muzeum Historii Naturalnej w Paryżu, gdzie zdobyłem wiedzę z zakresu zastosowania metody SPME i elektroforezy kapilarnej w badaniach produktów degradacji papieru (Załącznik 2, punkt III.L)a.5.). Było to bardzo cenne doświadczenie w aspekcie badań, jakie musiałem wykonać w ramach pracy doktorskiej. Ostatni, przed obroną pracy doktorskiej, staż naukowy odbyłem w kwietniu 2009 roku w firmie Analis, Namur, Belgia (Załącznik 2, punkt III.L)b.3.). Zostałem przeszkolony w zakresie zastosowania elektroforezy kapilarnej w badaniach zanieczyszczeń w żywności i w próbkach moczu. Dzięki temu nabyłem biegłości w stosowaniu kolejnej metody badawczej. Wszystkie szkolenia, staże i seminaria, jakie odbyłem oraz udział w licznych zagranicznych i krajowych konferencjach naukowych pozwoliły mi poszerzyć mój warsztat badawczy, jak i wiedzę teoretyczną z zakresu tematu mojej pracy doktorskiej (Załącznik 2, punkt II.I)I.1)4-10. oraz I.2)1-4.).

W trakcie studiów doktoranckich byłem wykonawcą wielu projektów naukowych. Kontynuowałem moją pracę w Programie Rządowym (Załącznik 2, punkt II.G)1.). Ponadto brałem udział w badaniach prowadzonych w ramach projektu Unii Europejskiej: „*Evaluation of mass deacidification processes – PaperTreat*” (Załącznik 2, punkt II.G)2.), w którym zajmowałem się pomiarami emisji rozpuszczalników z książek odkwaszonych różnymi, dostępnymi na świecie metodami. W kolejnym projekcie Unii Europejskiej: „*Near Infrared Spectroscopy Tool for Collection Surveying – SurveNIR*” (Załącznik 2, punkt II.G)3.) wykonywałem pomiary właściwości wytrzymałościowych próbek papieru pobranych z książek w całej Europie. Dodatkowo byłem wykonawcą w projektach: Projekt UE „*An innovative technology, based on UV radiation, to strongly reduce the microbial activity of the air inside the store rooms of the cultural heritage conservation institutes – ABIOS*” (Załącznik 2, punkt II.G)4.), Akcja UE COST D42, „*EnviArt – Chemical Interactions between Cultural Artefacts and Indoor Environment*” ” (Załącznik 2, punkt II.G)5.). W trakcie studiów doktoranckich opublikowałem dwie publikacje w czasopismach indeksowanych w bazie JCR, trzy w czasopismach nieindeksowanych w bazie, jeden rozdział w monografii, w których byłem współautorem lub autorem wiodącym (Załącznik 2, punkt II.A)1-2. oraz II.B)1-4.).

W październiku 2009 roku złożyłem i obroniłem pracę doktorską pt. „*Metodyka przyspieszonego postarzenia papieru w układach zamkniętych. Lotne produkty degradacji*”, w której szeroko opisałem wpływ metod przyspieszonego postarzenia próbek papieru, w

układach zamkniętych i w układzie otwartym (w komorze klimatycznej), na tempo ich degradacji. W swojej pracy udowodniłem, że starzenie próbek „kwaśnego” papieru w układach zamkniętych powoduje znaczące przyspieszenie jego degradacji, ponieważ pozostaje on w kontakcie z lotnymi produktami degradacji. Wśród tych produktów występują kwasy organiczne, np. kwas octowy, przyspieszające wyraźnie reakcję kwaśnej hydrolizy celulozy (tzw. reakcja autokatalityczna). Dzięki temu udało mi się odtworzyć przebieg procesów degradacji, jakie występują w zamkniętej książce, wydanej na kwaśnym papierze. Dodatkowo, w wyniku przeprowadzonych na szeroką skalę badań lotnych produktów degradacji papieru zdołałem dowieść, że związek lotny o nazwie furfural jest bardzo dobrym wskaźnikiem postępu degradacji papieru, ponieważ istnieje (potwierdzona statystycznie) korelacja pomiędzy poziomem emisji furfuralu ze zdegradowanego papieru, a wyznaczonym dla niego: oporem przedarcia, samozerwalnością, liczbą podwójnych zgięć przed zerwaniem, pH i barwą. Oznacza to, że im wyższa jest emisja furfuralu z papieru tym mniejsze są wartości mierzonych dla niego właściwości wytrzymałościowych, niższe jest jego pH i papier jest bardziej żółty. Wyniki tych badań opublikowałem w 2010 roku w czasopiśmie z listy JCR (Załącznik 2, punkt II.A)3.).

