

Szczecin 15.10.2015

Prof. dr hab. inż. Artur Bartkowiak
Wydział Nauk o Żywności I Rybactwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Recenzja

osiągnięcia naukowego pt. ”Preparat probiotyczny – właściwości detoksykacji aflatoksyny B₁ i ochratoksyny A (badania *in vitro* oraz *in vivo*)” oraz ocena całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr inż. Katarzyny Ślizewskiej w związku z postępowaniem habilitacyjnym wszczętym na Politechnice Łódzkiej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności

Recenzję przygotowałem na podstawie pisma Sekretarza Komisji na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej z dnia 18.09.2015 informującego o powołaniu komisji w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego zgodnie z art 18a, pkt 7 w związku z art.16 ustawy oraz wytycznymi wynikającymi z rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadania stopnia doktora habilitowanego (Dz U. Nr 196, poz. 1165).

Pani dr inż. Katarzyna Ślizewska jest absolwentką Wydziału Chemii Spożywczej i Biotechnologii Politechniki Łódzkiej. Stopień doktor nauk technicznych został jej nadany w 2002 roku na tym samym wydziale na podstawie rozprawy doktorskiej „Produkty przemian fruktooligosacharydów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*”. Pani dr inż. Katarzyna Ślizewska od początku swojej kariery naukowej do chwili obecnej zatrudniona jest, początkowo jako asystent a obecnie jako adiunkt, w Zakładzie Mikrobiologii Technicznej Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej.

1. Ocena działalności naukowej

a) ocena monografii przedstawionej jako osiągnięcie naukowe

Przedstawiona do oceny praca stanowi kompleksowe badania wpływu wybranego preparatu probiotycznego na możliwość detoksykacji aflatoksyny B₁ (AFB₁) i ochratoksyny A (OTA) występujących w paszy i w przewodzie pokarmowym kurcząt. Zanieczyszczenie mykotoksynami dotyka corocznie ¼ światowych płodów rolnych i jest problemem nie tylko z toksykologicznego punktu widzenia, ale również ekonomicznego np. w hodowli drobiu. Niestety obecnie stosowane metody detoksyfikacji są często mało skuteczne i często mogą wpływać niekorzystnie na

właściwości określonych produktów rolnych poddanych takim procesom, stąd też poszukuje się nowych bardziej skutecznych i jednocześnie bezpiecznych metod eliminacji mykotoksyn.

W literaturze znane są doniesienia opublikowane na przestrzeni ostatnich 10 lat opisujące możliwość wykorzystania wybranych drobnoustrojów w tym bakterii i drożdży do detoksyfikacji rozmaitych mykotoksyn poprzez ich usunięcie z paszy przed żywieniem lub *in vivo* w przewodzie pokarmowym zwierząt. Natomiast zaproponowane w pracy zastosowanie jednego produktu w postaci mieszaniny różnych drobnoustrojów, tzn. bakterii z rodzaju *Lactobacillus* oraz drożdży *Saccharomyces cerevisiae* pochodzących z kolekcji macierzystej jednostki, do detoksykacji mykotoksyn wraz z docelowym potwierdzeniem jego probiotycznego efektu stymulującego wzrost kurcząt uważam za rozwiązanie nowatorskie, które dotychczas nie zostało opisane w literaturze.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły, że bakterie *Lactobacillus paracasei* ŁOCK 0920, *Lactobacillus brevis* ŁOCK 0944 oraz *Lactobacillus brevis* ŁOCK 0945 wykazują właściwości probiotyczne i mogą być wykorzystane do produkcji nowego preparatu probiotycznego. Fermentacja preparatem probiotycznym paszy skażonej wybranymi mykotoksynami, po sześciu godzinach obniża ilość AFB1, w zależności od początkowego stężenia toksyny (1 lub 5 mg/kg), od 39 do 55%, a OTA od 55 do 73%. Fermentacja ogranicza również wzrost bakterii tlenowych przetrwalnikujących oraz działa nie tylko hamująco, lecz również bójczo na bakterie z rodzaju *Pseudomonas* i *E. coli* w paszy. Przeprowadzone badania z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej HPLC wykazały, że proces detoksykacji aflatoksyny B1 i ochratoksyny A przez drobnoustroje zachodzi na drodze adsorpcji. Doświadczenia hodowlane na kurczętach wykonane we współpracy z Instytutem Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonie potwierdziły, że dodatek preparatu probiotycznego do paszy skażonej AFB1 lub OTA wpływa na polepszenie parametrów odchowu, gdzie efekt ten jest szczególnie widoczny u kurcząt żywionych paszą skażoną wyższą dawką mykotoksyn.

