

Szczecin, 12/02/2023

dr hab. inż. Izabela Dmytrów, prof. ZUT
Katedra Toksykologii, Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Kamila Toczka

**„Otrzymywanie i właściwości fizykochemiczne potencjalnie synbiotycznych emulsji
przeznaczonych do smarowania pieczywa”**

wykonanej na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
dziedzina: nauki rolnicze, dyscyplina: technologia żywności i żywienia

Promotor: prof. dr hab. Paweł Glibowski

Promotor pomocniczy: dr hab. Monika Kordowska – Wiater

Podstawa formalno-prawna wykonania recenzji

Podstawą wykonania recenzji jest Uchwała Rady Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, z dnia 01.02.2017 r., powołująca mnie na recenzenta w/w rozprawy oraz pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia prof. dr hab. Waldemara Gustawa, z dnia 28.12.2022 r., z prośbą o jej ocenę (recenzję) (RDT/os/2022). Prawną podstawą przygotowania recenzji jest 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.) a także Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. 2020 poz. 85 z późn. zm.).

Recenzja została wykonana w oparciu o przesłaną rozprawę doktorską w formie papierowej oraz zapisaną w pamięci przenośnej USB. Dostarczone materiały zawierały także kopię 3 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów.

Ocena wyboru i znaczenie podjętej tematyki badawczej

Tematyka pracy dotyczy opracowania receptury i oceny właściwości fizykochemicznych oraz stabilności przechowalniczej potencjalnie synbiotycznych emulsji do smarowania pieczywa

zawierających inulinę i bezwodny tłuszcz mleczny (BTM). Prowadzone od wielu lat badania potwierdzają, że działanie bakterii probiotycznych jest wielokierunkowe a świadomość ich dobroczynnego wpływu na zdrowie człowieka, dzięki publikacji wyników badań naukowych, działaniom popularyzatorskim oraz mediom, na stałe zagościła już w społeczeństwie. Z drugiej strony nadal głównym nośnikiem bakterii probiotycznych w diecie konsumentów są fermentowane przetwory mleczarskie. W związku z tym obserwuje się wzrastające zapotrzebowanie na innego rodzaju żywność zawierającą, przez cały okres przydatności do spożycia, żywe kultury bakterii probiotycznych. Obecnie coraz częściej stosuje się mieszaniny probiotyków i prebiotyków, aby wykorzystać ich synergiczne działanie w produktach spożywczych. Powstający w ten sposób produkt potencjalnie synbiotyczny może stać się żywnością funkcjonalną, która z jednej strony będzie dla konsumenta źródłem potencjalnie probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (LAB) oraz prebiotycznie działającego składnika jakim jest przykładowo inulina. Jej dodatek może prowadzić do zmian właściwości fizycznych, teksturalnych i reologicznych produktów i jednocześnie, w obliczu niedoborów błonnika pokarmowego w diecie konsumentów, zwiększyć jego spożycie. Gdy oczywiste źródła błonnika oraz bakterii probiotycznych zawodzą zasadne staje się poszukiwanie innych mniej oczywistych nośników w/w składników. Duża częstotliwość spożycia danego produktu, takiego jak choćby tłuszcze do smarowania pieczywa, staje się niezaprzeczalnie zaletą w sytuacji, gdy dążymy do stałego dostarczania organizmowi potencjalnie prozdrowotnych składników.

Reasumując, wybór tematu uważam za trafny zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Badania przeprowadzone przez Doktoranta wpisują się w tematykę badawczą Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka oraz niezaprzeczalnie w dyscyplinę technologia żywności i żywienia a także mogą przyczynić się do jej rozwoju. Pozwalają w przyszłości na urozmaicenie asortymentu produktów funkcjonalnych.

Ocena formalna

Przesłana do oceny rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie cykl 3 artykułów, w tym jednej pracy przeglądowej oraz 2 oryginalnych prac naukowych, opublikowanych w latach 2015, 2021 i 2022 w czasopismach naukowych wymienionych w wykazie Ministerstwa Edukacji i Nauki tj. *Przemysł Spożywczy*, *International Dairy Journal* oraz *Applied Sciences*.