W styczniu 2010 roku rozpocząłem pracę naukowo badawczą w dziale konserwacji Państwowego Muzeum Auschwitz Birkenau w Oświęcimiu. Moje zatrudnienie związane było z realizacją dużego projektu „*Konserwacja dokumentów SS-Hygiene Institut*” finansowanego przez Kraj Związkowy Nadrenia-Północna Westfalia. Projekt obejmował badanie, konserwację i digitalizację 35 tys. dokumentów medycznych sporządzonych na kwaśnym papierze, wśród nich znajdują się m.in. wyniki badań krwi osób zamkniętych w obozie. Dokumenty te są wielokrotnie jedynym śladem, jaki pozostał po zmarłych bezimiennie więźniach. Dodatkowo moje zatrudnienie w muzeum związane było z przygotowaniem programu badań dla napisu ARBEIT MACHT FREI, który muzeum odzyskało, po kradzieży w grudniu 2009 roku. Napis został podzielony na pięć części, dlatego przed scaleniem należało przeprowadzić jego kompleksowe badania technologiczne (badania stali, spawów, farb, itp.).

W październiku 2010 roku rozpocząłem pracę naukowo - badawczą w Katedrze Mikrobiologii Wydziału Towaroznawstwa, Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie. Na początku zapoznałem się z metodyką badań mikrobiologicznych oraz z procesem dydaktycznym realizowanym w Katedrze, w zakresie przedmiotów prowadzonych dla dwóch

kierunków studiów: Towaroznawstwo oraz Zarządzanie i Inżynieria Produkcji. Mikrobiologia nie była dla mnie nowym przedmiotem wykładowym, ponieważ w trakcie studiów licencjackich na Uniwersytecie Jagiellońskim wybrałem kurs mikrobiologia, jako przedmiot do wyboru i zrealizowałem go w wymiarze 90 godzin. Od początku mojej pracy czynnie włączałem się w badania statutowe, które były realizowane w katedrze, pogłębiając swoją wiedzę teoretyczną oraz warsztat badawczy. W 2011 roku byłem wykonawcą badań statutowych: „*Wpływ zabrudzeń na przeżywalność drobnoustrojów w tkaninach*”, które dotyczyły oceny przeżywalności bakterii na tkaninach zabrudzonych krwią. Badania te miały dostarczyć informacji o możliwości rozwoju mikroorganizmów na odzieży ochronnej pracowników zatrudnionych w zakładach mięsnych i wędliniarskich (Załącznik 2, punkt II.G)6.). Badania nad tą tematyką kontynuowałem będąc czynnym wykonawcą badań statutowych w kolejnych latach: „*Badania ilościowe drobnoustrojów pozostających po praniu w zabrudzonych tkaninach*” (Załącznik 2, punkt II.G)10.) w roku 2012 oraz „*Możliwości przenoszenia zakażeń bakteryjnych między tkaninami w procesie prania*” w roku 2013 (Załącznik 2, punkt II.G)13.). Podstawowym celem tych pomiarów była ocena efektów higienicznych procesu prania odzieży ochronnej.

W zawiązku z moimi szczególnymi osiągnięciami naukowymi w 2011 roku otrzymałem od MNiSW stypendium dla Młodych Wybitnych Naukowców (Załącznik 2, punkt II.H)3.).

W 2012 roku zdobyłem środki finansowe na projekt indywidualny w ramach programu Badania Młodych Naukowców (Załącznik 2, punkt II.G)12.). Celem projektu pt. „*Ocena warunków mikrobiologicznych wytypowanych pomieszczeń magazynowych Muzeum Narodowego w Krakowie*” było porównanie skuteczności dwóch technik poboru próbek powietrza stosowanych w badaniach jego jakości mikrobiologicznej oraz ocena jakości mikrobiologicznej powietrza w wytypowanych pomieszczeniach muzealnych, przed i po podjęciu działań, mających na celu poprawę warunków mikrobiologicznych w tych pomieszczeniach. Ta tematyka badawcza była przeze mnie kontynuowana w ramach kolejnego, opisanego poniżej projektu, którego byłem kierownikiem. Końcowe wyniki badań zostały zebrane i całościowo opublikowane w anglojęzycznej monografii pt. „*An Analysis of the Microbial Quality of Air in Selected Facilities of the National Museum in Cracow*” (Załącznik 2, punkt II.B)8.).

