

Olsztyn, 22.09.2023

dr hab. inż. Anna Zadernowska, prof. UWM
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Małgorzaty Tomasz :

WPLYW WYBRANYCH OLEJKÓW ETERYCZNYCH NA METABOLIZM ZALEŻNY OD SYSTEMU QUORUM SENSINGU PSEUDOMONAS PSYCHROPHILA KM02 WYIZOLOWANYCH Z ŻYWNOCI

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Kamili Myszkę prof. UPP w Uniwersytecie
Przyrodniczym w Poznaniu, na Wydziale Nauk o Żywności, w Katedrze Biotechnologii i
Mikrobiologii Żywności

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do recenzji praca jest cyklem czterech opublikowanych w latach 2020-2022 powiązanych tematycznie publikacji opatrzonych wspólnym tytułem: „Wpływ wybranych olejków eterycznych na metabolizm zależny od systemu quorum sensing u *Pseudomonas psychrophila* KM02 wyizolowanych z żywności”. W skład pracy wchodzi trzy prace badawcze i jedna przeglądowa. Wszystkie prace opublikowano w uznanych anglojęzycznych czasopismach z zakresu technologii i mikrobiologii żywności. Sumaryczny współczynnik oddziaływania Impact Factor (IF) tych publikacji jest wysoki, wynosi 17,883. W skład omawianego cyklu publikacji wchodzi:

Tomasz N., Myszkę K. Current Advances in the Concept of Quorum Sensing-Based Prevention of Spoilage of Fish Products by Pseudomonads. *Applied Sciences* 12, 6719 (2022)

Sobieszkańska N, Myszkę K., Szwengiel A., Majcher M., Grygier A., Wolko Ł Tarragon essential oil as a source of bioactive compounds with anti-quorum sensing and anti-proteolytic

activity against *Pseudomonas* spp. isolated from fish – *in vitro*, *in silico* and *in situ* approaches. *International Journal of Food Microbiology* 331, 108732 (2020)

Tomasz N., Myszka K., Wolko Ł., Nuc K., Szewiel A., Grygier A., Majcher M., Effect of black pepper essential oil on quorum sensing and efflux pump systems in the fish-borne spoiler *Pseudomonas psychrophila* KM02 identified by RNA-seq, RT-qPCR and molecular docking analyses. *Food Control* 130, 108284 (2021)

Tomasz N., Myszka K. & Wolko L. Black pepper and tarragon essential oils suppress the lipolytic potential and the type II secretion system of *P. psychrophila* KM02. *Scientific Reports* 12, 5487 (2022)

We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym Autorem, natomiast w trzech również Autorem korespondencyjnym. Prace są wieloautorskie, przygotowane przez dwóch do siedmiu Autorów. Prace w których jest sześciu i siedmiu Współautorów zawierają bardzo dużą liczbę analiz przeprowadzonych różnymi technikami badawczymi z wielu obszarów nauki więc liczba współautorów jest dla mnie jak najbardziej adekwatna do przeprowadzonych badań. Po zapoznaniu się z oświadczeniami współautorów oraz Doktorantki nie mam wątpliwości, że miała Ona wiodący udział w ich powstawaniu. Doktorantka brała udział w opracowywaniu koncepcji i metodologii badań, wykonywała znaczną część analiz, opracowywała wyniki i czynnie brała udział w procesie publikacyjnym. Zgodnie z oświadczeniami udział Doktorantki w powstawaniu publikacji wynosił od 55-65%. Zaplanowanie tak dużej liczby doświadczeń, znalezienie odpowiednich osób i koordynowanie prac tak aby powstały publikacje wymagało dużego zaangażowania, skrupulatności i umiejętności współpracy. Z pewnością duży udział w sukcesie miała Promotor pracy Pani prof. Kamila Myszka, ja całość cyklu odbieram jako przykład doskonałej współpracy naukowej i jest on dla mnie potwierdzeniem dużych zdolności pracy w zespole posiadanych przez Panią mgr inż. Natalię Tomasz, a różnorodność stosowanych technik badawczych i wysoki poziom naukowy przedstawionych publikacji wskazuje na Jej doskonałe przygotowanie merytoryczne do dalszej pracy naukowej.

Cykl publikacji Doktorantka poprzedziła bardzo rozbudowanym, dobrze przygotowanym wstępem, opisem badań wraz z ich metodyką w tym bardzo przejrzystym schematem badań i wykazem skrótów stosowanych w pracy. Przedstawiła i omówiła wyniki i wnioski zawarte w publikacjach. Przedstawiła również bardzo obszerny, dobrze dobrany spis literatury. Biorąc pod uwagę, że na pracę doktorską składa się cykl publikacji uważam, że całość wstępu do nich mogłaby być mniej obszerna ale z większą liczą odnośników do konkretnych publikacji szczególnie w części dotyczącej metodyki. W przesłanej dokumentacji

znajdował się również życiorys Doktorantki i wykaz jej dotychczasowych osiągnięć naukowych. Pani mgr inż. Natalia Tomasz bardzo intensywnie pracowała w okresie studiów doktoranckich czego efektem jest współautorstwo trzynastu artykułów naukowych oraz sześciu doniesień konferencyjnych. Ponadto Pani magister była wykonawcą w grantach naukowych oraz kierownikiem grantu preludeum co jest dla mnie potwierdzeniem wysokiej jakości naukowej prowadzonych przez nią badań.

Przedstawiona dokumentacja nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na wiodący udział Doktorantki w prowadzonych badaniach oraz przygotowywaniu publikacji.

