

Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokolińska  
Katedra Jakości Produktów Mleczarskich  
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Poznań 60-624, ul. Wojska Polskiego 31

Poznań, dn. 10.04.2020 r.

### **OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**Pani mgr inż. Katarzyny Turek pt. „Wpływ dodatku olejów roślinnych na powstawanie bioaktywnych kwasów tłuszczowych w mleku fermentowanym” wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Moniki Wszolek, prof. UR w Katedrze Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

#### **PODSTAWA PRAWNA OPRACOWANIA RECENZJI**

Recenzja została wykonana na podstawie decyzji Rady Dyscypliny Technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie oraz pisma Koordynatora dyscypliny dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. UR z dnia 05.03.2020 (DTŻ 520-6-63/2020).

#### **Ocena pracy pod względem edytorskim i formalnym**

Przedstawiona do oceny praca jest w formie maszynopisu liczącego 223 strony. Układ pracy jest klasyczny i typowy dla rozpraw naukowych. Praca podzielona jest na 12 zasadniczych rozdziałów, a jej całość wieńczy aneks z dodatkowymi wynikami doświadczenia w postaci 23 tabel. Rozdziały rozprawy ułożone są prawidłowo i opatrzone zostały zwięzłymi i jednocześnie rzeczowymi tytułami. Przegląd literatury, który zawarty jest na 38 stronach, stanowiącymi 17% manuskryptu, umiejętnie naprowadza czytelnika na poruszoną w dalszej części dysertacji problematykę wpływu mikroorganizmów charakterystycznych i dodatkowych mleka fermentowanego wytworzonego z dodatkiem olejów roślinnych na pozostałe kwasy tłuszczowe, w tym szczególnie sprzężonego kwasu linolowego (CLA). Kolejnymi rozdziałami pracy są: opis materiału i zastosowanych metod

badawczych, a także wyniki eksperymentu. Objętościowo każdy z rozdziałów jest bardzo wyważony. Rezultat eksperymentu został zrekapitulowany 13 wnioskami.

Praca nie zawiera błędów stylistycznych i gramatycznych. Język, którym napisano pracę jest zwięzły. Zdania zbudowane są poprawnie. Tytuły i podpisy tabel są właściwe. Przyjęte kody w sposobie oznakowania próbek wskazują na zmienne, co bardzo porządkuje wyniki i ułatwia ich interpretację. Tabele, których w pracy jest łącznie aż 99 są bardzo czytelne. Każda z graficznych form prezentacji wyników jest przejrzysta i zawiera wyłącznie niezbędne informacje. Piśmiennictwo obejmuje 232 pozycje literaturowe. Dobór i wykorzystanie przez Doktorantkę tych artykułów świadczy o Jej wnikliwości naukowej i analitycznym podejściu podczas przygotowywania i realizacji eksperymentu. Jest to literatura ostatnich lat autorstwa pracowników wiodących ośrodków naukowych. Rozprawa pod względem edytorskim i formalnym jest bardzo dobra.

Stwierdzam, że praca została przygotowana w sposób umożliwiający pełną ocenę według wymogów stawianym eksperymentalnym pracom przyrodniczym oraz zapoznanie się z istotą osiągnięcia naukowego.

#### **Ocena merytoryczna pracy**

Mleko fermentowane było i jest postrzegane jako produkt o bardzo wysokim potencjale prozdrowotnym. Ukierunkowanie produkcji mleka fermentowanego przez zakłady mleczarskie jest odpowiedzią na oczekiwania konsumentów preferujących zdrowy styl życia. U podstaw tych działań plasują się badania naukowców nad zwiększaniem właściwości funkcjonalnych mleka fermentowanego poprzez suplementowanie lub fortyfikowanie składu mleka przerobowego bądź odpowiednie prowadzenie procesów fermentacyjnych. Większość z tych badań w ostatnich latach poświęcona była bioaktywnym peptydom, produktom biokonwersji laktozy i dodatkom roślinnym o wysokim potencjale antyoksydacyjnym. Nieliczne badania dotyczyły wzbogacania mleka fermentowanego olejami roślinnymi, a zwłaszcza zimnotłoczonymi olejami z orzechów włoskich i lnicznika siewnego (*Camelina sativa* L.), które charakteryzują się wysoką zawartością kwasu linolowego i wykazują korzystny żywieniowo stosunek kwasów omega-6 do omega-3. Surowce te zostały bardzo dobrze opisane przez Doktorantkę w podrozdziale 2.4. zwłaszcza pod kątem wartości odżywczej, znaczenia terapeutycznego oraz wykorzystania w produkcji mleka fermentowanego. Stwierdzam, że opis właściwości oleju z lnicznika siewnego i orzechów włoskich jednoznacznie naświetla podejmowaną przez Autorkę problematykę ich dalszego wykorzystania w technologii przetwórstwa mleka. Doktorantka wskazała na celowość podjęcia badań nad projektowaniem

