

Dr hab. inż. Barbara Sokołowska, prof. IBPRS

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego  
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy  
w Warszawie

Recenzja osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku naukowego,  
dydaktycznego i organizacyjnego dr inż. Agaty Urszuli Fabiszewskiej w związku z jej  
wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego

### ***Podstawa formalna recenzji***

Niniejsza recenzja została wykonana na podstawie decyzji Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, działającej na podstawie art. 221 ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574. ze zm.), powołującej mnie na recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego Pani dr inż. Agacie Urszuli Fabiszewskiej.

### ***Podstawowe dane o kandydacie***

Pani dr inż. Agata Urszula Fabiszewska ukończyła studia na Międzywydziałowym Studium Biotechnologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie w roku 2009 uzyskując **tytuł magister inżynier biotechnologii w zakresie biotechnologii w przemyśle spożywczym** (praca magisterska pt: „Ocena zdolności szczepów z rodzaju *Lactobacillus* do obniżania zawartości ochratoksyny A w środowisku”).

**Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia** uzyskała w roku 2013 na Wydziale Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie za pracę pt.: „Badania nad właściwościami katalitycznymi drożdży *Yarrowia lipolytica* w procesach biotransformacji”.

W latach 2010-2013 dr inż. Agata Urszula Fabiszewska była pracownikiem Zakładu Technologii Fermentacji Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, kolejno na stanowiskach stażysta, technolog i asystent.

Pani dr inż. Agata Urszula Fabiszewska jest pracownikiem Katedry Chemii Instytutu Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie od 2014, gdzie została zatrudniona początkowo na stanowisku asystenta, a od 2015 roku na stanowisku adiunkta badawczo-dydaktycznego. Nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

### **Obowiązujące przepisy prawa**

W dniu wszczęcia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego Pani dr inż. Agacie Urszuli Fabiszewskiej obowiązywała ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Niniejsza recenzja opiera się na wymaganiach określonych w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 tej ustawy (Dz.U. z 2022 r. poz. 574. ze zm.).

### **Ogólna ocena osiągnięć naukowych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia**

Na dzień wszczęcia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr inż. Agata Urszula Fabiszewska legitymowała się:

Sumarycznym współczynnikiem Imapct Factor: **112,829 (w tym 105,495 po uzyskaniu stopnia doktora)**

Sumaryczną punktacją ministerialną: **2454 (w tym 2269 po uzyskaniu stopnia doktora)**

Liczbą cytowań wg Scopus: **424**, wg Web of Science: **397**

Indeksem Hirscha: **13**

Dr inż. Agata Urszula Fabiszewska jest współautorem 82 oryginalnych prac twórczych, w tym 72 artykułów naukowych i 10 monografii. Jest współautorem 9 patentów i jednego zgłoszenia patentowego. Aktywnie uczestniczy w konferencjach krajowych i zagranicznych. Przed uzyskaniem stopnia doktora prezentowała wyniki badań na 19 konferencjach (postery i komunikaty ustne). Po uzyskaniu stopnia doktora prezentowała wyniki badań na 5 konferencjach, w tym wygłosiła jeden wykład plenarny na zaproszenie Uniwersytetu w Pakistanie.

Badania naukowe dr inż. Agaty Urszuli Fabiszewskiej skupiają się głównie na wykorzystaniu dwóch grup mikroorganizmów - drożdży z gatunku *Yarrowia lipolytica* oraz bakterii fermentacji mlekowej. Obejmują one takie zagadnienia jak:

- charakterystyka oraz zastosowanie kultur bakterii fermentacji mlekowej do poprawy jakości żywności i pasz,
- drożdże *Y. lipolytica* jako źródło enzymów lipolitycznych,
- enzymatyczna synteza potencjalnych dodatków do żywności z udziałem lipaz,
- pozyskiwanie cennych biotechnologicznie metabolitów w hodowli drożdży z gatunku *Y. lipolytica* ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania surowców odpadowych w podłożach hodowlanych.

