

prof. dr hab. Adam Waśko
Kierownik Katedry Biotechnologii,
Mikrobiologii i Żywienia Człowieka
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20 -704 Lublin
e-mail: adam.wasko@up.lublin.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pt.: „**Optymalizacja produkcji transglutaminazy przez wybrane promieniowce w zmiennych warunkach hodowlanych.**”

wykonanej przez **mgr inż. Vitaliya Kolotylo** w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii
Żywności w Instytucie Nauk o Żywności, SGGW w Warszawie

pod kierunkiem promotora **dr hab. inż. Marka Kieliszka prof. SGGW** oraz
promotora pomocniczego **dr Kamila Piwowarka**

Podstawę formalną realizacji recenzji stanowi Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia nr BON.5100.39.2025 Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (z dnia 7.11.2025 r.) oraz rozprawa doktorska mgr inż. Vitaliya Kolotylo.

Podstawę prawną stanowi art. 190 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (DZ.U. z 2024 r. poz. 1571 ze zm.).

Ocena formalnej strony pracy

Przedmiotem niniejszej recenzji jest rozprawa doktorska mgr inż. Vitaliya Kolotylo, złożona w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (Instytut Nauk o Żywności), zatytułowana „Optymalizacja produkcji transglutaminazy przez wybrane promieniowce w zmiennych warunkach hodowlanych”. Promotorem pracy jest dr hab. inż. Marek Kieliszek prof. SGGW, a promotorem pomocniczym dr Kamil Piwowarek. Rozprawa ma charakter eksperymentalny z zakresu biotechnologii żywności i mikrobiologii, a jej celem było opracowanie optymalnych warunków biosyntezy mikrobiologicznej transglutaminazy (MTG) przez promieniowce z rodzaju



Streptoverticillium oraz otrzymanie preparatu enzymatycznego o wysokiej aktywności. Tematyka pracy sytuuje się na pograniczu nauk o żywności, biochemii i inżynierii bioprosesowej, dotykając zarówno zagadnień poznawczych (charakterystyka nowego szczepu mikroorganizmu i enzymu), jak i aplikacyjnych (optymalizacja procesu biotechnologicznego pod kątem zastosowań przemysłowych).

Pod względem formalnym rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Tekst pracy liczy łącznie 167 stron maszynopisu, z czego 71 stron obejmuje zasadniczą część merytoryczną (od wprowadzenia do wniosków), a pozostałe strony zawierają streszczenia, spis literatury oraz załączniki. Praca zawiera streszczenie w języku polskim oraz Summary w języku angielskim, co świadczy o dopełnieniu wymogu przedstawienia wyników w języku kongresowym. Na stronie 9 zamieszczono wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy – autor zrealizował doktorat w formie zintegrowanej z dorobkiem publikacyjnym. Każda z tych publikacji została dołączona w aneksie pracy, a ponadto dołączono oświadczenia współautorów potwierdzające wkład doktoranta. Konstrukcja pracy jest poprawna i typowa dla rozpraw doktorskich: obejmuje Wstęp i uzasadnienie podjęcia tematu z przeglądem literatury (rozdz. 1), jasno sformułowane Cele pracy i hipotezy badawcze (rozdz. 2), opis Zakresu pracy, materiałów i metodyki (rozdz. 3), rozdział Najważniejsze wyniki i dyskusja wyników (rozdz. 4) z podziałem na podrozdziały tematyczne, a na końcu Podsumowanie i wnioski (rozdz. 5) oraz obszerny Spis literatury (rozdz. 6). Układ ten świadczy o zachowaniu logicznej struktury wywodu.

W tekście rozprawy wyróżniono liczne tabele, ryciny oraz schematy, które są czytelne i właściwie opisane. W szczególności, wyniki doświadczeń przedstawiono na 19 rycinach (wykresach, w tym wykresach Pareto oraz trójwymiarowych powierzchniach odpowiedzi z analizy RSM) oraz w tabelach podsumowujących m.in. parametry optymalne i porównania literaturowe. Opisy osi i jednostki są poprawne, a elementy statystycznej istotności (np. oznaczenia literowe przy średnich) zostały konsekwentnie zaznaczone pod wykresami. Praca została napisana w języku polskim w stylu naukowym, poprawnym pod względem językowym i terminologicznym. Struktura zdań jest klarowna, a terminologia specjalistyczna (np. dotycząca metodologii DoE – Design of Experiments) została objaśniona przy pierwszym użyciu. Nieliczne dostrzeżone drobne