i oceną jakości mleka fermentowanego na przykładzie kefiru, w tym i probiotycznego, jogurtu, w tym i probiotycznego oraz probiotycznego mleka ukwaszonego. Doktorantka poświęciła jednocześnie wiele uwagi składowi i właściwościom tłuszczu mlecznego. Uwagę czytelnika nakierowała na obecność w nim naturalnych kwasów tłuszczowych o izomerii *trans* takich jak kwas wakcenyowy i sprzężony kwas linolowy (CLA) o istotnym znaczeniu żywieniowym. Jednakże działanie CLA zależy od dawki i czasu stosowania. Doktorantka na podstawie literatury napisała charakterystykę wybranych właściwości mleka fermentowanego, co daje podwaliny do lepszej analizy otrzymanych wyników eksperymentu. Wiele miejsca poświęciła zastosowaniu bakterii probiotycznych w produkcji mleka fermentowanego. Stąd, oparcie eksperymentu m.in. na analizie zdolności mikroorganizmów mleka fermentowanego do syntezy sprzężonych dienów kwasów tłuszczowych z kwasu linolowego wprowadzonych olejów roślinnych wydaje się być wysoce interesujące z naukowego punktu widzenia. Dodatkowo wykorzystanie enzymów lipolitycznych umożliwiające uwolnienie kwasów tłuszczowych, będących substratem dla działalności mikroorganizmów mleka fermentowanego może okazać się skutecznym sposobem zwiększania zawartości CLA. Wobec tego zasadne jest opisanie w podrozdziale 2.6 lipaz, ich specyficzności substratowej w stosunku do kwasów karboksylowych, pozycji grup acylowych, rodzaju lipidu oraz przykładów w tworzeniu nowych funkcjonalnych składników żywności. Badania muszą być jednak tak prowadzone, by finalny produkt o właściwościach prozdrowotnych był nie tylko opisany w aspekcie cech fizycznych czy mikrobiologicznych, ale także musi być atrakcyjny sensorycznie. I właśnie w tej tematyce idealnie mieści się praca doktorska mgr inż. Katarzyny Turek. Celem opisanego eksperymentu naukowego było określenie wpływu rodzaju kultury startowej, dodatku oleju roślinnego i czasu chłodniczego przechowywania na zawartość kwasów tłuszczowych, w tym CLA i właściwości mleka fermentowanego. Doktorantka sformułowała hipotezy badawczy, które w głównej mierze zakładały, że mikroorganizmy wyprodukowanych rodzajów mleka fermentowanego są zdolne do syntezy sprzężonych dienów kwasów tłuszczowych z kwasu linolowego zawartego w oleju roślinnym oraz, że zhydrolizowany olej roślinny może stanowić surowiec do produkcji akceptowanych przez konsumentów rodzajów mleka fermentowanego.

Zakres tematyczny badań w ramach ocenianej rozprawy doktorskiej jest więc jak najbardziej aktualny i ważny. Omawiany problem jest wciąż niewystarczająco zbadany i naukowa eksploracja wszystkich wątków z nim związanych jest w moim odczuciu głęboko uzasadniona. Stwierdzam, że tytuł pracy koresponduje z treścią pracy i w pełni oddaje meritum eksperymentu.

Eksperyment przeprowadzono w trzech etapach. W pierwszym nazwanym przez Autorkę badaniami wstępnymi wyprodukowano kefir z zakwasem kefirowym, z dodatkiem oleju z orzechów włoskich i oleju z lnicznika siewnego w ilości 0,03% i 2%. W drugim etapie badań analizowano jogurt wyprodukowany ze szczepionki Yo-Flex i kefir wyprodukowany z zakwasem kefirowym oraz kulturą do bezpośredniego inokulowania mleka, obydwa z dodatkiem kultur probiotycznych oraz zimnotłoczonego oleju z orzechów włoskich w ilości 0,03%. Ostatnim etapem badań było wyprodukowanie mleka ukwaszonego oraz jogurtu z dodatkiem czystych kultur bakterii probiotycznych oraz oleju z orzechów włoskich poddanego hydrolizie za pomocą dwóch rodzajów lipaz. Wykorzystano lipazę pochodzenia mikrobiologicznego z *Candida rugosa* oraz lipazę pochodzenia zwierzęcego z trzustki wieprzowej w ilościach wynoszących 0,01 g lipazy na 1 cm<sup>3</sup> oleju roślinnego. Określenie optymalnej ilości dodatku lipazy poprzedziły analizy stopnia hydrolizy oleju aż w pięciu wariantach. Podobnie Doktorantka postąpiła przy doborze dawki oleju linolowego do mleka przerobowego wybierając zakres od 200 do 1000 µg. Wyodrębnienie tej części eksperymentu i opisanie jej w podrozdziale 3.2. w opinii Recenzenta można uznać za wysoce trafne. Świadczy to o dojrzałości Doktorantki do poprawnego planowania badań.

