



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Łódź, dn. 4-11-2022r.

Prof. dr hab. inż. Elżbieta Klewicka
Instytut Technologii Fermentacji I Mikrobiologii
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

Recenzja

osiągnięcia, dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego przygotowana na potrzeby postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr Magdalenie Annie Olszewskiej w dziedzinie nauki rolniczej, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

1. Informacje o Kandydatce i przebieg kariery zawodowej

Pani dr Magdalena Anna Olszewska jest absolwentką Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Studia wyższe ukończyła w 2008 roku na Wydziale Biologii, kierunek Biotechnologia. W latach 2008-2012 była uczestnikiem studiów doktoranckich na Wydziale Nauki o Żywności. W trakcie trwania studiów doktoranckich w 2010 roku została zatrudniona na etacie asystenta w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności (Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski). **Stopień doktora nauk rolniczych uzyskała w dniu 9 listopada 2012 roku na Wydziale Nauki o Żywności, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego.** Od dnia 1 października 2013 roku dr Magdalena Anna Olszewska została zatrudniona na etacie adiunkta w dotychczasowej jednostce organizacyjnej, gdzie pracuje do chwili obecnej.

Podczas zatrudnienia odbyła 3 staże w jednostkach zagranicznych. Od 1-09-2015r. do 1-03-2016r. dr Magdalena Anna Olszewska przebywała jako naukowiec wizytujący w Center of Food Safety, University of Georgia, Georgia Stany Zjednoczone Ameryki. Pobyt ten był finansowany w ramach uzyskanego przez kandydatkę stypendium Fundacji Kościuszkowskiej. Drugi staż naukowy Kandydatka odbyła w University of Porto, Porto, Portugalia (1.10.2018-31.12.2018) w Laboratory for Process Engineering, Environment, Biotechnology and Energy. Natomiast od 1-10-2019r. do 30-11-2021r. pani dr Magdalena Anna Olszewska przebywała ponownie w Center of Food Safety, University of Georgia, Georgia Stany Zjednoczone Ameryki tym razem jako stypendystka Fulbrighta. Ponadto Kandydatka odbyła 3 krótkie wizyty naukowe zagraniczne: 2 wizyty w University of Bergen w Norwegii oraz 1 wizytę Hochschule Offenberg w Niemczech oraz 1 wizytę naukową w ośrodku krajowym w SGGW w Warszawie w zakładzie Higieny i Zarządzania Jakością Żywności.

Zainteresowania naukowe Kandydatki koncentrują się na biofilmach bakterii w środowisku żywności i w środowisku produkcji żywności.

2. *Osiągnięcie naukowe*

Osiągnięciem naukowym, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (*Dz.U. 2022r. poz. 574 z późn. zm.*) jest cykl monotematycznych publikacji. Na osiągnięcie zatytułowane „Czynniki wpływające na oporność biofilmu bakteryjnego i efektywną dezynfekcję środowiska produkcji żywności” składa się 5 publikacji opublikowanych w periodykach anglojęzycznych, w latach 2016 – 2021: *Food Control*, *Journal of Applied Microbiology*, *International Journal of Food Science and Technology*, *Journal of Food Safety* i *Frontiers in Microbiology*. Współczynniki oddziaływania *Impact Factor* zgodnie z rokiem opublikowania powyższych czasopism wynoszą odpowiednio: 3,496; 3,066; 2,773; 1,133 i 5,640 (sumarycznie 16,108). Są to dobre i bardzo dobre współczynniki oddziaływania wymienionych czasopism. Sumaryczna liczba punktów ministerialnych przypisanych czasopismom zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 320. Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe były cytowane 42 razy. W 4 z 5 prac Pani dr Magdalena Olszewska jest autorem korespondencyjnym. We wszystkich pracach deklaruje swój dominujący udział co ma przełożenie na udział procentowy w publikacjach od 70 do 85% co daje średnio 77%. We wszystkich pracach Kandydatka deklaruje opracowanie koncepcji (obok wykonawstwa badań, napisania manuskryptu) co świadczy o jej wiodącym udziale w przedstawionych badaniach.

