

Prof. dr hab. inż. Ilona Kołodziejska
Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska

Gdańsk, 20.11.2013

Recenzja całokształtu dorobku naukowego dr inż. Doroty Marii Kręgiel ze szczególnym uwzględnieniem osiągnięcia naukowego pt. „*Proteobacteria* izolowane z wód przeznaczonych do spożycia oraz ich właściwości adhezyjne” stanowiącego rozprawę habilitacyjną

Informacje ogólne

Pani Dorota Maria Kręgiel ukończyła studia na Wydziale Chemii Spożywczej Politechniki Łódzkiej w r. 1986 uzyskując tytuł zawodowy magistra inżyniera ze specjalnością chemia i technologia spożywcza. W tym samym roku została zatrudniona jako pracownik inżynieryjno-techniczny, a następnie od 1988 do 2001 r. jako asystent na Wydziale Chemii Spożywczej/Wydziale Chemii Spożywczej i Biotechnologii w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii. Stopień doktora nauk technicznych w zakresie technologii chemicznej uzyskała w 2000 roku za rozprawę „Efekt Kluywera u drożdży *Schwanniomyces occidentalis*” wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Heleny Oberman. Od r. 2001 do chwili obecnej dr inż. Dorota Kręgiel jest zatrudniona na etacie adiunkta na Wydziale Chemii Spożywczej i Biotechnologii/Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii.

Działalność naukowa i ocena dorobku naukowego

Dr Dorota Kręgiel przez cały okres pracy naukowej zajmowała się szeregiem ważnych tematów badawczych związanych z mikrobiologią przemysłową i biotechnologią oraz mikrobiologią żywności. Jako członek zespołu kierowanego przez prof. Helenę Oberman prowadziła badania nad ulepszaniem właściwości drożdży przemysłowych w aspekcie ich praktycznego wykorzystania. Tematyka „drożdżowa” była również podstawą Jej rozprawy doktorskiej dotyczącej występowania efektu Kluywera u niektórych drożdży. Wyniki badań, włącznie z uzyskanymi w pracy doktorskiej, zostały opublikowane w formie ośmiu publikacji, głównie w czasopiśmie *Acta Alimentaria Polonica/Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* oraz *Biotechnologia*. Były one też podstawą opracowania dwóch prac przeglądowych. Uzyskane doświadczenie było także bardzo przydatne w dalszej pracy dr Doroty Kręgiel.

Kolejny wątek badawczy realizowany przez Habilitantkę, rozpoczęty pod kierunkiem prof. Heleny Oberman, a następnie kontynuowany w zespole prof. dr hab. Zdzisławy

Libudzisz dotyczy przechowalnictwa drobnoustrojów w Kolekcji Czystych Kultur. Efektem tej pracy są nie tylko publikacje, lecz również współautorstwo w opracowaniu Katalogu Czystych Kultur. Badania te są kontynuowane przez dr Kręgiel.

Spośród innych badań realizowanych po uzyskaniu przez Habilitantkę stopnia doktora na podkreślenie zasługują prace związane z opracowaniem metod immobilizacji drożdży przemysłowych. Przeprowadzone badania zaowocowały opracowaniem interesującej metody unieruchamiania komórek drożdży w spienionych żelach alginianowych oraz opracowaniem nowych nośników ceramicznych służących do powierzchniowej immobilizacji komórek. Wyniki zostały opublikowane w ostatnich dwóch latach w czterech artykułach w renomowanych czasopismach międzynarodowych, a co jest szczególnie ważne, opatentowane (trzy patenty, w tym dwa międzynarodowe). W dorobku Habilitantki znajdują się też prace metodyczne, jak opracowanie nowych metod oceny stanu fizjologicznego drożdży obejmujących oznaczenia cytochemiczne, zawartości wewnątrzkomórkowego ATP oraz aktywności kluczowych dla ich metabolizmu enzymów (efekt tych badań to trzy publikacje w międzynarodowych czasopismach i trzy w krajowych).