Preparat probiotyczny dodany do paszy skażonej zarówno AFB1, jak i OTA zwiększa ilość toksyn wydalanych z kałomoczem oraz obniża ich kumulację w wątrobie i nerkach. W przypadku paszy skażonej AFB1 ilość toksyny w wątrobie i nerkach, niezależnie od stężenia toksyny w paszy, jest niższa od 50 do 70%, a OTA od 30 do 50%, w porównaniu z grupą kurcząt żywionych paszą skażoną toksyną, ale bez

dotatku probiotyku. Przeprowadzone badania histopatologiczne potwierdziły, że aflatoksyna B1 obecna w paszy, zarówno w stężeniu 1 jak i 5 mg/kg, działa toksycznie na wątrobę kurcząt. Natomiast ochratoksyna A w niższym stężeniu wykazuje toksyczne działanie na wątrobę, natomiast w wyższym stężeniu 5 mg/kg działa toksycznie na wątrobę i nerki. Dodatek preparatu probiotycznego do paszy skażonej mykotoksynami, nie chroni przed zmianami histologicznymi badanych narządów, ale przyczynia się do zmniejszenia ich nasilenia. Dodatek preparatu probiotycznego do paszy skażonej AFB1 lub OTA obniża statystycznie istotnie genotoksyczność oraz cytotoksyczność kałomoczu kurcząt. Żywienie kurcząt paszą skażoną mykotoksynami, ale z dodatkiem preparatu probiotycznego powoduje zwiększenie liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i drożdży, obniżając przy tym liczbę bakterii z rodzaju *Clostridium* i z grupy *coli* w różnych organach kurcząt. Dodatek preparatu probiotycznego do paszy skażonej AFB1 i OTA wpływa korzystnie na metabolizm prowadzony przez bakterie jelitowe. Zaobserwowano wzrost stężenia kwasu mlekowego i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (kwasu octowego, propionowego, masłowego) oraz obniżenie aktywności tzw. enzymów fekalnych w kałomoczu kurcząt. Żywienie kurcząt paszą skażoną AFB1 lub OTA, ale z dodatkiem preparatu probiotycznego obniża aktywność enzymów wątrobowych oraz powoduje wzrost poziomu białka całkowitego i albuminy w surowicy.

Wszystkie przeprowadzone badania zostały należycie opisane i zinterpretowane m.in. z wykorzystaniem analizy statystycznej. Należy podkreślić, że obok wysokich walorów poznawczych przedstawionej do oceny monografii posiada ona bardzo cenne aspekty praktyczne, gdzie pozytywne wyniki potwierdzone w badaniach *in vitro* i *in vivo* stanowią podstawę do wykorzystania opracowanych i wskazanych w preparatów probiotycznych w szerszym wykorzystaniu profilaktycznym w hodowli drobiu. Przeprowadzone badania potwierdziły, że preparat probiotyczny zawierający 10^{10} komórek bakterii z rodzaju *Lactobacillus* oraz 10^6 komórek drożdży dodany do paszy w ilości 0,1-0,2% wag. może być stosowny w detoksykacji obu badanych mykotoksyn oraz w profilaktyce u kurcząt brojlerów. Taki preparat probiotyczny może być zatem produkowany w celach handlowych i stosowany w żywieniu zwierząt, eliminując stosowane do tej pory nieorganiczne adsorbenty. W dotychczasowej praktyce żywienia zwierząt stosowano dwa odrębne dodatki paszowe; dodatek probiotyczny i adsorbujący mykotoksyny, oparty przede wszystkim

na związkach chemicznych. Zastosowanie jednego produktu ze wskazaniem jako probiotycznego stymulatora wzrostu i zdolnego do detoksykacji mykotoksyn jest rozwiązaniem nowatorskim.

