



# Politechnika Łódzka

Instytut Technologii i Analizy Żywności

Łódź, 28.08.2022 r.

prof. dr hab. inż. Dorota Żyżelewicz  
Instytut Technologii i Analizy Żywności  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Politechnika Łódzka

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Petki

pt.: „Ocena oddziaływań pomiędzy akrylamidem a mikroorganizmami występującymi w produktach fermentowanych”

z dziedziny nauk rolniczych; dyscypliny: technologia żywności i żywienia

**Promotor: prof. dr hab. Aleksandra Duda-Chodak**

Recenzję sporządzono na podstawie:

- pisma Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie – dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK - znak DTŻ 520-23-116/2022 z dnia 14 czerwca 2022 r., w sprawie wykonania recenzji rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Petki pt.: „Ocena oddziaływań pomiędzy akrylamidem a mikroorganizmami występującymi w produktach fermentowanych” w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie: technologia żywności i żywienia,
- umowy o dzieło na recenzję zawartej w dniu 21 czerwca 2022 r. o sygnaturze K/704/2022/WTŻ,
- art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. jedn. Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.),
- przesłanej przez Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Petki.

Pani mgr inż. Katarzyna Petka pracę doktorską wykonała w Katedrze Technologii Fermentacji i Mikrobiologii na Wydziale Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Badania Doktorantki były finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu OPUS 11 (nr 2016/21/B/NZ9/01171). Rozprawa doktorska została przygotowana w 2022 roku.

### **Ocena wyboru i znaczenia podjętej tematyki badawczej**

Akrylamid jest niepożądanym związkiem występującym w żywności, z uwagi na jego negatywny wpływ na organizmy ludzi i zwierząt. Został sklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) jako substancja „prawdopodobnie kancerogenna dla ludzi”. Wykazano, że ma właściwości genotoksyczne i mutagenne a długotrwała ekspozycja na wysokie stężenia akrylamidu może powodować uszkodzenia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. W produktach spożywczych związek ten powstaje głównie w czasie termicznej obróbki żywności wysokowęglowodanowej w temperaturach przekraczających 120 °C, przede wszystkim na drodze reakcji Maillarda. Najważniejszymi prekursorami tworzenia się akrylamidu są glukoza i asparagina. Dotychczas opublikowano wiele badań, których wyniki wskazują na możliwości zmniejszenia syntezy akrylamidu w żywności, jednakże nie opracowano i nie opisano metody pozwalającej na redukcję stężenia tego związku już wytworzonego, obecnego w produkcie. Potrzebę przeprowadzania badań w tym kierunku zauważyła mgr inż. Katarzyna Petka i zrealizowała je w ramach swojej pracy doktorskiej.

### **Ocena formalna**

Rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Petki składa się z cyklu trzech artykułów oryginalnych, opublikowanych w latach 2020-2022 w recenzowanych czasopismach naukowych indeksowanych na liście Journal Citation Reports (JCR) o łącznym współczynniku wpływu Impact Factor (IF) 14,215 i sumarycznej punktacji „ministerialnej” 310 pkt (uwzględniając zmiany wynikające z komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dn. 1.12.2021 r.). We wszystkich jest pierwszym autorem, w żadnym – autorem korespondencyjnym. Udział Doktorantki jako współautorki publikacji określony został na 80% w publikacjach 1 i 2 oraz na 70% w publikacji 3. Wszystkie artykuły włączone do cyklu publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora ukazały się w czasopismach wydawnictwa MDPI: Nutrients (IF=5,719), Toxics (IF=4,146) i Foods (IF=4,350). Wg baz Web of Science Core Collection oraz Scopus, na dzień sporządzenia recenzji, jedynie publikacja 3 doczekała się cytowań bez autocytowań w ilości odpowiednio 5 i 6.

Do cyklu publikacji rozprawy doktorskiej dołączone jest 40-stronicowe opracowanie - komentarz Doktorantki wraz ze streszczeniami rozprawy w języku polskim i angielskim, spisem referencji do komentarza oraz oświadczeniami o wkładzie procentowym współautorów artykułów. Układ przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej jest właściwy dla eksperymentalnych prac doktorskich w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów.

