

dr hab. Katarzyna Hupert-Kocurek, prof. UŚ
Wydział Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Śląski w Katowicach

Katowice, 14 maja 2026 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Natalii Burlaga

p.t. „Functional Colloidal Systems Containing Probiotic Bacteria”

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Natalii Burlaga została napisana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Ewy Kaczorek z Zakładu Chemii Organicznej i Bioorganicznej w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej. Podstawą opracowania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej z dnia 31 marca 2026 roku. Recenzję przygotowałam w oparciu o obowiązujące przepisy wynikające z Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz. 742 z późn. zm.) oraz dostarczony egzemplarz rozprawy doktorskiej.

Wiele powszechnie stosowanych, zarówno w żywności funkcjonalnej, w formie suplementów diety, czy preparatów farmaceutycznych, szczepów probiotycznych jest bardzo wrażliwych na czynniki środowiskowe, które mogą prowadzić do znacznego spadku liczby i aktywności komórek podczas przetwarzania, przechowywania i dystrybucji, w wyniku czego liczba żywych mikroorganizmów obecnych w preparacie w momencie spożycia może być znacznie niższa niż ilość zadeklarowana w momencie produkcji. To z kolei może potencjalnie osłabić zamierzone efekty zdrowotne, dla osiągnięcia których niezbędne jest zastosowanie określonej liczby mikroorganizmów w pojedynczej dawce. Dlatego też utrzymanie żywotności kultur probiotycznych, od momentu produkcji do uwolnienia i zasiedlenia organizmu gospodarza, pozostaje poważnym wyzwaniem technologicznym. Takiego wyzwania podjęła się Pani mgr inż. Natalia Burlaga, która w rozprawie doktorskiej zatytułowanej „Functional Colloidal Systems Containing Probiotic Bacteria” zmierzyła się z problemem opracowania oraz kompleksowej oceny koloidalnych systemów opartych o enkapsulację komórek w matrycach hydrożelowych oraz ich stabilizację nanocząstkami lipidowymi, zapewniających przeżywalność i stabilność funkcjonalną bakterii probiotycznych.

Przygotowana w języku angielskim rozprawa doktorska mgr inż. Natalii Burlaga liczy 176 stron, w tym 54 rysunki i 16 tabel. Badania opisane w rozprawie zostały przeprowadzone w ramach

projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, PRELUDIUM 22 pt.: *MiCo: new microbe-colloids for oral delivery of probiotics*. Struktura pracy ma formę monografii i jest zgodna z ogólnymi zasadami i wymogami stawianymi rozprawom doktorskim. Składa się z pięciu rozdziałów głównych: LITERATURE REVIEW, RESEARCH HYPOTHESIS AND OBJECTIVES, SCIENTIFIC RESEARCH (rozdział obejmujący materiały i metody), RESULTS AND DISCUSSION oraz SUMMARY. W pracy zamieszczono również abstrakt w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów zastosowanych w dysertacji oraz spis literatury. Do pracy dołączono także informacje dotyczące dorobku i aktywności naukowej Doktorantki, które nie stanowiły przedmiotu oceny.

Pierwszą część recenzowanej pracy stanowi przegląd literatury, który stopniowo wprowadza czytelnika do poruszanej tematyki oraz nakreśla zagadnienia badawcze, którymi zajmuje się Doktorantka, wskazując na Jej gruntowne pogłębienie wiedzy z obszaru związanego z systemami koloidalnymi. Postawiona hipoteza badawcza jest poprawna i odnosi się do przeprowadzonych i opisanych w pracy eksperymentów. Część metodyczna, przygotowana bardzo skrupulatnie, została podzielona na kilka rozdziałów i podrozdziałów przedstawiających: szczepy bakterii zastosowane w pracy i warunki ich hodowli, opisy eksperymentów, preparatyki zaprojektowanych formułacji, a także opisy bardzo szerokiego wachlarza metod zastosowanych w badaniach. Najbardziej rozbudowaną część rozprawy doktorskiej stanowi rozdział Wyniki i dyskusja. Opisane przez Doktorantkę w tej części pracy eksperymenty badawcze wraz z zaprezentowanymi wynikami i ich dyskusją, stanowią chronologicznie i precyzyjnie zaplanowany cykl badań. Na dużą uwagę zasługuje dobór literatury naukowej, którą Doktorantka wykorzystwała do napisania rozprawy. Lista pozycji literaturowych liczy aż 238 prac, w większości opublikowanych w ostatnich 5 latach, w uznanych czasopiśmie naukowych i ściśle odnoszących się do opisywanych problemów badawczych. Wskazuje to na podjęcie przez mgr inż. Natalię Burlaga bardzo aktualnej tematyki badawczej.