Niektóre wyniki badań, prezentowane w monografii zostały częściowo opublikowane w latach 2010-2014 jako 3 prace w czasopismach zagranicznych z IF, takich jak Research in Veterinary Science IF=1,33, Journal of Animal and Feed Science IF=0,636 i Annals of Agricultural and Environmental Medicine IF=2,283. We wszystkich tych pracach dr inż. Katarzyna Śliżewska była pierwszym autorem z zadeklarowanym indywidualnym wkładem na poziomie 60-97%.

Podsumowując przedstawione w monografii wyniki badań uważam je za wartościowe pod względem nowości naukowej zarówno pod względem poznawczym jak i aplikacyjnym i traktuję jako podstawowe osiągnięcie naukowe dr inż. Katarzyny Śliżewskiej.

b) ocena pozostałych osiągnięć naukowych

Głównym przedmiotem zainteresowań naukowych i prac badawczych dr inż. Katarzyny Śliżewskiej są bakterie kwasu mlekowego, probiotyki dla ludzi i zwierząt, prebiotyki oraz synbiotyki. Tematyka badawczą jaką zajmuje się habilitantka od 2002 roku w zespole ProBioTest kierowanym przez prof. dr hab. Zdzisławę Libudziś dotyczy poszukiwania, izolacji, identyfikacji i określenia cech funkcjonalnych, badania mechanizmu działania oraz praktycznego wykorzystania bakterii fermentacji mlekowej (LAB) o właściwościach probiotycznych. W tym czasie opracowano przy aktywnym współudziale dr inż. Katarzyny Śliżewskiej wiele nowych produktów zawierających szczepy probiotyczne na potrzeby wielu sektorów przemysłu spożywczego, farmaceutycznego i paszowego. W ostatnich 5 latach prowadzi badania związane z prebiotykami (oporne dekstryny) i substancjami bioaktywnymi (selen, betalainy). Udział w tych pracach zaowocował licznymi publikacjami naukowymi, zgłoszeniami patentowymi oraz prezentacjami na konferencjach krajowych i zagranicznych. Prowadzone prace badawcze mieszczą się kolejno w pięciu następujących obszarach tematycznych:

1. Izolacja, identyfikacja i określenie cech funkcjonalnych szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* o właściwościach probiotycznych (1 patent krajowy i 5 zgłoszeń patentowych, w których w 4 dr inż. Śliżewska jest pierwszym autorem);

2. Konstrukcja preparatów probiotycznych i synbiotycznych dla zwierząt (6 publikacji w tym 2 z IF);
3. Konstrukcja produktów probiotycznych i ocena ich skuteczności w badaniach klinicznych (1 patent, 5 publikacji w tym 3 z IF);
4. Liczebność dominujących mikroorganizmów jelitowych ludzi i zwierząt oraz metabolizm prowadzony przez te mikroorganizmy (tworzenie krótkołańcuchowych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych, aktywność enzymów fekalnych) (5 publikacji z IF – w 1 pierwszy autor w pozostałych 2);
5. Charakterystyka opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej oraz ich zastosowanie jako substancji o właściwościach prebiotycznych (2 zgłoszenia patentowe, 8 publikacji w tym 5 z IF).