W skład cyklu zatytułowanego „Otrzymywanie i właściwości fizykochemiczne potencjalnie synbiotycznych emulsji przeznaczonych do smarowania pieczywa” wchodzi następujące pozycje:

- 1) **Toczek K.**, Glibowski P. 2015. Bakterie probiotyczne w żywności nowe kierunki stosowania. *Przemysł Spożywczy*, 69, 42-45,
- 2) **Toczek K.**, Glibowski P., Kordowska-Wiater M., Howiecka K. 2021. Rheological and textural properties of emulsion spreads based on milk fat and inulin with the addition of probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 124, 572–580,

- 3) **Toczek K.**, Glibowski P, Kordowska-Wiater M., Domaradzki P. 2022. The effect of storage on potentially synbiotic emulsion spread based on milk fat and inulin. *Applied Sciences*, 12 (23), 12310.

Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach przypisanych do dyscypliny technologia żywności i żywienia a dwie z nich znajdują się na liście Journal Citation Raports (JCR). Łączna liczba punktów „ministerialnych”, obliczona biorąc pod uwagę rok publikacji, to 212 a sumaryczna wartość IF wynosi 6,14. Mimo, że publikacje są wieloautorskie (2-4 autorów) to udział Doktoranta w ich powstaniu jest znaczący gdyż, w zależności od pracy, Doktorant zadeklarował współtworzenie koncepcji pracy, opracowanie założeń metodologicznych, realizację badań laboratoryjnych, analizę wyników, ich opracowanie statystyczne, redagowanie manuskryptów oraz przygotowanie odpowiedzi na recenzje. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem a jego udział w ich powstaniu wynosi odpowiednio 70%, 55% i 80%, co przekłada się na 143,5 punktów (zgodnie z wykazem MEiN). Ukazanie się wszystkich wymienionych prac w czasopismach recenzowanych a 2 z nich w wysoko punktowanych czasopismach naukowych jest także, według mnie, dowodem ich odpowiedniego poziomu merytorycznego oraz poprawności metodycznej.

Praca doktorska oprócz dwóch załączników, w których znajdują się kopie artykułów oraz oświadczenia współautorów, zawiera 41 stronicowe opracowanie, które stanowi przekrojowe omówienie najważniejszych aspektów prowadzonych przez Doktoranta badań naukowych, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz słowa kluczowe. Zasadnicza część opracowania podzielona jest na 5 następujących rozdziałów: Wprowadzenie teoretyczne na podstawie publikacji, Problem badawczy / hipoteza i cel badań, Materiały i metody, Omówienie wyników i dyskusja, Wnioski i stwierdzenia oraz Piśmiennictwo. Przedstawione do oceny opracowanie ma logiczny i typowy układ rozprawy doktorskiej powstałej na bazie publikacji naukowych. Dokumentacja wskazuje na wiodący udział Doktoranta w prowadzonych badaniach oraz przygotowaniu publikacji. Także strona edytorska pracy, poza brakiem spisu tabel i rysunków, nie budzi większych zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna

Przedstawiona do oceny dysertacja jest dziełem traktującym o otrzymywaniu i właściwościach fizykochemicznych potencjalnie synbiotycznych emulsji przeznaczonych do smarowania pieczywa. Wybór tematu świadczy o zorientowaniu Doktoranta w tematyce dotyczącej zarówno probiotyków, tłuszczów do smarowania pieczywa, jak i żywności funkcjonalnej. Tytuł pracy został jasno sformułowany i ściśle odpowiada poruszanej tematyce.

Wstęp, choć niezbyt obszerny, stanowi dobre wprowadzenie do podjętego tematu. Doktorant nawiązał w nim do kontrowersji związanych ze spożywaniem masła oraz najważniejszych tendencji obserwowanych w technologii tłuszczów stołowych. Zwrócił uwagę na rolę ekosystemu jelitowego człowieka w utrzymaniu zdrowia oraz wpływ błonnika na skład i aktywność metaboliczną mikrobioty jelitowej. Pokrótkę scharakteryzował inulinę. Wymienił czynniki wpływające na tworzenie się żelu

inuliny HP, przybliżył obecny stan wiedzy na temat stosowania inuliny w układach emulsyjnych oraz uzasadnił koncepcję produkcji emulsji typu BTM - inulina.

