

dr hab. inż. Karolina Wójciak prof. UPL
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego
Zakład Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8
20-704 Lublin

Lublin, 13.02.2024

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Wojciecha Motyla pt.: **Opracowanie i wdrożenie technologii produkcji lodów bez dodatków „E”, wzbogaconych w prebiotyki i probiotyki** wykonanej w Katedrze Biotechnologii Środowiskowej Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej
pod kierunkiem dr hab. inż. Piotra Dziugana, prof. uczelni jako promotora oraz mgr inż. Stefana Witonia jako opiekuna naukowego z Kilargo Sp z o.o.

Podstawa wykonania recenzji

Podstawą wykonania recenzji jest pismo Dziekana Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności dr hab. inż. Anny Diowkszej prof. uczelni z dnia 14 grudnia 2023 r. (W5D.530.849.2023). W związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669 z późn. zm.), przedmiotem recenzji jest ocena czy rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

Uzasadnienie podjęcia tematu

Dynamiczny rozwój technologii produkcji żywności skutkuje wprowadzeniem nowych asortymentów środków spożywczych. Konsumenci coraz bardziej świadomi wpływu diety na organizm człowieka oczekują by produkty spożywcze dostarczały jak najwięcej składników odżywczych oraz bioaktywnych o korzystnym wpływie na zdrowie. Wprowadzenie do żywności bakterii probiotycznych stało się już powszechną praktyką. Na skutek swojej działalności kształtują cechy sensoryczne, przedłużają trwałość i poprawiają mikrobiologiczne bezpieczeństwo środków spożywczych, prowadząc do poprawy wartości odżywczej. W związku z powyższym producenci poszukują różnych surowców, zwłaszcza naturalnych,

które mogłyby wzbogacić wartość odżywczą i prozdrowotną lodów i co więcej nadać im właściwości żywności funkcjonalnej z jednoczesną eliminacją substancji dodatkowych powszechnie stosowanych przy produkcji tego typu asortymentu.

Tendencje te uzasadniają podjęcie przez Pana mgr inż. Wojciecha Motyla badań zmierzających do opracowania receptury lodów naturalnych wyprodukowanych w najbardziej popularnych smakach (waniliowe, czekoladowe, truskawkowe), wzbogaconych w bakterie probiotyczne oraz substancje prebiotyczne a następnie przeprowadzenie prób technologicznych w skali laboratoryjnej oraz prac rozwojowych związanych z uruchomieniem technologii i jej dostosowaniem do pracy w istniejącym układzie instalacji przemysłowej. Niewątpliwie pomocnym w ocenie stopnia przeżywalności bakterii probiotycznych w lodach było określenie obecności białek szoku termicznego oraz badanie przeżywalności szczepów testowych w warunkach pasażu jelitowego.

Ocena formalna pracy

Rozprawa ma charakter monotematycznej monografii liczącej 119 numerowanych stron wydruku, w tym 30 rysunków i 37 tabel oraz wykaz 200 źródłowych materiałów bibliograficznych. Jej struktura jest typowa dla prac eksperymentalnych i składa się z siedmiu rozdziałów: *Części teoretycznej będącej przeglądem piśmiennictwa* (28 stron), *Genezy, celu i zakresu pracy* (8 stron), *Metodyki prowadzenia badań* (14 stron), *Omówienia i dyskusji wyników badań* (51 stron), *Wniosków* (1 strona), *Bibliografii* (11 stron) poprzedzonych *Streszczeniami* w języku polskim (2 strony) i angielskim (2 strony), stroną tytułową oraz spisem treści. Układ pracy jest logiczny i przejrzysty, a proporcje objętości rozdziałów właściwe. Przegląd literatury i część doświadczalną Doktorant podzielił na podrozdziały, których tytuły w zwięzły sposób odzwierciedlają zawarte w nich treści. Rozprawa została przygotowana z należytą starannością i wskazuje na dobrą orientację Doktoranta w obszarze poruszanych zagadnień. Chociaż cel pracy został szczegółowo poparty jego genezą to w opinii recenzenta, zabrakło jasno sformułowanej hipotezy badawczej wynikającej z tematu pracy, mogącej być testowaną, umożliwiającą planowanie, kierującą dalsze prace badawcze na poszukiwanie związków między czynnikami.