### **Ocena merytoryczna**

Rozdział 1 komentarza do cyklu publikacji, **Wprowadzenie**, to krótkie opracowanie nakreślające tło badań, w którym Doktorantka w sposób syntetyczny podsumowuje dotychczasową literaturę naukową w zakresie metod degradacji i obniżania stężenia akrylamidu w żywności. Autorka położyła nacisk na kluczowe wyniki prac nad możliwością degradacji tego związku przez mikroorganizmy: środowiskowe, wykorzystywane w procesach produkcji żywności, stanowiące rodzimą mikrobiotę produktów spożywczych oraz naturalnie występującą w jelitach człowieka. Przegląd piśmiennictwa pozwolił mgr inż. Katarzynie Petce dostrzec niezbadane jeszcze obszary wiedzy, które postanowiła zgłębić. Dotyczyły one wzajemnych

oddziaływać w różnych warunkach akrylamidu i mikroorganizmów żywności fermentowanej, w tym bakterii fermentacji mlekowej (LAB).

Rozdział 2 to poprawnie i syntetycznie postawione **cel** oraz trzy **hipotezy badawcze**. Celem badań Doktorantki było poznanie interakcji pomiędzy akrylamidem a mikroorganizmami (LAB, drożdże) występującymi w mlecznych produktach fermentowanych i kiszonkach. Wyroby te są głównym źródłem żywych kultur bakterii kwasu mlekowego w naszej diecie. Autorka przyjęła następujące trzy hipotezy badawcze:

1. Akrylamid hamuje wzrost i metabolizm mikroorganizmów obecnych w żywności.
2. Składniki żywności mogą zmniejszać inhibitorowe działanie akrylamidu na drobnoustroje.
3. Niektóre gatunki drobnoustrojów obecnych w żywności mają zdolność do obniżania stężenia akrylamidu.

Hipotezy te były przez Doktorantkę stopniowo weryfikowane w kolejnych etapach badań:

1. Ocena wpływu akrylamidu na różne bakterie i drożdże występujące w fermentowanej żywności, w tym ich liczebność i żywotność oraz wybór gatunków do dalszych badań szczegółowych - badania wstępne (przesiewowe).
2. Ocena wpływu akrylamidu na wzrost wybranych drobnoustrojów występujących w żywności fermentowanej – wpływ różnych stężeń akrylamidu, pH, temperatury, ocena możliwości wykorzystania akrylamidu (wytwarzania amidaz) przez wybrane mikroorganizmy (badania w roztworach modelowych).
4. Ocena możliwości degradacji akrylamidu przez wybrane mikroorganizmy – badania w roztworach modelowych oraz weryfikacja w warunkach rzeczywistych (wpływ składników matrycy żywności).
5. Badanie wpływu akrylamidu na metabolizm wybranych drobnoustrojów.

Wyniki wykonanych prac doświadczalnych zostały opublikowane w postaci trzech artykułów naukowych, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej.

W Rozdziale 3 opisane zostały materiał badawczy i stosowane metody doświadczalne. **Materiał badawczy** stanowiło początkowo w sumie 16 szczepów drożdży i LAB (w tym probiotycznych) z rodzaju *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Kluyveromyces* i *Saccharomyces*, występujących w żywności fermentowanej, zakupionych w Leibniz Institut DSMZ w Niemczech lub Christian Hansen w Danii. W wyniku przeprowadzonych badań przesiewowych do dalszych badań wyselekcjonowano 5 (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Kluyveromyces lactis* var. *lactis*), a następnie jeden szczep mikroorganizmów (*L. acidophilus* LA-5). Komentarz do spójnego tematycznie zbioru artykułów będącego podstawą do ubiegania się o stopień doktora zawiera **opis** prowadzonych **eksperymentów** oraz wykorzystanych **metod badawczych**, w tym z zastosowaniem nowoczesnych technik analitycznych, takich jak cytometria przepływowa, chromatografie: gazowa i cieczowa. Dobór metod jest adekwatny do prowadzonych badań.

