

Kraków, 10.12.2024

Dr hab. inż. Joanna Tkaczewska, prof. URK
Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych
Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja rozprawy doktorskiej

Mgr Michał Jacek Czelej

pt. „Optymalizacja metody wytwarzania w skali przemysłowej oraz ocena właściwości prozdrowotnych uzyskanych peptydów z białek jaja kurzego i serwatki”

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi Uchwała podjęta w dniu 30.10.2024r. Przez Radę Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Prof. dr hab. Władysława Gustawa z dnia 04.11.2024r.

Zasadność podjęcia tematu, jego wybór oraz znaczenie

Tematyka rozprawy doktorskiej, dotycząca optymalizacji metod wytwarzania bioaktywnych peptydów z białek jaj kurzych oraz serwatki, stanowi wyjątkowo uzasadniony i w pełni adekwatny wybór. Poruszana problematyka odpowiada zarówno aktualnym wyzwaniom naukowym, jak i potrzebom przemysłowym. Rosnące zainteresowanie konsumentów naturalnymi składnikami bioaktywnymi sprawia, że poszukiwanie nowych, bezpiecznych i skutecznych substancji stało się jednym z priorytetowych wyzwań współczesnej technologii żywności. Hydrolizaty białkowe będące źródłem bioaktywnych peptydów, uzyskane z powszechnie dostępnych surowców białkowych, takich jak jaja kurze czy serwatka, posiadają szereg właściwości prozdrowotnych, w tym działanie przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe czy przeciwnowotworowe.

Jedną z kluczowych zalet przedstawionej do recenzji pracy jest podjęcie przez Doktoranta ambitnej próby wdrożenia produkcji hydrolizatów białkowych zawierających bioaktywne peptydy na skalę przemysłową. Działanie takie wypełnia istotną lukę zarówno w dotychczasowych badaniach naukowych, jak i na polskim rynku produktów spożywczych oraz suplementów diety. W większości badań naukowych, szczególnie w dziedzinie biotechnologii

i technologii żywności, prace kończą się na etapie badań podstawowych, w których analizowane są właściwości substancji w warunkach laboratoryjnych. Rzadko jednak dochodzi do przeskalowania tych wyników na poziom przemysłowy. Tymczasem w analizowanej rozprawie Doktorant poszedł krok dalej, opracowując procedury technologiczne, które umożliwiają **przemysłową produkcję hydrolizatów białkowych z bioaktywnymi peptydami** na szeroką skalę. Jest to niezwykle istotne, ponieważ łączy teorię z praktyką, pokazując realne możliwości wdrożenia wyników badań do przemysłu i komercjalizacji nowych produktów. Co więcej, praca wyróżnia się również praktycznym celem, jakim było zwiększenie wydajności reakcji poprzez skrócenie czasu hydrolizy, a tym samym obniżenie kosztów procesu. Ten aspekt ma kluczowe znaczenie w kontekście przemysłowego wytwarzania bioaktywnych peptydów, gdzie efektywność procesu oraz minimalizacja kosztów są istotnymi czynnikami decydującymi o sukcesie komercyjnym. Z drugiej strony jest ona również wartościowa z naukowego punktu widzenia. Tematyka bioaktywnych peptydów jest dobrze ugruntowana w literaturze, jednak w pracy zidentyfikowano nowe peptydy o określonych właściwościach biologicznych, co wzbogaca aktualny stan wiedzy.

Podsumowując, **dobór tematu pracy doktorskiej jest w pełni uzasadniony i znaczący** z punktu widzenia zarówno aktualnych potrzeb przemysłowych, jak i wyzwań naukowych. Badania nad bioaktywnymi peptydami z białek jaj kurzych oraz serwatki mają duży potencjał aplikacyjny, który może przyczynić się do rozwoju nowych, naturalnych produktów funkcjonalnych.

