

prof. dr hab. inż. Małgorzata Krzywonos
Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
Wydział Zarządzania
Katedra Zarządzania Procesami

Wrocław, dnia 13.04.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Nowosad

pt. „Wpływ elektroporacji na akumulację jonów żelaza w komórkach drożdży
Saccharomyces cerevisiae”

która została zrealizowana w Katedrze Analizy i Oceny Jakości Żywności, na Wydziale
Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
pod opieką naukową dr hab. Moniki Sujki, prof. uczelni

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Podstawą wykonania niniejszej recenzji było pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prof. dr hab. Waldemara Gustawa, z dnia 08.02.2023, zgodnie z uchwałą Rady z dnia 12.10.2022 r. oraz rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Nowosad.

Podstawę prawną stanowi Ustawa z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (DZ.U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zmianami).

2. Ocena formalna pracy (rozprawy)

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie cykl czterech recenzowanych artykułów naukowych opatrzonych tytułem „Wpływ elektroporacji na akumulację jonów żelaza w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*”. W skład cyklu wchodzi:

Praca przeglądowa

1. **Nowosad, K.**, Sujka, M., Pankiewicz, U., Kowalski, R. (2021). The application of PEF technology in food processing and human nutrition. *Journal of Food Science and Technology*, 58(2), 397-411. (70 punktów MEiN, IF 3,117)

Prace oryginalne

2. **Nowosad, K.**, Sujka, M., Pankiewicz, U., Miklavčič, D., Arczewska, M. (2021). Pulsed electric field (PEF) enhances iron uptake by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*, 11(6), 850. (100 punktów MEiN, IF 6,064)

3. **Nowosad, K.**, Sujka, M. (2021). The use of iron-enriched yeast for the production of flatbread. *Molecules*, 26(17), 5204. (140 punktów MEiN, IF 4,927)

4. **Nowosad, K.**, Sujka M., Wyrostek J. (2022). Preparation of yeast flakes enriched with iron and vitamin B12 using a pulsed electric field technology. *Journal of Food Process Engineering*, e14245. (100 punktów MEiN, IF 2,889)

Na cykl składają się prace opublikowane w latach 2021-2022. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR), przyporządkowanych do dyscypliny technologia żywności i żywienia wg MEiN. Łączna liczba punktów obliczona wg daty opublikowania prac wynosi 410 pkt. MEiN, a sumaryczny IF jest równy 16,997.

W oryginalnych pracach badawczych ujętych w monotematycznym cyklu zawarto szczegółowy opis metodyki badań, przeprowadzonych eksperymentów, wyniki badań wraz z ich omówieniem i krytycznym komentarzem na tle literatury przedmiotu, analizy statystyczne oraz wnioski prezentowane w oparciu o czytelne tabele i rysunki.

Powyższe prace są opracowaniami zbiorowymi; we wszystkich pracach mgr inż. Karolina Nowosad jest pierwszym autorem. Wkład Doktorantki w oryginalne prace twórcze polegał na współtworzeniu i opracowaniu koncepcji; pierwotnej wersji manuskryptu; wykonaniu analiz laboratoryjnych; opracowaniu wyników oraz ich interpretacji. Ponadto w dwóch z czterech prac była współautorką metodyki oraz przygotowała odpowiedzi na recenzje. Udział w publikacjach został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów. Stanowi to dowód wiodącej roli Doktorantki w opracowywaniu koncepcji i wykonaniu badań oraz przygotowaniu publikacji.

Przedstawiona do recenzji rozprawa, oprócz kopii opublikowanych prac, oświadczeń współautorów o udziale w ich przygotowaniu i dorobku naukowego Doktorantki zawiera także opracowanie liczące 46 stron maszynopisu, stanowiące przejrzystą syntezę załączonych publikacji. Obejmuje ono streszczenie w języku polskim i angielskim, uzasadnienie wyboru tematu rozprawy doktorskiej; cel, zakres i hipotezy badawcze; materiały i metody badań; prezentację wybranych wyników badań; podsumowanie i wnioski oraz spis literatury (61 pozycji).

Dobór bibliografii jest odpowiedni i obejmuje najważniejsze pozycje literatury tematu z ostatnich lat (tylko 8 pozycji jest sprzed 2000 roku). Podana bibliografia zawiera pełne dane bibliograficzne, nie cytowano stron internetowych. Podsumowując, od strony formalnej praca nie budzi moich zastrzeżeń.