Za główny problem badawczy Doktorant uznał możliwość otrzymania synbiotycznych emulsji do smarowania pieczywa na bazie inuliny i BTM. Sformułowano 5 hipotez badawczych:

1. Emulsje na bazie inuliny i bezwodnego tłuszczu mlecznego w połączeniu z bakteriami probiotycznymi mogą być uznawane za potencjalnie synbiotyczne.
2. Istnieje odpowiednia kompozycja stężeń inuliny i bezwodnego tłuszczu mlecznego, w wyniku której powstała emulsja ma właściwości reologiczne i teksturalne zbliżone do margaryn.
3. Wysoko polimeryzowana inulina z powodzeniem może być mimetycznym zamiennikiem tłuszczu w połączeniu z bezwodnym tłuszczem mlecznym w celu wytworzenia emulsji do smarowania pieczywa.
4. Synbiotyczna emulsja na bazie inuliny i bezwodnego tłuszczu mlecznego nie traci swoich właściwości fizykochemicznych po dłuższym okresie przechowywania.
5. Użyte termofilne kultury kwasu mlekowego (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12) oraz towarzyszące szczepy bakterii fermentacji mlekowej (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) są zdolne do rozwoju i przeżycia w emulsji przez dłuższy okres przechowywania w środowisku jakim jest emulsja na bazie inuliny i bezwodnego tłuszczu mlecznego.

Hipotezy badawcze powinny być wyrażone w sposób jednoznaczny. Nie mogą zawierać sprzeczności wewnętrznych i być ujęte w sposób ogólny. Muszą być możliwe do zweryfikowania. W związku z tym moją wątpliwość budzi hipotezy nr 3, która w obecnym brzmieniu może sugerować, że to połączenie inuliny z BTM może być mimetycznym zamiennikiem tłuszczu. Zastrzeżenie budzi także użyte w hipotezach nr 4 i nr 5 określenie „dłuższy okres przechowywania”, które w moim odczuciu jest zbyt ogólne i tak naprawdę trudne do weryfikacji, bo dla każdego z nas „dłuższy czas przechowywania” może oznaczać inny okres. Czy produkt może „tracić właściwości fizykochemiczne”? Skoro wszystkie wprowadzone do emulsji szczepy były bakteriami kwasu mlekowego dlatego w hipotezie nr 5 rozdzielono je na dwie grupy, byłoby to zrozumiałe w przypadku podkreślenia, że użyto bakterii probiotycznych i szczepów towarzyszących ale w obecnym zapisie wystarczyłoby napisać, że „użyte szczepy bakterii fermentacji mlekowej (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 oraz *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) są zdolne do rozwoju i przeżycia w emulsji [...]”. Dodatkowo hipotezę nr 5 z powodzeniem można skrócić tj. „Użyte szczepy bakterii fermentacji mlekowej (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 oraz *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) są zdolne do rozwoju i przeżycia w emulsji na bazie inuliny i BTM podczas 4 tygodni przechowywania w temperaturze $5^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ”. Sugerowałabym zatem doprecyzowanie wymienionych hipotez.

Głównym celem pracy było otrzymanie synbiotycznych emulsji do smarowania pieczywa, na bazie inuliny i BTM. Do badań wykorzystano kulturę startową zawierającą mieszaninę szczepów LAB tj. szczepy probiotyczne (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12)

oraz szczep towarzyszący (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*). Do zrealizowania celu głównego Doktorant wyznaczył sobie 6 celów szczegółowych:

1. Optymalizacja otrzymywania emulsji na bazie BTM i inuliny w oparciu o analizę reologiczną i tekstury.
2. Określenie najefektywniejszej receptury emulsji dla rozwoju wybranych bakterii probiotycznych.
3. Pogłębiona charakterystyka właściwości reologicznych i teksturalnych emulsji otrzymanych na bazie zoptymalizowanych receptur.
4. Określenie przeżywalności bakterii probiotycznych w okresie przechowywania emulsji w celu uznania produktu za synbiotyczny.
5. Analiza sensoryczna finalnej emulsji oraz analiza kwasów tłuszczowych.
6. Określenie wpływu czasu przechowywania na właściwości reologiczne i teksturalne emulsji otrzymanej na bazie finalnej receptury.