W 2012 roku złożyłem wniosek do Narodowego Centrum Nauki na przyznanie mi finansowania projektu: *Badania biodeterioracji obiektów zabytkowych na podstawie analizy lotnych związków organicznych emitowanych przez grzyby pleśniowe*, w ramach programu OPUS (Załącznik 2, punkt II.G)11.). W grudniu 2012 roku otrzymałem decyzję o zaakceptowaniu mojego projektu do finansowania, zostałem wówczas oficjalnie kierownikiem tego projektu. Finansowanie zostało mi przyznane na lata 2013-2016, w wysokości 500 000 PLN. W 2013 roku, na potrzeby realizacji projektu, zorganizowałem od podstaw pracownię badań chemicznych, będącą obecnie integralną częścią infrastruktury Katedry Mikrobiologii UEK. Cel, zakres i wyniki badań prowadzonych w ramach projektu szczegółowo opisałem w części 4.c. autoreferatu, ponieważ zgłoszony, jako szczególne osiągnięcie naukowe, cykl publikacji jest efektem zrealizowania projektu. Należy w tym miejscu podkreślić, że wyniki projektu zostały także zaprezentowane na licznych konferencjach międzynarodowych i krajowych (Załącznik 2, punkt I)I.1)13.,14.,16.,17.,20.,21.oraz I)I.2)5.,6.,9.). Opracowaną przeze mnie w ramach projektu metodę wczesnego wykrywania aktywnych grzybów pleśniowych, powodujących niszczenie różnych produktów, wykorzystałem do identyfikacji zagrożenia mikrobiologicznego cennych obiektów dziedzictwa kulturowego. Chciałbym w tym miejscu wymienić najbardziej wyjątkowe obiekty, na przykład: zabytkowe inkunabuły z Biblioteki Jagiellońskiej, wełniany kobierzec z namiotu Kara Mustafy przywieziony spod Wiednia (przechowywany w Muzeum Narodowym w Krakowie), teczki TW. Bolka, po ich przeniesieniu do siedziby IPN w Warszawie oraz obraz Dama z gronostajem Leonarda da Vinci (Załącznik 2, punkt III.I)8.). Dodatkowo realizacja mojego projektu zbiegła się w czasie z badaniami, które prowadziłem do innego projektu: „*Wykonanie interdyscyplinarnej bazy danych dokumentującej jedwabne tkaniny z zasobów kościelnych Krakowa z czasów od XV do końca XVII wieku w oparciu o inwentaryzację i digitalizację danych*”, realizowanego na Uniwersytecie Jana Pawła II w Krakowie (Załącznik 2, punkt II.G)17), w którym byłem wykonawcą. Dzięki udziałowi w tym projekcie miałem możliwość przebadania moją metodą 243 szczególnie cennych jedwabnych ubrań liturgicznych (orantów, dalmatyk, kap itp.) w 23 krakowskich kościołach i klasztorach. Opracowana przeze mnie metoda wykrywania aktywnych grzybów pleśniowych, na produktach wykonanych z polimerów naturalnych, poszerzyła wachlarz metod wczesnej detekcji zagrożenia mikrobiologicznego, które oferowane są w zestawie badań, jakie mogą być wykonane w Katedrze Mikrobiologii. Innowacyjny charakter opracowanej przeze mnie metody pomiarowej został dostrzeżony w świecie naukowym i w 2017 roku dostałem

oficjalne zaproszenie do opublikowania wyników moich badań w czasopiśmie z listy JCR, *Angewandte Chemie International Edition* (list A MNiSW, liczba punktów 45, IF: 11,709).

Moja działalność naukowa obejmowała również inne projekty badawcze. W latach 2012 - 2015 byłem wykonawcą bardzo ważnego, z punktu widzenia dzisiejszych potrzeb społecznych, projektu: „*Nanoporowaty anodowy tlenek tytanu(IV) jako materiał na implanty kości*” zrealizowanego na Wydziale Chemii UJ w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego (Załącznik 2, punkt II.G)8.). Katedra Mikrobiologii była partnerem w projekcie. Wykorzystałem tutaj klasyczne metody mikrobiologiczne, stosowane w ocenie jakości mikrobiologicznej produktów, do przeprowadzenia badań nad możliwością zasiedlania płytek tytanowych, z różną formą tlenku tytanu (amorficzna, rutyl, anataz), przez gatunki bakterii chorobotwórczych. Na podstawie wyników udało mi się ustalić, która z badanych form tlenku tytanu jest najmniej zasiedlana przez bakterie chorobotwórcze i jednocześnie przeciwdziała tworzeniu się na jej powierzchni biofilmu bakteryjnego. Wyniki te są bezcenną informacją, którą będzie wykorzystana przy projektowaniu implantów tak, aby zastosowana na nich powłoka z tlenku tytanu gwarantowała niskie prawdopodobieństwo wystąpienia zakażeń około- i po-operacyjnych.

W kolejnym, bardzo znaczącym, z towaroznawczego punktu widzenia, projekcie, zrealizowanym w 2014 roku, prowadziłem badania nad nowoczesną metodą dezynfekcji – plazma niskotemperturowa (Załącznik 2, punkt II.G)16.). Metoda ta ma wiele zalet, a najważniejszą z nich jest niewielki wpływ stosowanej plazmy na trwałość dezynfekowanego materiału. W ramach projektu przeprowadziłem dezynfekcję różnych produktów: pergamin, tkaniny (wełna, bawełna, jedwab) oraz papier. Dużym sukcesem było ustalenie zakresu działania nowej metody dezynfekcji na mikroorganizmy powodujące niszczenie zbadanych produktów. Okazało się, że skuteczność dezynfekcji bardzo silnie zależy od rodzaju dezynfekowanego materiału. Najlepszy efekt dezynfekcji uzyskano dla tkanin.

Szczególnym osiągnięciem naukowym, a jednocześnie dużym wyróżnieniem było zaproszenie mojej osoby w maju 2017 roku do zespołu ekspertów zajmujących się kompleksowym badaniem słynnego obrazu Leonarda da Vinci „Dama z gronostajem” (Załącznik 2, punkt II.G)23.). Obraz został wyjątkowo udostępniony do badań, tylko na jeden dzień. W ramach powierzonego mi zadania zbadalem lotne związki organiczne emitowane z odwrocia obrazu, aby na podstawie stężeń wskaźników degradacji celulozy (furfural), ustalić

stopień zdegradowania deski orzechowej, na której namalowany jest obraz. Pobrałem również wymazy z powierzchni odwrocia obrazu w celu przeprowadzenia pełnej analizy mikrobiologicznej i określenia wytycznych, co do warunków dalszego przechowywania i ekspozycji obrazu. Jest to pierwszy obraz Leonarda da Vinci, dla którego przeprowadzono badania mikrobiologiczne.

