

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Bukola Muibat Adenuga pt. „Uwierzytelnianie wybranych gatunków zwierząt łownych w produktach spożywczych w oparciu o markery jądrowe i qPCR” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Magdaleny Montowskiej.

Podstawą opracowania recenzji jest:

- pismo Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia prof. UPP dr hab. Doroty Cais-Sokolińskiej (NZDT-4000-5/2025), która zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 11 grudnia 2025 zwróciła się do mnie o opracowanie oceny ww. rozprawy doktorskiej;
- rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późniejszymi zmianami);
- rozprawa doktorska w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia Pani mgr Bukola Muibat Adenuga pt. „Uwierzytelnianie wybranych gatunków zwierząt łownych w produktach spożywczych w oparciu o markery jądrowe i qPCR”.

Znaczenie problematyki badawczej

Problematyka badawcza dotycząca autentyczności żywności, zwłaszcza mięsa zwierząt łownych, ma istotne znaczenie w kontekście współczesnych wyzwań rynku spożywczego. Autentyczność oznacza zgodność deklarowanych informacji z rzeczywistym składem, pochodzeniem czy sposobem produkcji żywności i stanowi fundament zaufania w relacji producent–konsument. Wydarzenia takie jak skandal z „koniną” w Europie w 2013 roku ujawniły skalę zagrożeń związanych z fałszowaniem produktów mięsnych oraz podatność łańcucha dostaw na nadużycia. Szczególnie wrażliwy jest surowiec zwierząt dzikich, który – ze względu na wysoką cenę, niszowy charakter i rosnące zainteresowanie żywnością naturalną – jest wysoce podatny na substytucję gatunkową i nieprawidłowe znakowanie produktów. Znaczne różnice cen między mięsem zwierząt hodowlanych a dziko żyjących sprzyjają zastępowaniu droższych gatunków tańszymi surowcami, takimi jak wieprzowina czy drób,

zwłaszcza w produktach przetworzonych, gdzie identyfikacja gatunku jest utrudniona. Badania prowadzone w różnych częściach świata potwierdzają liczne niezgodności między deklaracją a rzeczywistym składem produktów mięsnych, co ma konsekwencje ekonomiczne, prawne i społeczne. Konsumenci ponoszą straty finansowe i mogą nieświadomie naruszać normy religijne lub dietetyczne, natomiast uczciwi producenci tracą konkurencyjność. Odpowiedzią na te wyzwania jest wykorzystanie do weryfikacji składu gatunkowego produktów takich metod analitycznych (analiza DNA, w szczególności techniki PCR i real-time PCR (qPCR)), które umożliwiają czułą i swoistą identyfikację gatunkową nawet w produktach silnie przetworzonych. W warunkach polskich istnieje potrzeba rozwijania metod ilościowych pozwalających na precyzyjną weryfikację zawartości mięsa jelenia, sarny i dzika w produktach spożywczych. Badania w tym zakresie przyczyniają się do wzmocnienia systemu kontroli żywności, ochrony konsumentów oraz zwiększenia transparentności rynku.