W przypadku celów szczegółowych zwróciłam szczególną uwagę na 4. z nich, w którym Doktorant wyznaczył sobie zadanie polegające na określeniu przeżywalności bakterii probiotycznych w okresie przechowywania emulsji w celu uznania produktu za synbiotyczny. Czy przeżywalność bakterii probiotycznych w produkcie w okresie przechowywania jest wystarczająca do uznania go za synbiotyczny? W przypadku prebiotyku ważne jest jego modulujące działanie - czyli składnik i preparat, w jakim jest dostarczany zmienia skład lub aktywność mikrobioty u docelowego gospodarza. Ponadto według definicji synbiotyk to mieszanina zawierająca żywe mikroorganizmy i substraty selektywnie wykorzystywane przez mikroorganizmy żywiciela, która przynosi korzyść zdrowotną gospodarzowi. Mikroorganizmy obejmują zarówno autochtoniczne mikroorganizmy (rezydentne lub kolonizujące żywiciela) i mikroorganizmy allochtoniczne (aplikowane zewnętrznie, takie jak probiotyki), które nawet jeśli występują przejściowo, nie stanowią składnika mikrobioty żywiciela". Definicja wyraźnie zwraca uwagę na „korzyść zdrowotną gospodarza”. Zatem moim zdaniem Doktorant powinien w całej pracy używać, podobnie jak w tytule dysertacji, sformułowania „potencjalnie synbiotyczny”. Oczywiście kwestia ta może być elementem dyskusji podczas obrony doktoratu. W celu szczegółowym nr 5 użyto zbyt ogólnego i potocznego określenie: „analiza kwasów tłuszczowych”. Brak w nim jasnego sformułowania np. „analiza zawartości kwasów tłuszczowych” czy też „ilościowa i jakościowa analiza kwasów tłuszczowych”. Nie podano także czy ocena sensoryczna i analiza zawartości kwasów tłuszczowych wykonywana będzie w czasie przechowywania emulsji.

Pomimo w/w uwag uważam, że cele i założenia pracy doskonale wpisują się w nurt naukowych poszukiwań nowych nośników bakterii probiotycznych w diecie człowieka, substancji pozytywnie wpływających na skład i aktywność metaboliczną mikrobioty jelitowej oraz wskazują na aspekt aplikacyjny przeprowadzonych badań.

Rozdział „*Materiał i metody*” Doktorant podzielił na 9 podrozdziałów, w których opisał wykorzystane w badaniach materiały, sposób przygotowania próbek oraz metody badawcze w ramach analizy fizykochemicznej, mikrobiologicznej i sensorycznej a także metody analizy statystycznej.

Prawidłowo dobrano metody badawcze, które pozwoliły na realizację celu pracy. Do oszacowania istotności uzyskanych wyników wykorzystano odpowiednie testy statystyczne. Doktorant wykazał się umiejętnościami analitycznymi a prace zostały dobrze zaplanowane pod względem warsztatowym, podparte znajomością tematu przez Doktoranta i doświadczeniem Promotorów oraz zrealizowane zgodnie ze standardami prac naukowych. Oceniając tę część pracy doktorskiej nasunęły mi się jednak pewne pytania i uwagi:

- opis przygotowania próbek badawczych uzupełniłabym o schemat ułatwiający zrozumienie treści, która w obecnej formie sprawia wrażenie nieco nieuporządkowanej,
- jakie jest zdanie Doktoranta o poprawności użytego określenia „próbki badawcze”? czy w danej sytuacji nie należy stosować określenia „próby badawcze”?
- Doktorant podaje, że emulsje zawierały inulinę (15% i 20%) a w kolejnym akapicie, czytamy informację, że „inulinę (14.6% lub 19.6% składu końcowego) mieszano w wodzie destylowanej [...]” – skąd ta rozbieżność?
- nie podano czasu i prędkości z jaką mieszano inulinę w wodzie destylowanej przy użyciu mieszadła magnetycznego,
- w jaki sposób ustalono ilość odparowanej wody z kolb, którą uzupełniano gorącą wodą destylowaną? gorącą, czyli o jakiej temperaturze?
- str. 14⁵ – „Po wybraniu ostatecznych receptur modelowych emulsji spełniających wstępne założenia dodawano bakterie probiotyczne” – stosowano mieszaninę bakterii, nie stosowano wyłącznie bakterii probiotycznych,
- brak informacji jak długo przechowywano emulsje w szafie termostatycznej przed dodaniem startera,
- w podrozdziale 2.2 publikacji nr 3 Doktorant podaje, że ostatecznie wybrana emulsja zawierała inulinę (20%), tłuszcz mleczny (20%), sól (0,2%), β -karoten (0.04%), WPC (2%) i kulturę startową (0,015%), informacja o zawartości soli i β -karotenu pojawia się w tym miejscu po raz pierwszy, czy zatem oznaczano zawartość tych składników i jeśli tak to, dlaczego nie zrobiono tego również podczas badań do publikacji nr 2?
- dlaczego ocenę sensoryczną przeprowadzono wyłącznie po 48h od wyprodukowania emulsji? wiadomym jest, że stabilność cech sensorycznych produktu w czasie przechowywania determinuje akceptację konsumentką zatem analiza sensoryczna powinna każdorazowo towarzyszyć badaniom fizyko-chemicznym,
- str. 15¹- „Próbki pobierano bezpośrednio po przechowywaniu w temp. 5°C lub [...] 20°C” – skąd pewność, że temperatura w czasie pomiarów i przechowywania utrzymywała się na stałym poziomie? dlaczego nie zastosowano histerezy (\pm)?
- brak opisu warunków przeprowadzenia oceny sensorycznej, kanapki oprócz produktów do smarowania pieczywa zawierały szynkę, zatem jak osoby oceniające były w stanie „zwrócić szczególną uwagę na smak i zapach użytej emulsji”?
- brak poparcia literaturowego (cytowania) dla postępowania podczas przygotowania próbek oraz metody oceny sensorycznej.

Rozdział „Omówienie wyników i dyskusja” Doktorant podzielił na 6 podrozdziałów. Pierwszy z nich (7.1) zawiera informacje na temat publikacji przeglądowej, w której jak sam stwierdził, podjął się próby usystematyzowania informacji na temat prozdrowotnych produktów spożywczych jakimi są wyroby zawierające bakterie probiotyczne. Podrozdział zatytułowano „Bakterie probiotyczne w żywności - nowe kierunki stosowania” co wzbudza duży apetyt i oczekiwanie na dobrze skonstruowany przegląd bieżącego stanu wiedzy na w/w temat. Niestety czuję pewien niedosyt, ponieważ opis publikacji przeglądowej liczy najwyżej 8 wersów. Doktorant zwrócił w niej uwagę na fakt wciąż ograniczonego asortymentu produktów potencjalnie probiotycznych a jako przyczynę podał brak dopracowanych metod produkcji, niewielkie zainteresowanie ze strony inwestorów, nieakceptowane przez konsumentów cechy organoleptyczne produktów probiotycznych. Krótko scharakteryzował wykorzystanie probiotyków w przemyśle mleczarskim, mięsny, owocowo-warzywnym a także w innowacyjnych produktach tj. słomki do napojów oraz kapsle do butelek. Sama praca przeglądowa stanowi podstawę i wprowadzenie do podjętych badań. Napisano ją w oparciu o 28 pozycji literaturowych, które w roku publikacji (2015 r.) były aktualnymi i dobrze dobranymi źródłami informacji na temat bakterii probiotycznych w żywności.

