

Dr hab. inż. Małgorzata Ziarno, prof. SGGW  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności  
Wydział Nauk o Żywności  
SGGW w Warszawie

Rada Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa  
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego  
w Szczecinie

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek  
pt. „Tradycyjne i probiotyczne napoje fermentowane na bazie serwatki kwasowej”**

Recenzja pracy doktorskiej powinna zawierać ocenę jej wartości naukowej wraz z uzasadnieniem, a w szczególności opinię, czy rozprawa odpowiada warunkom określonym 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. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z późn. zm.). Wymogiem tej Ustawy jest, by rozprawa doktorska przygotowywana pod opieką promotora, stanowiła oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazywała ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w danej dyscyplinie naukowej, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej.

Uprzedzając, zawartą poniżej szczegółową analizę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek, przedstawiam opinię POZYTYWNA, rekomendując dopuszczenie Autorki do dalszych kroków postępowania o nadanie stopnia doktora.

Świat poszukuje coraz to nowszych rozwiązań na zagospodarowanie serwatki, zarówno tej podpuszczkowej, jak i kwasowej. Znanych już jest wiele sposobów ich zagospodarowania oraz kierunków wykorzystania. Niektóre z nich wymagają dalszego przerobu serwatki i zastosowania w tym celu nowoczesnych technik membranowych, a to pociąga za sobą nakłady finansowe, sprzętowe i środowiskowe. Nie raz ludzkość przekonała się, że najlepsze są proste rozwiązania. Tym bardziej uznanie wzbudza przedłożona do recenzji rozprawa doktorska, której celem było opracowanie receptury i technologii produkcji serwatkowego napoju fermentowanego. Napój ten z założenia ma być sensorycznie zbliżony do klasycznych napojów fermentowanych takich jak jogurty, powszechnie akceptowanych pod względem smaku, wyglądu i tekstury przez polskiego konsumenta. Otrzymanie receptury takiego produktu daje możliwość realnego wdrożenia opracowanej technologii w praktykę przemysłową. Wydaje się zatem, że temat podjęty w rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek jest aktualny i istotny dla branży mleczarskiej, zaś sama rozprawa

doktorska CENNYM wkładem z aktualne badania nad zagospodarowaniem serwatki kwasowej.

### **Merytoryczna i językowa ocena pracy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma układ typowy dla pracy doktorskiej. Zawiera następujące rozdziały: Wstęp, Przegląd piśmiennictwa, Cel pracy, Materiały i metody, Omówienie wyników, Dyskusję wyników, Wnioski, Wykaz piśmiennictwa oraz Załączniki. Całość poprzedzona jest obszernym Streszczeniem pracy, zaś na końcu tekstu zamieszczono streszczenie w języku angielskim.

**„Wstęp”** jest jednostronicowym wprowadzeniem do tematyki pracy, zawiera również dobrze sformułowane uzasadnienie podjęcia badań. We wstępie do rozprawy Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek słusznie zauważyła, że zagospodarowanie serwatki kwasowej jest trudniejsze niż serwatki podpuszczkowej. Recenzent nie wnosi zastrzeżeń do tej części pracy.