Formalna ocena pracy

Oceniana praca stanowi zbiór pięciu powiązanych tematycznie oryginalnych publikacji, które ukazały się w czasopiśmie zamieszczonych w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2024), tj. w Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Food Control, Foods oraz Scientific Reports. We wszystkich publikacjach Doktorantka była pierwszym autorem, jednakże w przedstawionej dysertacji nie określono procentowego wkładu poszczególnych autorów, co nieznacznie utrudnia ocenę zaangażowania autorów we współtworzeniu koncepcji badań, prowadzeniu badań oraz redagowaniu tekstu publikacji. Publikacjom towarzyszy przygotowane przez Doktorantkę opracowanie w języku angielskim, w którym zamieściła elementy, tj.: SUMMARY (streszczenie w języku angielskim), STRESZCZENIE, WSTĘP, HIPOTEZY ORAZ CELE BADAWCZE, MATERIAŁ I METODY, WYNIKI I INTERPRETACJA, OGÓLNA DYSKUSJA, WNIOSKI, BIBLIOGRAFIA, INFORMACJE O WKŁADZIE JAKOŚCIOWYM AUTORÓW w powstawaniu prac oraz PRACE STANOWIĄCE JEDNOTEMATYCZNY CYKL. Jednakże w mojej opinii Doktorantka powinna skorzystać z opcji dodania wykazu skrótów stosowanych w rozprawie, gdyż zazwyczaj ten element pracy ułatwia jej odbiór i gromadzi w jednym miejscu pełne nazwy dla skrótów. Nie trzeba ich też wielokrotnie rozwijać jak np. dla polymerase chain reaction (PCR). Manuskrypt (z pominięciem artykułów) stanowi 50 stron (bez oświadczeń i kopii prac) i zawiera 4 tabele, 2 ryciny, 80 pozycji piśmiennictwa. Struktura pracy generalnie odzwierciedla typowy dla tego typu opracowań układ. W mojej opinii rozdział „WSTĘP” to

raczej „PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA”, zabrakło natomiast syntetycznego, w formie i treści, wprowadzenia w postaci „WSTĘPU”. Ogólne zakreślenie problematyki badań na początku dysertacji jest kluczowe dla zaznajomienia się z tematem i nadania głównej optyki pracy. Natomiast, przed zapoznaniem się z celem oraz hipotezami badań konieczne jest przedstawienie rozbudowanego tła, uzasadniającego konieczność realizacji badań opisanych w dysertacji. Układ maszynopisu jest przejrzysty, a kolejność podrozdziałów w poszczególnych rozdziałach logiczna, aczkolwiek spis treści powinien znajdować się przed spisem publikacji stanowiących podstawę dysertacji, tym bardziej, że spis publikacji jest elementem spisu treści. Podsumowując tę część można stwierdzić, że oceniana rozprawa doktorska została przygotowana starannie, co świadczy o dobrym warsztacie edytorskim Doktorantki.

Merytoryczna ocena pracy

Podstawą do ubiegania się mgr Bukola Muibat Adenuga o stopień doktora jest cykl pięciu powiązanych tematycznie oryginalnych publikacji, które ukazały się w latach 2023–2025 w recenzowanych czasopiśmie zamieszczonych w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Publikacje te były już oceniane przez niezależnych recenzentów, w których opinii, jak i mojej własnej, są one wartościowe i wnoszą nową wiedzę. Ponieważ o wartości naukowej publikacji wypowiedzieli się wcześniej ich recenzenci, wskazując na celowość opublikowania tych prac, w części merytorycznej mojej oceny odniosę się do przygotowanego przez Doktorantkę manuskryptu.

Tytuł pracy doktorskiej „Uwierzytelnianie wybranych gatunków zwierząt łownych w produktach spożywczych w oparciu o markery jądrowe i qPCR ” w sposób syntetyczny odzwierciedla zawarte w niej treści, aczkolwiek stwierdzenie „w oparciu” zastąpiłbym „z wykorzystaniem”, formatując odpowiednio pozostałą część tytułu. SUMMARY jest napisane poprawnie i zawiera liczne, kluczowe informacje, które zapoznają czytelnika m.in. z celem pracy, zastosowaną metodologią, głównymi wynikami oraz wnioskami. Na końcu ten element pracy zawiera trafnie dobrane słowa kluczowe. Jednak moim zdaniem należy unikać powtarzania tych słów, które już zostały użyte w tytule. Z kolei STRESZCZENIE wydaje się bezpośrednim tłumaczeniem wersji anglojęzycznej, co spowodowało, że zawiera kilka niezgrabnych językowo stwierdzeń, tj.: „białka egzotyczne i pozyskiwane w sposób zrównoważony” oraz „w ogóle ich brakowało w deklaracji”. Raczej brakowało informacji o gatunkach, a nie samych gatunków. Niepoprawnie brzmi również zdanie „Ustalenia te budzą poważne obawy dotyczące zgodności z przepisami, wprowadzania konsumentów w błąd oraz

zagrożeń dla bezpieczeństwa żywności.” W streszczeniach Doktorantka nie wskazała precyzyjnie branży, której interesariusze skorzystają z rozwiązań opracowanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej.