Zagadnienia tworzenia biofilmów w środowisku produkcji żywności i w samej żywności są bardzo ważne z punktu widzenia zarówno konsumenta jak i producenta. Wiadomo, że bakterie zdolne do autoagregacji znacznie łatwiej adherują do powierzchni w środowisku tworząc wielokomórkowe skupiska bakterii zwane biofilmami. Struktury biofilmu mogą być homogenne czyli składające się z monokultury lub heterogenne składające się z różnych gatunków np. bakterii a nawet

bakterii z udziałem drożdży. Komórki mikroorganizmów zorganizowane w powyższe struktury wykazują znacznie wyższą oporność na środki dezynfekcyjne co wynika między innymi z dodatkowych matryc polimerowych wytwarzanych przez mikroorganizmy obecne w biofilmie np. egzopolisacharydy (EPS).

W przedstawionych pracach stanowiących osiągnięcie naukowe opisane są biofilmy homogenne tworzone przez bakterie *Listeria monocytogenes* oraz biofilmy heterogenne tworzone przez bakterie *Listeria monocytogenes* i *Lactobacillus* spp. i ich wrażliwość na środki dezynfekcyjne. Wybór bakterii *Listeria monocytogenes* do badań wydaje się trafiony ze względu na ciągły wzrost zachorowań ludzi spowodowanych tymi bakteriami. Wg danych Państwowego Zakładu Higieny w Polsce do 31 września 2022 roku odnotowano 81 zdiagnozowanych przypadków zoonozy spowodowanej przez bakterie *Listeria monocytogenes*. W roku 2021 tych przypadków było 116 a w 2019r. - 58. Zatem, widać wyraźny trend wzrostowy. Natomiast wg. raportu Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) z 2017 r. wynika, że zakażenia bakteriami *Listeria* spp. zajmują piąte miejsce wśród najczęściej odnotowywanych przypadków zoonoz w Europie.

Bardzo ciekawym wątkiem osiągnięcia naukowego prezentowanego przez Kandydatkę jest włączenie bo badań bakterii *Lactobacillus* spp. o statusie GRAS (generally recognized as safety), które z kolei są przeciwieństwem *L.monocytogenes*.

W pierwszej publikacji cyklu Kandydatka bada wpływ czynników środowiskowych takich jak: temperatura tworzenia biofilmu - 15 i 37 °C oraz środki dezynfekcyjne: Vesphene®Ilse (pochodne fenolowe), FS Formula 12167™ (chlorowodorek sodu), Micronex® (chlorek didecyldimetyloamoniowy – DDAC), Fit-L Antibacterial Produce Cleaner (kwas lewulinowy, dodecylosiarczan sodu - SDS) oraz Zep-amine A™ (chlorki n-alkilu (60%C14, 30%C16, 5%C12, 5%C18) dimetylobenzyloamoniowe; chlorki n-alkilu (68% C12, 32% C14) dimetyloetylobenzyloamoniowe) – czwartorzędowe związki amoniowe QACs. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że temperatura tworzenia biofilmu ma znaczenie w jego interakcji ze środkiem dezynfekcyjnym. Komórki bakterii *Listeria*, które formowały biofilm w temperaturze 15°C były bardziej odporne na działanie środków dezynfekcyjnych. Dodatkowo w takich biofilmach po zastosowaniu subużytkowych stężeń dezynfektantów identyfikowano wyższy odsetek komórek uszkodzonych subletalnie niż w biofilmach formowanych w temperaturze 37°C. Ponadto, zaobserwowano zwiększoną oporność biofilmu na wielokrotne działanie środkami dezynfekcyjnymi. W analizie CLSM stwierdzono, uszkodzenia zewnętrznych błon komórkowych przez działanie środków QACs oraz pochodnych fenolowych w powierzchniowych warstwach biofilmu. Komórki w głębszych warstwach biofilmu pozostawały nienaruszone.

