

Prof. dr hab. inż. Lidia Zander
ul. W. Szczekin-Krotowa 17
10-759 Olsztyn
lz.zander@gmail.com

Olsztyn, dnia 4 września 2026 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. **„Opracowanie metodologii do kompleksowej analizy biokoloidów oraz ich wykorzystanie na potrzeby przemysłu mleczarskiego”**
wykonanej przez **mgr Tetianę Dyrda-Terniuk** na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika
w Toruniu – Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Academia Scientarum Thoruniensis

Promotor pracy: **Dr hab. Paweł Pomastowski, prof. UMK**

Informacje ogólne

Przedstawione do recenzji dwujęzyczne opracowanie jest rozprawą na stopień doktora o dość oryginalnej strukturze, zawartą na 234 numerowanych stronach tekstu i obejmuje: (1)obszerne polskojęzyczne „Wprowadzenie”, zredagowane w oparciu o 114 pozycji literaturowych, (2) 5 zespołowych publikacji w języku angielskim dotyczących możliwości izolowania, preparowania i analizowania wybranych składników mleka, zamieszczonych w liczących się czasopismach naukowych. We wszystkich tych pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, co może wskazywać na stopień Jej zaangażowania. Ten chronologicznie zestawiony komplet materiałów Doktorantka przedstawia jako główną część rozprawy. Całość manuskryptu zamykają rozdziały: (3) podsumowanie i wnioski, (4) streszczenia w języku polskim i angielskim, (5) prezentacja dotychczasowego dorobku naukowego Doktorantki oraz (6) oświadczenia współautorów publikacji.

Obszerne „Wprowadzenie” zawiera 5 rozdziałów z podpunktami, poświęconymi poszczególnym zagadnieniom będących przedmiotem zainteresowania w następnych częściach manuskryptu. Autorka otwiera tekst, zaczerpniętymi z literatury, podstawowymi informacjami na temat koloidów pochodzenia biologicznego ze szczególnym odniesieniem do mleka i serwatki w kontekście współczesnych problemów przemysłu mleczarskiego. Z obowiązku recenzenta muszę w tym miejscu zwrócić uwagę na nieścisłe informacje (na str. 17) dotyczące serwatki, a pochodzące z piśmiennictwa. W polskich warunkach serwatka nie jest „kluczowym odpadem” po produkcji serów, tylko produktem ubocznym przetwarzanym na różne produkty i nie zawiera aż 20% białka. Wprawdzie jest ono bardzo cennym i godnym wykorzystania składnikiem, ale nie ma go tak dużo, gdyż zawartość suchej masy ogółem w serwatce na ogół nie przekracza ~6,5%.

Pozostałe zagadnienia, które zostały zasygnalizowane przez Doktorantkę w omawianym rozdziale, dotyczą: możliwości wyrównywania niedoborów vit. D przez

zastosowanie modyfikacji mikrobiologicznej, budowy układu micelnego kazeiny, jej roli biologicznej i funkcjonalnej oraz możliwości jej modyfikacji jonami metali, jak również potencjalnych zastosowań. Szczególną uwagę zwrócono na laktoferynę, posiadającą unikalne właściwości prozdrowotne, funkcjonalne i budzące szczególne zainteresowanie zarówno ze strony przemysłu, jak i różnych środowisk badawczych.

Ocena głównej części rozprawy

Zgodnie z deklaracją Autorki główną część rozprawy stanowi zestaw pięciu recenzowanych prac naukowych opublikowanych w liczących się czasopismach: (P1) *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, (P2) *J. of Agric. and Food Chemistry*, (P3) *J. of Dairy Science*, (P4) *Int. Dairy J.*, (P5) *Inorganic Chemistry Frontiers*. Wszystkie te opracowania powstały przy współautorstwie innych osób, przy czym dwie z nich (P2 i P3) zostały opracowane przy udziale tylko Doktorantki i Promotora, wobec czego znaczący wkład mgr T. Dyrda-Terniuk wydaje się oczywisty. Pozostałe publikacje powstały przy zaangażowaniu 8 (P1 i P4) i 14 osób (P5). Zawierają one tak bogaty materiał badawczy, że mogły powstać tylko w wyniku pracy zespołowej.