Informacje zawarte w rozdziale pierwszym (WSTĘP) trafnie i we właściwy sposób ukazują zagadnienia związane z uzasadnieniem podjęcia tematu. Doktorantka w sposób zręczny i przejrzysty opisała problematykę badawczą dotyczącą autentyczności żywności, w szczególności mięsa zwierząt łownych, stanowiącą istotny i aktualny obszar analiz w kontekście współczesnych wyzwań rynku spożywczego. Na pochwałę zasługuje właściwie przytoczone piśmiennictwo źródłowe wykorzystane do przedstawienia zróżnicowanych zagadnień zawartych w tej części opracowania. Aczkolwiek w mojej opinii ta część manuskryptu zawiera również kilka zagadnień, którym nie poświęcono dostatecznej uwagi (prawdopodobnie ze względu na syntetyczny charakter opracowania). Przykładowo Autorka zbyt pobieżnie scharakteryzowała wyzwania stojące przed sektorem spożywczym w kontekście zapewnienia tożsamości gatunkowej oferowanych produktów. Nie zgadzam się ze stwierdzeniem, że konsumenci poszukują egzotycznych źródeł białka, zwłaszcza że Autorka nie przedstawiła żadnych danych potwierdzających tę tezę. W tej części pracy brakuje również danych liczbowych obrazujących przytaczany znaczący wzrost zainteresowania konsumentów spożyciem mięsa pochodzącego od zwierząt dziko żyjących, jak również statystyk uzasadniających wskazanie Francji, Hiszpanii, Włoch, Polski i Niemiec jako państw o najwyższym udziale myśliwych. Drobne uchybienie stanowi także stwierdzenie, że mięso zwierząt dzikich charakteryzuje się bardziej korzystnym profilem chemicznym (w zakresie ilości kwasów tłuszczowych i cholesterolu) bez określenia zawartości tych składników oraz odniesienia do mięsa typowych gatunków zwierząt rzeźnych. W trzecim akapicie Doktorantka wymieniła gatunki dzikich zwierząt w Europie będące przedmiotem zainteresowania przemysłu mięsnego, jednak dla zachowania poprawności naukowej należałoby uzupełnić nazwy zwyczajowe o ich łacińskie formy. Uwaga ta dotyczy również dalszych części pracy (np. określenia „Sika deer”). Jednorazowe podanie nazwy zwyczajowej i naukowej uprawnia następnie do konsekwentnego stosowania tylko jednej z nich. Uważam ponadto, że umiejscowienie Figury 1 na końcu podrozdziału jest nieprawidłowe, gdyż powinna ona zostać zamieszczona bezpośrednio po pierwszym odwołaniu w tekście. Dodatkowo, sama figura przedstawia kategorii zafałszowań żywności, podczas gdy akapit, na końcu którego ją zacytowano, odnosi się do zagadnienia ustalania tożsamości gatunkowej produktów spożywczych.

W rozdziale drugim (HIPOTEZY ORAZ CELE BADAWCZE), Doktorantka poprawnie wskazała hipotezę, że jelen szlachetny, sarna i dzik zawierają specyficzne sekwencje DNA, które można wykorzystać jako markery jądrowe do badania autentyczności produktów spożywczych. Ponadto mgr Bukola Muibat Adenuga właściwie określiła główny cel badań, którym było opracowanie i walidacja metod qPCR w czasie rzeczywistym, opartych na markerach jądrowych, do wykrywania i kwantyfikacji specyficznych sekwencji DNA jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*), sarny (*Capreolus capreolus*) i dzika (*Sus scrofa scrofa*) w produktach spożywczych. Pewne zastrzeżenia budzą jednak cele szczegółowe, które w mojej opinii powinny być tak zorientowane, aby ukazywać logicznie-sekwencyjny przepływ badań, tzn., aby wyniki prac wcześniejszych umożliwiały wskazywały kierunek realizacji kolejnych prac.