W drugiej i trzeciej publikacji kandydatka przedstawia wyniki badań dotyczących oddziaływania badanych środków dezynfekcyjnych na bakterie należące do dotychczasowego rodzaju *Lactobacillus* oraz etanolu i kwasu octowego. Zastosowane w badaniach szczepy: *Lactobacillus plantarum* G1, *Lactobacillus plantarum* B1, *Lactobacillus brevis* S1 i *Lactobacillus paracasei* W1 są kulturami bakterii izolowanymi ze środowiska. Izolaty poddawano działaniu środków

dezynfekujących zarówno w formie hodowli planktonicznych jak i w formie wytworzonych biofilmów. Dezynfektanty znacznie efektywniej inaktywowały komórki bakterii kwasu mlekowego (LAB) w formie planktonicznej niż komórki będące składnikiem biofilmu. Wynik nie jest zaskakujący, niemniej w pracy wykazano zróżnicowanie wrażliwości na dezynfektanty w pomiędzy szczepami LAB. Izolaty, *L. plantarum* B1 i *L. brevis* S1, wykazały większą różnicę między komórkami biofilmu i planktonicznymi w odpowiedzi na QACs, a *L. plantarum* B1 wykazał istotnie mniejszą wrażliwość na QACs gdy pochodził z biofilmu - poziom redukcji komórek biofilmu wynosił 2,3 jednostek logarytmicznych a komórek planktonicznych 5,1 jednostek logarytmicznych. Cenne są spostrzeżenia Autorów publikacji w kwestii zróżnicowanego działania pochodnych chloru i QACs na biofilmu LAB. Liczne komórki martwe w biofilmach stwierdzono w przypadku traktowania biofilmu QACs oraz mniej liczne komórki żywe w głębszych warstwach biofilmów. Natomiast działanie pochodnych chloru na biofilmy LAB powodował odrywanie się komórek ze struktury biofilmu. Zastosowane w badaniach stężenia i czas działania nie powodowały śmierci komórek. W przypadku badań dotyczących destrukcyjnego działania na biofilmy LAB (*L. plantarum* B1 i *L. paracasei* W1) etanolu i kwasu octowego, stwierdzono, że w przypadku etanolu osiągnięto efekt uśmiercania komórek planktonicznych i formie biofilmu tylko w najwyższym zastosowanym stężeniu – 40%. W przypadku działania kwasu octowego efekt redukcji żywotności komórek LAB stwierdzono tylko w przypadku szczepu *L. paracasei* W1.

W czwartej publikacji cyklu badano biofilm tworzony w reaktorze CDC na powierzchni tzw. kuponów z tworzywa sztucznego. Autorzy skupili się na interakcji *Lactobacillus*–*Listeria* oraz na żywotności tych mikroorganizmów. Zastosowany system CDC pozwala na przybliżone odwzorowanie środowiska przetwórstwa żywności. Wykazano istotny wpływ interakcji międzygatunkowych na witalność bakterii, a szczególnie *Listeria*, pomimo, że ostateczny poziom kolonizacji był podobny zarówno w mono- jak i kokulturze przyjmując 6,5 i 7,0 log komórek/ml odpowiednio dla *Lb. plantarum* i *L. innocua*. Natomiast porównując krzywe liczebności mikroorganizmów Kandydatka zwraca uwagę na opóźniony wzrost *Listeria* spp. co sugeruje, że mikroorganizm przechodzi przez fazę stanu przejściowego tzn. jest żywy ale nie rośnie na pożywkach stałych. Efekt ten obecny był również się gdy wprowadzono do środowiska pochodne chloru, natomiast pogłębił się gdy w środowisku obecny był dodatkowo inny szczep bakterii, w tym przypadku *Lactobacillus plantarum*. Ponadto, zauważono zmiany morfologiczne komórek do form kokoidalnych.