uchybienia redakcyjne (np. literówki czy rozbicia wyrazów jak „aminobak” na końcu linii) nie zakłócają odbioru treści i nie mają wpływu na wartość merytoryczną opracowania. Podsumowując, rozprawa jest zgodna z wymaganiami formalnymi: posiada właściwe strony tytułowe (polską i angielską), poprawny układ rozdziałów, spis treści, streszczenia, zestawienie dorobku, oświadczenia oraz bogaty spis literatury.

Bibliografia obejmuje aktualne i licznie cytowane pozycje – w spisie literatury znalazło się ponad 100 źródeł, w tym publikacje z ostatnich lat (np. z 2023–2025). Świadczy to o dbałości doktoranta o aktualność informacji i krytyczne odniesienie do najnowszych doniesień naukowych. Styl cytowania (nazwisko i rok) oraz format bibliografii są jednolite i zgodne z przyjętymi standardami. Pod kątem formalnym nie mam zastrzeżeń – praca spełnia wszystkie kryteria edytorskie i merytoryczne przewidziane dla dysertacji doktorskiej.

Podsumowując stwierdzam, że pod względem formalnym w świetle aktualnych przepisów prawa praca spełnia wymogi stawiane pracy doktorskiej.

Ocena wyboru tematu i zakresu pracy

Temat rozprawy należy uznać za trafny, ważny i aktualny z punktu widzenia rozwoju nauki i potrzeb praktyki. Transglutaminaza mikrobiologiczna (MTG) jest enzymem o szerokich zastosowaniach w przemyśle spożywczym – wykorzystuje się ją do sieciowania białek, co poprawia teksturę, stabilność i wartość technologiczną produktów żywnościowych. Rynek enzymów w przemyśle spożywczym dynamicznie rośnie (~21,9% rocznie), a sama MTG stanowi znaczący segment o wartości ok. 200 mln USD (dane z 2020 r.). Zapotrzebowanie na innowacyjne, wydajne i opłacalne metody produkcji enzymów, takich jak transglutaminaza, jest zatem wysokie i stale rośnie. Omawiana praca wychodzi naprzeciw tym potrzebom, skupiając się na optymalizacji procesu wytwarzania MTG przez promieniowce naturalnych producentów tego enzymu w sposób potencjalnie tańszy i bardziej zrównoważony.

Aktualność tematu podkreśla również aspekt wykorzystania odnawialnych surowców i produktów ubocznych przemysłu jako komponentów pożywki hodowlanej. Doktorant zaproponował zastąpienie konwencjonalnych, kosztownych źródeł azotu w



pożywcze (np. wyciągów drożdżowych czy peptonów) tańszym substratem odpadowym z przemysłu rolno-spożywczego – namokiem kukurydzianym (ang. corn steep liquor), czyli płynem powstającym przy produkcji skrobi kukurydzianej. Jest to zgodne z trendami gospodarki o obiegu zamkniętym i poszukiwaniem „zielonych” rozwiązań w biotechnologii przemysłowej. W pracy wykazano, że zastosowanie odpadowego namoku jako źródła azotu pozwala uzyskać istotne zwiększenie aktywności MTG w porównaniu z tradycyjnym medium zawierającym komercyjny aminokwasowy dodatek (tzw. „aminobak”). Tym samym temat pracy wpisuje się w aktualne nurty badawcze zmierzające do obniżenia kosztów produkcji enzymów i poprawy efektywności procesów fermentacyjnych z użyciem surowców odpadowych.