Ocena merytoryczna pracy

Sformułowany przez Doktoranta tytuł pracy jest zwięzły, jasny i w pełni odpowiada treściom zawartym w dysertacji. Pewną wątpliwość budzi zastosowanie w tytule dość potocznie używanego sformułowania „*bez dodatków E*”. Jakkolwiek rozumiem intencje Autora pracy,

który pragnął podkreślić tę wartość marketingową opracowanej technologii, tak istotną dla współczesnego konsumenta, to w opinii recenzenta sformułowanie to należałoby zupełnie usunąć lub zamienić na „w trendzie/idei czystej etykiety”. Rozdział 1 stanowi *Wstęp*, w którym Doktorant w skondensowanej formie wprowadza czytelnika w tematykę badawczą rozprawy, a przegląd piśmiennictwa pozwala na kompleksowe zapoznanie się z obecnym stanem wiedzy dotyczącym głównych aspektów związanych z jakością funkcjonalnych lodów spożywczych oraz jej determinantami.

Przegląd literatury Autor rozpoczął od zdefiniowania pojęcia i podziału żywności funkcjonalnej ze szczególnym uwzględnieniem żywności wzbogaconej o szczepy bakterii o udokumentowanych właściwościach probiotycznych. Najobszerniejszą część przeglądu piśmiennictwa Autor poświęcił charakterystyce procesu produkcji przemysłowej lodów spożywczych co jest w pełni zrozumiałe biorąc pod uwagę temat rozprawy doktorskiej. Tej problematyce w całości poświęcone są dwa kolejne podrozdziały, w których Autor omawia rolę poszczególnych składników lodów takich jak: tłuszcz mleczny, białka mleka, substancje słodzące, laktoza, substancje stabilizująco-emulgujące oraz poszczególne operacje jednostkowe (m. in. mieszanie, pasteryzacja, homogenizacja, dojrzewanie mieszanki lodowej, zamrażanie, napowietrzanie, pakowanie) jako najważniejsze czynniki recepturowe i środowiskowe kształtujące jakość produktu. Kolejny podrozdział jest ściśle związany z badaniami własnymi Autora i odnosi się do przeglądu dotychczasowych kierunków i wyników badań związanych z możliwością aplikacji bakterii probiotycznych do matrycy produktów mrożonych oraz czynników wpływających na ich przeżywalność w trakcie produkcji i przechowywania lodów. W ostatnim podrozdziale przeglądu literatury Doktorant omawia efekt utrwalania materiałów biologicznych przez zamrażanie ze szczególnym uwzględnieniem procesu krystalizacji i rekrystalizacji lodu będącego krytycznym w odniesieniu do przeżywalności prozdrowotnych bakterii. Podrozdział ten stanowi doskonałe wprowadzenie do części eksperymentalnej pracy, wynika bowiem z niego celowość realizacji badań prowadzących do wyjaśnienia wpływu zastosowania białek szoku termicznego jako czynnika krioprotekcji na proces adaptacji niskotemperaturowej mikroorganizmów probiotycznych.

Podsumowując, przegląd literatury został opracowany w oparciu o prace źródłowe powiązane z tematyką rozprawy i stanowi dobre uzasadnienie podjętego problemu naukowego. Treści w nim zawarte świadczą o przygotowaniu teoretycznym Doktoranta do realizacji badań i wprowadzają czytelnika w zagadnienia związane z częścią eksperymentalną rozprawy.