W piątej publikacji cyklu przedstawionego jako osiągnięcie Autorzy charakteryzują strukturę biofilmów binarnych utworzonych przez pary *Listeria monocytogenes* i *Lactobacillus* spp. Z grupy bakterii pałeczek kwasu mlekowego wybrano 3 gatunki: *L. fermentum* (Lf), *L. bavaricus* (Lb) i *L. plantarum* (Lp). I tutaj stwierdzono, że istotny jeśli chodzi o przeżywalność bakterii w biofilmie jest gatunek LAB. Przykładowo, w binarnych biofilmach *L. monocytogenes* i *L. plantarum* liczba komórek *L. monocytogenes* była porównywalna z tymi w biofilmie jednogatunkowym.

Gdy bilfilm *L. monocytogenes* formowany był w obecności *L. fermentum* liczebność tych pierwszych obniżała się na korzyść bakterii mlekowych. Wykazano również, silne współzawodnictwo pomiędzy kulturami tworzącymi biofilm. Ciekawe są badania dotyczące struktury biofilmów. Wykazano, że w zależności od szczepu *L. monocytogenes* społeczności biofilmu binarnego różniły się pod względem organizacji komórek, gdyż raz miały znacznie zwiększoną powierzchnię jak w przypadku Lm7–Lf, innym razem zwartą strukturę jak w biofilmie LmC–Lf. Stwierdzono, że dolność LAB do wytwarzania matryc białkowych może stanowić dodatkową ochronę dla *Listeria monocytogenes* przed chlorowymi pochodnymi stosowanymi jako dezynfektanty.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiony do oceny cykl publikacji jest wypełni oryginalny, wnosi nowe wartości do nauki w dyscyplinie technologia żywności i żywienie w dziedzinie nauk rolniczych. Osiągnięcie naukowe przedstawione przez dr Magdalenę Annę Olszewską spełnia kryteria Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2022r. poz. 574 z późn. zm.).

3. Ocena dorobku naukowego

Całkowity dorobek naukowy Kandydatki obejmuje 32 artykuły naukowe z czego 27 są to prace opublikowane w czasopiśmie z listy JCR. Ponadto, w dorobku są również 2 rozdziały w monografiach, 4 artykuły opublikowane w recenzowanych materiałach pokonferencyjnych, 47 komunikatów naukowych (posterów i referatów) z czego 29 zostało osobiście zaprezentowanych przez dr Magdalenę Annę Olszewską. Kandydatka wygłosiła również 6 wykładów na zaproszenie. W dorobku Kandydatki nie ma patentów, które wzbogaciłyby dorobek o aspekty aplikacyjne.

Dorobek publikacyjny Kandydatki został w znaczący sposób powiększony od uzyskania ostatniego awansu czyli uzyskania stopnia doktora. Współczynniki bibliometryczne charakteryzujące dorobek naukowy Kandydatki kształtują się następująco - wg bazy Web of Science: liczba cytowań wg 218 (35 autocytowań), indeks Hirsha 8; wg bazy Scopus: liczba cytowań 256, indeks Hirsha 9. Są to współczynniki świadczące o dostrzeżeniu tych prac w środowisku naukowym. Całkowity *Impact Factor* czasopism, w których Kandydatka publikowała swoje prace to 62,685, a suma punktów ministerialnych całego dorobku wynosi 1945.

Po otrzymaniu stopnia doktora dr Magdalena A. Olszewska brała udział w 4 projektach krajowych i zagranicznych jako wykonawca, w 1 projekcie pełniła funkcję kierownika. Obecnie jest również wykonawcą w 1 projekcie zagranicznym.

Kandydatka odbyła liczne staże zagraniczne o charakterze naukowym o czym nadmieniałam charakteryzując sylwetkę w punkcie 1. opinii.