Równie ważnym doświadczeniem naukowym była dla mnie współpraca z przedsiębiorstwami, w ramach różnych projektów. W 2014 roku zostałem kierownikiem projektu *„Badania w zakresie zabezpieczania maszyn przed korozją mikrobiologiczną – lokalizacja potencjalnych ognisk korozji, sposoby ograniczenia rozwoju korozji”* realizowanego we współpracy z firmą Inpost (Załącznik 2, punkt II.C)10.). W tym przypadku metody mikrobiologiczne, stosowane rutynowo w badaniach produktów, wykorzystałem do zbadania podatności na biodeteriorację poszczególnych części urządzenia o nazwie paczkomat. Była to ważna informacja dla właścicieli firmy, ponieważ podpisali oni kontrakt na dostawę paczkomatów do jednego z krajów leżących w tropikalnej strefie klimatycznej. Poprzez przygotowanie odpowiedniego programu pomiarów udało mi się przeprowadzić badania mikrobiologiczne w komorze klimatycznej, w warunkach symulujących taki klimat. Na podstawie wyników badań ustaliłem, które elementy paczkomatu są najwcześniej atakowane przez mikroorganizmy, a więc są najmniej odporne na rozkład mikrobiologiczny. Dobrałem również środki chemiczne, o przedłużonym działaniu, które zabezpieczają elementy urządzenia przed rozkładem mikrobiologicznym.

W kolejnym, bardzo interesującym projekcie *„Opracowanie receptury nowego produktu firmy COBICO wraz z optymalnym opakowaniem”*, który realizowany jest w latach 2016-2017 przez Katedrę Opakowalnictwa Towarów UEK, a finansowany ze środków: Bony na innowację, Oś priorytetowa „Gospodarka wiedzy”, Działanie 1.2. Badania i innowacje w przedsiębiorstwach, jestem głównym wykonawcą (Załącznik 2, punkt II.G)22.). Zadanie badawcze, które realizuje w ramach tego projektu dotyczy zbadania, za pomocą metody chromatografia gazowa – spektrometria mas, zmiany składu nowego produktu w czasie przechowywania go w różnych warunkach mikroklimatycznych, w różnych opakowaniach, przez różny okres. Wyniki dostarczą informacji na temat trwałości składu produktu oraz wskażą, który rodzaj opakowania najlepiej zabezpiecza produkt, zapewniając zachowanie stałości jego składu.

W ramach realizowanych przeze mnie badań naukowych prowadzę szeroką współpracę z instytucjami administracji państwowej i kultury, m.in.: Instytut Pamięci Narodowej w Warszawie, Archiwum Narodowe w Krakowie, Archiwum Akt Dawnych w Warszawie, Biblioteka Jagiellońska w Krakowie, Muzeum Narodowe w Krakowie, Katedra Królewska na Wawelu. Ostatnia z wymienionych instytucji rozpocznie w bieżącym roku realizację projektu: *Konserwacja unikatowych w skali światowej zabytków związanych z historią Krakowskiej Kapituły Metropolitalnej oraz udostępnienie ich w przestrzeni wystawienniczej w postaci interaktywnej, multimedialnej ekspozycji dostosowanej do potrzeb różnorodnych grup docelowych*, (2017-2018) finansowanego w ramach działania 6.1 Rozwój dziedzictwa kulturowego i naturalnego, poddziałanie 6.1.1 Ochrona i opieka nad zabytkami, Regionalny Program Operacyjny Województwa Małopolskiego na latach 2014-2020 (Załącznik 2, punkt II.G)24.). Mam zaszczyt być jednym z głównych wykonawców w tym projekcie. Współpracuje także z różnymi krajowymi ośrodkami badawczymi: Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Wydział Odlewnictwa oraz Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo –Hutniczej w Krakowie, Centrum Nauk Biologiczno – Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego, Akademia Sztuk Pięknych w Krakowie, Akademia Sztuk Pięknych w Warszawie, Wydział Sztuk Pięknych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Wśród zagranicznych ośrodków naukowych, z którymi współpracuje chciałbym wymienić: Department of Chemistry, Materials and Chemical Engineering, Politecnico di Milano; Faculty of Food Science, Department of Applied Chemistry, Szent István Egyetem, Budapest; Ministry of National Infrastructures, Geological Survey, State of Israel; oraz Institute for Sustainable Heritage, University College London, w którym sprawuję opiekę merytoryczną nad dwoma doktoratami.

W 2010 i 2014 roku odbyłem tygodniowy staż naukowy w laboratorium badawczym Kunsthistorisches Museum, Wiedeń, Austria (Załącznik 2, punkt III.L)a.6.,7.). W czasie pobytu w laboratorium nauczyłem się jak oznaczać źródło pochodzenia białka (jajko, mleko, skóra zwierzęca) w spoiwach malarskich na zestawie chromatograf gazowy – spektrometr mas. Zamierzam wdrożyć tę zaawansowaną metodę badawczą do badań towaroznawczych prowadzonych w Katedrze Mikrobiologii UEK.