Z obowiązku recenzenta wskazuje fragmenty przeglądu literatury, które wymagają uzupełnienia lub modyfikacji w oparciu o podane poniżej drobne uwagi:

- Należy podać odwołania literaturowe potwierdzające użyte w pracy sformułowanie „*Korzyści zdrowotne wywołane stosowaniem probiotyków zostały udowodnione w wielu badaniach klinicznych*” (str. 8-9).
- Należy zmienić prognozy dotyczące rozwoju rynku żywności funkcjonalnej na bardziej aktualne (str. 10).
- W podrozdziale 3.4. „*Lody probiotyczne*” czynniki wpływające na przeżywalność probiotyków w lodach przedstawione na rysunku 3 należało przetłumaczyć na język polski.
- Podrozdział 3.2.2. „*Rola składników lodów*” powinien brzmieć nieco inaczej np. *Charakterystyka ogólna oraz funkcje technologiczne poszczególnych składników lodów* (str. 17).
- Proszę Doktoranta o odpowiedź czy utwardzone oleje palmowe, kokosowe oraz ich mieszaniny są powszechnie stosowane w procesie produkcji lodów przemysłowych oraz jakie korzyści i zagrożenia są związane z ich stosowaniem?

Po wprowadzeniu Autor pracy przedstawia szeroko opisaną genezę pracy oraz jasno sformułowany cel pracy będący konsekwencją przeglądu literatury. Autor wskazuje w nim na opracowanie receptury lodów naturalnych bez dodatków z symbolami „E” w najbardziej popularnych smakach wzbogaconych w bakterie probiotyczne, substancje prebiotyczne a następnie opracowanie technologii wytwarzania lodów. Podjęcie tego celu uważam za zasadne.

W podrozdziale 4.1 Autor przedstawił rozbudowany zakres pracy składający się z dziewięciu podpunktów. W drugim punkcie odnoszącym się do zakresu pracy Autor pisze, cytując: „*Dobór prostych składników naturalnych odpowiedników dla standardowo wykorzystywanych substancji dodatkowych z symbolami E*”. W opinii recenzenta zdanie to należałoby uszczegółwić, podając informacje o jakie dokładnie składniki naturalne chodzi oraz które dodatki mają zastąpić (funkcja technologiczna).

Rozdział ***Metodyka prowadzenia badań*** zawiera charakterystykę materiału do badań wraz z opisem przygotowania mieszanki lodowej według różnych receptur uwzględniających zmienny skład w tym np. różną zawartość tłuszczu, ilość żółtek jaja kurzego oraz innych składników z wykorzystaniem algorytmów systemu AX Microsoft Dynamics AX. Następnie Doktorant przeprowadził próby technologiczne mające na celu dostosowanie nowych receptur lodów do pracy w istniejącym układzie instalacji przemysłowej. Autor opracował recepturę