Swoją działalność naukową Habilitantka zapoczątkowała badaniami prowadzonymi w ramach pracy magisterskiej w Zakładzie Technologii Fermentacji Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Uzyskała za nią nagrodę specjalną w 9. edycji konkursu firmy Bayer „Ambasador Zrównoważonego Rozwoju” i odbyła praktykę w ramach programu Bayer Young Environmental Envoys (BYEE) w Leverkusen (Niemcy). Realizowane w Zakładzie Fermentacji IBPRS badania dotyczyły charakterystyki oraz zastosowania kultur bakterii fermentacji mlekowej do wytwarzania preparatów do dekontaminacji żywności i pasz zanieczyszczonych mikotoksynami, obniżających liczebność drobnoustrojów patogennych w kiszonkach oraz preparatów do kiszenia roślinnych surowców odnawialnych przeznaczonych do produkcji biogazu. Efektem tych prac jest kilkadziesiąt publikacji i 8 patentów, w tym 7 już po

uzyskaniu stopnia doktora. Równoległe z pracą w IBPRS Habilitantka rozpoczęła badania związane z realizacją pracy doktorskiej na SGGW. Należy zaznaczyć, że współpraca naukowa z IBPRS była kontynuowana także po uzyskaniu stopnia doktora i zatrudnieniu Habilitantki w SGGW.

Drugim obszarem zainteresowań naukowych dr inż. Agaty Urszuli Fabiszewskiej są enzymy lipolityczne pochodzenia mikrobiologicznego. Habilitantka prowadziła prace dotyczące wpływu warunków hodowli, w tym składu pożywki hodowlanej i czasu jej trwania na aktywność enzymów lipolitycznych *Y. lipolytica*. Ważnym etapem tych doświadczeń były próby zastąpienia oliwy z oliwek, która stanowi modelowe źródło węgla dla tych drożdży, innymi olejami roślinnymi o zbliżonym lub odmiennym od oliwy składzie kwasów tłuszczowych oraz olejów odpadowych. Pracowała również nad różnymi formami preparatów, w tym unieruchamianych na nośnikach lub liofilizowanych. Ponadto oceniła możliwość wykorzystania ultradźwięków do uwalniania lipaz z wnętrza komórek drożdży. W tym obszarze badań Habilitantka jest współautorką kilkunastu artykułów naukowych i dwóch rozdziałów monografii.

Kolejny obszar zainteresowań Habilitantki to synteza potencjalnych dodatków do żywności prowadzona z udziałem lipaz. Habilitantka uczestniczyła w badaniach zastosowania lipaz syntezowanych przez drożdże *Y. lipolytica* w syntezie estrów zapachowych oraz lipaz syntezowanych przez drożdże z gatunków *Y. lipolytica* oraz *C. antarctica* do syntezy estrów związków fenolowych oraz terpenowych. Badania te obejmowały również aktywność przeciwdrobnoustrojową i przeciwutleniającą uzyskanych związków. Rezultaty tych badań przedstawiono w kilkunastu artykułach naukowych.

Obszar badawczy dotyczący pozyskiwania cennych biotechnologicznie metabolitów w hodowli drożdży z gatunku *Y. lipolytica*, ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania surowców odpadowych w podłożach hodowlanych, obejmuje szereg artykułów naukowych, w tym wskazanych jako osiągnięcie naukowe będące przedmiotem postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

W dorobku dr inż. Agaty Urszuli Fabiszewskiej znajdują się również prace przeglądowe dotyczące zastosowań lipidów pochodzenia mikrobiologicznego w produkcji paliwa typu biodiesel II generacji oraz w przemyśle farmaceutycznym, paszowym i spożywczym w suplementacji diety zwierząt oraz ludzi oraz prezentujące najnowszą wiedzę z zakresu utylizacji i bioupcyklingu odpadów przemysłowych w hodowli drożdży *Y. lipolytica*.

Habilitantka jest także współautorką artykułu przeglądowego opisującego taksonomię, morfologię, fizjologię oraz charakterystykę genetyczną gatunku *Y. lipolytica* i artykułu przeglądowego dotyczącego przypadków zakażeń drożdżami tego gatunku.

Podejmowane przez Habilitantkę tematy badawcze mają charakter interdyscyplinarny i są realizowane we współpracy z innymi jednostkami naukowymi: z Instytutem Przemysłu Organicznego (Sieć Badawcza Łukasiewicz) od roku 2016, z Zakładem Biologii Molekularnej Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk od roku 2017 oraz z Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego od roku 2018. W 2021 roku Habilitantka rozpoczęła współpracę z naukowcami z firmy InterAx Biotech AG (Villigen, Szwajcaria) oraz z Pompeu Fabra University.