W mojej ocenie do najważniejszych osiągnięć naukowych i z zakresu wdrożeń należy wyselekcjonowanie oraz dobór szczepów o właściwościach probiotycznych (szczepy zostały zastrzeżone patentem i 5 zgłoszeniami patentowymi oraz udzielono licencji na ich wykorzystanie w produkcji farmaceutycznych preparatów probiotycznych), opracowanie probiotycznych preparatów przeznaczonych jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt głównie monogastrycznych (3 patenty, 1 zgłoszenie patentowe) oraz opracowanie innowacyjnego produktu probiotycznego przeznaczonego dla dzieci z atopowym zapaleniem skóry (preparat jest obecnie chroniony patentem i został wdrożony do produkcji w Instytucie Biotechnologii Surowic i Szczepionek, Biomed, Kraków).

Treści wszystkich publikacji i patentów opublikowanych po obronie pracy doktorskiej, których autorką lub współautorką jest dr inż. Katarzyna Śliżewska, są zgodne z ogólną tematyką osiągnięcia naukowego podanego ocenie. Dotychczasowy dorobek naukowy dr inż. Katarzyny Śliżewskiej obejmuje łącznie 200 pozycji, w tym 30 oryginalnych prac twórczych opublikowanych w recenzowanych czasopismach zagranicznych i krajowych (z listy filadelfijskiej 18 prac), 9 prac przeglądowych w polskich czasopismach recenzowanych (z listy filadelfijskiej 3 prace), 11 prac w czasopismach popularno-naukowych, 18 komunikatów naukowych publikowanych w postaci streszczeń w suplementach czasopism, 1 monografię, 7 rozdziałów w monografiach (4 w języku angielskim, 3 w języku polskim), 1 skrypt do ćwiczeń laboratoryjnych, 5 patentów oraz 8 zgłoszeń patentowych, 24 referaty prezentowane na konferencjach i seminariach (w tym 7 zagranicznych), 72 doniesienia konferencyjne oraz 14 prezentacji na targach i wystawach wynalazków. Łączne

autorstwo lub współautorstwo publikacji naukowych po doktoracie w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) wynosi 21. Całkowita lista cytowań powyższych prac z pominięciem autocytowań wynosi na podstawie Web of Science 60 a na podstawie Scopus 71 a sumaryczny indeks Hirscha wynosi 5.

2. Ocena pozostałej działalności w tym organizacyjnej i dydaktycznej

Dr inż. Katarzyna Śliżewska po zakończeniu doktoratu brała czynny udział w 12 krajowych projektach naukowo-badawczych finansowanych przez KBN, MNiSW, NCBiR oraz Fundację Danone. Na podkreślenie zasługuje fakt, że była kierownikiem 2 projektów. Obecnie jest liderem Konsorcjum Naukowo-Przemysłowego (4 uczelnie wyższe, 1 instytut badawczy oraz 1 podmiot gospodarczy) oraz kierownikiem projektu realizowanego w ramach Programu Badań Stosowanych pt. „Preparat synbiotyczny do profilaktyki zdrowotnej zwierząt monogastrycznych i zapobiegania wystąpienia chorób bakteryjnych i zatruc wywołanych toksynami oraz poprawiającego bezpieczeństwo żywienia i wydajność chowu zwierząt”. W zakresie współpracy z przemysłem, dr inż. Katarzyna Śliżewska bierze aktywny udział w realizacji prac badawczych, ekspertyz i innych prac badawczo-rozwojowych świadczonych na zamówienie instytucji naukowych i gospodarczych (w sumie 6 projektów na zlecenie partnerów gospodarczych z czego w 3 była kierownikiem). Reasumując ten rodzaj działalności na podkreślenie zasługuje wysoka aktywność p. doktor w pozyskiwaniu środków zewnętrznych zarówno na projekty badawcze w tym co istotne realizowane w bezpośredniej współpracy z partnerami gospodarczymi oraz inwestycyjne w tym infrastrukturalne, gdzie w latach 2010- 2012 koordynowała prace remontowo-budowlane i wyposażeniowe Laboratorium Technologii i Analizy Żywności Prozdrowotnej ProBioTest.