**„Przegląd piśmiennictwa”** stanowi w pracy 21 stron. Tekst jest podzielony na 6 podrozdziałów: Skład i właściwości serwatki, Przetwórstwo serwatki, Zastosowanie serwatki w przemyśle, Zastosowanie preparatów serwatkowych w produkcji jogurtu, Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych, Napoje z serwatki. Zastosowany układ „Przegląd piśmiennictwa” świadczy o przemyślanym podejściu Autorki do zagadnienia i stanowi doskonale teoretyczne wprowadzenie w tematykę recenzowanej rozprawy doktorskiej. Skład i właściwości serwatki zostały omówione z uwzględnieniem różnic w koagulacji kwasowej i podpuszczkowej mleka. Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek omówiła podstawowy skład chemiczny serwatek kwasowej i podpuszczkowej, skupiając się przede wszystkim na białkach i ich wartości biologicznej, a także wspominając o związkach mineralnych. W podrozdziale „Przetwórstwo serwatki” przedstawiono etapy przerobu serwatki z wykorzystaniem operacji zagęszczania, suszenia, frakcjonowania za pomocą technik membranowych. Przedstawienie zagadnienia zastosowania serwatki w przemyśle zajęło Autorce 4,5 stron i jest krótkim opracowaniem dotyczącym zarówno serwatki płynnej, jak i serwatki w proszku i oraz preparatów serwatki. W osobnym podrozdziale, zatytułowanym „Zastosowanie preparatów serwatkowych w produkcji jogurtu”, Autorka podjęła się krótkiego omówienia wpływu dodatku preparatów serwatkowych na wybrane parametry jakościowe jogurtów oraz wskazania, jakich preparatów dotyczą badania naukowe z tego zakresu. Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych zostały omówione na niecałych dwóch stronach. Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek przypomniała w tym miejscu definicję probiotyku i prebiotyku. Ukoronowaniem rozdziału „Przegląd piśmiennictwa” rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek jest podrozdział „Napoje z serwatki”, w którym Autorka przedstawiła zagadnienia najbardziej nawiązujące do tematu recenzowanej rozprawy doktorskiej: rodzaje napojów serwatkowych, stosowane w tym przypadku sposoby ich klasyfikacji, technologie produkcji, postrzeganie ich przez konsumentów.

Niestety, w rozdziale „Przegląd piśmiennictwa” Autorka nie uniknęła błędów językowych (literówki, błędy interpunkcyjne, powtórzenia, zapożyczenia konstrukcji zdań z języków obcych, m.in. anglicyzmy) i merytorycznych, a także niedomówień. W wielu

miejscach stosowane są równoważniki zdań. Najważniejsze z nich i wymagające komentarza lub dopytania Recenzenta są następujące:

- W nauce przyjęte jest, aby łacińskie nazwy bakterii (gatunkowe, rodzajowe) pisać kursywą (italiką). Pod tym względem, Autorka rozprawy stosuje całkowitą dowolność, pisząc łacińskie nazwy bakterii raz kursywą, a innym razem nie. Uwaga ta dotyczy całego tekstu recenzowanej rozprawy doktorskiej. Autorka zastosowała dowolność również wobec bakterii z gatunku *Streptococcus thermophilus*, pisząc ich nazwę jednym razem wedle aktualnej klasyfikacji, a w innych przypadkach, stosując starą, nieaktualną systematykę tych mikroorganizmów (np. str. 17, 31, 120, 122, 125). W dalszych częściach recenzowanej rozprawy podobną dowolność zastopowano wobec nazwy systematycznej podgatunku *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (np. str. 39), czasami pisząc go nawet z błędem literowym (np. str. 122).
- Na podstawie, którego źródła naukowego Autorka przyjęła następującą pisownię nazw białek serwatkowych: „laktoglobulina-β” i „laktoalbumina-α” (np. na stronie 8 rozprawy)? W piśmiennictwie naukowym, o i le mi wiadomo, przyjęte jest pisać: „β-laktoglobulina” oraz „α-laktoalbumina”.
- Korekty wymaga niefortunne sformułowanie „kiełbaski typu frankfurter” użyte na stronie 12. W towaroznawstwie żywności znane są jedynie „kiełbaski typu frankfurterki”, gdyż to „frankfurterka” (a nie „frankfurter”) oznacza produkt mięsny wytwarzany z drobno homogenizowanego farszu mięsnego lub granulowanego farszu mięsnego o wymiarach cząstek do 2 mm bądź masy wiążącej i wkładu, zazwyczaj tłoczony do osłonki o średnicy nieprzekraczającej 34 mm.
- Wyjaśnienia wymaga także zwrot „kultury szczepionkowe” użyty na stronie 13 recenzowanej rozprawy. W literaturze naukowej stosuje się wiele różnych zwrotów określających kultury mikroorganizmów służące do zapoczątkowania fermentacji żywności. Są „kultury starterowe” lub „kultury startowe”, „startery”, „szczepionki” czy „zakwasy”. Ale zlepek „kultury szczepionkowe” do tej pory nie istniał.
- Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek niefortunnie używa także terminu „probiotyki” w odniesieniu do całych nazw gatunkowych wybranych bakterii mlekowych, bifidobakterii czy drożdży (np. str. 19, 21, 23, 24, 25, 26), a wiadomo, że termin ten jest stosowany wyłącznie w odniesieniu do pojedynczych szczepów wykazujących cech probiotyczne. Jednocześnie nasuwa się Recenzentowi pytanie, dlaczego Autorka nie umieściła w pracy krótkiego omówienia aktualnej prawnej sytuacji probiotyków w Unii Europejskiej, ich stosowania i etykietowania na opakowaniach żywności? Takie informacje cennie uzupełniłyby podrozdział „Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych”.
- W podrozdziale „Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych” Autora pisze, że najczęściej stosowanymi prebiotykami są oligofruktoza i inulina. Dlaczego Autorka przemilczała temat galaktooligosacharydów (GOS), które są najpowszechniej wytwarzanymi prebiotykami na świecie?