Dr inż. Agata Urszula Fabiszewska, przed uzyskaniem stopnia doktora, brała udział w realizacji jednego projektu MNiSW, dwóch projektów w ramach Programu Innowacyjna Gospodarka, jednego projektu finansowanego przez MRiRW oraz kierowała grantem wewnętrznym SGGW dla młodych pracowników nauki. Po uzyskaniu stopnia doktora kierowała projektami finansowanymi przez NCN (1 projekt) i MEiN (1 projekt) oraz dwoma grantami wewnętrznymi SGGW dla młodych pracowników nauki. Aktualnie jest wykonawcą w projekcie NCN OPUS 15 realizowanym w ramach konsorcjum SGGW z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN.



**Ocena wskazanego przez dr inż. Agatę Urszulę Fabiszewską osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego**

Habilitantka przedstawiła do oceny jako osiągnięcie naukowe cykl powiązanych tematycznie sześciu artykułów naukowych pod wspólnym tytułem: „**Synteza oleju mikrobiologicznego przez drożdże *Yarrowia lipolytica* z wykorzystaniem odpadów przemysłu rybnego - dobór warunków procesu i badania nad szlakami metabolicznymi biosyntezy lipidów zapasowych**”. Cykl powstał w latach 2017-2022 i stanowią go następujące publikacje:

**Publikacja 1** - Agata Fabiszewska, Agnieszka Pielińska, Patrycja Mazurczak, Bartłomiej Zieniuk, Małgorzata Wołoszynowska (2017): Wpływ wybranych czynników na wydajność ekstrakcji i skład kwasów tłuszczowych otrzymywanego oleju mikrobiologicznego w komórkach drożdży *Yarrowia lipolytica*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 24 (1) (110), 59 – 69;

DOI:10.15193/zntj/2017/110/173

**MEiN 2017 = 13 pkt**

**Publikacja 2** – Agata Fabiszewska, Bartłomiej Zieniuk, Patrycja Mazurczak-Zieniuk, Małgorzata Wołoszynowska, Dorota Nowak (2019): Waste fish oil as an alternative carbon source in microbial oil production by *Yarrowia lipolytica* yeast. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 599, 3-13; DOI:10.22630/ZPPNR.2019.599.18

**MEiN 2019 = 20 pkt**

**Publikacja 3** – Agata Fabiszewska, Paulina Misiukiewicz-Stępień, Magdalena Paplińska-Goryca, Bartłomiej Zieniuk, Ewa Białecka-Florjańczyk (2019): An insight into storage lipids synthesis by *Yarrowia lipolytica* yeast relating to lipid and sugar substrates metabolism. *Biomolecules* 9(11), 1-13, nr artykułu 685; DOI:10.3390/biom9110685

**MEiN 2019 = 100 pkt IF 2019 = 4,082 IF 5-letni (2020) = 5,362**

**Publikacja 4** – Agata Fabiszewska, Bartłomiej Zieniuk, Mariola Kozłowska, Patrycja Mazurczak-Zieniuk, Małgorzata Wołoszynowska, Paulina Misiukiewicz-Stępień, Dorota Nowak (2021): Studies on upgradation of waste fish oil to lipid-rich yeast biomass in *Yarrowia lipolytica* batch cultures, *Foods* 10(2), 1-16, nr artykułu 436; DOI:10.3390/foods10020436

**MEiN 2021 = 100 pkt IF 2021 = 5,561 IF 5-letni (2021) = 5,940**

**Publikacja 5** – Agata Fabiszewska, Magdalena Paplińska-Goryca, Paulina Misiukiewicz-Stępień, Małgorzata Wołoszynowska, Dorota Nowak, Bartłomiej Zieniuk (2022): Expression profile of selected genes involved in storage lipids synthesis in a model oleaginous yeast species *Yarrowia lipolytica*. *International Journal of Molecular Sciences* 23(3), nr artykułu 1041; DOI:10.3390/ijms23031041