Mój dorobek naukowo-badawczy obejmuje również autorstwo lub współautorstwo 22 ekspertyz wykonanych na zamówienie innych ośrodków naukowych, jak i przedstawicieli przemysłu, bądź instytucji państwowych. Ekspertyzy dotyczyły analizy skażenia

mikrobiologicznego obiektów dziedzictwa kulturowego i artystycznego, np. „*Badania stopnia biodeterioracji XVI w. ornatu z kolekcji Kościoła Piotra i Pawła w Krakowie*”, „*Badania zanieczyszczeń mikrobiologicznych powierzchni obrazów przechowywanych w magazynie Muzeum Narodowego w Krakowie w budynku arsenału Muzeum Książy Czartoryskich*”. Wykonane ekspertyzy dotyczyły również badań środowiska pomieszczeń wewnętrznych w aspekcie skażenia mikroorganizmami: „*Ocena jakości mikrobiologicznej powietrza w piwnicach kościoła p.w. Św. Katarzyny Aleksandryjskiej w Krakowie*”, „*Analiza mikrobiologiczna powietrza w pomieszczeniach archiwum oraz zakrystii Klasztoru O.O. Karmelitów na Piasku w Krakowie*”, „*Badanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych próbek dwóch fresków pobranych w kościele pw. Śś. Piotra i Pawła, ul. Teatralna, Lwów, dawny kościół Jezuitów*”. Miały one szczególne znaczenie z uwagi na bezpieczeństwo zdrowia osób przebywających w tych pomieszczeniach. Poza dwoma wymienionymi powyżej projektami, prowadzonymi wspólnie z firmami, wykonałem również dla różnych przedsiębiorstw ekspertyzy dotyczące oceny właściwości antybakteryjnych różnych produktów: „*Badania mikrobiologiczne materiałów filtracyjnych przeznaczonych na filtry do klimatyzacji dla przemysłu samochodowego cz. II i cz. III*”, „*Badania właściwości bakteriobójczych tworzywa modyfikowanego antybakteryjnie*”, „*Badania higieniczności i właściwości przeciwdrobnoustrojowych wkładek do obuwia*” (Załącznik 2, punkt III.M).

W ramach ekspertyz wykonałem również: „*Badania lotnych związków organicznych emitowanych z zabytkowych zielników celem identyfikacji pestycydów stosowanych do zabezpieczania roślin*”, które były jednym z zadań badawczych w projekcie NCN: „*Ochrona zabytków a etnobotanika. Badania wpływu zabiegów konserwatorskich na materiał genetyczny roślin w zabytkowych zielnikach*”, realizowanym przez mgr Magdalenę Grendę-Kurmanow na Akademii Sztuk Pięknych w Warszawie; Wydział Konserwacji i Restauracji Dzieł Sztuki (Załącznik 2, punkt II.G)19.). Badania te były istotne ze względu na bezpieczeństwo zdrowia osób, które mają kontakt z zielnikami, tj. konserwatorzy czy też zwiedzających, w czasie gdy zielniki są prezentowane na wystawie. Ze względu na ilość wykonanych ekspertyz, powyżej przedstawiono tylko wybrane. Pozostałe zostały wymienione w załączniku 2 (Załącznik 2, punkt III.M).

Odrębne zagadnienie, którym zająłem się w mojej pracy naukowej dotyczy opracowania „*Strategii oceny ryzyka biodeterioracji obiektów zabytkowych i sztuki dla Muzeum Narodowego w Krakowie*” (Załącznik 2, punkt II.B)14 i II.C)17.). Opracowana, we

współwykonawstwie, ocena ryzyka niszczenia obiektów przez drobnoustroje uwzględniała czynniki środowiskowe, które mają wpływ na możliwość wystąpienia zagrożenia mikrobiologicznego: zmiany parametrów mikroklimatu, liczbę otworów drzwiowych i okiennych, systemy ogrzewania, wentylacji i klimatyzacji, charakter wykończenia ścian, podłóg i sufitów, rodzaj oświetlenia. Ryzyko zostało ocenione odrębnie dla różnych typów materiałów: papier i drewno, skóry i pergaminy, tkaniny, współczesne materiały wykonane z polimerów syntetycznych. Dodatkowo opracowałem procedury postępowania na wypadek wystąpienia zagrożenia mikrobiologicznego oraz procedury dotyczące działań naprawczych. Napisany przeze mnie dokument jest podstawą zarządzania ryzykiem mikrobiologicznym w muzeum.

Moja działalność naukowa objęła również wygłoszenie, w 2016 roku, wykładów na zaproszenie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego oraz na Wydziale Sztuk Pięknych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

W ramach mojej pracy naukowej wykonałem recenzję artykułów naukowych publikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz z listy ministerialnej (część B) (Załącznik 2, punkt III.P)).

W 2016 roku za osiągnięcia naukowe otrzymałem nagrodę Rektora Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie.