W ramach działalności dydaktycznej opracowała i prowadzi wykłady oraz zajęcia laboratoryjne z przedmiotów: Mikrobiologia przemysłowa (dla kierunku Biotechnologia, studia I stopnia zaoczne) oraz Fermented Food i Fermentation processes (dla International Faculty of Engineering PŁ, studia II stopnia). Ponadto prowadzi wykłady, ćwiczenia i zajęcia laboratoryjne dla studentów wydziałów Biotechnologii i Nauk o Żywności, Chemicznego, Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Zarządzania i Inżynierii Produkcji oraz międzywydziałowego Kolegium Towaroznawstwa PŁ z przedmiotów: Mikrobiologia ogólna, Mikrobiologia

środowiska, Metody oceny produktów spożywczych, Analiza mikrobiologiczna żywności, Analiza specjalizacyjna, Nowoczesne metody analizy mikrobiologicznej w biotechnologii, Komputerowe wspomaganie procesów biotechnologicznych, Systemy komputerowe, a także zajęcia dla słuchaczy studiów podyplomowych Mikrobiologia, higiena i jakość w przemyśle.

Na przestrzeni ostatnich 13 lat po uzyskaniu stopnia doktora była opiekunem 46 prac dyplomowych (21 inżynierskich, 25 magisterskich) oraz 4 prac na studiach podyplomowych. Była recenzentem 15 prac dyplomowych. Obecnie jest promotorem pomocniczym przewodu doktorskiego nt. „Aktywność mikroorganizmów jelitowych dzieci chorych na atopowe zapalenie skóry”.

W latach 1998-2003 była współorganizatorem 3 krajowych konferencji naukowych na temat Bakterie kwasu mlekowego – klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie, a w 2014 r. międzynarodowej konferencji International Biodeterioration and Biodegradation Symposium. Należy do Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów; w latach 2004-2007 była Sekretarzem, a 2008-2011 Członkiem Zarządu Oddziału Łódzkiego PTM.

Za osiągnięcia w pracy naukowej i dydaktyczno-wychowawczej, dr inż. Katarzyna Śliżewska była 9-krotnie wyróżniona nagrodą J.M. Rektora Politechniki Łódzkiej. Otrzymała również 3 Nagrody Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za projekty naukowe oraz 1 srebrny i 5 złotych medali na Międzynarodowych Wystawach Wynalazczych (w Korei, Belgii, Szwajcarii, Chorwacji i na Ukrainie). Obecnie jest stypendystką Narodowego Programu Stypendialnego Republiki Słowackiej. W roku 2014 została uhonorowana Brązowym Medalem za Długoletnią Służbę.

3. Podsumowanie

Stwierdzam, że w przypadku dr inż. Katarzyny Śliżewskiej, wypełnione zostały zarówno ustawowe (ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki – Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zm. w Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365 oraz w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455) jak również zwyczajowe kryteria stosowane przy ocenie wniosków o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Na podstawie przedstawionych do oceny materiałów oceniam pozytywnie działalność naukową, dydaktyczną i organizacyjną dr inż. Katarzyny Śliżewskiej. Przedłożona do

recenzji jako oryginalne osiągnięcie naukowe monografia obejmuje unikalne badania i stanowi twórczy wkład w opracowanie i rozwój nowych preparatów probiotycznych o właściwościach detoksyfikacyjnych. Dr inż. Katarzyna Śliżewska wykazała, że potrafi zaplanować i wykonać obszerne badania naukowe oraz właściwie je zinterpretować. Jednocześnie w okresie po uzyskaniu stopnia doktora z powodzeniem pogodziła działalność naukową, dydaktyczną i organizacyjną.

Recenzowane osiągnięcia naukowe oraz całokształt dorobek dowodzą o dojrzałości naukowej habilitantki oraz spełniają wymagania obowiązującej Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym, dlatego wnoszę o dopuszczenie dr inż. Katarzyny Śliżewskiej do dalszych etapów postępowania w przewodzie habilitacyjnym.

DYREKTOR
Centrum Bioinżynierii i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych
Prof. dr hab. inż. Artur Bartkowiak