- Na stronie 25 Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek stwierdza, że ksantyna jest hydrokoloidem. Podejrzewam, że chodziło o ksantan. Ksantyna jest natomiast zasadą purynową, nierozpuszczalną w wodzie i alkoholu.
- Na stronie 26 Autorka pisze o prebiotycznych składnikach serwatki, natomiast w podrozdziale „Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych” nic o tych substancjach nie ma. Warto byłoby uzupełnić przegląd piśmiennictwa i dokładniejsze informacje.

Kolejnym rozdziałem pracy jest „**Cel pracy**”. Zajmuje on jedną stronę. Celem pracy było zaprojektowanie tradycyjnych i probiotycznych napojów fermentowanych otrzymanych na bazie serwatki kwasowej, a także zbadanie ich podstawowych cech jakościowych. Cel został jasno sformułowany. Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek założyła w tym zakresie dwie hipotezy badawcze, oraz trzy cele szczegółowe. Recenzent nie wnosi zastrzeżeń do tej części pracy.

Rozdział „**Materiał i metody badań**” stanowi w pracy 18 stron. Rozdział podzielono na następujące podrozdziały: „Materiał” i „Metody badań”, czyli układ typowy dla rozpraw naukowych doświadczalnych. Zastanawiające jest, dlaczego otrzymane napoje serwatkowe, Autorka potraktowała jako materiał do pracy? Zazwyczaj, pod pojęciem „materiał” rozumie się surowce lub odczynniki użyte do przeprowadzenia doświadczeń opisanych w pracy naukowej. Zgodnie z przyjętym celem pracy, napoje te były produktem doświadczeń i były materiałem badawczym, ale nie stanowiły *stricte* materiału użytego do pracy. Drugi podrozdział, „Metody badań”, jest opisem metodyk użytych do zbadania wybranych cech fizyko-chemicznych, mikrobiologicznych, organoleptycznych i badań konsumenckich serwatki lub otrzymanych napojów. Szkoda, że w ramach tego zakresu analiz, Autorka nie pokusiła się o zbadanie obecnych w serwatce prebiotyków, ani o zbadanie wpływu kultur startowych bakterii mlekowych lub bifidobakterii na proces rozkładu  $\beta$ -laktoglobuliny, o czym była mowa w „Przeglądzie piśmiennictwa”.

Opisując materiał i zastosowane metody badań, Autorka nie uniknęła drobnych błędów (literówki, interpunkcja) i niedomówień (np. niekompletne parametry pasteryzacji lub dawkowania dodatków podane na str. 33). Z czego najważniejszymi wymagającymi uściślenia są:

- Na stronie 30 Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek pisze, że skrzep jest przepompowywany do wirówki, w której następuje jego dogrzewanie. Czy wirówki rzeczywiście służą w mleczarstwie do dogrzewania skrzepu? I czy na tym etapie przerobu można mówić o skrzepie, czy raczej o gęstwie serowej?
- Czym kierowano się dobierając parametry pasteryzacji serwatki (str. 32)? Czy tak długi czas pasteryzacji serwatki (5-10 minut) jest praktykowany w zakładach mleczarskich?
- W jakim celu z kultury DVS otrzymywano zakwas roboczy? Czy prowadzenie zakwasu nie zmieniało proporcji pałeczek do paciorkowców w użytej kulturze jogurtowej Yo-Mix? Czy sprawdzano czystość zakwasu przez jego użyciem do produkcji napojów?

- \* Czy jest sprawdzoną informacją, że pasteryzacja mleka w wysokiej temperaturze odbywa się w 80°C (str. 33)? O ile wiadomo Recenzentowi, mleko pasteryzowane w wysokiej temperaturze jest to mleko poddane obróbce termicznej w temperaturze co najmniej 85°C.