Należy również zaznaczyć, że wybrany szczep mikroorganizmu *Streptoverticillium cinnamoneum* KKP 1658 nie był dotąd szerzej opisywany w literaturze jako producent transglutaminazy (MTG). Większość dotychczasowych badań skupiała się na klasycznym gatunku *Streptomyces mobaraensis* (dawniej *Streptoverticillium*), z którego wyizolowano pierwszą MTG

Podsumowując, tematyka pracy jest niewątpliwie ważna i aktualna. Optymalizacja bioprodukcji enzymu o dużym znaczeniu rynkowym, z użyciem nowego szczepu i tańszych substratów, wpisuje się w światowe trendy badawcze zarówno w obszarze biotechnologii żywności, jak i tzw. białej biotechnologii przemysłowej. Co istotne, doktorant umiejscowił swoje badania w kontekście najnowszych osiągnięć w pracy przywołano m.in. aktualne prace dotyczące perspektyw wykorzystania MTG w nowych dziedzinach (np. w medycynie regeneracyjnej do tworzenia biomateriałów). To pokazuje, że Autor rozumie szersze implikacje swojej pracy i potrafi uzasadnić znaczenie podjętego tematu na tle aktualnego stanu wiedzy.

Problematyka badawcza doktoratu umiejscowiona jest w naukach rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia i może być podstawą opracowania dysertacji na stopień naukowy doktora.



Merytoryczna ocena pracy

Rozprawa doktorska mgr inż. Vitaliya Kolotylo ma charakter tzw. pracy z artykułów (cumulative dissertation) – jej podstawę merytoryczną stanowią cztery publikacje naukowe, których autorami są doktorant oraz współpracownicy (promotor i inni członkowie zespołu). Wykaz tych publikacji został zamieszczony na początku pracy (str. 9). Wszystkie cztery prace ukazały się w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym:

1. Kolotylo V., Piwowarek K., Kieliszek M. (2023). Microbiological transglutaminase: Biotechnological application in the food industry. *Open Life Sciences*, 18, 1, 20220737.
2. Kolotylo V., Piwowarek K., Kieliszek M. (2024). Production of microbial transglutaminase by *Streptoverticillium cinnamoneum* KKP 1658. *EXCLI Journal*, 23.
3. Kolotylo V., Piwowarek K., Synowiec A., Kieliszek M. (2025). Optimization of fermentation conditions for microbial transglutaminase production by *Streptoverticillium cinnamoneum* KKP 1658 using response surface methodology (RSM). *Folia Microbiologica* 70, 259-269.
4. Kolotylo V., Piwowarek K., Synowiec A., Gientka I., Kieliszek M. (2025). Characterisation and optimisation of microbial production of transglutaminase produced by *Streptoverticillium cinnamoneum*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 109, 228.

Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich pracach i autorem korespondencyjnym w jednej z nich, co potwierdza jego przewodnią rolę w powstaniu wszystkich artykułów. Potwierdzeniem tego są również oświadczenia współautorów dołączone do rozprawy zazwyczaj w takich oświadczeniach współautorzy potwierdzają, że doktorant wykonał zasadniczą część pracy. Choć same oświadczenia nie zostały zacytowane bezpośrednio, ich obecność (na końcu pracy) świadczy o formalnym potwierdzeniu wkładu Doktoranta. Na podstawie analizy stylu i treści publikacji można również stwierdzić, że Autor rozprawy posiadał umiejętność samodzielnego formułowania tekstu



naukowego w języku angielskim na wysokim poziomie. Artykuły P2–P4 są poprawnie napisane, co sugeruje biegłość doktoranta w terminologii i stylistyce naukowej. Szczególnie imponujący jest artykuł przeglądowy (P1) opublikowany w Open Life Sciences wymagał on przetworzenia ogromnej ilości literatury i syntetycznego ujęcia tematu, co Doktorant wykonał wspólnie z promotorem.

Reasumując, wkład Doktoranta w powstanie rozprawy i związanych z nią publikacji jest bardzo duży i wiodący. Uważam, że mgr inż. Vitaliy Kolotylo wykazał się samodzielnością badawczą i dojrzałością naukową adekwatną do stopnia doktora.

Konstrukcja rozprawy jest logiczna, spójna i dobrze przemyślana. Pracę otwiera rozdział Wstęp i uzasadnienie podjęcia tematu, który pełni funkcję obszernego przeglądu literatury. Autor w sposób płynny wprowadza czytelnika w zagadnienie transglutaminazy najpierw przedstawia ogólną charakterystykę tego enzymu (struktura, mechanizm działania), następnie omawia różne źródła transglutaminaz (pochodzenia roślinnego, zwierzęcego i mikrobiologicznego), ze szczególnym uwzględnieniem transglutaminazy mikrobiologicznej i jej producentów (bakterie z rodzaju *Streptoverticillium*/ *Streptomyces* i inne).