[P1] Blok publikacji otwiera praca p.t. *Immobilization of Silver Ions onto Casein* poświęcona kompleksowaniu jonów srebra z kazeiną. Eksperymenty prowadzono w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem odczynników o wysokiej czystości. Badano m.in. przebieg sorpcji jonów srebra oceniając pojemność sorpcji i pojemność buforową kazeiny. Otrzymano suszone liofilizacyjnie kompleksy kazeinowo-srebrne, które następnie poddawano analizom i eksperymentom z wykorzystaniem zaawansowanych metod instrumentalnych. Wykazano m.in.: wpływ obecności jonów srebra na wielkość miceli kazeinowych i zmiany zachodzące w strukturze białka wywoływane wprowadzeniem jonów metalu. Szczególnie istotnym osiągnięciem jest wykazanie, że kompleksy Ag-CN wykazują działanie bakteriobójcze wskazując na możliwość wykorzystania ich w leczeniu ran. Tekst opracowania jest uzupełniony suplementem ilustrującym różnice w przeżywalności dwóch szczepów *K pneumoniae* w zależności od dawki kompleksu 600Ag-CN. Analiza i dyskusja otrzymanych wyników analiz jest bardzo wyczerpująca i poparta odwołaniami do 108 pozycji piśmiennictwa.

[P2] Publikacja zatytułowana *The Multifaced Roles of Bovine Lactoferrin: Molecular Structure, Isolation Methods, Analytical Characteristics, and Biological Properties* jest obszernym, 30-stronicowym artykułem przeglądowym, opartym na 300 pozycjach piśmiennictwa i dostarczającym wszechstronnych informacji o laktoferynie (LF).

LF należy do białek globularnych występujących naturalnie m.in. w mleku krowim i pozostających w serwatce po produkcji serów. Niestety, LF występuje w tych źródłach w tak małej ilości, że jej wyizolowanie wymaga stosowania zaawansowanych technik procesowych, rzadko stosowanych w przemyśle, a w badaniach jej właściwości – specjalistycznych instrumentów analitycznych. W artykule na wstępie zaakcentowano dużą zmienność budowy molekuly LF w zależności od pochodzenia mleka i stanu zdrowia zwierzęcia. Szczegółowo zaprezentowano strukturę stosunkowo dużej (około 80 kDa) molekuly tego białka, w którą można ingerować modyfikując jej właściwości

funkcjonalne, np. poprzez wprowadzanie jonów metali. W kolejnych 9 rozdziałach zaprezentowane zostały: czynniki wpływające na stabilność LF w zależności od pH i siły jonowej środowiska oraz oddziaływania termicznego. Omówiono też różne metody otrzymywania LF z materiału źródłowego, jak: techniki chromatograficzne, wymiana jonowa, procesy separacji membranowej, elektrodializa, adsorbenty magnetyczne i inne. Wykazano, że stopień czystości wyizolowanej LF oraz jej właściwości użytkowe mogą być uzależnione od techniki jej pozyskania z podkreśleniem, że nie została jeszcze ustalona standardowa procedura wyizolowywania tego białka.

W artykule zamieszczono również informacje o interakcjach LF z jonami metali, jak i dotyczące modyfikacji tego białka w procesach glikosylacji LF. Sporo uwagi poświęcono także instrumentalnym metodom analitycznym stosowanym w badaniach LF. Większość z zasygnalizowanych technik analitycznych została wykorzystana w kolejnych publikacjach wchodzących w skład ocenianej dysertacji.

Omawiana publikacja eksponuje też biologiczne funkcje LF, w tym perspektywę możliwości praktycznego wykorzystywania oddziaływania różnych modyfikacji molekuł LF na bakterie, wirusy, a nawet komórki rakowe. Omawiana część rozprawy doktorskiej mgr T. Dyrda-Terniuk jest bardzo rzetelnym opracowaniem monograficznym poprzedzającym cykl kolejnych prac poświęconych badaniom właściwości LF.

[P3] Jedną z konkluzji kończących wyżej omówioną publikację (P2) jest stwierdzenie, że optymalną technologią pozyskiwania LF o wysokiej czystości jest połączenie techniki chromatograficznej z procesami separacji membranowej. Kolejna publikacja (P3) pt. „*Impact of Ultrafiltration on the Physicochemical Properties of Bovine Lactoferrin...*”, wchodząca w skład rozprawy doktorskiej mgr T. Dyrda-Terniuk, zawiera szczegółowe wyniki badań (LF) prawdopodobnie otrzymanej w warunkach przemysłowych i poddawanej odsalaniu w warunkach laboratoryjnych. Celem badań było dokonanie oceny wpływu operacji odsalania na ewentualne zmiany właściwości białka.