Omówienie **wyników badań** w całości przedstawionych w artykułach oryginalnych wchodzących w skład tematycznie spójnego zbioru publikacji będącego podstawą rozprawy doktorskiej Doktorantka zamieściła w Rozdziale 4. Założenia badawcze oraz otrzymane rezultaty

zostały już wcześniej zweryfikowane przez współautorów oraz recenzentów artykułów i dlatego ich nie komentuję.

Cykl publikacji współautorstwa mgr inż. Katarzyny Petki stanowi pewną całość. Doktorantka rozpoczęła od badań wstępnych, opisanych w publikacji 1. Wynika z nich, że akrylamid nie miał toksycznego działania na badane w ramach pracy doktorskiej korzystne dla zdrowia ludzi szczepy bakterii jelitowych z rodzaju *Lactobacillus*. Wykazywały one tolerancję na wysokie stężenia tego związku, wyższe od stężeń występujących w żywności. Co więcej, obecność akrylamidu w podłożu hodowlanym stymulowała wzrost niektórych z nich. Wyszukiwano także hipotezę, że niektóre szczepy LAB mogą wykorzystywać akrylamid jako źródło węgla i azotu. Następnie, w publikacji 2 wykazano, że akrylamid może stymulować wzrost probiotycznego szczepu *L. acidophilus* LA-5 i drożdży *K. lactis* var. *lactis*, a *L. acidophilus* LA-5, często obecny w jogurtach, jest w stanie wykorzystać akrylamid jako źródło węgla i azotu, przy niedoborze tych pierwiastków w środowisku, przypuszczalnie na drodze jego degradacji z udziałem amidaz. Potwierdzono, że istotnymi czynnikami wpływającymi na utylizację tego związku są pH, temperatura i czas inkubacji. W celu weryfikacji, czy w środowisku żywności będącej bogatym źródłem związków odżywczych, ale z dodatkami, w których zawarty jest akrylamid szczep *L. acidophilus* LA-5 również będzie wykorzystywał ten związek jako źródło węgla i azotu prowadzono kolejny etap badań. Ich wyniki, zawarte w publikacji 3, wykazały, że ww. probiotyczny szczep LAB może degradować akrylamid i zmniejszać jego stężenie jedynie w sytuacji, gdy w środowisku brakuje innych dostępnych źródeł węgla i azotu. W obecności kazeiny, laktozy, tłuszczu mlecznego lub mleka krowiego takiej zdolności *L. acidophilus* LA-5 nie zaobserwowano. Oznacza to, że w jogurtach i innych fermentowanych napojach mlecznych z dodatkami zawierającymi akrylamid (muesli, prażone orzechy, ciastka i inne) obniżenie jego stężenia nie wystąpi. Dodatkowo stwierdzono, że przy niektórych stężeniach tego związku (100 µg/ml) akrylamid obecny w mleku moduluje metabolizm badanych bakterii poprzez znaczne zwiększenie produkcji kwasu mlekowego, może zatem wpływać na właściwości organoleptyczne i brak akceptacji konsumenckiej wyrobów gotowych.

We wszystkich artykułach stanowiących zbieżny tematycznie zbiór publikacji Autorka dokonuje krytycznej analizy otrzymanych wyników badań. Ich interpretacja nie budzi zastrzeżeń. Cel pracy został zrealizowany a hipotezy badawcze, ze względu na stosunkowo ogólne ich sformułowanie, zostały potwierdzone. Wszystkie trzy publikacje cyklu wnoszą nową wiedzę do obszaru wiedzy związanego z technologią żywności i żywieniem a także są interesujące dla technologów oraz producentów żywności, zwłaszcza publikacja 3. Dają one odpowiedzi na wiele problemów, w tym natury aplikacyjnej.