Ocena merytoryczna pracy

Głównym celem naukowym pracy była ocena wpływu olejku eterycznego z estragonu i pieprzu czarnego na system quorum sensing i aktywność metaboliczną bakterii *Pseudomonas psychrophila* KM02 wyizolowanej z ryb. Doktorantka sformułowała również siedem celów szczegółowych i przedstawiła trzy hipotezy badawcze. Analiza rynku spożywczego wskazuje na rosnącą podaż ryb, większą świadomość konsumentów w zakresie stosowania chemicznych konserwantów żywności oraz dążenie producentów do tzw. czystej etykiety (clean label) w celu spełnienia oczekiwań konsumentów. Badania mające na celu określenie możliwości zaburzania systemu quorum sensing poprzez zastosowanie olejków eterycznych oraz ich wpływ na metabolizm bakterii *Pseudomonas hydrophila* w celu ograniczenia procesów psucia uważam za zasadne i bardzo potrzebne. Podjęta tematyka pracy wpisuje się w światowe trendy a podjęte badania są w wielu aspektach nowatorskie i znacznie poszerzają wiedzę w zakresie mikrobiologii i technologii żywności.

Doktorantka doskonale przygotowała się do realizacji pracy czego efektem jest bardzo rzetelnie przygotowana publikacja przeglądowa dotycząca regulowania quorum sensing u *Pseudomonas* spp. Kolejne publikacje dotyczyły wyznaczenia subinhibicyjnych stężeń wybranych olejków eterycznych i składników bioaktywnych wobec *Pseudomonas* spp. oraz ocenę zmian w profilu kwasów tłuszczowych osłon komórkowych. Co należy podkreślić, Doktorantka nie korzystała z komercyjnych olejków eterycznych, a otrzymała je w procesie hydrodestylacji z wysuszonych ziaren pieprzu czarnego oraz liści estragonu a następnie wraz z zespołem przeprowadziła szczegółową charakterystykę składu chemicznego techniką GC-MS. Następnie przeprowadzono ocenę zdolności syntezy autoinduktorów i wpływ stopnia wiązania głównych składników olejków eterycznych z białkami receptorowymi quorum sensing *Pseudomonas* spp., tę część badań uważam za szczególnie ciekawą i unikatową. Ponadto

przeprowadzono analizę transkryptomu badanych bakterii, ocenę wpływu olejków i ich składników bioaktywnych na system efflux i T2SS. Przeprowadzono ponadto badania dotyczące właściwości proteolitycznych, lipolitycznych i zdolności do syntezy egzopolisacharydów przez *P. psychrophila* wykazując redukcję ww. po ekspozycji komórek na testowane czynniki. Dodatkowo wyniki te potwierdzono wykazując zmiany poziomu mRNA genów kodujących proteazy i lipazy oraz genów warunkujących syntezę egzopolisacharydów. Zwieńczeniem badań prowadzonych przez Doktorantkę jest ocena wzrostu badanych bakterii w modelowym produkcie spożywczym suplementowanym olejkami eterycznymi i wykazanie hamującego działania badanych olejków eterycznych czego efektem jest spowolnienie procesów psucia mięsa ryb.

Doktorantka w pełni zrealizowała założone cele pracy, na zakończenie sformułowała dziesięć poprawnych w moim odczuciu wniosków. Poszczególne publikacje łączą się w naprawdę bardzo dobrze przemyślany i rozbudowany cykl badań znacznie poszerzający dotychczasową wiedzę o metabolizmie bakterii *Pseudomonas* spp..

Po analizie całości dokumentacji nasuwa mi się do Doktorantki kilka pytań/zagadnień do dyskusji:

- jak Doktorantka i współpracownicy odbierali aromat łososia marynowanego z dodatkiem badanych olejków eterycznych, na ile był on akceptowalny?

- w streszczeniu i podsumowaniu pracy Doktorantka wskazała na wpływ olejków eterycznych oraz ich głównych składników na quorum sensing i aktywność metaboliczną badanych bakterii oraz zamieściła zdanie: „Powyższa zależność może spowolnić proces psucia ryb przechowywanych w warunkach chłodniczych, w który zaangażowany jest *P. psychrophila* KM02”. Mało prawdopodobne jest występowanie tego konkretnego szczepu w rybach, czy uważa Pani, że można to zdanie uogólnić i zastosować do rodzaju *Pseudomonas* lub gatunku *Pseudomonas hydrophila*?

- Doktorantka wskazała zalety stosowania subinhibicyjnych stężeń substancji przeciwdrobnoustrojowych, czy dostrzega również jakieś wady, niebezpieczeństwa stosowania takich stężeń w porównaniu ze stężeniami letalnymi?

WNIOSEK KOŃCOWY

Stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Natalii Małgorzaty Tomasz pt.: „Wpływ wybranych olejków eterycznych na metabolizm zależny od systemu quorum sensing u *Pseudomonas psychrophila* KM02 ”, spełnia wymagania zapisane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2018 poz.1668 z późn. zm.) jest bowiem samodzielnym i wartościowym dorobkiem naukowym, prezentuje wysoki poziom merytoryczny oraz wnosi do nauki wiele elementów poznawczych i ma znaczną wartość aplikacyjną.

Proszę Radę Naukową Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie pracy i dopuszczenie Pani mgr inż. Natalii M. Tomasz do publicznej obrony zawartych w niej tez.

Biorąc pod uwagę aktualność podejmowanych badań, ich wysoką wartość naukową, czego potwierdzeniem jest również opublikowanie prac wchodzących w skład pracy doktorskiej w czasopismach o bardzo dobrej renomie naukowej takich jak: *Food Control*, *Applied Sciences*, *Scientific Reports*, *Food Control* oraz zastosowanie najnowszych metod badawczych z różnych obszarów nauki i wartość aplikacyjną recenzowanej pracy wnoszę o jej wyróżnienie.

Anne Zede-owke