Rozdział „**Wyniki**” stanowi w pracy 62 strony. Bardzo wysoko oceniam tę część pracy, bowiem świadczy o ogromie pracy własnej włożonej w wykonanie badań i ich interpretację. Ta część rozprawy doktorskiej została podzielona na dwa podrozdziały, dotyczące odpowiednio pierwszego i drugiego etapu badań.

Pierwszy etap badań dotyczył optymalizacji składu recepturowego serwatkowych napojów fermentowanych (tradycyjnych i probiotycznych) oraz wybranych parametrów ich otrzymywania w warunkach laboratoryjnych. Selekcji napojów dokonywano w oparciu o przyjęte cechy jakościowe. Przed przystąpieniem do doświadczeń, Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek dokonała charakterystyki wybranych rodzajów serwatek: z twarogu półtłustego, z serka śmietankowego, z serka wiejskiego, mieszaniny serwatek kwasowych oraz mieszaniny poddanej procesowi NF. Wykonane doświadczenia są jasno opisane, zaś ich wyniki omówione. Przy lekturze tej części rozprawy doktorskiej nasuwa się kilka pytań, na które nie znaleziono odpowiedzi w pracy:

- Jak wyjaśnić fakt, że w przypadku napojów serwatkowych z dodatkiem WPC (tabela 12 na str. 54) przy zwiększaniu dodatku WPC zwiększa się zarówno wartość kwasowości miareczkowej, jak i wartość pH? W przypadku innych kombinacji recepturowych takich korelacji nie odnotowano.
- Czym uzasadnić różnice we wpływie parametrów pasteryzacji na poziom mikroflory ogółem (tabela 17 i tekst na str. 61-62). Dlaczego pasteryzacja w temperaturze 72°C/10 min spowodowała skuteczniejszą inaktywację mikroorganizmów niż pasteryzacja w temperaturze 80°C/5 min? Jakże to ma przeniesienie na warunki przemysłowe pasteryzacji serwatki lub mleka spożywczego?

Dzięki wykonanym doświadczeniom i analizom otrzymanych napojów, Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek dowiodła, że korzystnymi dodatkami do serwatkowych napojów fermentowanych są odtłuszczone mleko w proszku, mleko płynne lub mleko zagęszczone, a także prebiotyki. Dodatki te, w odpowiednich dawkach, wpływały korzystnie na badane cechy organoleptyczne napojów oraz brak ich rozwarstwienia, przy założeniu, że napoje były otrzymywane z serwatki pasteryzowanej w temperaturze 72°C/10 min. W tej części pracy Autorka nie ustrzegła się od drobnych błędów:

- W tabelach 5, 7 (str. 47 i 49) oraz dalszych przedstawiono wyniki kwasowości miareczkowej. Dlaczego wyniki te są podawane z różną dokładnością?
- Jak tłumaczyć różną dokładność prezentacji wyników liczby komórek bakterii obecnych w serwatce (tabela 17, str. 61)? Według standardów, liczbę komórek mikroorganizmów trzeba wyrazić jako liczbę od 1,0 do 9,9 pomnożoną przez 10<sup>x</sup>, gdzie x oznacza odpowiedni wykładnik potęgi.

Drugi etap badań były to próby przechowalnicze 5 wariantów serwatkowych napojów fermentowanych kulturami tradycyjnymi lub probiotycznymi. W przypadku napojów tradycyjnych z serwatki z twarogu fermentację prowadzono przez 3,5 godzin otrzymując napoje o różnej początkowej kwasowości, co było efektem różnic w składzie recepturowym. Nasuwa się pytanie, czy takie napoje można porównywać pod kątem cech smakowo-zapachowych, poziomu aldehydu octowego, oceny synerazy i twardości, skoro już sam poziom ukwaszenia może wpływać na otrzymane wyniki. Czy nie lepiej byłoby poprowadzić fermentację tych napojów do tej samej wartości pH? Taka sama uwaga dotyczy dalszych otrzymywanych napojów: tradycyjnego na bazie serwatki z serka śmietankowego, tradycyjnego z dodatkiem kremogenu truskawkowego, jogurtowo-probiotycznego i probiotycznego.