Wyróżnić należy też badania Habilitantki, które są szczególnie istotne dla przemysłu, jak ocena mikrobiologiczna środowisk fermentacyjnych, otrzymywanie wartościowych biopreparatów z drożdży poprodukcyjnych (zgłoszenie patentowe), oraz opracowanie metod selekcji dla wytypowania drożdży zdolnych do wykorzystania różnorodnych odpadów roślinnych i otrzymywania tą drogą pasz lub bioetanolu.

W działalności naukowej Habilitantki ważną pozycję stanowią prace związane z nowoczesnymi metodami mikrobiologicznej analizy żywności i wody oraz monitoringiem stanu higienicznego w zakładach przemysłu żywnościowego. Mają one duże znaczenie w zapewnianiu bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Wyniki tych badań opracowano w formie licznych artykułów naukowych i popularno-naukowych, głównie w krajowych czasopismach oraz przedstawiono na krajowych i zagranicznych konferencjach. Były one także inspiracją do badań, które zaowocowały rozprawą habilitacyjną. Znaczenie wyników tych ostatnich badań omówię przy ocenie rozprawy.

Podsumowując, opublikowany dorobek dr Doroty Kręgiel osiągnięty w okresie 27 lat pracy w wyższej uczelni obejmuje 96 pozycji. Wyniki badań przedstawiła Habilitantka w 34 publikacjach oryginalnych (25 po doktoracie). Z tych prac 11 ukazało się w recenzowanych czasopismach wyróżnionych w bazie JCR. Dr Dorota Kręgiel jako współautorka dwóch patentów międzynarodowych, patentu polskiego i dwóch zgłoszeń patentowych jest dobrym przykładem naukowca wywodzącego się z technicznej uczelni. W Jej dorobku warto zaznaczyć duży udział prac przeglądowych (22 pozycje, w tym 19 po doktoracie, 2 JCR) oraz

12 rozdziałów w książkach i podręcznikach akademickich, w tym jednego rozdziału w książce zagranicznej. Jest Ona także autorką 26 publikacji popularno-naukowych i 96 doniesień konferencyjnych (50 na konferencjach międzynarodowych). Wygłosiła 16 referatów w tym 3 na międzynarodowych konferencjach. Współuczestniczy w redagowaniu czasopisma *Yeast. Newsletter for Persons Interested in Yeasts* (Canada). Pani Dorota Kręgiel recenzowała też kilka artykułów dla krajowych i zagranicznych czasopism.

Sumaryczny IF prac autorstwa lub współautorstwa Habilitantki wynosi 21.021, z czego dla prac wykonanych po uzyskaniu stopnia doktora 19.47. Index Hirscha 3 (Web of Science). Prace Jej były cytowane 22 razy (bez autocytowań, dane z autoreferatu pochodzące z trzech baz). Jak na tak bogaty liczbowo dorobek jest to wynik raczej skromny. Według mnie nie świadczy on jednakże o małej wartości merytorycznej dorobku Habilitantki, lecz jest skutkiem opublikowania większości prac w czasopismach krajowych, a tych znajdujących się w dobrych czasopismach międzynarodowych dopiero w ostatnich kilku latach. Zakładam, że liczba cytowań tych ostatnich będzie zwiększać się z upływem czasu.

Dr Dorota Kręgiel, mimo że Jej prace były stosunkowo nielicznie cytowane, jest rozpoznawalna w międzynarodowym świecie naukowym, na co wskazuje między innymi zaproszenie Jej do zespołu recenzentów czasopisma *Chemical Papers*, komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji ISSY2013 „Cell Surface and Organelles in Yeasts from Basics to Applications (Słowacja), a także do wygłoszenia referatów na 3 międzynarodowych konferencjach oraz do opracowania rozdziału w anglojęzycznej książce o dehydrogenazach. Rozdział ten jest cenną pozycją w dorobku Habilitantki.

Dr Dorota Kręgiel pogłębia nieustannie swoje doświadczenie naukowe odbywając staże naukowe krajowe i zagraniczne oraz uczestnicząc w bardzo licznych szkoleniach (31). Przebywała też na trzech krótkoterminowych naukowych stażach zagranicznych (Instytut Przemysłu Spożywczego w Moskwie; University of Abertay, Dundee, Wielka Brytania; Bawarskie Ministerstwo Środowiska, Zdrowia Publicznego i Ochrony Konsumenta).

