



Prof. dr hab. Antoni Szumny

Wrocław, 2021-01-27

Recenzja

osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku naukowego, dydaktycznego, organizacyjnego oraz współpracy Pani dr Katarzyny Serwańskiej-Leja z Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu w związku ze wszczętym postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w technologia żywności i żywienia.

Dane biograficzne i rozwój naukowy kandydatki

Pani Katarzyna Serwańska-Leja jest od roku 2009 pracownikiem Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Jest absolwentką Wydziału Rolniczego, gdzie w roku 2009 obroniła pracę magisterską „Wykorzystanie wodnych emulsyjnych układów dwufazowych do mikrokapsułkowania mikroorganizmów”. W roku 2013 Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu nadał jej tytuł doktora nauk rolniczych w zakresie biotechnologii. Tematem rozprawy była „Charakterystyka aktywności metabolicznej *Clostridium bifermentans* zdolnych do syntezy 1,3-propanodiolu”. Rozprawa była przygotowywana pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Czaczyk. W roku 2010 i latach 2014-15 dwukrotnie przebywała na urlopie macierzyńskim.



Ocena dorobku naukowego

Zgodnie z danymi zamieszczonymi w autoreferacie, w wykazie opublikowanych prac, dorobek Pani Katarzyny Serwańskiej-Leja obejmuje **78** publikacji, z czego **25** znajduje się w czasopismach z listy JCR. Prace prezentowane były w renomowanych czasopismach z dziedziny, jak: *Foods*; *Open Chem.*; *Polish J. of Environ.*; *Polish Journal of Environmental Studies.*; *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*; *Postep. Mikrobiol.*; *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*; *Polish Journal of Environmental Studies*; *African Journal of Microbiology Research*; *Journal of Bioscience and Bioengineering*; *Proc. Biochem.*; *Acta Biochimica Polonica*; *Annals of Microbiology*; *Brazilian Journal of Biotechnology*; *BioMed Research International*; *Electronic Journal of Biotechnology*; *Journal of Bioscience and Bioengineering*; *African Journal of Microbiological Research*; *Postępy Mikrobiologii*; *Advances in Microbiology*; *Journal of the Science of Food and Agriculture*; *Journal of Essential Oil Research*. Istotne jest również, że wśród opublikowanych prac, **10** ma charakter przeglądowy.

Wymienioną listę uzupełnia **18** publikacji w czasopismach z poza listy JCR. Należy podkreślić w tym miejscu, że są to bardzo wartościowe publikacje z zakresu mikrobiologii spożywczej i technicznej. Jestem w tym miejscu przekonany że przeważająca część z nich mogła by zostać opublikowana w specjalistycznych czasopismach z listy JCR. Pani dr inż. Katarzyna Serwańska-Leja jest również autorem dwóch rozdziałów w książkach.

Dane bibliometryczne wartość współczynnika wpływu publikacji **30** (40.7 w przel. na 2018 rok) w trakcie całej kariery naukowej. Sumaryczna punktacja wg MNiSW do roku 2018 wynosi **388** oraz 230 od roku 2019.

Wydzielony dorobek habilitacyjny obejmuje **5** publikacji o sumarycznej wartości IF **7,81** ze 230 punktami wg MNiSW za rok 2019. Warto podkreślić, że aktualny (na czas przedłożenia dokumentacji) współczynnik wpływu jest wyższy, ze względu na zmienione wartości IF dla czasopisma *Foods* (wynosi on obecnie 4,092). Prace zostały opublikowane w czasopismach z dziedziny, jak: *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*; *Postep. Mikrobiol.*; *Foods*; *Open Chem.*.