Ocena pracy pod względem formalnym

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Michała Czeleja powstała w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie naukowej technologia żywności i żywienia. Zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, rozprawa doktorska może przyjmować różne formy. Przewiduje się między innymi prace pisemne, w tym monografie naukowe, zbiory opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, a także prace projektowe, konstrukcyjne, technologiczne, wdrożeniowe lub artystyczne. Do oceny przedstawiono rozprawę doktorską, która składa się z dwóch opublikowanych artykułów naukowych, jednego artykułu znajdującego się w trakcie recenzji oraz dwóch procedur technologicznych dokumentujących wdrożenie opracowanej technologii produkcji biologicznie aktywnych peptydów w praktyce przemysłowej. Ze względu na brak publikacji wszystkich trzech artykułów, przedstawioną rozprawę trudno uznać wyłącznie za zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie

artykułów naukowych. Należy ją jednak rozpatrywać jako pracę wdrożeniową, zgodną z ustawową definicją rozprawy doktorskiej. W ocenie recenzenta wdrożenie technologii, potwierdzone szczegółowym opisem procedur technologicznych, w połączeniu z publikacjami naukowymi przedstawiającymi nowatorskie aspekty tej technologii, spełnia wymogi ustawy. Całość materiałów jest spójna tematycznie i wyraźnie ukazuje zarówno naukowy, jak i praktyczny wkład doktoranta w rozwój dyscypliny technologia żywności, co uzasadnia uznanie pracy za spełniającą wymagania formalne dotyczące rozprawy doktorskiej. Sumaryczna liczba punktów MNiSW za opublikowane prace, stanowiące część rozprawy doktorskiej, wynosi 280, a łączny współczynnik Impact Factor to 9,90. Uważam, że te wskaźniki bibliometryczne są wystarczająco wysokie, biorąc pod uwagę standardy wymagane dla rozpraw doktorskich.

We wszystkich pracach naukowych mgr inż. Michał Czelej jest pierwszym autorem, a w jednej z nich pełnił rolę autora korespondencyjnego. Zdeklarowany w oświadczeniach udział doktoranta w powstaniu załączonych publikacji był kluczowy i istotnie znaczący. Wkład mgr inż. Michała Czeleja w oryginalne prace obejmował m.in. współtworzenie koncepcji badań, analizę danych literaturowych, przygotowanie materiału do badań, współudział w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowanie uzyskanych wyników oraz współudział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzję. Ponadto, na podstawie analizy dokumentów zawartych w pracy doktorskiej, można jednoznacznie stwierdzić, że Pan Michał Czelej jest również autorem procedur produkcji peptydów, mimo braku bezpośrednich wskazówek w pracy dotyczących przypisania autorstwa do tych procedur. W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Michała Czeleja jest jego autorskim dziełem.

Rozprawa liczy 159 stron, w tym załączniki i jest odpowiednio skonstruowana dla tego typu opracowań. Rozpoczyna się spisem treści oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Praca podzielona jest na 10 ponumerowanych rozdziałów: streszczenie, wykaz skrótów, uzasadnienie podjętej tematyki badawczej, hipotezy i cel rozprawy, struktura przeprowadzonych badań, materiały i metody, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, bibliografia, załączniki. Do pracy dołączono publikacje naukowe oraz procedury stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej, a także oświadczenia współautorów publikacji. Spis literatury zawiera 77 pozycji, z czego 31% stanowią artykuły naukowe opublikowane w ciągu ostatnich 5 lat. Dobór bibliografii jest odpowiedni, obejmuje kluczowe pozycje literatury przedmiotu i nie budzi zastrzeżeń.

Praca została napisana starannie, jednak zawiera pewne błędy stylistyczne i językowe, które mogą wpływać na jej odbiór. Przykładem takiej niedokładności jest zdanie na stronie 25: „jak pokazują wyniki metody Soxhleta”, które jest nieco nieprecyzyjne i może wprowadzać w

błąd. Lepiej brzmiałoby ono w formie: „na co wskazują wyniki uzyskane za pomocą metody Soxhleta”. Ponadto, pod podpisem wykresu 2 na stronie 29 występuje niepotrzebne powtórzenie słów. Na stronie 31 znajduje się także niezrozumiałe zdanie: „Może to być związane z narażeniem na czyste skoncentrowane peptydy”, które wymaga doprecyzowania, aby stało się bardziej zrozumiałe dla czytelnika. Tego typu błędy występują w pracy sporadycznie, nie wpływając jednak w znaczący sposób na jej jakość. Mimo ich obecności, całość rozprawy prezentuje się dobrze, ale wprowadzenie drobnych poprawek poprawiłoby jej przejrzystość. Stwierdzam, iż pod względem formalnym praca spełnia wymagania stawiane rozprawom dysertacyjnym na stopień doktora.