Odsalanie prowadzono z wykorzystaniem techniki filtracyjnej, określanej przez Autorów jako „ultrafiltracja”. W celu usunięcia fazy wodnej z odsalanego koloidalnego roztworu LF zastosowano filtry wirówkowe o nominalnej zdolności rozdzielczej 50 kDa, faktycznie odpowiadającej zakresowi rozdzielności membran stosowanych w przemysłowej ultrafiltracji. Separacja polegała na zatrzymaniu białka na powierzchni membrany i przetłaczaniu fazy ciągłej przez warstwę białka i membranę filtra pod działaniem siły odśrodkowej. Taki sposób prowadzenia ultrafiltracji określany jest terminem *dead-end* i nieuchronnie prowadzi do utraty zdolności rozdzielczej przez membranę, dlatego w praktyce nie jest stosowany. Ponadto proces usuwania fazy wodnej z próbki prowadzono w 4°C przy wysokim przyspieszeniu odśrodkowym (6300 g) przez relatywnie długi czas (3 × po 20 min). Są to warunki zdecydowanie odmienne od przebiegu ultrafiltracji w praktyce przemysłowej, gdyż tam proces UF prowadzi się w przepływie krzyżowym (ang. *cross-flow*), tzn. ciecz płynie stycznie do powierzchni membrany i przy wyższej temperaturze układu ze względu na lepkość ośrodka.

Wobec powyższego, wynikające z przeprowadzonych analiz różnice w strukturze białka przed i po odsalaniu próbek LF odnoszą się do warunków przeprowadzonych eksperymentów, ale raczej nie powinny być uogólniane na proces ultrafiltracji przemysłowej, uznawanej za proces nie powodujący destrukcji białek.

[P5] Cykl publikacji poświęconych możliwościom modyfikacji białek mleka zamyka bardzo obszerny artykuł pt. „*Lactoferrin as an active coordination scaffold for ruthenium (III)*”. Zaprezentowano tu wyniki badań nad otrzymywaniem kompleksów LF modyfikowanej rutenem w sposób analogiczny do metodologii stosowanej w poprzednich pracach. Otrzymane kompleksy zostały poddane wnikliwej ocenie z wykorzystaniem najnowszych metod analitycznych. Dotychczasowy zakres analiz instrumentalnych, stosowanych już we wcześniejszych publikacjach Doktorantki, został poszerzony o badania przeciwbakteryjnego oddziaływania kompleksów LF-Ru oraz komputerowe symulacje zmian w strukturze molekuly białka. Ewidentnie, omawiana praca sygnalizuje nowe kierunki badań oraz możliwości modyfikacji białek mleka i ich wykorzystanie np. w celach leczniczych. W jej powstaniu uczestniczyło 14 współautorów z 9 instytucji badawczych.

[P4] W pakiecie publikacji włączonych w skład rozprawy mgr Dyrda-Terniuk zamieściła też publikację „*The impact of Lactiplantibacillus plantarum on cream composition: Insight into changes of vitamin D3 content and fatty acid composition*” o tematyce odbiegającej od zagadnień modyfikacji struktury białek. Doktorantka badała możliwość wzbogacania śmietany (41% tłuszczu) w witaminę D3 poprzez wprowadzenie do układu szczepu bakterii *L. plantarum* w różnych wariantach prowadzenia fermentacji. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów mikrobiologicznych i analiz wykazano, że celem uzyskania jak najwyższej koncentracji vit. D3 w śmietanie proces powinien przebiegać w warunkach umożliwiających fotosyntezę witaminy i w obecności składników podłoża hodowlanego. Stwierdzono także, że syntezie vit. D3 towarzyszą zmiany składu kwasów tłuszczowych w śmietanie, detalicznie wyszczególnione w suplemencie do artykułu. Artykuł może więc być punktem wyjścia do opracowania w przyszłości technologii produkcji śmietany rynkowej wzbogacanej w vit. D3.