Dane bibliometryczne dopełnia indeks Hirscha wynoszący **10** wg bazy Scopus jak również imponująca liczba 553 cytowań. Te ostatnie wartości uznaję jako ponadprzeciętne, biorąc pod uwagę liczbę i stosunkowo krótki czas życia większości publikacji. Pani dr Katarzyna Serwańska-Leja wygłosiła również **6** referatów, na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Wyniki uzyskane w trakcie realizowanych badań zostały zaprezentowane również na **21** konferencjach w formie materiałów posterowych. Należy podkreślić w tym miejscu, że zainteresowania naukowe Habilitantki, jak i artykuły naukowe oparte na doświadczeniach są na przestrzeni ostatnich lat bardzo spójne. Obejmują one szeroko rozumiany wpływ wybranych olejków eterycznych na hamowanie wzrostu kultur bakteryjnych.

hamowanie wzrostu saprofitycznych bakterii *Pseudomonas orientalis*

Ocena publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Wybrane przez Habilitantkę jako cykl publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego prace zostały opublikowane w latach 2016-2020. Cykl prac powiązanych tematycznie składa się następujących pozycji:

1. Leja, K. B., & Czaczyk, K. (2016). The industrial potential of herbs and spices? A mini review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(4), 353-365;
2. Leja, K., Szudera-Kończal, K., Myszka, K., & Czaczyk, K. (2019). Antibacterial effect of natural oils—an opportunity to solve the problem of antibiotic resistance on the example of *Pseudomonas* spp. *Postep. Mikrobiol*, 58, 177-190;
3. Leja, K., Szudera-Kończal, K., Światała, E., Juzwa, W., Kowalczewski, P. Ł., & Czaczyk, K. (2019). The influence of selected plant essential oils on morphological and physiological characteristics in *Pseudomonas orientalis*. *Foods*, 8(7), 277;
4. Leja, K., Drożdżyńska, A., Majcher, M., Kowalczewski, P. Ł., & Czaczyk, K. (2019). Influence of sub-inhibitory concentration of selected plant essential oils on the physical and biochemical properties of *Pseudomonas orientalis*. *Open Chemistry*, 17(1), 492-505;
5. Leja, K., Majcher, M., Juzwa, W., Czaczyk, K., & Komosa, M. (2020). Comparative Evaluation of *Piper nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* and *Juniperus*



communis L. Essential Oils of Different Origin as Functional Antimicrobials in Foods. Foods, 9(2), 141.

We wszystkich wymienionych pracach autorka określiła swój udział jako dominujący. Zostało to potwierdzone stosowną dokumentacją, przedstawioną w **załączniku nr 5** dokumentacji. Swoją udział procentowy autorka określa w zakresie od 75% do aż 90%. Chociaż co do pierwszoplanowej roli Habilitantki w wymienionych pracach nie mam najmniejszej wątpliwości, to bardzo zaskakuje taki podział udziałów, szczególnie w pracach 4 i 5. W wymienionych pięcioautorskich publikacjach, bardzo istotnym i wartościowym elementem były wykonane analizy chromatograficzne. W deklaracji Habilitantki przedstawionych w Autoreferacie (**załącznik nr 2**) głównym celem badań przedstawionych w powyższym cyklu prac było udowodnienie hipotezy, że roślinne olejki eteryczne, stosowane w niskich stężeniach, stanowią skuteczny środek hamujący wzrost saprofitycznych bakterii *Pseudomonas orientalis*, jednocześnie nie wykazując aktywności bakteriobójczej. W mojej opinii niestety, powyższe stwierdzenie może być w pełni prawdziwe jedynie dla prac 2-4.

Tematyka aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych jest bardzo często podejmowana przez naukowców realizujących badania z dziedziny chemii produktów naturalnych. Corocznie publikowanych jest kilkaset prac, w których przedstawiane są wyniki szczegółowego składu OE i ich aktywności przeciwbakteryjnych czy przeciwgrzybiczych. Tak więc znalezienie niszy, w której nie było prowadzonych badań, uznaję za niewątpliwą sukces Habilitantki.