Tematyka pracy przekazanej mi do recenzji wpisuje się w aktualną tematykę badań z zakresu nauk o żywności i żywieniu. Wraz z ograniczaniem ilości spożywanego mięsa i przechodzeniem na diety wegańskie, coraz częściej pojawiają się problemy związane z niedoborami niektórych składników żywieniowych. Dotyczy to zwłaszcza osób na dietach wegańskich i wegetariańskich, u których zachodzi ryzyko niedoboru żelaza i witaminy B12. Niedobór żelaza może prowadzić do występowania wielu schorzeń, a długotrwały jego niedobór może prowadzić do anemii, która występuje u jednej trzeciej światowej populacji. Szczególnie narażoną na niedobory tych składników są kobiety w ciąży i małe dzieci do lat pięciu. Jednym ze sposobów zapobiegania tym niedoborom jest zmiana sposobu odżywiania i suplementacja. Naprzeciw tym problemom wychodzi opracowanie Doktorantki, która opracowała sposób wzbogacania w żelazo i witaminę B12 biomasy drożdży z wykorzystaniem pulsacyjnego pola elektrycznego (PEF). Taka biomasa drożdżowa, oprócz dodatkowego źródła białka może stanowić cenne źródło tych składników w diecie zwłaszcza w przypadku osób stosujących dietę wegańską i wegetariańską, kobiet w ciąży i małych dzieci. Podjęty problem badawczy ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym, jak i aplikacyjnym. Opracowane rozwiązanie może być podstawą do opracowania żywności potencjalnie funkcjonalnej poprzez wykorzystanie drożdży wzbogaconych w jony żelaza oraz witaminę B12 za pomocą PEF do jej produkcji.

1. Charakterystyka i ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Tytuł opracowania dobrze oddaje zawartość pracy. Autorka rozpoczęła od uzasadnienia wyboru tematu rozprawy, podkreśliła ważkość i aktualność podjętego tematu badawczego. Autorka rozprawy opisała zagrożenia dla zdrowia, jakie niesie niedobór żelaza i witaminy B12 w diecie. Następnie nakreśliła stan wiedzy i badań nad możliwością wykorzystania pulsacyjnego pola elektrycznego do produkcji żywności funkcjonalnej poprzez zwiększenie akumulacji składników mineralnych i witamin w komórkach drożdży. Ta część jest opatrzona dobrze dobraną, aktualną literaturą, w większości opublikowaną w czasopiśmie anglojęzycznych. Autorka przedstawiła zasadę działania na komórki PEF, a następnie wyniki badań wskazujące na

możliwość zastosowania PEF w produkcji żywności. Ta część pracy była podstawą dla publikacji P1, przeglądu literatury, stanowiącej cykl publikacji.

Celem przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej badań była ocena wpływu parametrów pulsacyjnego pola elektrycznego na akumulację jonów żelaza w komórkach *Saccharomyces cerevisiae*. Autorka postawiła pięć hipotez badawczych. Są one jasno sformułowane.

W rozdziale „Materiały i metody” przedstawiła materiał biologiczny użyty w badaniach oraz skrócony opis metod badawczych z odniesieniem do artykułów, w których zostały one wykorzystane i omówione z niezbędnymi szczegółami. Jednak część tego opisu, który został zawarty na s. 13-18, pkt, 1, 2, 9, 10, 15 i 16, to moim zdaniem opis sposobu postępowania i opis warunków prowadzenia procesów, a nie opis metod badawczych.

Doktorantka zaplanowała badania w pięciu zadaniach, które zostały dobrze opisane. Można było zamieścić dodatkowo ogólny schemat pracy; pozwoliłby on na lepsze zrozumienie logiki pracy. Autorka zamieściła szczegółowe schematy do poszczególnych zadań, np. do hodowli drożdży i elektroporacji (rys. 2), schemat produkcji podpłomyków zawierających drożdże wzbogacone w jony żelaza (rys. 4), oraz schemat trawienia in vitro (rys. 5). Dodatkowo na rys. 3 zobrazowała pojedynczą elektrodę i zestaw elektrod zanurzonych w pożywce hodowlanej.

Doktorantka dokonała wyboru soli żelaza oraz optymalnego stężenia jonów żelaza, następnie optymalizowała parametry PEF, które zapewniały najwyższe zawartości żelaza w komórkach drożdży. Mam uwagę do niezbyt precyzyjnego sformułowania tytułu podrozdziału 5.2 Autorce chodziło zapewne o wpływ paramentów PEF na akumulację jonów a nie optymalizacji na akumulację jonów. Testowano takie parametry jak natężenie pola, szerokość impulsu, czas elektroporacji i czas hodowli, po jakim biomasę poddawano działaniu pola pulsacyjnego

Doktorantka oceniła także zmiany biomasy i przeżywalność komórek drożdżowych po działaniu PEF; badała też jak pole wpływało na akumulację jonów żelaza w strukturach komórkowych z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej i widm absorpcyjnych ATR-FTIR. Ten etap zakończyła analizą właściwości fermentacyjnych drożdży wzbogaconych w jony żelaza. Wyniki tego etapu zostały opublikowane w publikacji P2.

W kolejnym kroku dokonała analizy wybranych właściwości podpłomyków tj. wartość odżywcza i indeks glikemiczny podpłomyków z dodatkiem drożdży niewzbogaconych i wzbogaconych jonami żelaza w warunkach działania PEF. Ważnym elementem opracowanego

rozwiązania była analiza sensoryczna, ponieważ akceptacja produktów spożywczych przez konsumentów zależy głównie od cech sensorycznych i właściwości prozdrowotnych tych produktów. W przypadku oceny sensorycznej podkłomyków nie zanotowano metalicznego posmaku, który jest poważnym problemem dla produktów wzbogaconych solami żelaza. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w publikacji P3.