Metody wytwarzania modelowego mleka fermentowanego oraz metody wprowadzania i hydrolizy olejów roślinnych zostały prawidłowo opisane przez Autorkę.

Recenzent za bardzo wartościowy fragment pracy uważa zwłaszcza zapis metod analitycznych. Z merytorycznego punktu widzenia dobór metod analitycznych jest bardzo prawidłowy. O bardzo dobrym opanowaniu warsztatu badawczego świadczy chociażby swobodna polemika Doktorantki na temat dodatku trójfluorku boru jako substancji różnicującej estry wolnego i związanego CLA i aminopropylowych kolumnienek do separacji wolnych kwasów tłuszczowych. Uogólniając Doktorantka wykorzystwała w swoich badaniach zróżnicowane metody i techniki analityczne, takie jak chromatografię gazową, pomiary parametrów tekstury, a także metody oznaczeń mikrobiologicznych i jakości sensorycznej. Zastosowane metody analizy statystycznej zostały przeprowadzone z dużą starannością. Ich opis w rozdziale 4.8. jest wystarczający. Wykorzystanie programu statystycznego Statistica 13.3 zapewnia wiarygodność obliczeń. Autorka do weryfikacji hipotez zastosowała poziom wnioskowania  $\alpha=0,05$  typowy dla nauk przyrodniczych. Jest to poprawna praktyka naukowa.

Najbardziej obszerny rozdział, na który składają się trzy podrozdziały to opis wyników i ich dyskusja. Wyniki są bardzo szczegółowo opisane w tekście i nie stwierdza się ich powtarzania z danymi tabelarycznymi i prezentowanymi na wykresach. Wszystkie aspekty jakości mleka fermentowanego zostały przez Doktorantkę prawidłowo przedyskutowane.

Konfrontacja własnych wyników z rezultatami otrzymywanymi przez innych naukowców wnosi cenne spostrzeżenia i pozwala na głębsze przemyślenia. Na uwagę zasługują przede wszystkim fragmenty opisujące zdolności wykorzystanych mikroorganizmów do syntezy CLA oraz pozostałych kwasów tłuszczowych frakcji lipidowej mleka fermentowanego. Doktorantka wykazała, że dodatek 0,1% oleju zhydrolizowanego lipazą z *Candida rugosa* do jogurtu probiotycznego skutkowało większą zawartością wolnego kwasu linolowego, co wpłynęło na zwiększenie ilości powstałego CLA. Wykazano także, iż sama mikroflora ziaren kefirowych, drobnoustroje startowej kultury kefirowej oraz dodatek dwóch szczepów bakterii probiotycznych nie powodowały zwiększenia zawartości CLA w kefirach z dodatkiem oleju. Poziom CLA w modelowych rodzajach mleka fermentowanego wykazany przez Doktorantkę w korelacji z akceptacją konsumentką może mieć kluczowe znaczenie przy wprowadzaniu tego typu innowacyjnych produktów na rynek.

Doktorantka wykazała i tym samym potwierdziła hipotezę, że olej z orzechów włoskich odznacza się lepszą akceptowalnością i przydatnością do produkcji kefiru, niż olej z Inicznika siewnego. Wykazała, że dodatek oleju z orzechów włoskich do kefirów wpływa pozytywnie na rozwój drożdży, a przy 2% dodatku sprzyja zwiększaniu liczby drożdży podczas 14 dni przechowywania, czego nie odnotowano dodając olej z Inicznika siewnego. Dodatkowo wprowadzenie bakterii probiotycznych do kefiru wytworzonego na bazie tej samej ilości zakwasu nie przyczyniło się do utrzymania drożdży na tym samym poziomie podczas przechowywania. W mojej opinii jest to jedno z cenniejszych spostrzeżeń w pracy, gdyż wyznacza kierunek projektowania jakości i warunków przechowywania kefirów z olejem z orzechów włoskich. Ogrom wyników zebranych przez Doktorantkę i ich analiza statystyczna pozwala na rekapitulowanie eksperymentu wieloma cennymi z naukowego punktu widzenia spostrzeżeniami. Najważniejsze z nich ujęto we wnioskach. W całym rozdziale 6 zatytułowanym Wyniki i dyskusja - Doktorantka umiejętnie prowadzi czytelnika odwołując się do danych literaturowych i wyników badań własnych opisanych w poprzednich podrozdziałach. Tak też uczyniła opisując parametry tekstury otrzymanych jogurtów probiotycznych. Szczególnie zainteresowała mnie spoistość zmierzona po wytworzeniu próbek i po zakończeniu ich chłodniczego przechowywania. Na podstawie danych zapisanych w tabeli nr 37 spoistość jogurtu probiotycznego z 0,03% dodatkiem oleju z orzechów włoskich zwiększyła się istotnie, co związane było z kurczeniem się skrzepu i enzymatycznymi przemianami matrycy białkowej. Nie wykazano zmian spoistości jogurtu w przypadku wprowadzenia oleju po hydrolizie (tabela nr 63). W tym miejscu proszę Doktorantkę o pewne uporządkowanie wiedzy i odpowiedź na moje zapytanie: czy spoistość ma związek z synerezą?