Umiejętności kierowania zespołem badawczym nabywała dr Kręgiel będąc m. in. koordynatorem międzynarodowego projektu w ramach programu Marie Curie Actions IRSES „People” BIOECOFUELS – Innovative Components of Liquid Fuels Produced from Region-Specific Waste Plant Materials (na ten projekt uzyskała dofinansowanie w postaci grantu na grant nr 2657/GG 7. PRUE/2013/0), kierownikiem naukowego projektu w ramach Programu Badań Stosowanych NCBiR, kierownikiem projektu badawczego KBN 2PO6T 08129 oraz wykonawcą w projekcie międzynarodowym STREP PROJECT NMP3-CT-2003-504937 oraz w trzech projektach krajowych, a także kierownikiem lub wykonawcą prac naukowo badawczych zleconych przez przemysł lub ośrodki naukowe. Projekty były owocem rozległej

współpracy Habilitantki z krajowymi i zagranicznymi jednostkami naukowymi. Lista instytucji i organizacji z którymi współpracowała lub aktualnie współpracuje Habilitantka jest imponująca. Wymienię tylko niektóre pozycje. Habilitantka jest m. in. uczestnikiem platformy „Collab4Safety”, której zadaniem jest integracja oraz optymalizacja badań i szkoleń w krajach Unii Europejskiej. Bierze też udział w konferencjach organizowanych przez Polski Punkt Koordynacyjny Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) oraz w pracach komitetu FA COST Action FA0907. Efektem współpracy z innymi ośrodkami są też wspólne publikacje. Ta działalność świadczy o dużej aktywności naukowej dr Doroty Kręgiel oraz o Jej bardzo dobrym przygotowaniu do roli samodzielnego pracownika naukowego.

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Pani dr Dorota Kręgiel przedstawiła rozprawę habilitacyjną w formie jednotematycznego cyklu publikacji. Rozprawę stanowi 5 oryginalnych prac opublikowanych w latach 2010-2013 oraz opracowanie przeglądowe. Są to istotne pozycje w dorobku naukowym Habilitantki, na co wskazuje też ich opublikowanie w czasopismach wyróżnionych w bazie JCR (Food Control – 2 prace; World Journal of Microbiology and Biotechnology – 1 praca; Food Technology and Biotechnology – 1 praca; Ochrona Środowiska – 1; Żywność. Nauka. Technologia. Jakość – 1 praca). Sumaryczny IF publikacji wchodzących w zakres rozprawy habilitacyjnej, wynosi 9,489, a liczba punktów MNiSW 145. W dwóch publikacjach Habilitantka jest jedynym autorem, a w pracach zespołowych głównym autorem z udziałem 60-80 %. Prace te nie były dotychczas cytowane (według bazy Scopus i Web of Science), jednakże jest to wynik tego, że opublikowano je w ostatnich 4 latach, w tym 3 pozycje w r. 2013. Biorąc pod uwagę ich wartość merytoryczną można z dużym prawdopodobieństwem przyjąć, że liczba cytowań będzie znacząco wzrastać. Dokumenty do rozprawy habilitacyjnej (Załącz. 5) zawierają oświadczenia współautorów prac zespołowych, którzy określili indywidualny wkład w ich powstanie. Wskazują one, że udział Habilitantki we wszystkich pracach zespołowych jest dominujący, zarówno od strony koncepcyjnej, jak i podczas wykonywania badań i redagowania publikacji.

Rozprawa habilitacyjna obejmuje zagadnienia z różnych obszarów nauki, a mimo to tworzących integralną całość. Świadczy ona też o umiejętnościach Habilitantki logicznego powiązania poszczególnych etapów badań służących osiągnięciu założonych celów. Wyniki prac stanowiących rozprawę habilitacyjną wnoszą istotny wkład do wiedzy o występowaniu niektórych *Proteoobacteria* w systemach dystrybucji wody pitnej, w wodzie pitnej i napojach, metodach ich izolacji oraz o ich właściwościach adhezyjnych, zdolności do wytwarzania

biofilmów i możliwościach zmniejszenia tego niekorzystnego zjawiska. Oprócz aspektu poznawczego mają one też duże znaczenie praktyczne i społeczne.