**MEiN 2021 = 140 pkt IF 2021 = 6,208 IF 5-letni (2021) = 6,628**

**Publikacja 6** – Agata Fabiszewska, Katarzyna Wierzchowska, Małgorzata Wołoszynowska, Dorota Nowak, Bartłomiej Zieniuk (2022): Brine and post-frying oil management in the fish processing

industry – a concept based on oleaginous yeast culture. Processes, 10, 1-12, nr artykułu 294; DOI:10.3390/pr10020294

**MEiN 2021 = 70 pkt IF 2021 = 3,352 IF 5-letni (2021) = 3,338**

#### **Podsumowanie**

**MEiN = 443 pkt IF 1-roczny = 19,203 IF 5-letni = 21,268**

Głównym celem naukowym Osiągnięcia będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego była ocena możliwości produkcji oleju mikrobiologicznego w hodowli drożdży z gatunku *Y. lipolytica* w podłożach zawierających surowce odpadowe przemysłu rybnego oraz analiza przebiegu szlaków metabolicznych prowadzących do syntezy tłuszczów zapasowych w podłożach zawierających lipidowe źródło węgla.

Habilitantka postawiła hipotezę badawczą, iż w podłożach zawierających lipidowe źródła węgla synteza tłuszczów mogłaby zachodzić w równoległe przebiegających dwóch szlakach metabolicznych *de novo* i *ex novo*. Habilitantka sformułowała również dodatkową hipotezę, że możliwe jest nowatorskie rozwiązanie spełniające zasady ekonomii o obiegu zamkniętym, polegające na utylizacji surowców odpadowych przemysłu rybnego z jednoczesną syntezą metabolitów (głównie tłuszczów) na drodze biotechnologicznej, które mogą być wykorzystane jako cenny składnik dla przemysłu spożywczego i farmaceutycznego.

Cykl powiązanych tematycznie sześciu artykułów naukowych skupia się na trzech przedstawionych poniżej zagadnieniach.

**Zagadnieniu zastosowania odpadowego oleju po procesie wędzenia ryb w hodowli drożdży olejogennych z gatunku *Yarrowia lipolytica* poświęcone są publikacje P1, P2 i P4.**

W publikacji P1 zatytułowanej *Wpływ wybranych czynników na wydajność ekstrakcji i skład kwasów tłuszczowych otrzymywanego oleju mikrobiologicznego w komórkach drożdży *Yarrowia lipolytica** przedstawiono metodologię oceny zawartości tłuszczu w komórkach drożdży.

Oceniono wpływ wybranych czynników, takich jak rodzaj rozpuszczalnika, sposób przygotowania próbki oraz czas trwania procesu, na wydajność ekstrakcji oleju mikrobiologicznego syntezowanego w komórkach drożdży *Y. lipolytica*, prowadzonej w aparacie Soxhleta oraz na skład kwasów tłuszczowych w uzyskanym oleju.

Wykazano, że najskuteczniejszą z badanych metod przygotowania próbki do ekstrakcji była dezintegracja komórek z wykorzystaniem detergentów za pomocą preparatu litycznego Y-PER w porównaniu z metodą chemiczną, mechaniczną oraz skojarzoną. Rodzaj użytego rozpuszczalnika organicznego oraz czas ekstrakcji liczony liczbą przelewów w aparacie Soxhleta nie miały istotnego wpływu na wydajność procesu w przeprowadzonym układzie doświadczalnym. Rodzaj rozpuszczalnika miał natomiast istotny wpływ na zawartość kwasów tłuszczowych zidentyfikowanych w lipidach drożdży. W planowaniu doświadczeń i opracowaniu wyników wykorzystano metody statystyczne. Jednakże z uwagi na wysoki koszt metody w dalszych eksperymentach ostatecznie zdecydowano się na stosowanie tradycyjnej maceracji

suchej biomasy z piaskiem, która dawała satysfakcjonujące wyniki ekstrakcji tłuszczów wewnątrzkomórkowych.

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki badań poza oznaczeniem składu kwasów tłuszczowych, wykonaniu części doświadczeń, wiodącym udziale w opracowaniu, analizie i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, wiodącym udziale w przygotowanie manuskryptu artykułu jako autor korespondencyjny, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 70%.