Ocena pracy pod względem merytorycznym

Doktorant zaplanował pięć szczegółowych celów, które miały kierować przebiegiem realizacji doświadczeń w ramach pracy doktorskiej. Pierwszym celem było omówienie oraz wybór surowców do otrzymywania peptydów, uwzględniając ich dostępność i opłacalność ekonomiczną. W efekcie realizacji tego etapu powstał artykuł przeglądowy (publikacja I). Publikacja ta stanowi ważny wkład w rozwój wiedzy na temat źródeł biologicznie aktywnych peptydów oraz ich właściwości antyoksydacyjnych. Przeglądowe podejście autorów dostarcza cennych informacji na temat różnych surowców oraz technik pozyskiwania peptydów, co może być inspiracją dla dalszych badań. Jednakże w kontekście tematyki pracy doktorskiej dotyczącej optymalizacji metody wytwarzania i oceny prozdrowotnych właściwości peptydów z białka jaja kurzego oraz serwatki, w artykule brakuje szczegółowego omówienia tych dwóch kluczowych surowców. W szczególności, nie zostały dokładnie przedstawione właściwości, potencjalne zalety i wyzwania związane z wykorzystaniem żółtek jaj i serwatki w procesie produkcji peptydów. Niemniej jednak, artykuł wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy o procesach enzymatycznych i potencjale bioaktywnych peptydów, co czyni go wartościowym źródłem w szerszym kontekście badań nad hydrolizatami białkowymi.

Z uwag krytycznych dotyczących tej części pracy wspomnę, że w opisie rozprawy doktorskiej zauważalny jest brak jakiegokolwiek wprowadzenia teoretycznego, które mogłoby stanowić solidną podstawę dla przedstawionych badań. Tego rodzaju element nie tylko wzbogaciłby kontekst pracy, ale również pomógłby lepiej osadzić badania w istniejącym stanie wiedzy. Co więcej, brakuje odniesień do literatury, w tym także do Publikacji I, co mogłoby znacząco wzmocnić argumentację i spójność merytoryczną rozprawy. Uzupełnienie tych elementów mogłoby poprawić odbiór pracy, podkreślając jej znaczenie naukowe oraz oryginalność.

W dalszej części pracy w ramach realizacji kolejnych 3 celów szczegółowych zastosowano wiele nowoczesnych i odpowiednich metod analitycznych. Do pozyskiwania peptydów z żółtek jaj oraz białek serwatkowych wykorzystano hydrolizę enzymatyczną, stosując enzymy takie jak papaina, pepsyna i trypsyna. Proces został zoptymalizowany pod kątem rodzaju enzymu oraz stosunku enzymu do substratu, co umożliwiło uzyskanie peptydów o wysokiej aktywności biologicznej, a sam proces przebiegał wydajnie. Do identyfikacji peptydów zastosowano zaawansowane techniki LC-MS i MALDI-TOF/MS, które pozwoliły na ich precyzyjną analizę. Oceny właściwości bioaktywnych peptydów dokonano przy użyciu nowoczesnych metod. Aktywność przeciwutleniająca była badana za pomocą testów FRAP, DPPH i ABTS, a aktywność przeciwbakteryjna przy użyciu testów mikrobiologicznych, takich jak metoda dyfuzji w agarze, w odniesieniu do szczepów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Zastosowane techniki, w tym zaawansowane analizy instrumentalne oraz badania in vitro i in silico, są nowoczesne i zgodne z aktualnymi standardami badawczymi. Pod względem adekwatności dobrano je tak, aby umożliwić szczegółową charakterystykę peptydów, ocenę ich właściwości bioaktywnych oraz przeskalowanie procesu do zastosowań przemysłowych. Metody te świadczą o wysokim poziomie zaawansowania technologicznego i kompleksowym podejściu badawczym.