W publikacji ACTA SCIENTIARUM POLONORUM TECHNOLOGIA ALIMENTARIA, 2016, 15(4), 353-365 autorka podjęła się dokonania przeglądu piśmiennictwa z zakresu praktycznego zastosowania surowców roślinnych – ziół i przypraw. Autorka zestawiała ich właściwości użytkowe, tj. przeciwdrobnoustrojowe, nawilżające, przeciwutleniające czy antycellulitowe. Wyselekcjonowała surowce stosowane w chorobach sercowo-naczyniowych, problemów psychologicznych, górnych dróg oddechowych, nerek jak również „prewencji i terapii nowotworów” (i tu nie zgodziłbym się z tym ostatnim zastosowaniem, uważając go uproszczeniem). Autorka przedstawiła zastosowanie ziół w przemyśle kosmetycznym. Powyższą pracę uznaję za bardzo wartościową, chociaż nie zgodziłbym się z zaprezentowanym w autoreferacie



stwierdzeniem podsumowującym „*powyższe informacje potwierdzają hipotezę wskazującą na ogromny potencjał aplikacyjny olejków eterycznych, których korzystne oddziaływanie, chociażby lecznicze, znane było od stuleci*”. W mojej ocenie nie jest to hipoteza, ale znany, potwierdzony wielokrotnie w praktyce fakt.

W pracy przeglądowej ADVANCEMENTS OF MICROBIOLOGY - POSTĘP. MIKROBIOL., 2019, 58, 177–190 Autorka podjęła się przedstawienia szczegółowej analizy potencjału aplikacyjnego roślinnych olejków eterycznych w przemyśle spożywczym w kontekście związanym z kształtowaniem się mechanizmów oporności w komórkach bakterii w odpowiedzi na chemiczne konserwanty oraz antybiotyki. Zasygnalizowała, że intensywny wzrost użycia antybiotyków wiąże się z powstawaniem mechanizmów oporności wyniku zmian chromosomalnych lub wymiany materiału genetycznego bakterii. W przytoczonej publikacji Habilitantka podjęła analizę problemu antybiotykoodporności przykładzie *P. aeruginosa*, który jest uznawany za ważnym patogenem z potwierdzoną odpornością na szereg antybiotyków pierwszego rzutu, takich jak penicylina, cefalosporyny, aminoglikozydy, fluorochinolony i karbapenemy. Autorka zasugerowała, że ograniczenie spożycia antybiotyków i poszukiwanie alternatywnych substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, które nie są antybiotykami może oprzeć się np. o olejki eteryczne z roślin. Niezręcznością lub językowym potknięciem wydaje się w tym miejscu stwierdzenie „*olejki eteryczne w rzeczywistości nie są olejkami*”. Nie zgodziłbym się również ze stwierdzeniem przytoczonym przez habilitantkę „*Zasadniczo, olejki są złożonymi mieszaninami setek związków aromatycznych (cyt.). Wszystkie te poszczególne składniki bioaktywne mają znaczącą aktywność...*”. Jest to znowu, daleko idące uproszczenie, nawet pobieżna literatura tematu wskazuje na zasadnicze zróżnicowanie właściwości biologicznych poszczególnych komponentów. Za bardzo wartościowe uznaję podsumowanie minimalnych stężeń hamujących dla szczepów *P. aeruginosa* i *P. putida*, przedstawione w **Tabeli 1** tej pracy jak również zestawienie mechanizmów działania przeciwbakteryjnego (**Rys. 5**). Habilitantka słusznie podsumowuje tę część autoreferatu, pisząc że „*Analiza danych literaturowych jednoznacznie wskazuje, że dobrze dobrane roślinne olejki eteryczne mogą stanowić rozwiązanie tego problemu...*”. W pracach nr 3-5 Habilitantka podjęła się rozpoznania mechanizmów przeciwdrobnoustrojowego działania olejków eterycznych wyizolowanych z wybranych roślin