Habilitantka prowadząc długotrwałe systematyczne badania jakości mikrobiologicznej wody z wybranego systemu dystrybucji zidentyfikowała w nim bakterie *Aeromonas hydrophila* i wykazała, że mogą to być szczepy wirulentne. Woda taka może więc stanowić zagrożenie zdrowotne, mimo, że spełnia wymagania określone odpowiednim Rozporządzeniem Ministra Zdrowia. Można mieć nadzieję, że wyniki prac Habilitantki, spowodują uzupełnienie aktualnego rozporządzenia o wymóg badania wody na obecność pałeczek z rodzaju *Aeromonas*.

Kolejne osiągnięcie dr Doroty Kręgiel to wykazanie, że przyczyną zepsucia aromatyzowanych wód smakowych są bakterie z rodzaju *Asaia*. Habilitantka jako pierwsza w Polsce wyizolowała te bakterie stosując opracowane przez siebie podejście metodyczne, zakwalifikowała je jako *Asaia lannensis* oraz wykazała, że źródłem ich występowania w badanych wodach smakowych były dodane naturalne aromaty owocowe. Wyniki tych prac mają duże znaczenie dla praktyki przemysłowej stanowiąc podstawę do optymalizacji warunków procesu technologicznego wytwarzania tego rodzaju produktów. Sekwencje 16S RNA wyizolowanych przez Habilitantkę szczepów *Asaia lannensis* i *Aeromonas hydrophila* zostały zgłoszone do NCBI GenBank.

Bardzo interesujące są badania prowadzone przez Habilitantkę nad właściwościami adhezyjnymi wyizolowanych szczepów *Aeromonas hydrophila* i *Asaia lannensis*. Ważniejsze rezultaty to wykazanie ich zdolności agregacyjnych oraz formowania biofilmów, w przypadku *A. lannensis* określenie czynników wpływających na zdolności adhezyjne tych bakterii w zależności od wieku i hydrofobowości komórek oraz dostępności składników odżywczych, a także od fizykochemicznych właściwości powierzchni. Wyniki tych ostatnich badań można praktycznie wykorzystać do doboru materiału opakowaniowego pozwalającego na ograniczenie adhezji komórek bakteryjnych.

Logiczną kontynuacją badań było podjęcie przez Habilitantkę próby zmniejszenia adhezji drobnoustrojów do powierzchni w systemach dystrybucji wody. Habilitantka założyła, że jest to możliwe poprzez modyfikację powierzchni związkami zmniejszającymi napięcie powierzchniowe oraz dodatkowo wykazującymi działanie przeciwdrobnoustrojowe. We wcześniejszych badaniach wykazała, że takie właściwości posiadają organosilany z aktywnymi grupami funkcyjnymi. Jak podaje Habilitantka w autoreferacie są one związkami nietoksycznymi. Ten warunek musi być spełniony, zarówno przy stosowaniu związków zmieniających właściwości powierzchni w instalacjach wody pitnej jak i materiałów opakowaniowych do żywności. Należy tu dodać, że szczególnie w przypadku żywności duże

zainteresowanie w ostatnich latach wzbudzą związki o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych jako integralny składnik tzw. opakowań aktywnych.

Modyfikacje powierzchni, początkowo szklanych, a następnie z PCV i elastomeru silikonowego zostały wykonane we współpracy z Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Otrzymane wyniki potwierdziły słuszność przyjętych założeń. Szczególnie aktywne ze względu na właściwości antyadhezyjne i przeciwdrobnoustrojowe były organosilany zawierające grupy metoksyłowe i czwartorzędowe sole amoniowe. Habilitantka wykazała ponadto, że aktywność badanych organosilanów zależała zarówno od rodzaju grup funkcyjnych jak i ich orientacji przestrzennej.