W ocenie zastosowanej w badaniach metodyki stwierdzam, że Doktorantka poprawnie wybrała i zastosowała wszystkie metody laboratoryjno-analityczne do przeprowadzania zaplanowanych doświadczeń. Podkreślenia wymaga szeroki i zróżnicowany wachlarz zastosowanych metod badawczych, poczynając od metod analizy danych literaturowych, poprzez metody zabezpieczenia i przygotowania prób biologicznych, laboratoryjne metody molekularne oraz analizy z zakresu bioinformatyki i statystyki. Na szczególną uwagę zasługuje również zaawansowany warsztat badawczy Doktorantki związany z opracowaniem krzywych standardowych, które następnie zostały wykorzystane m.in. do oceny zafałszowań produktów mięsnych w Polsce, Hiszpanii, Portugalii oraz Francji. Pomimo starań Doktorantki, w tej sekcji stwierdziłem kilka niedociągnięć. W podrozdziale 3.1 Doktorantka powinna jednoznacznie wskazać nazwy gatunków zwierząt oraz dodatków pochodzenia roślinnego uwzględnionych w badaniach. Informacje zawarte w tej sekcji warto przedstawić w formie tabelarycznej, z wyraźnym podziałem odpowiadającym podpunktom a–e, co zwiększyłyby przejrzystość i czytelność opracowania. Sformułowanie, że zaprojektowano „kilka” starterów jest zbyt ogólne i należało podać ich dokładną liczbę. W opracowaniu brakuje ponadto szczegółowych informacji dotyczących kryteriów selekcji starterów i sond zastosowanych w analizach qPCR, a także procedury optymalizacji warunków reakcji, analogicznie do opisu przedstawionego dla klasycznego PCR. Uważam również, że w analizie wyników należałoby zastosować testy post-hoc w celu statystycznego potwierdzenia przedstawionych obserwacji. W tej części pracy Autorka powinna wyraźniej wskazać, które elementy badań zostały zrealizowane w poszczególnych publikacjach, zwłaszcza w odniesieniu do prac P3–P5 oraz podrozdziałów 3.1, 3.2 i 3.3. Rozważenie włączenia schematów lub grafik ilustrujących strategię badawczą

mogłoby dodatkowo poprawić klarowność prezentacji. Oczekuję, że podczas obrony dysertacji ta część pracy zostanie przedstawiona w sposób bardziej dokładny i uporządkowany.

W rozdziale WYNIKI I INTERPRETACJA Doktorantka w naukowo poprawny sposób wyodrębniła podrozdziały, w których skrupulatnie starała się przedstawić otrzymane wyniki. Na uznanie zasługuje przejrzysty i konsekwentny sposób prezentacji danych. Jednakże i w tym rozdziale stwierdzono pewne niedociągnięcia. W mojej opinii opis uzyskanych wyników w pracach P1 i P2 powinien zawierać więcej szczegółów. Przykładowo, w pracy P2 Doktorantka wskazuje na wystąpienie kontaminacji, jednak nie precyzuje o jaki rodzaj chodzi oraz nie wskazuje prawdopodobnego jej źródła. W dalszej części tego rozdziału przedstawianie wyników bez podania wartości liczbowych (np. uzyskanych stężeń/koncentracji DNA) utrudnia odbiór i ocenę tej części pracy. Oczywiście integralną częścią dysertacji jest jednotematyczny cykl publikacji, jednak w mojej opinii opis wyników w zasadniczej części Autoreferatu powinien zawierać bardziej szczegółowe informacje, tak aby czytelnik nie musiał każdorazowo sięgać do prac źródłowych. Za pewne niedociągnięcie uważam również ponowne przytaczanie informacji o badanych markerach. Szczegółowy opis markerów oraz ich funkcji powinien zostać przedstawiony we wcześniejszych częściach pracy, na przykład w rozdziale poświęconym aspektom metodycznym. Ponadto zamieszczanie w podrozdziale 4.2 informacji dotyczących optymalizacji warunków amplifikacji oraz strategii wykorzystania markerów uważam za nieuzasadnione w kontekście tej sekcji. Podobne zastrzeżenia zgłaszam także w odniesieniu do podrozdziału 4.5.