olejkowych. W publikacji *Foods*, 2019, 8(7), 277 Autorka przedstawia aktywność przeciwdrobnoustrojową wytypowanych 9 olejków wybranych spośród puli 15 (na podstawie przeprowadzonych analiz sensorycznych). Do badań wybrane zostały olejki eteryczne pozyskane z bergamotki, z gałki muszkatołowej, gorzkiej pomarańczy, limonki, trawy cytrynowej jałowca czarnego pieprzu, rozmarynu i dziurawca zwyczajnego. Paneliści odrzucili olejki pozyskane z oregano, tymianku, mandarynki (co jest bardzo zaskakujące), szałwii, drzewa herbacianego i anyżu. Spośród 9 testowanych olejków aż 7 wykazywało działanie bakteriostatyczne względem bakterii *P. orientalis* w zakresie badanych stężeń. Jednocześnie, stwierdzono brak aktywności bakteriobójczej stosowanych olejków, potwierdzając to kolejnym eksperymentem, gdzie bakterie poddane inkubacji z olejkami o potwierdzonej aktywności bakteriostatycznej – w stężeniu hamującym – poddano analizie cytometrycznej. Znaczący spadek aktywności metabolicznej (najwyższy procentowy udział komórek we frakcji o najniższej aktywności) był zaobserwowany w przypadku dodatku do hodowli olejku rozmarynowego, olejku z trawy cytrynowej oraz bergamotki. Autorka pokusiła się również na określenie kształtu komórek bakterii, będących pod wpływem OE w wyznaczonych stężeniach hamujących. Określiła, że komórki *P. orientalis* nie wykazywały już typowego kształtu pałeczki i stawały się okrągłe. Było to prawdopodobnie spowodowane uszkodzeniem błony komórkowej, co prowadziło do częściowego wycieku zawartości komórki które kurczą się wykazują zwiększoną tendencję do aglomerowania. Uzupełniając, autorka oznaczyła następnie stężenie białka uwalnianego poza komórkę. W hodowlach inkubowanych z olejkami eterycznymi w stężeniach hamujących zaobserwowała niemal dwukrotny wzrost stężenia białka. Chociaż pracę uważam za bardzo wartościową, zaskakuje w Tabeli 2 zestawienie pomijalnych zawartości składników EO (niekiedy poniżej 1%), podczas gdy umieszczone tam składniki nie dopełniają się do 100 % (np. gałka muszkatołowa) lub wychodzą poza 100% (np. trawa cytrynowa, gdzie suma neralu, geranialu pozycji „cytral” przekracza tą wartość). Z kolei dla limonki czy jałowca suma przedstawionych w **Tabeli 2** składników nie wykracza poza 65%. Dane, zebrane w powyższej publikacji posłużyły do określania wpływu (olejków wydestylowanych z: pieprzu czarnego, rozmarynu, jałowca i trawy cytrynowej) na właściwości fizyczne i biochemiczne komórek bakterii na przykładzie szczepu *Pseudomonas orientalis* wyizolowanego z surowego filetu z łososia *Open Chem.*, 2019 17, 492–