W tym miejscu Recenzent zauważył błąd merytoryczny Doktorant pisze na str. 11 pracy że „centrum aktywne transglutaminaz tworzy triada aminokwasów takich jak cysteina, asparagina i histydyna” podczas gdy klasyczna triada katalityczna transglutaminaz to Cys–His–Asp (<https://doi.org/10.1074/jbc.M203933200>). Niestety należy uznać to za błąd w opisie mechanizmu katalitycznego tej grupy enzymów. Wprawdzie mogę domniemywać, że to tzw. czeski błąd ale z punktu widzenia biochemii enzymów ma istotne znaczenie.

Kolejna część wstępu dotyczy zastosowań transglutaminazy na skalę przemysłową w pracy zacytowano liczne przykłady praktycznego wykorzystania MTG w produkcji żywności (np. poprawa właściwości pieczywa, produktów mięsnych, nabiału, zastosowania w produktach bezglutenowych itp.). Autor wspomina też o kontrowersjach i najnowszych badaniach nad potencjalnym wpływem MTG na zdrowie. Rozdział 1 kończy podrozdział poświęcony metodom optymalizacji produkcji MTG, gdzie krótko opisano koncepcję optymalizacji procesów biotechnologicznych od klasycznych metod jednoczynnikowych (OFAT) po nowoczesne podejście wykorzystujące planowanie



eksperymentu (DoE) i metodologię RSM. To płynnie prowadzi do sformułowania celów i hipotez.

Rozdział Cel pracy i hipotezy badawcze (rozdz. 2) został przygotowany wzorcowo. Główny cel sformułowano jasno: „dobór optymalnych warunków produkcji mikrobiologicznej transglutaminazy przez promieniowce z rodzaju *Streptoverticillium* w warunkach laboratoryjnych oraz otrzymanie preparatu białkowego o wysokiej aktywności MTG”. Następnie autor przedstawił trzy hipotezy badawcze (H1–H3), które szczegółowo precyzują, co zamierzał zweryfikować.

Rozdział Zakres pracy, materiały i metodyka zawiera dokładny opis przebiegu badań. Na uznanie zasługuje fakt, że Autor wyraźnie wyodrębnił zakres pracy (3.1) czyli plan badań podzielony na etapy oraz szczegółową metodykę (3.2) z podrozdziałami odpowiadającymi poszczególnym etapom (oznaczonym jako P2, P3, P4). Jest to bardzo czytelne podejście, zwłaszcza że etapy P2–P4 odwołują się do numeracji publikacji stanowiących rozprawę. Taki układ ułatwia śledzenie, które wyniki zostały opublikowane i gdzie. Ponadto w metodyce (podrozdz. 3.2.1) dokładnie scharakteryzowano materiał badawczy, czyli szczep *S. cinnamoneum* KKP 1658, wraz z pochodzeniem kultury (Kolekcja Czystych Kultur SGGW).

Jednocześnie jako Recenzent zauważyłem różne numery KKP jako oficjalne oznaczenie szczepu. Oto przykłady:

- *w artykule P2 (EXCLI) jako materiał badawczy wskazany jest KKP 1658; w streszczeniu angielskim artykułu P4 (AMB) mowa jest o KKP 1648 jako szczepie optymalizowanym w bioreaktorze;*
- *w części wynikowej i dyskusji pracy doktorskiej opisującej walidację modelu i charakterystykę enzymu znów przeplatają się oznaczenia 1648 i 1658 dla tego samego doświadczenia bioreaktorowego,*
- *we wnioskach końcowych raz podsumowuje się potencjał KKP 1648, raz 1658 jako producenta MTG (np. wniosek 3 i 8).*

Bardzo proszę Doktoranta o odniesienie się do tych różnic ponieważ z punktu widzenia wiarygodności i powtarzalności badań to błąd merytoryczny: nie jest jednoznacznie określone, jaki dokładnie szczep (numer kolekcji) jest przedmiotem pracy. Chciałbym również dopytać o brak kontroli czyli szczepu z kolekcji międzynarodowych np. DSMZ czy ATTC ?