W publikacji P2 zatytułowanej *Waste fish oil as an alternative carbon source in microbial oil production by Yarrowia lipolytica yeast* opisano próbę wykorzystania odpadowego oleju po procesie wędzenia ryb, jako źródła węgla, w podłożach stymulujących kumulację lipidów zapasowych w komórkach drożdży z gatunku *Y. lipolytica*

Uzyskane wyniki potwierdziły zdolność badanego szczepu drożdży do hydrolizy triacylogliceroli zawartych w oleju po procesie wędzenia ryb, których produkty (wolne kwasy tłuszczowe) zostały pobrane przez komórkę i wykorzystane jako źródło węgla i energii. Najwyższą wydajność biosyntezy lipidów wewnątrzkomórkowych przez szczep drożdży *Y. lipolytica* KKP 379 obserwowano w kontrolnej pożywce mineralnej z dodatkiem oliwy z oliwek, jednakże lipidy magazynujące wytworzono również w pożywce z odpadowym olejem rybim.

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki badań poza oznaczeniem składu kwasów tłuszczowych, wykonaniu części doświadczeń, wiodącym udziale w opracowaniu, analizie i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu artykułu jako autor korespondencyjny, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 60%.

Publikacja 4 zatytułowana *Studies on upgradation of waste fish oil to lipid-rich yeast biomass in Yarrowia lipolytica batch cultures* przedstawia wyniki badań mających na celu modyfikację parametrów hodowli, która pozwoliłaby na uzyskanie biomasy zasobnej w olej mikrobiologiczny w ilości powyżej 20% suchej masy. Wyekstrahowany olej mikrobiologiczny był bogaty w takie składniki odżywcze jak wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT) z szeregu omega-3, w tym kwas eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) oraz polifenole. Wykazano, że komórki drożdży pobierały WNKT z surowca odpadowego i kumulowały w postaci tłuszczów zapasowych. Zaobserwowano, że w lipidach wewnątrzkomórkowych znajdowały się kwasy tłuszczowe zawierające więcej niż 20 atomów węgla (kwas behenowy, erukowy i lignocerynowy). W pracy tej oceniono także wpływ natlenienia, regulacji pH oraz ilości inokulum na wydajność biosyntezy oleju mikrobiologicznego.

Regulacja pH nie wpłynęła na wydajność kumulacji lipidów komórkowych. Natomiast zwiększenie natlenienia pożywki oraz zmniejszenie ilości inokulum pozytywnie wpłynęło na parametry hodowli.

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji oraz metodyki badań, udziale w realizacji prac eksperymentalnych, wiodącym udziale w opracowaniu, analizie i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu artykułu jako

384

autor korespondencyjny, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 65%.

**Badania nad szlakami metabolicznymi biosyntezy lipidów zapasowych w podłożach zawierających lipidowe źródło węgla przedstawiono w publikacjach P3 i P5.**

Badania przedstawione w trzeciej publikacji P3 zatytułowanej *An insight into storage lipids synthesis by Yarrowia lipolytica yeast relating to lipid and sugar substrates metabolism* obejmowały analizę przebiegu szlaków biosyntezy lipidów zapasowych w komórkach drożdży *Y. lipolytica* w podłożach modelowych zawierających wyłącznie lipidowe źródło węgla (oliwę z oliwek) oraz w podłożu kontrolnym zawierającym cukier prosty (glukozę).

Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na sformułowanie wniosku, że skład oleju mikrobiologicznego ekstrahowanego z komórek drożdży *Y. lipolytica* jest istotnie zależny od zastosowanego rodzaju źródła węgla w podłożu hodowlanym. Rodzaj źródła węgla istotnie wpływał także na kinetykę kumulacji tłuszczów w komórkach drożdży oraz ekspresję badanych genów *POX2* i *ACL*. Niezależnie od źródła węgla zastosowanego w podłożu hodowlanym triacyloglicerole wyekstrahowane z biomasy drożdży zawierały w dominującej ilości kwas oleinowy (C18:1).

Badania wykazały możliwość jednoczesnej biosyntezy lipidów zapasowych w komórkach drożdży *Y. lipolytica* szlakami *de novo* i *ex novo* w podłożach zawierających wyłącznie lipidowe źródło węgla.

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, sformułowaniu hipotezy badawczej, opracowaniu metodyki badań poza analizami genetycznymi, wykonaniu części doświadczeń obejmujących hodowle drożdży, wiodącym udziale w opracowaniu, analizie i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu artykułu jako autor korespondencyjny, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 60%.