505. Autorka pokusiła się o wydestylowanie olejków, z wykorzystaniem aparatu wg Clevengera (i choć faktycznie często w literaturze przedmiotu pojawia się określenie „*ekstrakcja metodą hydrodestylacji*”, napisał bym tu bardziej o samej hydrodestylacji. Trochę niejasne wydaje się określenie zastosowanych stężeń testowanych EO, przedstawionych w **Tabeli 1** publikacji. Zaskakuje również bardzo nietypowa, wysoka, ponad 4% zawartość eukaliptolu w olejku z trawy cytrynowej (tabela 2). W przytoczonej pracy Habilitantka podjęła się analizy oddziaływania olejków na wewnątrzkomórkowy metabolizm bakterii, wyjaśniając ich mechanizmów przeciwbakteryjnego działania. Autorka wyznaczyła wartości MIC dla poszczególnych olejków i udowodniła, że, ich ekspozycja wpłynęła jedynie na zdolność bakterii do ruchu, co mogło się wiązać z uszkodzeniem wici). W kolejnej części pracy została oceniona zdolność szczepów *P. orientalis* do asymilacji sacharydów. Eksperyment dowiódł brak zdolności do asymilacji sacharozy, D-maltozy, D-melibiozy, maltotriozy, rafinozy, inuliny i L-ramnozy przez wymieniony szczep w obecności EO. Istotną obserwacją było również, że dodatek olejków eterycznych w stężeniach hamujących nie wpłynął znacząco na metabolizm bakterii. Obniżona została jedynie wydajność syntezy kwasów o ok 40%. W przekonaniu Autorki eksperymenty dowiodły, że olejki eteryczne w stężeniach hamujących nie wykazują działania bakteriobójczego względem komórek bakteryjnych. Ostatnią publikacją w wyodrębnionym cyklu publikacji jest praca *Foods*, 2020 9, 141. Autorka dokonała porównania przeciwdrobnoustrojowej aktywności handlowych olejków z pierzu czarnego, rozmarynu, trawy cytrynowej i jałowca (wyselekcjonowanych podczas wcześniejszych badań) z olejkami ekstrahowanymi z materiału roślinnego w laboratorium Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu metodą hydrodestylacji. Autorka pisze, że „*Często można się spotkać z opinią, że powszechnie dostępne na rynku olejki są niskiej jakości, zawierają mniej substancji bioaktywnych, niż deklaruje producent, a ich główny składnik stanowi olej nośnikowy*”. Choć wciąż takie sytuacje mogą się zdarzyć, to w moim przekonaniu, wybrana przez Autorkę technika (chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią gazową) nie zawsze jest tu rozstrzygająca (np. dla trudniej lotnych rozpuszczalników, lub rozpuszczalników wychodzących w czasie martwym. W moim przekonaniu w przypadku zafałszowań dopełniającą techniką analityczną było by zastosowanie pomiaru magnetycznego rezonansu jądrowego próbki. Nie jest również



zrozumiałe dla mnie ujęcie w **Tabeli 2** publikacji np. eugenolu, β -bisabolenu czy mirystycyny, które to nie zostały zidentyfikowane w żadnej z przebadanych próbek olejku eterycznego. Autorka dokonała analizy ekonomicznej, polegającej na zestawieniu kosztów zakupu 10 ml gotowego olejku handlowego z kosztami materiału roślinnego w ilości umożliwiającej pozyskanie takiej samej ilości olejku. Jednak w moim przekonaniu, rzeczywiście miarodajne było by porównanie z nie detalicznymi, lecz hurtowymi cenami badanych OE. Przytoczone w autofereracie zdanie „*podkreślić jednak należy, że większość związków bioaktywnych nieobecnych w oleju handlowym z pieprzu znajdowała się w oleju pozyskiwanym w naszym laboratorium w niskich stężeniach*” można było by odwrócić. Nie jest również prawdą stwierdzenie: „*Okazało się także, że olejek ekstrahowany przez nas (31,2%) posiada o połowę mniej cytralu niż handlowy (67%)*” a umieszczona w publikacji **Tabela 2** tego nie dowodzi. Cytral jest bowiem mieszaniną geranialu i neralu. Bardzo niejasne są w tym miejscu duże różnice aktywności olejków: komercyjnych i pozyskanych w laboratorium, trawy cytrynowej o niemal identycznym składzie wobec badanych szczepów (**Tabela 4**). Zdanie „*Najbardziej spektakularne efekty zaobserwowano w przypadku laboratoryjnego oleju z trawy cytrynowej*” wydaje się być więcej niż zaskakujące. Habilitantka pisze wręcz o 20 razy wyższej efektywności wydestylowanego z trawy cytrynowej OE w porównaniu do niż komercyjnego odpowiednika.