Opisując efekty zdrowotne bakterii probiotycznych Doktorantka nawiązała do ogólnych korzyści zdrowotnych wynikających ze spożywania mleka fermentowanego. Zasygnalizowała m.in. ich korzystną rolę w diecie osób z nietolerancją laktozy. Ciekawa jestem także zdania Doktorantki na temat skali problemu nietolerancji laktozy w społeczeństwie.

Z naukowego punktu widzenia na wyróżnienie zasługują opisy wyników dotyczące kwasowości potencjalnej i pH kefirów wyprodukowanych z zakwasem kefirowym i dodatkiem oleju z orzechów włoskich i lnicznika siewnego, w tym i podczas przechowywania. Często w literaturze tematu takie analizy są uważane za drugoplanowe i tym samym pomijane. W przypadku badań zaprezentowanych przez Doktorantkę pomiary pH i oznaczanie kwasowości miareczkowej okazały się parametrami wręcz niezbędnymi, gdyż znacząco podnoszą walory naukowe i aplikacyjne dysertacji. Doktorantka wykazała bowiem, brak wpływu dodatku oleju roślinnego na pH i kwasowość miareczkową analizowanych kefirów, co świadczy o tym, iż obydwa rodzaje oleju roślinnego mogłyby stanowić dodatek do produkcji nowego rodzaju mleka fermentowanego o niezmiennej w czasie charakterystyce podstawowych wyróżników jakości.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka sformułowała bardzo zwięzłe i rzeczowe wnioski, które w pełni odzwierciedlają rezultaty badań. Są one kompatybilne z hipotezą badań. Podkreślają one istotny wkład Doktorantki w rozwój nauk o żywności i żywieniu. Wskazują jednocześnie na możliwość rozszerzenia gamy innowacyjnych produktów mleczarskich o jogurty probiotyczne o wysokiej wartości prozdrowotnej wynikającej ze zwiększonej zawartości kwasu oleinowego, wakcenenowego i CLA.

Opisany przez Doktorantkę eksperyment i uzyskane w nim wyniki stanowią bez wątpienia *novum* naukowe. Całość wykonanych badań oceniam bardzo wysoko zarówno z poznawczego, jak i użytecznego punktu widzenia.

### **Wniosek końcowy**

Moja opinia dotycząca pracy jest wysoce pozytywna. Przedłożona do oceny dysertacja stanowi osiągnięcie naukowe o znaczącym ładunku poznawczym i z perspektywą możliwych zastosowań praktycznych. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. „Wpływ dodatku olejów roślinnych na powstawanie bioaktywnych kwasów tłuszczowych w mleku fermentowanym” autorstwa mgr inż. Katarzyny Turek, w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim zawartym w ustawie. Dysertacja spełnia wymóg oryginalnego rozwiązania problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w danej dyscyplinie naukowej.

Wnioskuje do Rady Dyscypliny Technologii żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Turek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Turek. W mojej opinii przedłożona do recenzji dysertacja jest niewątpliwie opracowaniem niezwykle wartościowym. Pani mgr inż. Katarzyna Turek uzyskała szereg wiarygodnych i oryginalnych wyników tylko dzięki bardzo dobrze ugruntowanej wiedzy, organizacji warsztatu badawczego, koncepcjom badawczym i jasno określonym celom. Wszystkie zaplanowane cele zostały osiągnięte, a postawione hipotezy zweryfikowane. Wysoki poziom dyskusji, zmysł analityczny i bardzo dobrze opanowany warsztat pisarski uczynił z tej dysertacji prawdziwe kompendium wiedzy o mleku fermentowanym wzbogaconym w oleje roślinne, w tym i po hydrolizie. Otrzymane wyniki pracy mają dużą wartość poznawczą i wnoszą oryginalny wkład do rozwoju wiedzy z zakresu technologii żywności i żywienia, bardzo dobrze wpisują się w obecny nurt badań nad żywnością o walorach prozdrowotnych.

Prof. UPP dr hab. Dorota Cais-Sokołowska

profesor Uczelni