W kolejnych podrozdziałach (7.2 – 7.6) oraz w publikacji nr 2 i nr 3 opisano i przedyskutowano poszczególne etapy badań prowadzące do osiągnięcia celu i weryfikacji postawionych hipotez. Wyniki badań omówione w tej części pracy przedstawiono w 6 tabelach i na 4 złożonych wykresach. W publikacji nr 2 skupiono się na opracowaniu optymalnej receptury emulsji, która po wprowadzeniu do niej LAB stała się docelowym przedmiotem badań. Tę część opracowania ilustruje tabela przedstawiająca procentowy skład testowanych emulsji oraz dwa wykresy obrazujące wyniki wstępnej analizy właściwości reologicznych i teksturalnych emulsji bez dodatku probiotyków. Doktorant przeanalizował przede wszystkim wpływ temperatury przechowywania na badane parametry. W niższej temperaturze składowania chłodniczego obserwowano większą twardość i mniejszą smarowność, co jednak nie powodowało problemu z rozsmarowywaniem produktu na pieczywie. Pozwoliło to na podjęcie decyzji o prowadzeniu dalszych analiz w temperaturze 5°C, co ma niezaprzeczalny aspekt użytkowy, gdyż to właśnie produkt o takiej temperaturze (bezpośrednio po wyjęciu z lodówki) wykorzystywany jest przez konsumentów. Lepszą smarowność odnotowano dla próbek zawierających mniej BTM.

Logicznym następstwem przeprowadzonych badań była ocena wpływu dodatku LAB na właściwości teksturalne i reologiczne emulsji. Oprócz emulsji zawierających inulinę, BTM, WPC 80 lub lecytynę, w celu porównania, przeanalizowano również dwa rodzaje margaryny (20 i 80% tłuszczu) a także masło. Stwierdzono, na ogół brak istotnych różnic pomiędzy emulsjami BTM - inulina a margaryną oraz istotne różnice w porównaniu do masła. Dodatek LAB i ich wzrost nie wpłynął istotnie na właściwości teksturalne i reologiczne emulsyjnych produktów do smarowania pieczywa. Analiza mikrobiologiczna wykazała efektywny wzrost LAB tylko w próbach zawierających WPC 80. Dwukrotne zwiększenie udziału procentowego koncentratu białek serwatkowych w emulsji istotnie wpływało na wzrost liczby bakterii *Lactobacillus acidophilus* LA-5 i *Streptococcus salivarius* ssp.

thermophilus, nie wpłynęło jednak na liczebność *Bifidobacterium animalis* BB-12. Wyniki dotyczące tej części badań zamieszczono w tabeli przedstawiającej liczbę bakterii, pH i aktywność wody emulsji do smarowania pieczywa (Tab. 3).

Celem badań podjętych w publikacji nr 3 była analiza wpływu przechowywania na właściwości teksturalne i reologiczne oraz mikrobiologiczną i chemiczną stabilność emulsji. Dodatkowo dokonano analizy sensorycznej próbek. Czterotygodniowe przechowywanie próbek w temperaturze 5°C nie wpłynęło negatywnie na liczbę bakterii *L. acidophilus* LA-5. Pomimo, że stwierdzono zmniejszenie liczebności *S. thermophilus* i *B. animalis* BB-12, to liczba bakterii nadal odpowiadała wymaganiom, jakie powinien spełniać produkt potencjalnie probiotyczny. Badana emulsja podczas przechowywania charakteryzowała się stabilnymi właściwościami reologicznymi i teksturalnymi, a zaobserwowane niewielkie pogorszenie smarowności przypisano odparowaniu wody z próbek. Analiza kwasowości wykazała niewielkie, aczkolwiek istotne, obniżenie pH po dwóch tygodniach przechowywania. Uzyskane wyniki analizy sensorycznej potwierdziły, że nie było różnic pomiędzy kanapkami z badaną emulsją a margaryną a aromat margaryny został łatwo wykryty przez oceniających tylko w próbkach zawierających margarynę. W rozdziale 4. „Wprowadzenie teoretyczne na podstawie publikacji” Doktorant napisał, że zaletą stosowania BTM jest unikalny smak przypisywany obecności takich składników jak WKT, związki aromatyczne (aldehydy, laktony, ketony). Natomiast w opisie wyników analizy sensorycznej twierdzi, że „związki aromatyczne nie są obecne w BTM na takim poziomie jaki zwykle występuje w maśle. W przypadku analizowanej emulsji BTM - inulina odnotowano pewne obce zapachy i posmaki. Było to prawdopodobnie spowodowane BTM, w którym nasiliły się różne posmaki, zwłaszcza podczas przechowywania” - skąd taka niekonsekwencja?