Podano również składy stosowanych podłoży hodowlanych (np. medium bazowe z



skrobią, aminobakiem, namokiem kukurydzianym itp.) oraz parametry prowadzenia hodowli. Rozdzielono opis metod dla poszczególnych etapów. Każdy z tych etapów ma opis dedykowanych metod. Metodyka została więc przedstawiona bardzo szczegółowo i wyczerpująco, co pozwala ocenić wiarygodność i powtarzalność badań. W mojej ocenie dobór metod jest trafny i nowoczesny, adekwatny do postawionych celów. Autor zastosował standardowe procedury mikrobiologiczne i analityczne o uznanej wartości łącząc je z zaawansowanym podejściem statystycznym. Takie połączenie metod klasycznych i nowoczesnych zwiększa wiarygodność uzyskanych wyników i pozwala lepiej je zinterpretować. Należy podkreślić, że samo zastosowanie RSM jest mocnym atutem pracy. RSM stanowi obecnie uznane narzędzie do optymalizacji procesów fermentacyjnych jest to metoda efektywna, pozwalająca zredukować liczbę doświadczeń, a jednocześnie uwzględnić interakcje między kilkoma czynnikami. Pomimo powyższych zalet, Recenzent pragnie zgłosić kilka uwag krytycznych dotyczących wykorzystania i opisu metodologii RSM w rozprawie.

- *Autor wielokrotnie pisze o „modelu wielomianu kwadratowego” i „modelu kwadratowym” dla planu Box–Behnkena. Jednak przedstawione równania modelu zawierają wyrazy wyższego rzędu niż kwadratowe, typowe dla modeli kubicznych / złożonych. Zauważyłem to w zarówno w opisie hodowli kolbowych jak i dla hodowli bioreaktorowych. W równaniach pojawiają się terminy co najmniej trzeciego rzędu (np. AC^2 , A^2C , BA^2). Przy klasycznym podejściu RSM z planem Box–Behnken dla 3 czynników model ma postać czysto kwadratową. Włączenie dodatkowych wyrazów nie jest uzasadnione ani opisane w metodologii, a liczba parametrów zaczyna przewyższać informację dostarczaną przez plan (15 doświadczeń).*
- *Zauważyłem również brak rozróżnienia zmiennych zakodowanych vs rzeczywistych. O ile W planach Box–Behnkena czynniki są kodowane (-1, 0, +1), co Autor poprawnie opisuje w tablicach poziomów A, B, C. To już w rozprawie: równania modelu są zapisane wprost w funkcji A, B, C, nigdzie nie jest jasno zaznaczone, że A, B, C w równaniach to zmienne zakodowane, a nie wartości rzeczywiste (procent azotu, godziny, pH), opis jakościowy wyników (np. optimum przy pH 6,5; azot ~3 %; 72 h) jest formułowany tak, jakby równania operowały na wartościach rzeczywistych, a nie kodowanych. Jeśli potraktować te równania dosłownie przy rzeczywistych wartościach zmiennych (A w %, B w h, C jako pH), otrzymuje się fizycznie absurdalne wartości prognozowanej aktywności (rzędu setek U/mL), podczas gdy rzeczywiste zakresy w tabelach to kilka U/mL.*
- *W części dotyczącej optymalizacji hodowli w kolbach metodą RSM występują istotne niespójności. W artykule P3 (Folia Microbiologica), wklejonym do rozprawy, jednoznacznie wykazano, że po 24 i 72 h aktywność MTG nie przekracza 4 U/mL, natomiast najwyższe aktywności >6 U/mL osiągnęto po 48 h hodowli przy wysokich dawkach azotu (pH 6,4–6,6). Tymczasem w części*



opisowej rozprawy pojawia się stwierdzenie, że na podstawie wykresów powierzchni odpowiedzi maksymalną aktywność 5,0 U/mL uzyskano po 72 godzinach inkubacji przy pH 6,5, co jest sprzeczne z danymi P3. Dodatkowo wartość 6,59 U/mL, która w badaniach wstępnych (P2) odnosiła się do 72 h, w streszczeniu przypisana została do 48 h i powiązana z optymalizacją RSM. Prowadzi to do niejasności co do rzeczywistych warunków uzyskania maksymalnej aktywności enzymu w hodowlach kolbowych.