Na podstawie przedstawionych osiągnięć naukowych mogę stwierdzić, że moja działalność naukowa wpisuje się w obszary składające się na sformułowany termin „simpleks towaroznawczy”. Wykonywane przeze mnie badania wymagają zastosowania metod przynależących do obszaru nauk przyrodniczych, przy czym pomiary realizuję przy zastosowaniu zaawansowanych rozwiązań technicznych w postaci skomplikowanej aparatury naukowej, co stanowi część wpisującą się w obszar wiedzy z zakresu nauk technicznych. Niewątpliwie obszar nauk ekonomicznych jest zawarty w aspekcie społecznym prowadzonych przeze mnie badań poświęconych unikatowym towarom, jakimi są częstokroć bezcenne obiekty dziedzictwa kulturowego, które noszą wartość społeczno – kulturową, oraz pełnią funkcje poznawczą, jakże ważną dla przyszłych pokoleń. Nierzadko mają one bardzo dużą wartość rynkową (materialną), która musi być ustalona, np. do celów ubezpieczeniowych, co często jest wykonywane na podstawie szeroko pojętych badań

technologicznych obiektu. W tym kontekście zawiera się zarówno ekonomiczny jak i techniczny wymiar badań nad obiektami dziedzictwa kulturowego. Dodatkowo osadzenie ściśle ekonomiczne mają wdrażane coraz częściej w muzeach systemy zarządzania zbiorami, czy strategia zarządzania ryzykiem zniszczenia zbiorów, którą osobiście opracowałem dla MNK. Aspekt nauk ekonomicznych jest wpisany również w badania prowadzone przeze mnie dla towarów współczesnych, dotyczące m.in. oceny ich właściwości antymikrobowych, czy też zabezpieczania towarów przed niszczącą działalnością mikroorganizmów, w celu obniżenia strat materialnych.

Podsumowując, w prezentowanym dorobku naukowym można wyróżnić trzy obszary badawcze. Pierwszy związany jest ze zoptymalizowaniem i wykorzystaniem w praktyce, opracowanej przeze mnie metody wykrywania aktywności grzybów pleśniowych, do identyfikacji zagrożenia mikrobiologicznego obiektów dziedzictwa kulturowego. Tematyka ta była przedmiotem realizowanego przeze mnie projektu badawczego, jak również została szeroko opisana w kilku pozycjach literaturowych, które są zgłoszone jako szczególne osiągnięcie naukowe. Drugi obszar badawczy to przede wszystkim badania towarów i produktów współczesnych w kontekście doboru metod ich zabezpieczenia przed niszczącą działalnością mikroorganizmów, ale również ocena właściwości antymikrobowych różnych materiałów. Dodatkowo w tym obszarze mieszczą się badania jakości mikrobiologicznej powietrza zarówno w miejscach magazynowania towarów, jak i w miejscach użyteczności publicznej, przeprowadzone w celu oceny bezpieczeństwa zdrowotnego przebywających w nich osób. Działania w tym obszarze zostały opisane w licznych ekspertyzach. Trzeci obszar badawczy, który jest dla mnie nowym wyzwaniem, to rozwijanie systemów zarządzania ryzykiem w muzeach.

b. Osiągnięcia w zakresie działalności organizacyjnej

W latach 2000 – 2009 byłem zaangażowany w działalność Pracowni Badań nad Trwałością i Degradacją Papieru na Wydziale Chemii UJ. Od 2002 roku, w związku z rozpoczęciem finansowania Programu Rządowego „Kwaśny Papier”, brałem czynny udział w adaptacji pomieszczeń, organizacji i wyposażaniu nowych laboratoriów, zbudowanych na potrzeby Pracowni. Byłem odpowiedzialny również za wsparcie przy zorganizowaniu

przetargów na zakup aparatury badawczej oraz jej uruchomienie po dostarczeniu do Pracowni. Do moich zadań należała również organizacja procesu dydaktycznego, w ramach kursów prowadzonych przez pracowników naukowo- dydaktycznych, zatrudnionych w Pracowni Badań nad Trwałością i Degradacją Papieru. Od 2003 roku uczestniczyłem w pracach związanych z organizacją i wyposażaniem nowopowstałego, przy Bibliotece Jagiellońskiej, budynku Klinika Papieru, w którym zbudowano instalację do masowego odkwaszania papieru, opartą na technologii BOOKKEEPER. W 2005 roku na Wydziale Chemii UJ zorganizowałem międzynarodową konferencję dla studentów i doktorantów: Degradation of Paper – New Research Methods, w której uczestniczyły osoby z wielu ośrodków naukowych zajmujących się problematyką degradacji papieru (m.in. Słowenia, Francja, Słowacja) (Załącznik 2, punkt III.C)1.). W 2006 roku, z okazji oficjalnego otwarcia Kliniki Papieru odbyła się konferencja STOP POPYROLIZIE, której byłem współorganizatorem (Załącznik 2, punkt III.C)2.). W 2008 i 2009 roku brałem aktywny udział w organizacji Nocy Naukowców, gdzie byłem odpowiedzialny za przygotowanie Pracowni do zwiedzania oraz oprowadzanie grup i prowadzenie krótkich wykładów opisujących działalność Pracowni. W 2008 roku uczestniczyłem w przygotowaniu dwusemestralnych studiów podyplomowych „*Nowoczesne techniki analityczne dla konserwacji obiektów zabytkowych*”, na których prowadziłem wykłady i ćwiczenia, z zakresu zastosowania chromatografii gazowej w badaniu obiektów dziedzictwa kulturowego.