W dalszej części pracy Doktorant przechodzi do omówienia wyników i ich dyskusji w kontekście przyjętych celów oraz hipotez. Autor przedstawia uzyskane wyniki w sposób czytelny co pozwala na pełne zrozumienie przeprowadzonych badań i ich rezultatów. Rozdział odwołuje się także do literatury, porównując wyniki z innymi badaniami, co umożliwia osadzenie pracy w szerszym kontekście naukowym. Jednak ta część pracy ma również swoje słabe strony. We fragmencie, w którym autor omawia właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białkowych, porównuje on ich aktywność z ekstraktami roślinnymi. Moim zdaniem, chociaż takie porównanie może być wartościowe, bardziej adekwatne byłoby zestawienie tych wyników z hydrolizatami pochodzącymi z innych surowców, na przykład rybnych, które również wykazują wysoką aktywność w tym zakresie. Tego typu porównanie mogłoby dostarczyć pełniejszego obrazu potencjału badanych białek i umożliwić lepszą ocenę ich zastosowań w różnych branżach. Do tej części pracy nasuwają się pytania, które warto rozważyć:

- *Jak można wyjaśnić znaczną przewagę aktywności przeciwutleniającej uzyskanych hydrolizatów w porównaniu do innych produktów spożywczych, takich jak szpinak czy*

papryczka chili? Czy możliwe jest, że takie porównania nie są do końca reprezentatywne, biorąc pod uwagę różnice w metodach przygotowania próbek?

- *Na stronie 23 doktorant zauważa, że profil aminokwasów żółtka jaja przed i po hydrolizie wykazuje istotne różnice. Dyskusja na ten temat ogranicza się jednak jedynie do stwierdzenia, że może to być związane z obecnością enzymów, które nieznacznie zwiększają zawartość białka w otrzymanym preparacie. Uważam, że warto, aby doktorant bardziej szczegółowo spróbował wyjaśnić zaobserwowane zjawisko. Zastanawiam się również, czy doktorant przeprowadził dokładną analizę zawartości białka w hydrolizatach i porównał ją z zawartością białka w surowcu przed hydrolizą. W metodyce znajduje się informacja o analizie zawartości białka, jednak miałam trudności z odnalezieniem jej wyników w treści pracy.*
- *Proszę o wyjaśnienie, co doktorant miał na myśli, pisząc na stronie 27, że zastosowanie dwuetapowej hydrolizy istotnie wpłynęło na „poprawę” stopnia hydrolizy. Rozumiem, że chodziło o uzyskanie jak najwyższego stopnia hydrolizy. Proszę o dokładniejszą charakterystykę tego zagadnienia.*
- *Ponadto uważam, że wartość pracy znacznie wzrosłaby, gdyby doktorant przedstawił wyniki dotyczące właściwości biologicznych hydrolizatów uzyskanych w skali przemysłowej, wytworzonych według opracowanej procedury. Czy doktorant analizował te hydrolizaty? Czy charakteryzowały się one podobnymi właściwościami biologicznymi jak preparaty wytworzone w skali laboratoryjnej?*

W mojej opinii części pracy dotyczące hydrolizatów z żółtek jaj oraz białek serwatkowych zostały potraktowane oddzielnie, co utrudnia stworzenie jednolitego przekazu. Obie sekcje mogłyby być lepiej zintegrowane, na przykład poprzez porównanie wyników lub wspólną analizę dotyczącą optymalizacji procesu hydrolizy dla różnych typów białek. Brak ujednoczonego podejścia w prezentacji wyników sprawia, że całość wydaje się bardziej zbiorem oddzielnych badań niż spójną rozprawą. Praca doktorska wymaga nie tylko prezentacji wyników, ale także ich syntetycznej analizy i osadzenia w szerszym kontekście naukowym – tego miejscami brakuje. Z drugiej strony, można też zrozumieć takie podejście jako próbę pokazania dwóch odrębnych osi badań, które były prowadzone równolegle. Może być to uzasadnione, jeśli celem było przetestowanie różnych metod i surowców, bez intencji ich bezpośredniego porównania. W takim przypadku jednak doktorant powinien to wyraźnie zaznaczyć we wstępie i w podsumowaniu pracy, co pomogłoby lepiej zrozumieć tę strukturę. Ponadto, język i styl opisu w polskiej części pracy powinny być dostosowany do akademickiego