Publikacja P5 zatytułowana *Expression profile of selected genes involved in storage lipids synthesis in a model oleaginous yeast species Yarrowia lipolytica* stanowi weryfikację hipotezy sformułowanej na podstawie wyników publikacji P3 dotyczącej możliwości jednoczesnej biosyntezy lipidów zapasowych w komórkach drożdży *Y. lipolytica* szlakami *de novo* i *ex novo* w podłożach zawierających wyłącznie lipidowe źródło węgla.

Przeprowadzono hodowle okresowe szczepu drożdży *Y. lipolytica* KKP379 w bioreaktorze laboratoryjnym, w podłożach kontrolnych (bogaty w źródło węgla i azotu) oraz w podłożach doświadczalnych stymulujących syntezę lipidów zapasowych, o limitowanej zawartości źródła azotu, zawierające glukozę lub oliwę z oliwek, jako źródło węgla. W trakcie tych hodowli oznaczano plon biomasy drożdży, aktywność enzymów lipolitycznych syntezowanych przez komórki, zawartość i skład lipidów niewykorzystanych do wzrostu przez drożdże i pozostałych w podłożu hodowlanym oraz skład tłuszczów syntezowanych przez drożdże, co pozwoliło na szczegółowy opis kolejnych faz wzrostu drożdży w zróżnicowanych podłożach hodowlanych. Oceniono poziom ekspresji wybranych genów techniką ilościowego real time PCR (RT-qPCR) w kolejnych fazach wzrostu. Analizowano ekspresję mRNA dla kluczowych enzymów szlaków biosyntezy tłuszczów wewnątrzkomórkowych, takich jak:



- NAD-zależna dehydrogenaza izocytrynianowa (ICDH, hamowana w szlaku *de novo*),
- ATP-zależna liaza cytrynianowa (Acl, o wysokiej aktywności w szlaku *de novo*),
- oksydaza II acylo-CoA (Aox2, o wysokiej aktywności w szlaku *ex novo* w obecności kwasów tłuszczowych),
- kompleks syntaz kwasów tłuszczowych (FAS, o wysokiej aktywności w szlaku *de novo*),
- acylotransferaza diacyloglicerolu (DAG, aktywna w obu szlakach).

Zaobserwowano, że badane enzymy szlaku *de novo* nie były całkowicie hamowane na etapie transkrypcji przez obecne w podłożu i pobierane do wnętrza komórki kwasy tłuszczowe oraz, że zawartość lipidów wewnątrzkomórkowych syntezowanych w szlaku *ex novo* była w pewnym stopniu zależna od limitacji źródła azotu.

Mimo iż w podłożach z lipidowymi źródłami węgla synteza tłuszczów przebiegała głównie szlakiem *ex novo*, to aktywność genów kodujących enzymy szlaku *de novo* w tych podłożach może sugerować niewielki wpływ tego procesu na końcową wydajność produkcji oleju mikrobiologicznego w komórce.

Przedstawione wyniki badań wskazują, że w zależności od warunków środowiska jeden szlak biosyntezy tłuszczów zapasowych przeważa nad drugim. Zaproponowany przez autorów schemat łączy obydwie szlaki biochemiczne, w którym kluczowy jest udział acetylo-CoA, pochodzącego z  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych w podłożach z lipidowym źródłem węgla, w reakcji katalizowanej przez syntazę kwasów tłuszczowych, uznawaną za enzym szlaku *de novo*.

Autorzy przypuszczają, że komórki *Yarrowia lipolytica* potrafią dość sprawnie przełączać szlaki biochemiczne i wykazywać istotną zdolność do szybkiej zmiany swojego metabolizmu w dynamicznie zmieniających się warunkach hodowli.

Ponadto autorzy uznali, że acylotransferaza diacyloglicerolu może być dobrym markerem procesu syntezy tłuszczów zapasowych.

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji oraz części metodyki badań, udziale w realizacji prac eksperymentalnych, wiodącym udziale w opracowaniu, analizie i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu artykułu jako autor korespondencyjny, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 70%.