Po podjęciu pracy w PM Auschwitz – Birkenau w Oświęcimiu w 2010 roku byłem odpowiedzialny za przygotowanie i przeprowadzenie programu badawczego dla napisu nad bramy byłego obozu ARBEIT MACHT FREI, Napis zwrócony do muzeum po kradzieży w grudniu 2009 roku.

Od października 2010 roku jestem zaangażowany w działalność organizacyjną Katedry Mikrobiologii oraz Wydziału Towaroznawstwa Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie. Po otrzymaniu finansowania projektu NCN, w 2013 roku zorganizowałem w Katedrze Mikrobiologii, od podstaw, pracownię badań chemicznych, której jestem koordynatorem do dnia dzisiejszego. W 2012 roku byłem odpowiedzialny za przygotowanie dokumentacji do przeprowadzenia akredytacji kierunku Towaroznawstwo. Od 2011 roku jestem „Webmasterem” strony internetowej Wydziału Towaroznawstwa. W 2012 roku zostałem koordynatorem odpowiedzialnym za wprowadzenie systemu Krajowych Ram Kwalifikacji na Wydziale Towaroznawstwa. Od tego czasu jestem również odpowiedzialny

za wprowadzanie do elektronicznego systemu KRR planów studiów dla wszystkich kierunków studiów, zarówno stacjonarnych jak i niestacjonarnych, realizowanych na wszystkich stopniach na Wydziale Towaroznawstwa. W 2011 i 2012 roku byłem koordynatorem odpowiedzialnym za zorganizowanie stoiska Wydziału Towaroznawstwa na dniach otwartych Uczelni. W 2012 roku otrzymałem Nagrodę Rektora Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie za indywidualne osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej.

W 2013 roku zostałem ekspertem ds. oceny wniosków składanych przez doktorantów w ramach programu: "Doctus - Małopolski Fundusz Stypendialny dla doktorantów" realizowanego ze środków Programu Operacyjnego - Kapitał Ludzki 2007 – 2013. Pracowałem w trzech zespołach strategicznych Komisji Stypendialnej: zespół ds. Środowiska, zespół ds. Przemysłu, zespół ds. Zdrowia i Żywności (Załącznik 2, punkt III.N)1.).

W 2015 roku zostałem powołany do Rady Naukowej European Research Infrastructures for Heritage Science, Polska (Europejska Infrastruktura Badawcza na rzecz Dziedzictwa Kulturowego). Jest to nowoutworzona sieć ośrodków badawczych z całej Unii Europejskiej, które zajmują się badaniami nad obiektami dziedzictwa kulturowego. Katedra Mikrobiologii Wydziału Towaroznawstwa UEK została członkiem tej sieci. W 2016 roku sieć ERIHS została wpisana na mapę drogową głównych projektów Unii Europejskiej i otrzymała dofinansowanie w wysokości 4 mln euro na tzw. „Preparatory Phase”, czyli fazę przygotowania programu funkcjonowania sieci tak, aby od 2020 roku otrzymać pełne finansowanie dla każdego członka sieci (Załącznik 2, punkt III.E)1.).

W 2017 roku zostałem powołany do komitetu naukowego konferencji the 3rd International Conference on Science and Engineering in Arts, Heritage, and Archaeology (SEAHA) at the University of Brighton, która odbędzie się w Brighton w Wielkiej Brytanii, między 19 a 20 czerwca 2017. W bieżącym roku zostałem członkiem grupy naukowców zajmujących się badaniem *Damy z gronostajem* Leonarda da Vinci.

W 2018 roku, jako przewodniczący komitetu organizacyjnego będę miał przyjemność zorganizować na Uczelni konferencję: *13th International Conference IAQ 2018: Indoor Air Quality - in heritage and historic environments, Cracow, Poland*. Podobnie jak w przypadku poprzednich edycji konferencji prelegentami będą profesorowie ze światowej sławy uniwersytetów: Oxford, Cambridge, University College London oraz Canadian Conservation Institute, Fraunhofer Institut Germany, Centre de recherche sur la conservation des collections.

Jestem czynnym członkiem Polskiego Towarzystwa Towaroznawczego, Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz amerykańskiej organizacji American Society for Microbiology.

c. Osiągnięcia dydaktyczne

W całym okresie mojej pracy naukowo- dydaktycznej byłem odpowiedzialny za prowadzenie zajęć dydaktycznych:

- na kierunkach Chemia, Ochrona Środowiska, na wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego:
 - Chemia organiczna, 2005-2009 – prowadzenie zajęć laboratoryjnych
- na kierunkach Towaroznawstwo, Zarządzanie i Inżynieria Produkcji na Wydziale Towaroznawstwa Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie:
 - Mikrobiologia, 2010-2017, prowadzenie ćwiczeń z zakresu przedmiotu
 - Mikrobiologia produktów, 2010-2017, prowadzenie ćwiczeń z zakresu przedmiotu
 - Zagrożenia mikrobiologiczne w przemyśle, 2010-2017, prowadzenie ćwiczeń, współtworzenie programu ćwiczeń, koordynacja przedmiotu
 - Biotechnologia, 2010-2017, prowadzenie ćwiczeń z zakresu przedmiotu
 - Aspekty mikrobiologiczne w produkcji żywności, 2013, prowadzenie ćwiczeń z zakresu przedmiotu
 - Chromatografia gazowa jako innowacyjne narzędzie w badaniach towaroznawczych, 2016 wykład autorski, prowadzenie wykładu z zakresu przedmiotu (Załącznik 2, punkt III.I)3.).