Polskojęzyczny rozdział pt. „Posumowanie i wnioski” zawiera w skróconej formie powtórzenie zadań badawczych zawartych w poszczególnych pracach składających się na rozprawę i ujętych w 10 punktach stwierdzeń prawidłowości wynikających z przeprowadzonych analiz i eksperymentów. Odczuwa się jednak brak wniosku będącego syntezą całości przedstawionych badań i uzasadniającego tytuł rozprawy.

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Tetiany Dyrda-Terniuk jest oryginalnym dwujęzycznym (polsko – angielskim) opracowaniem zawierającym wszystkie elementy, które z formalnego punktu widzenia powinny być zawarte w rozprawie doktorskiej – tzn. przegląd piśmiennictwa, sformułowanie celu pracy, przeprowadzenie eksperymentów, a także analizę wyników i ich dyskusję naukową. Ogólnie więc, struktura pracy nie budzi zastrzeżeń. Wprawdzie w tekście części rozprawy

zatytułowanej „Wprowadzenie” dostrzega się pewne uchybienia stylistyczne, czy np. brak odniesień do kilku zamieszczonych w wykazie bibliografii pozycji piśmiennictwa, ale nie obniżają one merytorycznej wartości całości rozprawy.

Reasumując, oceniana dysertacja jest cennym opracowaniem zawierającym prezentację wnikliwych badań właściwości najbardziej wartościowych składników mleka. W świetle publikacji, stanowiących trzon rozprawy mgr T. Dyrda-Terniuk prezentuje się jako osoba potrafiąca owocnie pracować w zespole badawczym, co w moim przekonaniu jest cechą bardzo ważną w pracy naukowej.

Dostrzegam przy tym, że niezależnie od dość szerokiego zakresu prowadzenia badań przez Doktorantkę, substancją budzącą Jej szczególne zainteresowania badawcze jest laktoferyna. Niewątpliwie białko to kryje w sobie jeszcze wiele tajemnic będąc wdzięcznym przedmiotem coraz głębszych badań, a wobec tego nasuwa się pytanie:

- Czym stosowana w pracy [P3] laktoferyna otrzymana od producenta przemysłowego (*Ferilac*) różniła się pod względem składu, stopnia czystości i innych właściwości od laktoferyny omawianej i analizowanej w pracach [P2] i [P5]?

Wobec ogólnie wysoce pozytywnej oceny przedłożonego materiału uważam, że oceniana rozprawa zasługuje na wyróżnienie, zgłaszam:

Wniosek o wyróżnienie

Niniejszym wnioskuję o wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej mgr Tetiany Dyrda-Terniuk zatytułowanej: „*Opracowanie metodologii do kompleksowej analizy biokolooidów oraz ich wykorzystanie na potrzeby przemysłu mleczarskiego*”. Jestem całkowicie przekonana, że oceniana rozprawa dysertacyjna odznacza się wysoką wartością poznawczą i zawiera ładunek aplikacyjny, ponieważ spełnia ona kryteria Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii UMK w Toruniu z dnia 13.12. 203 r., gdyż:

- dysertacja prezentuje wysoki poziom naukowy i jest złożona z 5 publikacji w czasopismach z listy JCR w o sumarycznym IF = 25,8 (650 pkt MNiSW), w których Doktorantka jest pierwszym autorem – tym samym spełnia ona wymogi dotyczące Jej dorobku naukowego i rangi publikowanych prac;
- Doktorantka posiada umiejętność sformułowania aktualnego, ważnego praktycznie problemu badawczego i trafnie dokonuje doboru zarówno przedmiotu badań, jak i metod analitycznych oraz wnikliwą interpretacją otrzymanych wyników eksperymentów;
- w wyniku zrelacjonowanych badań uzyskano bogaty materiał badawczy, który zawiera informacje sugerujące dalsze kierunki badań analitycznych i szanse ich wykorzystania w warunkach praktycznych.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa dysertacyjna mgr Tetiany Dyrda-Tertiuk pt. *„Opracowanie metodologii do kompleksowej analizy biokolooidów oraz ich wykorzystanie na potrzeby przemysłu mleczarskiego* spełnia wymagania określone w Ustawie *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 2 lipca 2018 roku z późniejszymi zmianami, wobec czego przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o przyjęcie rozprawy Pani mgr Tetiany Dyrda-Terniuk i dopuszczenie Doktorantki do publicznej obrony oraz dalszego postępowania w przewodzie doktorskim.