W celu rozwiązania głównego problemu badawczego Doktorantka postawiła sobie cele szczegółowe, które obejmowały: (i) ocenę przydatności wybranych substancji jako dodatków o charakterze ochronnym w projektowanych formułacjach; (ii) opracowanie probiotycznych układów koloidalnych opartych na matrycach hydrożelowych i liposomowych; (iii) charakterystykę struktury i właściwości fizykochemicznych uzyskanych koloidalnych układów probiotycznych; (iv) ocenę aktywności i przeżywalności komórek probiotycznych w zaprojektowanych układach oraz (v) ocenę stabilności opracowanych układów podczas przechowywania.

W pierwszym etapie szeroko zakrojonych badań Doktorantka skupiła się na ocenie wpływu trehalozy, witaminy C, maltodekstryny, glutaminianu sodu, inuliny, gumy arabskiej i skrobi



kukurydzianej, substancji powszechnie stosowanych w procesie enkapsulacji, na komórki trzech probiotycznych szczepów: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* i *L. paracasei*. Na podkreślenie zasługuje przeprowadzenie kompleksowych badań nad wpływem wymienionych substancji na żywotność, aktywność metaboliczną, właściwości powierzchniowe, integralność błony komórkowej oraz aktywację odpowiedzi na stres u badanych bakterii. Takie wielokierunkowe podejście pozwoliło uzyskać solidne wyniki dające podstawę do wyboru odpowiednich składników preparatów na bazie hydrożelu. Przeprowadzone obserwacje pozwoliły także trafnie wytypować szczep *L. plantarum* do kolejnych etapów badań. Szczep ten charakteryzował się bowiem największą stabilnością, ale i plastycznością w dostosowywaniu się do warunków środowiska. Po przygotowaniu preparatów probiotycznych na bazie hydrożelu, Autorka przeprowadziła szereg testów i analiz, które potwierdziły ochronną rolę zastosowanych nośników względem *L. plantarum* podczas przechowywania w temperaturze 4°C. Opracowane matryce, wzbogacone o wytypowane w badaniach wstępnych składniki prebiotyczne (trehalozę, inulinę, bądź ich mieszaninę) sprzyjały przeżywalności i aktywności komórek, a obserwowany efekt zależał od składu matrycy. Spośród badanych układów hydrożelowych, bardziej sprzyjające warunki dla komórek bakterii stwarzały preparaty z domieszką błonnika z łusek nasion babki jajowatej i inuliny, co - jak słusznie sugeruje Autorka - wynikało z charakteru mikrośrodowiska utworzonego wokół komórek bakterii. Przedmiotem kolejnego etapu pracy były - stanowiące nowatorskie rozwiązanie - formułacje liposomalne, które wykazywały pozytywny wpływ na przeżywalność i stabilność fizjologiczną innego probiotycznego szczepu - *Lactococcus lactis*. Co ciekawe, w układzie tym, jak wykazały przeprowadzone obserwacje Cryo-SEM, komórki bakteryjne nie były uwięzione w pęcherzykach, ale nanocząstki lipidowe gromadziły się na granicy faz komórka-podłoże, tworząc zewnętrzną stabilizującą koronę. W ostatnim etapie badań Doktorantka poszła jeszcze o krok dalej proponując rozwiązanie łączące aktywność probiotyczną z kontrolowanym transportem związków bioaktywnych. Rozwiązanie to stanowiły formułacje, w których liposomy wypełnione fluwastatyną, lekiem z grupy statyn stosowanym w leczeniu hiperlipidemii, gromadziły się na powierzchni komórek *L. plantarum*. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że takie nieustanne poszukiwanie coraz bardziej zaawansowanych rozwiązań oraz świadomość znaczenia ich wielokierunkowej oceny świadczą o dużym zaangażowaniu Doktorantki w prowadzone badania, a także o jej dojrzałości naukowej.

Opisane przez Doktorantkę eksperymenty badawcze stanowią chronologicznie i precyzyjnie zaplanowany cykl badań, oparty o szeroki wachlarz analiz laboratoryjnych. Należy podkreślić, że





metody badawcze na każdym etapie pracy zostały dobrane właściwie, a eksperymenty zostały przeprowadzone w sposób poprawny, co umożliwiło realizację kolejnych celów szczegółowych i ostatecznie osiągnięcie głównego celu rozprawy doktorskiej. Przedstawiona do recenzji rozprawa pokazuje także umiejętność Doktorantki do przejrzystego i uporządkowanego przedstawienia wyników oraz ich prawidłowego omówienia i skonfrontowania z danymi literaturowymi. Przeprowadzone przez mgr inż. Natalię Burlaga badania posiadają wiele elementów nowości naukowej, stanowią istotny wkład w aktualny stan wiedzy na temat projektowania i oceny koloidalnych nośników probiotyków, a uzyskane wyniki są bardzo obiecujące, o dużym znaczeniu praktycznym. Warto podkreślić, że opracowany przez Doktorantkę układ stabilizowany nanocząstkami lipidowymi stanowi przedmiot zgłoszenia patentowego.