W ostatnim etapie prac, Autorka dokonała analizy wartości odżywczej oraz potencjalnej biodostępności żelaza i witaminy B12 z płatków drożdżowych wykonanych z drożdży wzbogaconych jonami żelaza i witaminą B12 dwoma metodami: tylko poprzez dodanie soli żelaza i witaminy B12 do pożywki oraz poprzez dodatkowe zwiększenie akumulacji poprzez działanie PEF. Płatki drożdżowe oceniono sensorycznie. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy płatkami drożdżowymi w takich cechach jak: struktura, konsystencja i smak. Ta część pracy została opublikowana w publikacji P4.

Uzyskane wyniki w każdej oryginalnej publikacji, chodzącej w skład monotematycznego cyklu (P2-P4) zostały przeanalizowane z użyciem poprawie dobranych metod statystycznych, co pozwoliło na precyzyjne sformułowanie wniosków.

Na zakończenie Autorka sformułowała poprawnie wnioski przedstawiające jej osiągnięcia wraz z rzeczowymi do nich komentarzami, weryfikując pozytywnie założone hipotezy badawcze.

Podsumowując, badania zaprezentowane w rozprawie doktorskiej mgr inż. Karoliny Nowosad są oryginalne w skali międzynarodowej. Doktorantka posiada umiejętność opracowania koncepcji badań, zdolność do planowania i wykonywania eksperymentów, a także opracowywania wyników i przygotowania artykułów do druku w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Świadczy to o dobrej znajomości warsztatu badawczego oraz dowodzi dobrego przygotowania mgr inż. Karoliny Nowosad do samodzielnego projektowania badań naukowych.

Zawarte w cyklu prace są już opublikowane i poddane recenzjom, i ja również oceniam je bardzo pozytywnie. Pozwolę sobie sformułować kilka problemów, do których poproszę Doktorantkę o ustosunkowanie się/dyskusję do poniższych kwestii:

- W zadaniu dotyczącym optymalizacji można było pokusić się o zastosowanie metod planowania eksperymentu, co znacznie przyspieszyłoby czas wykonywanych prac jak i zmniejszyłoby liczbę wykonanych doświadczeń, a jednocześnie Autorka uzyskałaby matematyczną postać funkcji celu przy zadanych parametrach wejściowych. Proszę

Doktorantkę o zaproponowanie planu bądź planów eksperymentu ze wskazaniem, jaki z nich można byłoby wykorzystać, co mogłoby być funkcją celu; ile zmiennych można by analizować i na ilu poziomach itd. Proszę też o uzasadnienie wyboru.

- Jakie inne zmiany mogą zachodzić w opracowanych produktach (płatki, podkłomyki) w trakcie ich przechowywania i jak ewentualnie można temu zapobiec.
- Jakie ograniczenia dostrzegła Doktorantka w trakcie prowadzenia badań?
- Jakie są dalsze kierunków prac w zakresie wykorzystania PEF wynikające z badań Doktorantki?

2. Uwagi edytorskie, językowe, redakcyjne i inne

Rozprawa napisana jest bardzo dobrym językiem, układ i struktura pracy jest prawidłowa. Praca jest również dobrze przygotowana od strony edycyjnej. Niemniej jednak zdarzają się drobne błędy edytorskie, najczęściej są to literówki i drobne błędy interpunkcyjne.

Z formalnego obowiązku recenzenta muszę wspomnieć, że powinno się używać wyrażenia „składniki mineralne” a nie „minerały” (s. 8). W bibliografii nazwy łacińskie drobnoustrojów powinny być pisane kursywą. Nie zamieszczono spisu rysunków i tabel na końcu manuskryptu.

3. Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Karoliny Nowosad prezentuje wysoki poziom merytoryczny, posiada istotne elementy nowatorskie oraz znaczną wartość aplikacyjną, a moje uwagi mają charakter porządkowy, wyjaśniający i nie umniejszają wartości pracy. Część doświadczalna została przedstawiona jasno i przejrzysto. Badania przeprowadzono konsekwentnie i użyciem dobrze dobranych, metod badawczych. Poprawnie przeprowadzono analizę statystyczną uzyskanych danych, a prawidłowa interpretacja wyników pozwoliła na sformułowanie wniosków, które nie wykraczają poza uzyskane wyniki. Autorka poprawie zweryfikowała postawione hipotezy badawcze, a sformułowane wnioski korespondują z celem badań, jaki nakreśliła sobie Doktorantka.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, stanowiąca spójny tematycznie cykl czterech publikacji pod wspólnym tytułem „Wpływ elektroporacji na akumulację jonów żelaza w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*” w pełni

odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim w myśl ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (DZ.U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zmianami).

W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, o dopuszczenie Pani mgr inż. Karoliny Nowosad do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. inż. Małgorzata Krzywonoś