lodów naturalnych o smaku waniliowym, truskawkowym i czekoladowym, będących matrycą dla prebiotyków i probiotyków, których technologię przedstawił w dysertacji (Tabela 3, Rysunek 6 i 7). Doktorant w swoich badaniach wykorzystał 24 próby mieszanek lodów o różnym stopniu napowietrzenia (30 i 80%) w trzech smakach. Kolejny podrozdział dotyczy analiz mikrobiologicznych, które są najważniejszymi analizami w recenzowanej pracy doktorskiej. W badaniach Autor zastosował sześć różnych szczepów bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Lactocaseibacillus* pochodzących z kolekcji czystych kultur Politechniki Łódzkiej, cztery preparaty handlowe drobnoustrojów powszechnie stosowanych w przemyśle mleczarskim a także dziewięć prebiotycznych preparatów handlowych zawierających inulinę (4 preparaty), błonnik kakaowy, jabłkowy, owsiany, lniany, ryżowy, skrobię funkcjonalną zestawione w tabeli 6. Pewien niedosyt budzi brak szczegółowych charakterystyk szczepów zastosowanych przez Doktoranta w badaniach, które stanowiłyby jednocześnie uzasadnienie wyboru przez Autora tych mono- i polikultur. Jest to częściowo rekompensowane przez Autora pracy na etapie omówienia i dyskusji wyników badań własnych. Sposób opisu podłoży hodowlanych służących do aktywacji i oznaczania różnych drobnoustrojów nie budzi zastrzeżeń. Następnie Doktorant opisuje metodykę aktywacji szczepów bakterii fermentacji mlekowej, badania przeżywalności bakterii probiotycznych w lodach, badanie wykorzystania przez wybrane bakterie probiotyczne błonnika jako jedyne źródła węgla w podłożu w tym oznaczanie kwasowości ogólnej oraz ilości kwasu mlekowego wytworzonego przez badane szczepy oraz oznaczanie profilu węglowodanowego frakcji polisacharydowych z użyciem wysokosprawnej chromatograficznej cieczonej (HPLC). Doktorant dokonał podstawowej charakterystyki wyprodukowanych lodów oceniając wagę netto, zawartość suchej masy oraz tłuszczu w masie lodowej oraz ocenił również liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, obecność *L. monocytogenes* oraz *Salmonella* sp. stanowiących odpowiednio kryteria higieny produkcji oraz kryteria bezpieczeństwa produktu zgodnie z rozporządzeniem komisji (WR) nr 2073 z 15 listopada 2005 r. z późn. zm., w sprawie kryteriów mikrobiologicznych żywności. Badania mikrobiologiczne lodów zostały zrealizowane bezpośrednio po produkcji oraz po 14, 28 i 42 dniach a także po półrocznym, rocznym oraz półtorarocznym okresie przechowywania w temp. około -20 °C. W tabeli 8 zatytułowanej „*Metodyka badań mikrobiologicznych*” w której wskazano odwołanie do metod referencyjnych zabrakło metodyki oznaczania drożdży i pleśni (wyniki analiz dostępne w tab. 12, 16, 20)

Na podkreślenie zasługuje opis badania obecności białek zimnego szoku Csp w zastosowanych bakteriach probiotycznych które w prosty a zarazem szczegółowy sposób przedstawiają etap po etapie wykonywane badania w tym wyznaczenie mas cząsteczkowych białek Csp, ekstrakcję

białek wewnątrzkomórkowych, rozdział elektroforetyczny jedno- oraz dwukierunkowy. Wysoko oceniam również badania związane z oceną przeżywalności szczepów testowych w warunkach pasażu jelitowego.

Doktorant przeprowadził również ocenę organoleptyczną lodów według metodyki wewnątrzzakładowej Kilargo Sp. z o. o. bezpośrednio po ich wyprodukowaniu oraz w trakcie półtorarocznego przechowywania. Autor przeprowadził również test konsumencki w odniesieniu do lodów naturalnych o smaku waniliowym, truskawkowym i czekoladowym przed wprowadzeniem produktu do sprzedaży. Określenie stopnia akceptacji, preferencji i popytu na testowane wyroby uważam za bardzo cenne. Przeprowadzenie, przez Doktoranta, tego rodzaju badań marketingowych pozwoliło również na określenie szansy danego produktu na trafienie w upodobania szerokiego grona konsumentów, a co za tym idzie odniesienia sukcesu rynkowego. Pewien niedosyt budzi brak bardziej szczegółowej charakterystyki zastosowanej metody organoleptycznej oraz testu konsumenckiego. Bazując na uzyskanych wstępnych wynikach badań organoleptycznych może należało zmienić metodę oceny na bardziej szczegółową np. zbliżoną do ilościowej analizy opisowej (QDA) z wytypowanymi wyróżnikami jakościowymi, ich wartościami brzegowymi oraz definicjami, co ułatwiłoby interpretację wyników badań oraz poszerzyło wartość poznawczą analizy.