Analiza składu kwasów tłuszczowych potwierdziła brak istotnego wpływu czasu przechowywania na zmiany w zawartości większości analizowanych grup kwasów tłuszczowych. Produkt był stabilny chemicznie i jak twierdzi Doktorant spodziewano się takiego wyniku analiz, gdyż „skład tłuszczu mlecznego nie zmienia się w krótkim czasie przechowywania”. Stwierdzenie to będące uzasadnieniem braku zmian w składzie kwasów tłuszczowych budzi pewien dysonans. W całym opracowaniu Doktorant używa określenia „dłuższy czas przechowywania” a w tym podrozdziale, dla tego samego przedziału czasowego, twierdzi, że jest to „krótki czas przechowywania”. Czas może oczywiście być pojęciem względnym, ale w przypadku prac naukowych powinien być precyzyjnie określony.

Rozprawę doktorską kończy rozdział zatytułowany *Wnioski i stwierdzenia*. Doktorant potwierdził wszystkie hipotezy badawcze oraz sformułował 7 stwierdzeń i wniosków bezpośrednio wynikających z przeprowadzonych badań. Zwróciłabym jednak uwagę na formę stylistyczną niektórych zdań. Redagując wnioski unikałabym równoważników zdań oraz zbyt potocznych sformułowań. Doktorant podaje, że „Analiza sensoryczna wykazała, że emulsja nie odbiegała od komercyjnie dostępnych produktów przeznaczonych do smarowania pieczywa [...]”. Jednakże w pracy pojawia się informacja, że „Wcześniejsze badania potwierdziły, że obecność inuliny negatywnie wpływała na ogólną

akceptowalność finalnego produktu” oraz „W przypadku analizowanej emulsji BTM - inulina odnotowano pewne obce zapachy i posmaki”, zatem jak mam rozumieć wniosek nr 7?

Spis piśmiennictwa liczy 71 pozycji, które zostały starannie dobrane pod względem merytorycznym. Zacytowane w pracy źródła literaturowe są ściśle powiązane z tematyką badań. Większość z nich to prace z ostatniej dekady, a praktycznie wszystkie (poza jedną) zostały opublikowane w języku angielskim.

Mimo, że publikacje stanowiące rozprawę doktorską przeszły z sukcesem proces recenzji i zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych szczegółowa analiza przesłanego do oceny opracowania nasunęła mi pewne dodatkowe wątpliwości oraz pytania, które z obowiązku recenzenta oraz w związku z moim zainteresowaniem tematem pozwolę sobie przedstawić poniżej. Podkreślam, że nie mają one wpływu na moją jednoznacznie pozytywną ocenę i dotyczą głównie opracowania a nie wartości merytorycznej opublikowanych badań, które uważam za wartościowe.