Praca przeglądowa, opracowana na podstawie dostępnego piśmiennictwa i rezultatów własnych badań Habilitantki, zawiera wiele cennych informacji o bakteriach z rodzaju *Asaia* - ich występowaniu, właściwościach biochemicznych, wpływie na jakość sensoryczną żywności, zdolności do wytwarzania biofilmów, a także o potencjalnych zagrożeniach zdrowotnych.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa habilitacyjna w formie monotematycznego cyklu publikacji stanowi kompleksowe podejście badawcze. Zawiera ona elementy nowości naukowej, poszerza wiedzę o wybranych przedstawicielach *Proteobacteria* i możliwościach ograniczenia niekorzystnych efektów wywoływanych przez te bakterie w wodach pitnych, wnosząc jednocześnie znaczący ładunek o charakterze aplikacyjnym.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Dr Dorota Kręgiel posiada duże doświadczenie i osiągnięcia w działalności dydaktycznej. Prowadziła Ona wszystkie formy zajęć dydaktycznych, w tym wykłady z przedmiotów Infekcje i intoksykacje, Higiena produkcji oraz Mikrobiologia żywności i Analiza mikrobiologiczna (w języku angielskim), a także seminaria i liczne laboratoria. Jest autorką lub współautorką wymienionych wcześniej 10 rozdziałów w podręcznikach akademickich z zakresu różnych obszarów mikrobiologii oraz 1 skryptu. Była promotorem 72 prac dyplomowych magisterskich i inżynierskich oraz podyplomowych. Opracowała 6 programów nauczania m.in. dla słuchaczy studium doktoranckiego oraz 2 w języku angielskim dla studentów kierunku Biotechnologia Centrum Kształcenia Międzynarodowego (International Faculty of Engineering).

Za osiągnięcia w działalności dydaktyczno-wychowawczej w latach 1987-2012 dr Dorota Kręgiel była wyróżniona nagrodami Rektora Politechniki Łódzkiej. W roku 2010 została odznaczona Srebrnym Medalem za Długoletnią Służbę.

Dr Dorota Kręgiel angażuje się w prace na rzecz Wydziału (członek komisji programowej kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka oraz Komisji ds. Egzaminów Dyplomowych, współorganizator wydziałowego seminarium „Analiza żywności metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej”). Uczestniczyła w przygotowaniu XXVI Sesji Naukowej KTChŻ PAN w Łodzi (1995) oraz jubileuszowej Sesji Naukowej Wydziału Chemii Spożywczej i Biotechnologii (2000). Dzięki współpracy z firmą Merck zorganizowała pracownię mikrobiologicznej analizy żywności. Od 2008 roku jest opiekunem Kolekcji Czystych Kultur Mikroorganizmów LOCK105. Jest też członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Polskiego Towarzystwa Mikrobiologicznego oraz ISEKI-Food Association.

Wyróżnić należy także Jej dużą aktywność w prezentowaniu oraz popularyzacji działalności naukowej i dydaktycznej w różnych środowiskach lokalnej społeczności. Na szczególne podkreślenie zasługuje Jej szeroko zakrojona współpraca z przemysłem, obejmująca badania wykonane pod kątem jego potrzeb, wykłady, szkolenia, opracowanie szeregu popularno-naukowych publikacji oraz wykonanie kilkadziesiąt ekspertyz na zamówienie krajowych i zagranicznych zakładów przemysłowych.

Ocena końcowa

Podsumowując, stwierdzam, że dorobek naukowy dr inż. Doroty Marii Kręgiel oraz Jej rozprawa habilitacyjna spełniają wymagania określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm. Dz. U. z 2005 r., Nr 164, poz. 1365) oraz w Rozporządzeniu Ministra Szkolnictwa Wyższego i Nauki z 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Habilitantka jest dojrzałym pracownikiem naukowym z umiejętnością pracy w zespole i bardzo dobrze przygotowanym do samodzielnej pracy. Pozytywnie oceniam również Jej działalność dydaktyczną i organizacyjną. Wnioskuje, zatem o dopuszczenie dr Doroty Kręgiel do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

S. Kociński