**Zagadnienie zastosowania posmażalniczego oleju rzepakowego oraz odpadowej solanki w hodowli drożdży olejogennych z gatunku *Yarrowia lipolytica* przedstawiono w publikacji P6 zatytułowanej *Brine and post-frying oil management in the fish processing industry – a concept based on oleaginous yeast culture*. Olej posmażalniczny okazał się łatwo przyswajalnym źródłem węgla dla drożdży z gatunku *Y. lipolytica*. Stosując odpowiednie natlenianie pożywki uzyskano wysoką wydajność biomasy i syntezy lipidów wewnątrzkomórkowych. Zoptymalizowano dodatek solanki do pożywki hodowlanej. Badania te dowiodły, że stosowanie oleju rzepakowego posmażalniczego daje szansę na uzyskanie cennych lipidów zapasowych (takich jak: kwas oleinowy, kwas linolowy i kwas linolenowy) w komórkach drożdży *Y. lipolytica* na drodze biosyntezy *ex novo*.**

Wkład Habilitantki w powstanie tej publikacji polegał na Opracowanie koncepcji oraz metodyki badań, wykonanie części doświadczeń, wiodący udział w opracowaniu, analizie i interpretacji

wyników oraz przygotowanie manuskryptu artykułu jako autor korespondencyjny i odpowiedzi na recenzje artykułu. Habilitantka oceniła swój wkład na 75%.

Na podstawie przeprowadzonych badań Habilitantka sformułowała następujące wnioski:

1. Drożdże niekonwencjonalne z gatunku *Y. lipolytica* potrafią wykorzystać jako źródło węgla odpadowe surowce pochodzące z zakładu przetwórstwa ryb – odpadowy olej powstały z wytopienia tłuszczu w procesie wędzenia ryb oraz odpadowy olej rzepakowy po smażeniu filetów rybnych. W szczególności komórki drożdży *Y. lipolytica* są zdolne do zagospodarowania wymienionych odpadowych surowców w mikrobiologicznej syntezie tłuszczów zapasowych.
2. Możliwe jest zagospodarowanie strumienia ścieków poprodukcyjnych w postaci odpadowej solanki pochodzącej z zakładów rybnych, a tym samym zmniejszenia ilości zużywanej wody, w biotechnologicznej metodzie produkcji oleju mikrobiologicznego w komórkach drożdży *Y. lipolytica*.
3. Proces biosyntezy tłuszczów wewnątrzkomórkowych wymaga intensywnego natlenienia hodowli w celu uzyskania wysokiej wydajności kumulacji lipidów zapasowych.
4. Olej mikrobiologiczny uzyskany w hodowli drożdży *Y. lipolytica* w podłożu z odpadowym olejem po procesie wędzenia ryb zawierał wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3: kwas dokozaheksaenowy oraz eikozapentaenowy, które są składnikami żywności niezbędnymi dla prawidłowego funkcjonowania organizmu.
5. Synteza tłuszczów wewnątrzkomórkowych w szlaku *ex novo* była w pewnym stopniu zależna od limitacji źródła azotu w podłożu, a badane enzymy szlaku *de novo* nie były całkowicie hamowane na etapie transkrypcji przez obecne w podłożu i pobierane do wnętrza komórki kwasy tłuszczowe. Można zatem stwierdzić, że w podłożach z lipidowymi źródłami węgla synteza tłuszczów zapasowych może zachodzić równolegle z uruchomieniem dwóch szlaków biochemicznych *ex novo* i *de novo*.

Innowacyjność i użyteczność podjętej tematyki badawczej potwierdza uzyskany patent chroniący rozwiązanie zastosowania odpadowego oleju po procesie wędzenia ryb jako źródła węgla w podłożach do hodowli drożdży olejogennych oraz zgłoszenie patentowe opisujące sposób wytwarzania oleju mikrobiologicznego z hodowli mikroorganizmów olejogennych z jednoczesną utylizacją solanki pochodzącej z zakładów rybnych.

Przedstawiony w Osiągnięciu cykl publikacji pozwolił na pogłębienie wiedzy z zakresu biochemii szlaków biosyntezy tłuszczów zapasowych w komórkach olejogennych drożdży *Y. lipolytica*. W sposób szczególny poszerzona i uzupełniona została wiedza dotycząca szlaku *ex novo* w podłożach zawierających lipidowe źródło węgla. W pełni zgadzam się z opinią Habilitantki, że największym osiągnięciem naukowym tego cyklu są badania dotyczące szlaków biochemicznych syntezy lipidów zapasowych na poziomie molekularnym, realizowanych do tej pory dla modelowego gatunku *Y. lipolytica* wyłącznie na poziomie fenotypowym.