W kolejnym rozdziale OGÓLNA DYSKUSJA Doktorantka przytacza wiele wyników własnych badań i naukowo poprawnie konfrontuje je z rezultatami innych badań, np. z wynikami zawartymi w pracy Druml i in. (2015). Przykładowo, w dysertacji potwierdzono niepokojąco wysoki odsetek niezgodności w zakresie deklarowanej tożsamości gatunkowej w komercyjnie dostępnych produktach z dziczyzny na rynku europejskim. Nieprawidłowe oznakowanie stwierdzono w przypadku nawet 54% produktów deklarowanych jako mięso jelenia szlachetnego oraz 64% produktów z sarny. Ponadto w części analizowanych próbek wykazano obecność niezadeklarowanego surowca wieprzowego. Autorka dysertacji w sposób klarowny omówiła także opracowane nowych testów TaqMan opartych na markerach jądrowych (TNNI2, ASIP, PLAG1) oraz podkreśla ich walidację w rzeczywistych, złożonych matrycach żywnościowych, co stanowi istotny walor aplikacyjny pracy. Trafnie uzasadniła wybór markerów jednokopijnych w kontekście precyzyjnej analizy ilościowej oraz wskazała przewagi i ograniczenia markerów mitochondrialnych. Na szczególne uznanie zasługuje bezpośrednie odniesienie uzyskanych parametrów LOD i LOQ do wyników wcześniejszych

badania, co pozwala jednoznacznie osadzić osiągnięcia pracy w aktualnym stanie wiedzy. Wartości liniowości ($R^2 > 0,98$), niskie współczynniki zmienności ($CV < 25\%$) oraz walidacja na próbkach komercyjnych potwierdzają wysoką powtarzalność i użyteczność aplikacyjną metody. W tej części pracy Autorka w sposób logiczny przedstawia również konsekwencje wykrytych nieprawidłowości dla konsumentów, przemysłu oraz organów nadzorczych, odwołując się do aktualnych badań i przykładów międzynarodowych skandali żywnościowych. Trafnie wskazała ekonomiczne, etyczne i zdrowotne skutki fałszowania żywności, a także problem erozji zaufania konsumenckiego. Na szczególne uznanie zasługuje powiązanie wyników badań z obowiązującymi regulacjami UE, w tym z rozporządzeniem 1169/2011 (FIC), co dodatkowo podkreśla praktyczny wymiar uzyskanych rezultatów. Rozdział kończą informacje dotyczące ograniczeń badań, które w sposób wyważony przedstawiają ograniczenia zarówno natury praktycznej (wysokie koszty, konieczność specjalistycznej aparatury i wykwalifikowanego personelu), jak i ograniczenia biologiczne wynikające z bliskiego pokrewieństwa genetycznego analizowanych gatunków. Doktorantka trafnie wskazała, że mimo wysokiej skuteczności opracowanych metod qPCR, ich zastosowanie w warunkach konsumenckich jest obecnie ograniczone, a alternatywne rozwiązania terenowe nadal wymagają kontroli laboratoryjnej. Na szczególne uznanie zasługuje transparentne omówienie obniżonej czułości w przypadku niektórych przedstawicieli jeleniowatych oraz trudności w rozróżnianiu podgatunków świniowatych. W ostatnim podrozdziale pracy Autorka poprawnie wskazała, że mimo objęcia analizą produktów z kilku krajów europejskich, szerszy zakres geograficzny pozwoliłby na pełniejszą ocenę transnarodowego charakteru zafałszowań żywności. Rekomendacja rozszerzenia panelu analizowanych gatunków o kolejne, istotne z punktu widzenia rynku dziczyzny, taksony (np. daniel, muflon, zając) jest merytorycznie uzasadniona i zwiększyłaby uniwersalność opracowanej metody. Zasadne wydaje się również postulowane zastosowanie testów w szerszym monitoringu rynkowym, co umożliwiłoby dalszą walidację ich przydatności w praktyce regulacyjnej i przemysłowej. Fragment ten świadczy o świadomości ograniczeń badania oraz o dojrzałym podejściu Autorki do planowania dalszego rozwoju metody.