Wyniki badań zostały opracowane statystycznie z wykorzystaniem analizy wariancji. Istotność różnic między średnimi uzyskanymi w doświadczeniach weryfikowano testem Tukeya.

Po zapoznaniu się z treścią rozdziału dotyczącego Materiału i metod badań stwierdzam, że Doktorant w stopniu dobrym opanował umiejętności organizacji doświadczenia oraz doboru metod analitycznych pozwalających na prawidłowe zrealizowanie celu pracy. Świadczy to o opanowaniu przez Doktoranta narzędzi wykorzystywanych w technologii żywności. Godnym podkreślenia jest szeroki zakres badań, ich pracochłonność, a także zastosowanie nowoczesnych metod analitycznych.

W części wynikowej rozprawy mgr inż. Wojciech Motyl połączył w jeden rozdział omówienie i dyskusję wyników badań. Rezultaty przeprowadzonych oznaczeń zostały omówione i porównane z danymi literaturowymi w trzech podrozdziałach, na 51 stronach i wzbogacone 54 wykresami i fotografiami oraz 28 tabelami ułatwiającymi analizę danych doświadczalnych. Zarówno wykresy jak i tabele rozmieszczono w korespondujących fragmentach podrozdziałów, co ułatwia szybkie porównanie opisu znajdującego się w tekście z ich graficznym przedstawieniem. Omówienie dotyczy wszystkich istotnych rezultatów przeprowadzonych badań, a wyniki analizy statystycznej uwiarygodniają prezentowaną interpretację. Przy omawianiu uzyskanych wyników Doktorant przywołuje pozycje

piśmiennictwa mające związek z analizowanym zagadnieniem, co pozwala mu na uwypuklenie wielu spójności z badaniami innych autorów. Wyniki omawiane są przez Doktoranta z pewną dozą ostrożności w ocenie przyczyn i skutków oraz w poszukiwaniu możliwych zależności. Po lekturze tego rozdziału pojawiają się jednak pewne uwagi i pytania:

- Tab. 12, 16, 20 Rozpatrując zapisy rozporządzenia 2073/2005 z późn. zm., dotyczące *L. monocytogenes*, będącej jedną z kryteriów bezpieczeństwa żywności proszę o odpowiedź dlaczego zdecydowano o wyborze wymagania ilościowego (do 100 jtk/g(ml))?
- Pewną trudność w ocenie analizowanej treści dysertacji dostarczyło zbyt ogólne opisy poszczególnych tabel np. Tab. 31 i 36 „Wyniki analiz mikrobiologicznych dla badanych lodów” Tab. 29 „Wyniki organoleptyczne dla badanych lodów”. Tytuły tabel należało bardziej zróżnicować oraz uszczegółwić np. Tab. 31 Charakterystyka mikrobiologiczna lodów wzbogaconych w preparaty błonnikowe, dokonana bezpośrednio po produkcji oraz po sześciomiesięcznym okresie przechowywania (-20°). Tab. 36 Charakterystyka mikrobiologiczna potencjalnie synbiotycznych lodów, dokonana bezpośrednio po produkcji oraz po sześciomiesięcznym okresie przechowywania (-20°).

Pragnę podkreślić, że powyższe uwagi mają charakter polemiczny i nie podważają walorów naukowych i poznawczych recenzowanej pracy.

Autor sformułował siedem stwierdzeń i wniosków, których treść jest merytorycznie poprawna i wynika z przeprowadzonych badań, a zwięzły sposób ich opracowania pozwala na szybkie zapoznanie się z najważniejszymi rezultatami recenzowanej pracy.