Rozdział Najważniejsze wyniki i dyskusja wyników (rozdz. 4) podzielony jest na logiczne części odpowiadające wcześniej opisanym etapom badań. W podrozdziale 4.1 opisano badania wstępne i ich wyniki: (4.1.1) wybór źródła azotu, (4.1.2) wybór pożywki inokulacyjnej, (4.1.3) wpływ pH początkowego. Następnie podrozdział 4.2 stanowi dyskusję do badań wstępnych, gdzie autor interpretuje otrzymane wyniki, porównuje je z literaturą i wyciąga wnioski do dalszego etapu (np. wybór najlepszych warunków wyjściowych do optymalizacji). W kolejnych częściach: 4.3 opisuje proces optymalizacji warunków hodowli w kolbach z wykorzystaniem RSM, a 4.4 dotyczy zmiany skali procesu i wyników hodowli w bioreaktorze. Taki układ dowodzi, że autor potrafił przedstawić wyniki w przejrzysty sposób, nie mieszając różnych etapów, lecz konsekwentnie prezentując je etapami wraz z towarzyszącą dyskusją.

Na uwagę zasługuje fakt, że dyskusja wyników jest obszerna i merytorycznie bogata. Doktorant nie ograniczył się do wyliczenia uzyskanych wartości, lecz poddał je krytycznej analizie i konfrontował z danymi z literatury. Przykładowo, omawiając wpływ różnych źródeł azotu na produkcję MTG, autor odniósł się do analogicznych badań (np. badania Liu i wsp. 2016 na innej bakterii, gdzie również obserwowano wpływ rodzaju azotu). W dyskusji autor wychwycił, że najwyższa aktywność MTG (w 96-h hodowli) była uzyskana przy zastosowaniu połączenia aminobaku z namokiem kukurydzianym, co miało nie tylko efekt technologiczny (zwiększenie aktywności do ~4,73 U/mL), ale i ekonomiczny, obniżając koszt pożywki. Ten wniosek znajduje potwierdzenie w cytowanej literaturze o zaletach zastępowania części peptonów tańszymi hydrolizatami odpadowymi. Innym ciekawym spostrzeżeniem w dyskusji jest brak bezpośredniej korelacji między wzrostem biomasy a produkcją enzymu. Autor zauważył, że szczep KKP 1658 w pewnych warunkach osiągał wysoki poziom enzymu mimo nie najwyższej biomasy, co sugeruje złożoną regulację (np. enzym produkowany jest głównie w fazie



idiometabolicznej, a intensywny wzrost nie gwarantuje maksymalnej syntezy MTG). Tego typu wnioski świadczą o dojrzałości naukowej Doktoranta i umiejętności głębokiego zrozumienia danych eksperymentalnych.

Rozdział Podsumowanie i wnioski zawiera syntetyczne ujęcie najważniejszych rezultatów oraz zwięzłe wnioski numerowane. Jest on zgodny z przyjętymi standardami – w kilku punktach autor ujął kluczowe ustalenia swojej pracy. Między innymi stwierdzono jednoznacznie, że hipoteza H1 została potwierdzona: zastosowanie niekonwencjonalnego źródła azotu (namoku) zwiększyło aktywność MTG względem medium z aminobakiem. Hipoteza H2 również została potwierdzona optymalizacja pozwoliła uzyskać w kolbach aktywność 6,59 U/mL (a więc znacznie powyżej zakładanych 3 U/mL), zaś w bioreaktorze osiągnięto 4,29 U/mL w supernatancie i aż 22 U/mL po zateżeniu, co jednoznacznie dowodzi możliwości przekroczenia progu 3 U/mL. Hipoteza H3 dotycząca wpływu skalowania została zweryfikowana: stwierdzono, że przejście z kolb do bioreaktora rzeczywiście wpływa na aktywność enzymu w tym przypadku przejawiało się to jej spadkiem w nieoptymalnie napowietrzonym bioreaktorze (najwyższa aktywność w bioreaktorze była mniejsza niż w kolbie), co sugeruje, że warunki hydrodynamiczne i transfer tlenu w bioreaktorze wymagają dalszej optymalizacji. Autor uznał więc, że skalowanie procesu wiąże się z pewnymi wyzwaniem i należy je uwzględnić przy wdrażaniu (ta uwaga jest cenna praktycznie często bowiem warunki optymalne w kolbie nie przekładają się liniowo na skalę fermentora).