W pracy Doktorantka wskazała siedem rozbudowanych wniosków, które odnoszą się do zasadniczych elementów pracy. Są one spójne, logicznie uporządkowane i jasno wynikają z przeprowadzonych badań. Autorka w sposób syntetyczny podsumowała zarówno aspekt metodyczny (opracowanie i walidacja markerów jądrowych TNNI2, ASIP i PLAG1), jak i praktyczny wymiar pracy, obejmujący zastosowanie testów w analizie produktów rynkowych. Za istotny walor należy uznać również podsumowanie wyników badań

rynkowych, które potwierdziły występowanie licznych nieprawidłowości w zakresie deklaracji gatunkowej, co nadaje pracy znaczenie praktyczne i regulacyjne.

W pracy stwierdzono także kilka błędów bądź drobne omyłki dotyczące warstwy językowej i edytorskiej (np. brak roku wydania pracy Hanner & Kelly), które oczywiście nie umniejszają wartości pracy i zdarzają się nawet doświadczonym pracownikom nauki. Reasumując, przedstawione w recenzji uwagi i pewne niedociągnięcia dysertacji nie mają wpływu na moją pozytywną ocenę opracowania i mają na celu doprecyzowanie pewnych informacji i zagadnień, a także, mam taką nadzieję, skłonią Autorkę do dyskusji z recenzentem. Liczę, że podczas publicznej obrony Doktorantka odniesie się do nich, a także dodatkowo do poniżej zamieszczonych pytań:

1. Czy crossamplifikacja widoczna na zdjęciu 2C może stanowić problem w identyfikacji zafałszowań żywności uwzględniając niskie stężenia DNA podmienianych gatunków?
2. Jakie strategie można zastosować w przyszłości, aby zwiększyć rozdzielczość metody na poziomie gatunku lub podgatunku?
3. Jakie konsekwencje zdrowotne i społeczne mogą wynikać z nielegalnego obrotu mięsem dzikich zwierząt w Nigerii?

Wniosek końcowy

Recenzowana rozprawa doktorska, której Autorką jest mgr Bukola Muibat Adenuga pt. „Uwierzytelnianie wybranych gatunków zwierząt łownych w produktach spożywczych w oparciu o markery jądrowe i qPCR” stanowi nowe i samodzielne rozwiązanie problemu badawczego oraz nie budzi zastrzeżeń pod względem formalnym i merytorycznym. Doktorantka podjęła aktualny i istotny problem badawczy, opracowując metody identyfikowania zafałszowań surowców zwierząt dziko żyjących oraz potwierdziła, że poziom podmian gatunków na rynku spożywczym jest nadal bardzo wysoki, co dodatkowo podkreśla aplikacyjny charakter przeprowadzonych badań. W mojej ocenie rozprawa doktorska mgr Bukola Muibat Adenuga spełnia w pełni kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora w Ustawie – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku i przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu wnioski o jej przyjęcie i dopuszczenie Doktorantki do publicznej obrony.