Rozdział **„Dyskusja”** zajmuje w rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek 18 stron. Autorka dokonała rzetelnej dyskusji wyników, prowadząc ją poprzez otrzymane wyniki i nie gubiąc się przy tym we własnym toku myślenia. Tekst jest ładnie napisany i miło go się czyta, pomimo kilku literówek (np. na str. 115, 120, 125, 128). W tekst „Dyskusji” wpleciono bardzo ładnie uzasadnienie podjętych badań, szkoda, że te zdania nie zostały uwypuklone we Wstępie do rozprawy doktorskiej oraz Przeglądzie piśmiennictwa.

Autorka słusznie zauważa, że w warunkach przemysłowych skład chemiczny i mikrobiologiczny serwatki kwasowej jest bardzo zmienny, co jest skutkiem m.in. rotacji starterów. Szkoda, że tego zjawiska zmienności nie uwzględniono w części doświadczalnej pracy, próbując opracować jedną lub dwie uniwersalne receptury dla jednego typu serwatki, które uwzględniałyby zmienność jej składu, zamiast rozpatrywać kilka rodzajów serwatek i realizować doświadczenia w niewielkiej liczbie powtórzeń.

Na stronie 124 Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek pisze, że ważnym czynnikiem wpływającym na przeżywalność komórek bakterii probiotycznych jest kwasowość czynna. Generalnie, zwiększenie stężenia kwasów organicznych zmniejsza żywotność komórek bakteryjnych. Jak to spostrzeżenie odnieść do myśli zapisanej na stronie 126, gdzie za Kailasapathy i in (2008) Autorka pracy podaje, że wprowadzenie różnych owoców nie wpływa na żywotność bakterii probiotycznych? Przecież wsady owocowe mają pH znacznie niższe niż naturalny mleczny napój fermentowany. Dodatek wsadu owocowego zwiększa kwasowość napoju.

Przystawione w recenzji moje uwagi traktuję jako dyskusję naukową i nie mające znaczenia dla oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Rozdział **„Wnioski”** zajmuje w rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek niepełne 2 strony. Autorka sformułowała 9 wniosków i stwierdzeń, które odpowiadają na założony cel pracy i postawione hipotezy badawcze. Są też zgodne z tytułem pracy. Zdaniem Recenzenta, niektóre z przedstawionych punktów są stwierdzeniami lub podsumowaniem wyników z pracy, niż wnioskami. W przyszłości, np. przy przygotowywaniu publikacji, Pani mgr inż. Katarzyna Skryplonek powinna uwzględnić to, że wnioski są uogólnieniami sformułowanymi na podstawie uzyskanych wyników badawczych.

Rozdział „Piśmiennictwo” obejmuje 204 pozycje literaturowe. Wśród wykazanych źródeł literaturowych aż 121 pozycji ukazało się w ciągu ostatnich 10 lat, co stanowi ponad 59% źródeł literaturowych. Większość cytowanych pozycji jest obcojęzycznych (anglojęzycznych), są w tym zarówno pozycje oryginalne, jak i przeglądowe i podręcznikowe. Recenzent nie wnosi zastrzeżeń do tej części pracy.

„Załącznik” pracy składa się z 10 stron, na których zestawiono tabele z wynikami analizy statystycznej. Recenzent nie wnosi zastrzeżeń do tej części pracy.

#### **Wniosek końcowy**

Stwierdzam, że rozprawa Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek pt. „Tradycyjne i probiotyczne napoje fermentowane na bazie serwatki kwasowej” spełnia wymagania stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (z póź.zm.), gdyż jest samodzielnym i wartościowym dorobkiem naukowym Doktorantki, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Autorki w zadanej dziedzinie. Wnosi poza tym dużo elementów poznawczych i praktycznych dla branży mleczarskiej.

Recenzowana rozprawa doktorska potwierdza też umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Panią mgr inż. Katarzynę Skryplonek, która wykazała się dużym zasobem wiedzy z zakresu technologii i mikrobiologii żywności, a także inwencją badawczą podczas planowania i realizacji doświadczeń, w stopniu gwarantującym samodzielne prowadzenie badań naukowych na wysokim poziomie. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Skryplonek i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

*Grzegorz Ziarno*

30.07.2016r.