charakteru rozprawy doktorskiej, unikając dosłownego tłumaczenia publikacji II i publikacji III. Takie podejście zapewniłoby większą spójność i przejrzystość pracy.

Podsumowując, rozdziały „Materiał i Metody” oraz „Omówienie wyników i dyskusja” prezentują wysoki poziom szczegółowości i profesjonalizmu, dzięki czemu stanowią solidną podstawę dla całej pracy doktorskiej. Mocne strony, takie jak szczegółowa analiza wyników i zastosowanie zaawansowanych metod badawczych, wyraźnie dominują, choć wydaje się, że doktorant skupił się na przedstawieniu wyników dwóch projektów bez dostatecznego połączenia ich w jeden, logiczny ciąg narracji. Poprawa integracji, stylu i ujednolicenia prezentacji wyników mogłaby znacząco wzmocnić wartość tej rozprawy.

Rozdział „Wnioski” jest dobrze opracowany i daje klarowny obraz przeprowadzonych badań, ich wyników oraz potencjalnych zastosowań. Zawiera szczegółowe wnioski dotyczące właściwości bioaktywnych peptydów, metod hydrolizy i możliwości ich praktycznego wykorzystania. Niemniej jednak, część wniosków jest zbyt ogólna i nie odnosi się bezpośrednio do wyników przeprowadzonych badań (np. wniosek 1). Podsumowując, wnioski sformułowane przez doktoranta pozwalają stwierdzić, że badania dotyczące wykorzystania białek żółtka jaj i białek serwatkowych, do produkcji bioaktywnych peptydów poprzez kontrolowaną hydrolizę enzymatyczną, wnoszą istotny wkład w rozwój wiedzy na temat przetwarzania tradycyjnych surowców w sposób, który zwiększa ich wartość odżywczą i funkcjonalną. Opracowane metody umożliwiają uzyskanie peptydów o właściwościach przeciwutleniających i przeciwbakteryjnych oraz identyfikację nowych peptydów, co stanowi ważny krok w kierunku produkcji żywności funkcjonalnej. Zoptymalizowane warunki hydrolizy, które pozwoliły na przeskalowanie procesu do skali przemysłowej, stanowią kluczowy element wdrożenia tych technologii w przemyśle spożywczym. Wyniki tych badań stwarzają możliwość wprowadzenia nowych, bioaktywnych produktów do produkcji na dużą skalę. Dodatkowo, wskazanie przyszłych kierunków badań, takich jak mikroenkapsulacja czy badania kliniczne, świadczy o pełnej świadomości doktoranta w kontekście dalszego rozwoju tematu oraz potencjalnych wyzwań związanych z komercjalizacją wyników.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. *„Optymalizacja metody wytwarzania w skali przemysłowej oraz ocena właściwości prozdrowotnych uzyskanych peptydów z białek jaja kurzego i serwatki”* przygotowana przez Pana Michała Czeleja jest oryginalnym i

wartościowym opracowaniem naukowym. Uzyskane wyniki mają bardzo dużą wartość poznawczą i ogromne znaczenie praktyczne. Rozprawa wnosi cenny wkład w rozwój wiedzy w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. **Rozpatrując zakres przeprowadzonych badań, wartość naukową i poznawczą pracy, jej znaczenie aplikacyjne i zawarte elementy nowości naukowej stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wymagania formalne i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). Tym samym wnoszę do Rady dyscypliny o dopuszczenie mgr inż. Michała Czeleja do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Joanna Tkaczewska