Wyznaczone przez Autorkę krzywe wzrostu potwierdziły bakteriostatyczne działanie olejków w zastosowanych stężeniach. Bardziej efektywnie działały olejki laboratoryjne. Jednocześnie Autorka wysuwa słuszny wniosek, że obserwacje te są ważne dla przemysłu spożywczego, w którym dawki olejów powinny być jak najniższe i nie powinny negatywnie wpływać na właściwości organoleptyczne produktów.

Za uprawnione i w pełni poparte doświadczeniem uznaję wnioski przedstawione na str. 19-20 Autoreferatu, z wątpliwością dotyczącą trawy cytrynowej.



Powyższe publikacje stanowią **istotny wkład** w aktywności przeciwdrobnoustrojowej nadanych olejków eterycznych. Informacje w nich zawarte pomogą optymalizować ich stosowanie jak również w doborze odpowiednich synergistycznych komponentów.

Ocena współpracy naukowej

Pani dr Katarzyny Serwańskiej-Leja odbyła dwa staże zawodowe (w Poznańskich Zakładach Zielarskich „HERBAPOL” S.A.) i Pracowni Mikrobiologii w Laboratorium Badania Żywności i Przedmiotów Użytku w Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Poznaniu. Ponadto podjęła współpracę z Zakładem Anatomii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu czego efektem jest projekt MINIATURA 3 pt. „Właściwości keratyny ściany rogowej kopyta w świetle analiz cytometrycznych w odniesieniu do stanu anatomicznego narządu palcowego konia”. Z przedłożonej dokumentacji wynika, że Habilitantka nie współpracuje ani nie publikuje z zespołami z zagranicy. Pani dr Katarzyny Serwańskiej-Leja zrecenzowała 70 manuskryptów przedłożonych do krajowych i międzynarodowych czasopism naukowych. Dotyczyły głównie z tematyki związanej z biodegradacją polimerów, produkcją bioetanolu, biotechnologiczną syntezą 1,3-propanodiolu oraz przeciwdrobnoustrojowymi właściwościami roślinnych ekstraktów i olejków eterycznych

Ocena działalności organizacyjnej i dydaktycznej

Habilitantka cechuje się wysoką aktywnością dydaktyczną. Była promotorem 25 prac inżynierskich oraz 11 prac magisterskich, w tym 1 pisanej w języku angielskim. Prowadziła staż studencki z zakresu mikrobiologii dla 2 studentów jak również zajęcia dydaktyczne m.in. z przedmiotów: Mikrobiologia, Podstawy Mikrobiologii i Mikrobiologia Żywności, Metody Biologiczne w Analizie Żywności oraz Fizykochemiczne i sensoryczne właściwości żywności czy



Ekologia stosowana dla studentów Biotechnologii. Inne aktywności Habilitantki zostały w punktach a-j autoreferatu. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

Wnioski końcowe

Wnikliwa ocena dorobku naukowego Pani dr Katarzyny Serwańskiej-Leja przedłożonego mi do recenzji, w tym w tym wydzielonego cyklu publikacji powiązanych tematycznie, jak również jej dorobek dydaktyczny, organizacyjny i współpraca upoważniają mnie do stwierdzenia, że jest w pełni samodzielnym i ukierunkowanym badaczem, posiadającym znaczny dorobek naukowy. W związku z powyższym, Habilitantka **spełnia warunki ustawowe** do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologii żywności i żywienia (art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Dz. U. z 20 lipca Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zmianami). Przedłożony do oceny dorobek naukowy, w tym wydzielony cykl publikacji powiązanych tematycznie **stanowią istotny wkład** w rozwoju dyscypliny technologia żywności i żywienia.

Zwracam się w tym miejscu do Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, prof. dr hab. Waldemara Gustawa dopuszczenie Pani dr Katarzyny Serwańskiej-Leja do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Antoni Szumny