Rezultaty przeprowadzonych badań pozwoliły Doktorantce wyciągnąć siedem **wniosków**, które zamieściła w oddzielnym rozdziale opracowania - Rozdziale 5. Są one sformułowane poprawnie, wynikają jednoznacznie z analizy uzyskanych wyników eksperymentów i potwierdzają postawione przez mgr inż. Katarzynę Petkę hipotezy badawcze.

**Bibliografia** zamieszczona w komentarzu do cyklu publikacji liczy 27 anglojęzycznych pozycji, ściśle związanych z tematyką badań. Większość z nich ukazała się w ciągu ostatnich dziesięciu lat. Dobór referencji do artykułów w cyklu publikacji jest właściwy.

### **Charakterystyka stylu i poprawności językowej pracy**

Cykl publikacji oraz komentarz do nich są napisane zrozumiałym, poprawnym oraz komunikatywnym językiem. Dokumentacja została przygotowana starannie. W komentarzu można odnaleźć niewiele tzw. błędów edytorskich czy stylistycznych, które nie wpływają na wartość opracowania i ich nie wymieniam.

### **Wybrane uwagi do opracowania**

W mojej opinii recenzja już opublikowanych prac wraz z komentarzem do nich na ogół zawiera mniej ewentualnych uwag niż rozprawa doktorska w „tradycyjnej” formie, ze względu na wcześniejszą weryfikację przez recenzentów czasopism naukowych założeń badań, otrzymanych rezultatów i wyciągniętych wniosków. Dlatego, w zasadzie nie mam większych uwag do recenzowanej dysertacji, poza tym, że czasem Doktorantka stosuje skróty myślowe, takie jak np. na stronie 25 (drugi akapit od góry), gdy informuje, że do oceny liczebności i żywotności komórek z wykorzystaniem metody cytometrii przepływowej wybrała „3 bakterie”, zamiast „trzy szczepy bakterii”. Tego rodzaju sformułowanie występuje w komentarzu do publikacji kilka razy. Jednakże, takie niedociągnięcia nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanego opracowania.

### **Pytania**

Rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Petki to opracowanie dobrze przemyślane, w którym eksperymenty zostały zaplanowane a ich wyniki opisane w sposób logiczny. Po analizie cyklu publikacji i komentarza do nich, nasunęły mi się jednak poniższe pytania i zagadnienia do skomentowania przez Doktorantkę w czasie publicznej obrony pracy doktorskiej.

1. Czy Doktorantka mogłaby wyrazić swoją opinię dotyczącą tego, które z otrzymanych wyników badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej uważa za swoje największe osiągnięcie oraz wyjaśnić dlaczego tak uważa?
2. Który z wątków swoich badań należałoby kontynuować lub rozszerzyć o dodatkowe aspekty i dlaczego?

### **Podsumowanie i wniosek końcowy**

W mojej opinii przedłożona do recenzji praca stanowi nowy i oryginalny wkład do wiedzy w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia w zakresie wpływu mikroorganizmów na stężenie akrylamidu w środowisku modelowym i przykładowym środowisku rzeczywistym, a także wpływu tego związku na metabolizm wybranych drobnoustrojów.

Recenzowana rozprawa doktorska jest opracowaniem zwięzłym. Oryginalne rozwiązanie problemu naukowego zostało przeprowadzone w sposób przemyślany a badania dobrze zorganizowane, co świadczy o dojrzałości Doktorantki jako naukowca. Autorka wykazała się znajomością własnej tematyki badawczej. Oceniana przeze mnie dysertacja jest opracowaniem samodzielnym o znamionach poznawczych i aplikacyjnych.

**Stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Katarzyny Petki pt.: „Ocena oddziaływań pomiędzy akrylamidem a mikroorganizmami występującymi w produktach fermentowanych”**

spełnia wszystkie warunki rozprawy doktorskiej, określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. jedn. Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.), zawierając oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Dorota Żyżelewicz*

.....  
prof. dr hab. inż. Dorota Żyżelewicz