Potwierdzono postawioną hipotezę badawczą, iż w podłożach zawierających lipidowe źródła węgla synteza tłuszczów może zachodzić w równoległe przebiegających dwóch szlakach

metabolicznych *de novo* i *ex novo*. Dodatkowo stwierdzono, że możliwe jest nowatorskie rozwiązanie spełniające zasady ekonomii o obiegu zamkniętym, a polegające na utylizacji surowców odpadowych przemysłu rybnego z jednoczesną syntezą tłuszczów na drodze biotechnologicznej.

**Podsumowując, zarówno cały dorobek naukowy jak i cykl publikacji „Synteza oleju mikrobiologicznego przez drożdże *Yarrowia lipolytica* z wykorzystaniem odpadów przemysłu rybnego - dobór warunków procesu i badania nad szlakami metabolicznymi biosyntezy lipidów zapasowych”, który został zrecenzowany i opublikowany w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, oceniam jako wnoszący znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej technologia żywności i żywienia. Habilitantka oszacowała swój wkład w powstanie poszczególnych publikacji od 60 do 75% (średnio 66,7%).**

#### ***Osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę***

Osiągnięcia dr inż. Agaty Urszuli Fabiszewskiej w zakresie dydaktyki, prac organizacyjnych i popularyzatorskich również zasługują na podkreślenie.

Dr inż. Agata Urszula Fabiszewska prowadzi ćwiczenia laboratoryjne, ćwiczenia audytoryjne oraz wykłady z zakresu chemii ogólnej, nieorganicznej oraz organicznej. Pełniła również funkcje koordynatora trzech przedmiotów na trzech różnych Wydziałach SGGW.

Od 2014 roku jest zaangażowana w prace Koła Naukowego Biotechnologów KNBiotech, gdzie była opiekunem projektów badawczych studentów sekcji biokatalizy enzymatycznej, wielokrotnie nagradzanych oraz wyróżnianych, a od 2017 roku jest opiekunem tego Koła.

Dr inż. Agata Urszula Fabiszewska była promotorem 11 prac magisterskich, 9 prac inżynierskich oraz 1 pracy licencjackiej studentów SGGW oraz recenzentem 15 prac inżynierskich i 1 pracy magisterskiej. Obecnie pełni rolę promotora jednej pracy magisterskiej oraz trzech prac inżynierskich. Była promotorem pomocniczym w jednym zakończonym przewodzie doktorskim i w dwóch aktualnie realizowanych.

Dr inż. Agata Urszula Fabiszewska aktywnie włącza się w działalność organizacyjną Instytutu Nauk o Żywności SGGW w Warszawie, Wydziału Technologii Żywności i Wydziału Ogrodnictwa i Biotechnologii.

Ponadto dr inż. Agata Urszula Fabiszewska jest członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Prowadzi również aktywną działalność na rzecz środowiska naukowego jako edytor w czasopiśmie naukowych i recenzent prac.

### **Konkluzja**

Biorąc pod uwagę ogólny dorobek naukowy, osiągnięcie naukowe, jakie stanowi cykl powiązanych tematycznie sześciu artykułów naukowych pod wspólnym tytułem „**Synteza oleju mikrobiologicznego przez drożdże *Yarrowia lipolytica* z wykorzystaniem odpadów przemysłu rybnego - dobór warunków procesu i badania nad szlakami metabolicznymi biosyntezy lipidów zapasowych**”, osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne oraz spełnienie przez kandydatkę kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej stwierdzam, że dr inż. Agata Urszula Fabiszewska spełnia wymagania stawiane osobom kandydującym do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego określonych w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. z 2022 r. poz. 574).

Z uwagi na innowacyjność oraz interdyscyplinarne i nowatorskie podejście do prowadzonych przez dr inż. Agatę Urszulę Fabiszewską prac, zwracam się do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z wnioskiem o wyróżnienie osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem postępowania w sprawie nadania jej stopnia doktora habilitowanego.

30.01.2023

*Bobkowska*