W mojej opinii, konstrukcja i sposób przedstawienia treści w rozprawie zasługują na wysoką ocenę. Praca jest napisana przejrzysto, z odpowiednim podziałem na sekcje, co ułatwia śledzenie toku rozumowania autora. Każdy rozdział pełni klarownie określoną rolę, a razem tworzą spójną narrację od przesłanek teoretycznych, przez plan badań, realizację eksperymentów, po analizę wyników i ich syntezę we wnioskach. W całej pracy widoczny jest logiczny ciąg: pytanie badawcze → metoda → wynik → interpretacja → wniosek. Dzięki temu czytelnik nie ma wątpliwości, jakie problemy rozwiązano i jakie nowe informacje uzyskano.



Pytania dotyczące rozprawy doktorskiej

W związku z zapoznaniem się z treścią rozprawy, podczas publicznej obrony chciałbym zadać Panu mgr inż. Vitaliyowi Kolotylo następujące pytania:

- 1. W jaki sposób można by udoskonalić zastosowaną w pracy metodologię RSM, aby uwzględnić większą liczbę zmiennych (np. natlenienie, temperaturę, skład pożywki), nie zwiększając drastycznie liczby eksperymentów? Czy rozważał Pan zastosowanie bardziej zaawansowanych technik planowania eksperymentu, np. hybrydowych podejść lub algorytmów optymalizacyjnych?*
- 2. W pracy wykazano wysoką aktywność transglutaminazy po koncentracji roztworu przy użyciu siarczanu amonu. Jakie metody dalszego oczyszczania i stabilizacji enzymu (np. chromatografia jonowymienna, immobilizacja) rozważyłby Pan w przyszłości, mając na celu uzyskanie preparatu przemysłowego?*
- 3. Czy przeprowadził Pan lub planuje przeprowadzić testy aplikacyjne opracowanego preparatu MTG w rzeczywistych matrycach żywnościowych (np. mięsie, nabiale)? Jakie są potencjalne trudności technologiczne i regulacyjne związane z wdrożeniem enzymu produkowanego przez badany szczep *S. cinnamomeum* KKP 1658 do zastosowań spożywczych?*

Podsumowując, praca doktorska mgr inż. Vitaliya Kolotylo jest dojrzałym dziełem naukowym, stanowiącym istotny wkład w dziedzinę biotechnologii żywności. Autor w pełni udowodnił swoją samodzielność i kompetencje badawcze. Rekomenduję dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego (obrony) i jestem przekonany, że jej pomyślna obrona przyczyni się do wzbogacenia grona specjalistów z zakresu biotechnologii o nowego doktora, zaś wyniki pracy znajdą kontynuację w kolejnych badaniach i być może w praktycznych wdrożeniach.



Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska przygotowana przez mgr inż. Vitaliya Kolotylo, pt. „Optymalizacja produkcji transglutaminazy przez wybrane promieniowce w zmiennych warunkach hodowlanych”, stanowi oryginalne i wartościowe osiągnięcie naukowe, wnoszące istotny wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia oraz pokrewnych obszarów biotechnologii. Praca łączy badania podstawowe z zastosowaniem praktycznym. Dysertacja w pełni spełnia wymagania stawiane tego typu pracom, określone w art. 187 ust.1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (DZ.U. z 2024, poz. 1571 ze zm.) oraz odpowiada standardom rozpraw doktorskich.

Handwritten signature: #Wasko



UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
KATEDRA BIOTECHNOLOGII,
MIKROBIOLOGII I ŻYWIENIA CZŁOWIEKA
20-704 Lublin, ul. Skromna 8
tel./fax 81-462-34 00

2.dh.VK/81/2025

LP. 24471/2025

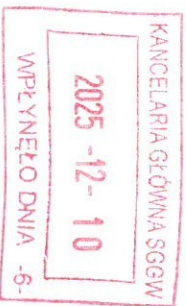
R

(00)659007734408218882



Poczta Polska
Opłata pobrana zł — gr

2024



PRIORITY
PRIORITAIRE

POLECONY

OFERTA PRACOWNIA
TAXE POSTALE - POLOGNE
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID nr 205050/L



RPU/36007/2025 N
Data: 2025-12-10

Biuro Obsługi Nauki
Skoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166
02-787 Warszawa