Wniosek pierwszy oraz siódmy stanowi podsumowanie naukowych i praktycznych osiągnięć rozprawy i wskazuje, iż Autor zrealizował wyznaczony cel pracy. Wątpliwości Recenzenta budzi wniosek drugi, w którym Autor stwierdza iż, cytując: „*Lody wzbogacone o kultury bakterii probiotycznych wykazały wysoką przeżywalność mikroorganizmów procesu technologicznego wytwarzania lodów, na poziomie funkcjonalnym 10⁶ jtk/g oraz w trakcie ich 2 letniego przechowywania w temperaturze -20°C, co gwarantuje długi okres trwałości produktu bez utraty jego jakości*”. Proszę Doktoranta o dodanie słowa „podczas” do procesu technologicznego oraz doprecyzowanie, o jaką utratę jakości chodzi? W przedstawionej do oceny pracy doktorskiej nie znalazły się informacje dotyczące kalkulacji cenowej związanej z procesem produkcji lodów naturalnych, potencjalnie probiotycznych lub synbiotycznych wobec tego wniosek 6 należałoby umieścić na końcu tego rozdziału, bardziej jako podsumowanie.

W mojej opinii, przeprowadzone badania mają wysoką wartość naukową, a także są niewątpliwie cenne pod względem praktycznym. Rozprawa wskazuje na odpowiedni poziom

wiedzy teoretycznej i praktycznej Doktoranta oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wykorzystana w pracy literatura obejmuje 200 pozycji bibliograficznych, z których większość stanowią publikacje w języku angielskim, co potwierdza znajomość i umiejętność posługiwania się międzynarodowym piśmiennictwem związanym z tematem rozprawy. Obecność w spisie literatury prac z ostatniej dekady świadczy o bieżącym śledzeniu omawianego zagadnienia przez Autora, jak i o aktualności podjętego problemu naukowego.

Na zakończenie pragnę zwrócić uwagę Autorowi aby w przyszłości dokładał większej staranności w unikaniu błędów stylistycznych, interpunkcyjnych oraz literowych, a także na fakt, że nie wszyscy autorzy przywołani w tekście znaleźli się w spisie literatury, a w spisie są autorzy do których nie ma odniesienia w tekście opracowania.

Wniosek końcowy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i praktycznego tj. opracowania i wdrożenia receptury lodów wzbogaconych w bakterie probiotyczne i substancje prebiotyczne spełniające kryteria „czystej etykiety”.

Problematyka rozprawy mieści się w obszarze nauk o żywności i żywieniu, a sposób jej przedstawienia świadczy o dobrym przygotowaniu Doktoranta do pracy naukowo-badawczej, znajomości nowoczesnych metod analitycznych oraz obszernej wiedzy teoretycznej związanej z podjętym zagadnieniem. Na podkreślenie zasługuje bardzo dobry wybór tematu i rzetelna realizacja kolejnych etapów badawczych z wykorzystaniem zaawansowanych metod analitycznych. Wyniki otrzymane przez mgr inż. Wojciecha Motyla niewątpliwie mogą mieć znaczenie naukowe i praktyczne. Nieliczne uwagi krytyczne przedstawione w niniejszej recenzji nie umniejszają wartości poznawczej rozprawy doktorskiej, znaczenia podjętego problemu naukowego i sposobu jego realizacji a jedynie wskazują niedociągnięcia, które moim zdaniem należy uwzględnić w przygotowaniu dzieła do druku. Mam nadzieję, że praca ta umożliwi przygotowanie cennych naukowo publikacji.

Stwierdzam, że praca doktorska **pt. „Opracowanie i wdrożenie technologii produkcji lodów bez dodatków „E”, wzbogaconych w prebiotyki i probiotyki”**, przygotowana przez Pana mgr. inż. Wojciecha Motyla pod kierunkiem promotora pracy dr hab. inż. Piotra Dziugana, prof. uczelni oraz opiekuna naukowego mgr inż. Stefana Witonia z firmy Kilargo Sp z o.o. odpowiada warunkom zawartym w art. 13 ust. 1. Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

Na tej podstawie przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej wniosek o **dopuszczenie** Pana mgr inż. Wojciecha Motyla do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Karolina Wojcik