Do najważniejszych osiągnięć zaprezentowanych w pracy doktorskiej mgr inż. Natalii Burlaga zaliczam:

- zastosowanie szerokiego wachlarza technik i metod laboratoryjnych, od podstawowych technik mikrobiologicznych, poprzez testy biochemiczne i analizy membranowe, po zaawansowane techniki obrazowania mikroskopowego, co umożliwiło kompleksową i wielokierunkową ocenę preparatów probiotycznych;

- zaprojektowanie i opracowanie systemów hydrożelowych oraz formułacji liposomalnych, stanowiących nowoczesne podejście do enkapsulacji probiotyków, zapewniających mikrośrodowisko sprzyjające przetrwaniu oraz zachowaniu funkcjonalności bakterii probiotycznych podczas przechowywania;

- wykazanie, że zewnętrzna korona lipidowa, w opracowanych układach, stanowi realną strategię stabilizacji probiotyków, która ma potencjalne znaczenie w opracowywaniu nowoczesnych systemów enkapsulacji i formułacji probiotycznych o zwiększonej trwałości;

- zaprojektowanie i charakterystykę układu lipidowego wzbogaconego o fluwastatynę, którego koncepcja może znaleźć zastosowanie w projektowaniu wielofunkcyjnych preparatów łączących aktywność probiotyczną z kontrolowanym transportem związków bioaktywnych w przewodzie pokarmowym.

Przedstawiona do recenzji praca została bardzo starannie przygotowana. Autorka nie ustrzegła się jednak drobnych usterek interpunkcyjnych oraz kilku błędów o charakterze edytorskim:

1. W tekście pracy (str. 48; 2.2.B) dwukrotnie pojawia się fragment: „After cultivation in MRS broth, bacterial cells were harvested by centrifugation at 4500 RCF for 20 min (Centrifuge



5910R, Eppendorf). The cell pellets were washed twice with sterile DPBS to remove residual medium components.”

2. Sugerowałabym przeniesienie i wkomponowanie opisu właściwości i roli związków zastosowanych jako składniki opracowywanych formułacji, z części metodycznej (s. 43-47) do części przeglądowej pracy. Zabieg ten pozwoli zachować logiczny podział pracy na część teoretyczną i metodologiczną.

Przegląd treści rozprawy doktorskiej wywołał także pojawienie się kilku pytań, które podaję poniżej, a które mogą stanowić początek dyskusji w trakcie obrony pracy doktorskiej:

1. Na jakiej zasadzie Doktorantka przypisała cechy, wyróżniając je jako charakterystyczne dla danego rodzaju bakterii probiotycznych (Rysunek 1; str. 14)? Na przykład, dlaczego status GRAS jest przypisany tylko dla rodzaju *Lactococcus*? Czy - zgodnie z zamieszczonym rysunkiem - bakterie z rodzaju *Lactococcus* nie produkują kwasu mlekowego?
2. Jaka była przesłanka do przeprowadzenia oceny wpływu wybranych dodatków (PPAs) na badane szczepy bakterii, w tak różnych stężeniach: TRE 10% (v/v); VC 0,5% (v/v); MD 5% (v/v); MSG 0.5% (v/v); IN 3% (v/v); GA 3% (v/v) i CS 3% (v/v) oraz dlaczego parametry charakteryzujące stan komórek wykonywano po 48 godzinach inkubacji w obecności poszczególnych dodatków?
3. Jakie są mechanizmy reakcji testów MTT i AB wykorzystywanych w pracy do oceny aktywności metabolicznej i cytotoksyczności? Czym, odnosząc się do tych mechanizmów, można wyjaśnić różnice pomiędzy uzyskanymi z ich użyciem wynikami?

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr inż. Natalii Burlaga przedstawia wyniki szeroko zakrojonych badań, które zostały przez Doktorantkę bardzo wnikliwie przeanalizowane w oparciu o dostępną literaturę naukową, co wpływa na jej ogólny bardzo wysoki poziom merytoryczny. Liczba moich uwag/sugestii jest niewielka i nie wpływa na ogólną **bardzo dobrą** ocenę pracy. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Natalii Burlaga spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023, poz. 742 ze zm.) i wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej o przeprowadzenie dalszych etapów w postępowaniu doktorskim.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę poziom merytoryczny rozprawy, jej nowatorstwo i znaczący potencjał aplikacyjny wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej o **wyróżnienie pracy doktorskiej mgr inż. Natalii Burlaga.**

.....