Aktywność naukowa dr Magdaleny A. Olszewskiej została dostrzeżona w środowisku naukowym czego wyrazem jest powierzenie recenzji artykułów w takich czasopiśmie jak: *Food Chemistry*, *Frontiers in Microbiology*, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *Water Research*, *Polish Journal of Food and Nutrition*

Sciences, Microbial Cell Factories, Journal of Applied Microbiology, Innovative Food Science and Emerging Technologies, Trends in Food Science and Technology, Journal ACTA Scientiarum Polonorum, Journal of Food and Nutrition Research, Zeszyty naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, Chromatography, Żywność-Nauka Technologia Jakość.

Dorobek naukowy wskazuje na systematyczną aktywność naukową. Na podkreślenie zasługuje współpraca naukowa Kandydatki z jednostkami zagranicznymi

4. Aktywność dydaktyczna

Aktywność dydaktyczna Kandydatki koncentruje się na przedmiotach związanych z mikrobiologią ogólną, mikrobiologią żywności, mikrobiologią środowiska produkcji (maszyn). Powierzano Jej prowadzenie zajęć laboratoryjnych, ćwiczeń, wykładów, seminariów w języku polskim i angielskim. Ponadto, współpracowała z 12 magistrantami kierunku Biotechnologia. Od roku 2013 Kandydatka wdraża i prowadzi nowe przedmioty: Diagnostyka w mikrobiologii żywności, Mikrobiologia żywności, Konwersatorium specjalnościowe w języku angielskim, Biological methods in food and feed preservation.

Pani dr M.A. Olszewska była promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim zakończonym.

W latach 2011-2012 Kandydatka współpracowała z jedną z największych szkół językowych na Warmii i Mazurach – English Perfect w ramach programu *English Perfect International Curricula* (EPIC), który oferował kursy PREMEDI przygotowujące do *Medical College Admission Test* (MCAT).

Aktywność jest typowa dla przebiegu kariery nauczyciela akademickiego. W świetle przedstawionych informacji w dokumentacji ten aspekt działalności Kandydatki oceniam pozytywnie.

5. Aktywność organizacyjna i współpraca z sektorem gospodarczym

W ramach współpracy z sektorem gospodarczym Kandydatka odbyła 3 miesięczny staż w Przedsiębiorstwie Podsiadły Sp.j. w ramach projektu pt. Regionalny transfer wiedzy z nauki do biznesu–staże i szkolenia praktyczne naukowców w przedsiębiorstwach Warmii i Mazur. Wynikiem powyższej współpracy było opracowanie propozycji innowacyjnego rozwiązania pt. Udoskonalenie kultury do pieczywa zakwasowego z zastosowaniem szczepów bakterii fermentacji mlekowej, które zostało nagrodzenie przez tzw. Anioła Biznesu.

W ramach praktyk studenckich Kandydatka nawiązała również kontakty z octowniami w województwie Warmińsko-Mazurskim przyjmującymi studentów na praktyki. Kandydatka odbyła szkolenia m.in. w Centrum Innowacji i Transferu Technologii (CIiTT) UWM oraz szkolenia związane z mentoringiem, krytycznym myśleniem czy nowoczesnym wizerunkiem naukowca w przestrzeni publicznej.

Od 2012 roku dr Magdalena A. Olszewska była członkiem wielu organizacji naukowych: International Association for Food Protection (IAFP), The American Society for Microbiology, Food Microbiology Teachers' Global Network, Fundacja Kościuszkowska Polska, Federation of European Microbiological Societies (FEMS), oraz Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

Dwukrotnie była członkiem komitetów organizacyjnych konferencji w tym jeden raz konferencji zagranicznej.

Aktywność organizacyjna i współpraca z sektorem gospodarczym jest skromna. Wydaje się, że jest to efekt koncentracji Kandydatki na aktywności naukowej i wyjazdach naukowych.

6. *Wniosek końcowy*

Pozytywna ocena osiągnięć naukowych, dydaktycznych organizacyjnych oraz współpracy z sektorem gospodarczym oraz osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dają mi podstawę do stwierdzenia, że spełniają one kryteria określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2022r. poz. 574 z późn. zm.).

Popieram kandydaturę dr Magdaleny Anny Olszewskiej do stopnia doktora habilitowanego.