- dlaczego w badaniach nie zastosowano monokultur bakterii potencjalnie probiotycznych a kulturę starterową zawierającą dwa szczepy potencjalnie probiotyczne oraz szczep towarzyszący?
- Doktorant używa zwrotu „emulsje do smarowania”, nie podaje do smarowania czego? Oczywiście z kontekstu czytelnik orientuje się, że dotyczy to emulsji do smarowania pieczywa, ale wykresy i tabele powinny być zatytułowane w taki sposób, aby opis był precyzyjny i zrozumiały bez czytania pracy,
- w podjętych badaniach w głównej mierze chodziło o udowodnienie, że inulina użyta w emulsjach będzie działała prebiotycznie, jednakże w badaniach przeprowadzonych w ramach publikacji nr 2 stwierdzono, że to nie inulina a WPC 80 miał wpływ na wzrost LAB w emulsjach w czasie inkubacji, dlaczego podjęto się zatem kontynuacji badań z inuliną w składzie emulsji?
- niefortunne sformułowanie - „[...] obecne czasy charakteryzują się szybkim spożyciem [...]”,
- str. 18 – duży fragment tekstu bez żadnego poparcia literaturowego,
- str. 19 – Doktorant nie opisuje dokładnie w jaki sposób dodawano do emulsji kulturę startową, twierdzi jedynie, że „Bakterie dodawano według metody opisanej przez Glibowski i Rybak [15]” – w cytowanej pracy autorzy podają, że podczas produkcji jogurtu mieszanego dodawano kulturę w ilość 0,015% (w/w). Zacytowane badania prowadzone były na innym produkcie i bez rozpuszczania kultury w sterylnym roztworze 0,85% NaCl - odmiennie niż w publikacji nr 2 wchodzącej w skład doktoratu,
- str. 20 – brak cytowania dla stwierdzenia, że „[...] istotne różnice dla adhezyjności notuje się tylko dla próbek o zupełnie odmiennym składzie [...]”; użyte sformułowanie „odmienny skład” jest zbyt ogólne, może lepiej byłoby użyć np. „o dużej różnicy w zawartości tłuszczu”?
- str. 20 – zadanie rozpoczynające się od słowa „Podsumowując [...]” powinno być napisane w czasie przeszłym,
- str. 26² - 26⁴ – brak odnośnika do tabeli 2.
- str. 26¹² - 26¹⁵ – Doktorant podaje, że liczba LAB w spreadach z WPC była na wymaganym poziomie, aby spełniały one wymóg żywności probiotycznej, a przy spożyciu 10 g dziennie

- powinna zabezpieczyć zalecane dzienne spożycie. "Spożycie pięciu kromek chleba posmarowanych tym produktem dodałoby do diety 10 g błonnika". Doktorant podaje, że przeciętnie na 1 kromkę zużywa się 10 g emulsji. W celu spożycia 10 g błonnika konsument musiałby dziennie spożyć 50 g emulsji, czy ta ilość nie jest zbyt duża?
- str. 26₁₆ – informacja o niedoborze błonnika w diecie poparta publikacją z 2017 r.
 - str. 27 Tab. 3 – w próbach zawierających lecytynę nie zaobserwowano wzrostu LAB i jednocześnie stwierdzono obniżenie się pH - czym mogło być to spowodowane?
 - str. 27₄ – jest: „bardziej efektywnego” / powinno być: „efektywniejszego” - stopniowanie opisowe zamiast regularnego,
 - str. 28¹ – jest: "[...] na wartości dotyczące liczby kolonii bakterii [...]" / powinno być: „na liczbę kolonii bakterii [...]" – po co komplikować,
 - str. 28₁₁ – Doktorant podaje, że „środowisko finalnie wybranej emulsji było odpowiednie dla zastosowanych bakterii [...]" i z tym się zgadzam po zapoznaniu się z treścią publikacji nr 3, skąd jednak pewność, że „ponieważ w analizowanym produkcie znajdowała się inulina, związek prebiotyczny, można przyjąć, że produkt ten może być synbiotyczny” skoro w publikacji nr 2 to WPC wpłynął pozytywnie na wzrost LAB a nie inulina?

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzające wiedzę teoretyczną Doktoranta w zakresie badanego zagadnienia wpisującego się w dyscyplinę technologia żywności i żywienia oraz umiejętność prowadzenia zarówno samodzielnej jak i zespołowej pracy naukowej. Podjęty problem badawczy ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym, jak i aplikacyjnym. Doktorant zrealizował cele badawcze i umiejętnie zinterpretował uzyskane wyniki, co znalazło swoje odzwierciedlenie w opublikowaniu ich w wysoko punktowanych czasopismach naukowych. Rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Kamila Toczka pt. „Otrzymywanie i właściwości fizykochemiczne potencjalnie synbiotycznych emulsji przeznaczonych do smarowania pieczywa” prezentuje odpowiedni poziom merytoryczny i spełnia wymogi formalne i merytoryczne stawiane rozprawom doktorskim w myśl Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.).

W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenia Pana mgr. inż. Kamila Toczka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


dr hab. inż. Izabela Dmytrov, prof. ZUT