Od 2010 roku prowadzę ćwiczenia z zakresu: „Zastosowanie chromatografii gazowej w badaniu obiektów dziedzictwa kulturowego” dla studentów studiów podyplomowych „Nowoczesne techniki analityczne dla konserwacji obiektów zabytkowych” realizowanych na Wydziale Chemii UJ (Załącznik 2, punkt III.I)6.).

W 2016 roku wygłosiłem wykład na zaproszenie, pt. *Zastosowanie techniki SPME-GC-MS do detekcji aktywności pleśni powodujących biodeteriorację obiektów zabytkowych*, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego oraz na Wydziale Sztuk Pięknych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

W latach 2014/2015 byłem opiekunem naukowym i promotorem pięciu prac inżynierskich na kierunku Zarządzanie i Inżynieria Produkcji, realizowanych w Katedrze Mikrobiologii UEK (Załącznik 2, punkt III.J)2.). Wykonałem również recenzje jednej pracy inżynierskiej realizowanej na Wydziale Towaroznawstwa UEK. Obecnie jestem opiekunem badań wykonywanych w ramach prac inżynierskich realizowanych w Katedrze Mikrobiologii UEK.

W 2016 roku byłem współpromotorem dwóch prac magisterskich realizowanych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego: „*Analiza krótko i długoterminowych efektów dezynfekcji plazmowej materiałów z kolekcji muzealnych*” oraz „*Chromatograficzna analiza efektów dezynfekcji obiektów zabytkowych olejkami eterycznymi*” (Załącznik 2, punkt III.J)1.d.,e.). Od 2014 roku jestem opiekunem naukowym pracy doktorskiej o roboczym tytule: „*Analiza zmian barwy dzianin bawełnianych poddanych testom biodeterioracji w glebie, będących symulacją zmiany barwy dzianin stanowiących dowód w sprawach karnych*” realizowanej w Instytucie Ekspertyz Sądowych w Krakowie (Załącznik 2, punkt III.K)1.). Praca obejmuje przeprowadzenie glebowych testów biodeterioracji dzianin bawełnianych, w różnych kolorach, w celu analizy zmian barwy w czasie degradacji w glebie, jako symulacja zmiany barwy dzianin stanowiących dowód w sprawach karnych,

W 2016 roku zostałem opiekunem naukowym dwóch prac doktorskich realizowanych w Centre for Doctoral Training in Science and Engineering in Arts, Heritage and Archaeology, University College London and Oxford University. Tytuły prac: *Micro-environmental control for the mitigation of mould growth in indoor heritage* oraz *Smell of heritage: a framework for the identification, analysis and archival of historic odours* (Załącznik 2, punkt III.K)2.,3.).

Od początku mojej pracy dydaktycznej jestem corocznie wysoko oceniany przez studentów w ankietach dotyczących oceny prowadzonych przeze mnie zajęć. Średnia ocena nigdy nie była niższa niż 4,89 na 5.

6. Podsumowanie

Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Rodzaj publikacji/aktywności	liczba	IF	Liczba punktów MNiSW	
			całkowite	wg udziału
Artykuły w czasopismach indeksowanych w bazie JCR	2	1,492	48	25,2
Artykuły w czasopismach nie indeksowanych w bazie JCR	3	-	16	10,9
Rozdział w monografii	1	-	4	1
Doniesienia konferencyjne	14	-	-	-
Praca doktorska	1	-	-	-
Razem	21	1,492	68	37,1

Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Rodzaj publikacji/aktywności	liczba	IF	Liczba punktów MNiSW	
			całkowite	wg udziału
Artykuły w czasopismach indeksowanych w bazie JCR	5	13,029	177	154,9
Artykuły w czasopismach nie indeksowanych w bazie JCR	5	-	35	20,9
Monografie – j. angielski	1	-	25	22,5
Rozdziały w monografiach	5	-	21	14,6
Doniesienia konferencyjne	22	-	-	-
Artykuły popularno-naukowe	1	-	-	-
Recenzje	14	-	-	-
Ekspertyzy/Raport z badań	22			
Razem	73	13,029	258	212,9
Całkowity dorobek	94	14,521	326	250,0

Liczba cytowań wg Web of Science 35 (bez autocytowań 31)

Indeks H wg Web of Science 3

Liczba cytowań wg Research Gate 45 (bez autocytowań 40)

Indeks H wg Research Gate 3

Tomasz / Kowalski

Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki oraz punktowy wymiar dorobku naukowego został przygotowany na podstawie:

1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595,
2. Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2015 r., poz. 1842),
3. Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. 2011 nr 196 poz. 1165),
4. Wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikację w tych czasopismach, Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2006 - 2017.

