prof. dr hab. inż. Ewa Domian
Instytut Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159c
02-776 Warszawa

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA STABILNOŚĆ EMULSJI MLECZNYCH TYPU O/W

stanowiącej podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora

Kandydatce mgr inż. Adrianie Bomba w postępowaniu wszczętym 14.05.2021 r.

(Wykonana na zlecenie Rady Naukowej Dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie,
stosownie do Uchwały nr 113/2022 z dnia 3 czerwca 2022 roku)

Informacje ogólne

Autorem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej pt. „Czynniki wpływające na stabilność emulsji mlecznych typu o/w" jest mgr inż. Adriana Bomba, Doktorantka studiów doktorskich Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie na kierunku: Technologia Żywności i Żywienie Człowieka nr albumu: 1395. Praca została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Babuchowskiego w Katedrze Inżynierii, Aparatury Procesowej i Biotechnologii Żywności, Wydział Nauki o Żywności, UWM w Olsztynie.

Znaczenie badanego problemu badawczego, jego aktualność z punktu widzenia badań podstawowych w obszarze układów zdyspergowanych żywności i rozwoju technik przemysłowych w mleczarstwie w pełni uzasadniają podjęcie tematu prezentowanego w rozprawie doktorskiej. Praca doskonale wpisuje się w nurt badań realizowanych w Katedrze Inżynierii, Aparatury Procesowej i Biotechnologii Żywności, dotyczących specyfiki przebiegu wybranych operacji jednostkowych i kształtowania fizykochemicznych właściwości układów dyspersyjnych.

Ocena układu rozprawy doktorskiej

Opiniowana rozprawa obejmuje 244 strony, w tym 115 i 129 stron stanowią odpowiednio tekst pracy i załącznik. Układ rozprawy jest typowy dla prac eksperymentalnych i zawiera wszystkie elementy wymagane dla takich opracowań. Rozprawa jest napisana czytelnie i bardzo starannie przygotowana od strony wydawniczej, z podziałem na rozdziały, podrozdziały i gdzie to konieczne podpodrozdziały. Poszczególne rozdziały są ze sobą powiązane logicznie i praca stanowi spójną całość. Praca obejmuje kolejno: Spis treści, Spis rysunków, Spis tabel, Streszczenie w języku polskim, Streszczenie w języku angielskim, i następnie numerowane rozdziały zatytułowane odpowiednio: Wstęp, Zagadnienie w świetle

literatury, Cele i hipotezy pracy dysertacyjnej, Część doświadczalna z podziałem na Materiały i Metody, Wyniki i dyskusja, Wnioski, Wykaz piśmiennictwa i Załącznik.

Objętość poszczególnych rozdziałów jest odpowiednio zaplanowana. Przegląd literatury to prawie 14,5%, Materiały i Metody prawie 9%, a zasadnicza część pracy - omówienie i dyskusja wyników - stanowi ponad 57% objętości tekstu pracy. W rozprawie zamieszczono 33 rysunki i 71 tabel, w tym 27 rysunków i 33 tabele z wynikami badań i wybranych analiz statystycznych znajduje się w rozdziale Wyniki i dyskusja. Bardzo obszerny „Załącznik" (stanowiący ponad 50% całości opracowania) obejmuje 27 tabel z zestawieniem większości wyników analiz fizykochemicznych oraz pozostałych analiz statystycznych. Spis rysunków i tabel z automatycznym przekierowaniem na właściwą stronę zapewnia dogodny przegląd rozprawy jako całości dokumentu.

W podrozdziale Wstęp Autorka ogólnie przybliżyła istotność stabilności emulsji mleka jako surowca w ocenie jego przydatności technologicznej do wytwarzania różnego typu produktów mleczarskich, jak też poinformowała o zakresie przeprowadzonych badań, podkreślając, że wyniki przeprowadzonych badań mleka surowego oraz po procesach standaryzacji, homogenizacji i obróbki termicznej mogą zostać użyte do przewidywania stabilności produktów mleczarskich z nich wytwarzanych, ze szczególnym uwzględnieniem mleka pitnego UHT i ESL. Uważam, że tak napisana ta część pracy niewystarczająco spełnia swoją funkcję, to jest uzasadnienia podjęcia tego właśnie tematu oraz odniesienia się do stanu wiedzy w danej dziedzinie, po by wskazać, na jakie nasuwające się pytania brak było odpowiedzi.

Rozdział drugi pt. „Zagadnienie w świetle literatury" stanowi aktualny stan wiedzy z dziedziny, w której zaprojektowana jest praca doktorska. W poszczególnych podrozdziałach, wyodrębnionych i zatytułowanych hasłowo według merytorycznej treści, Autorka przedstawia podstawy teoretyczne oraz pojęcia i zagadnienia, których poznanie jest niezbędne dla zrozumienia zasadności podjęcia tematu badawczego i całościowej koncepcji pracy. W pierwszym podrozdziale Autorka przedstawia istotę i mechanizm oraz czynniki wpływające na procesy fizycznej destabilizacji układów emulsyjnych, takich jak agregacja, koalescencja całkowita i częściowa, dojrzewanie Ostwalda i separacja grawitacyjna. Napisanie podrozdziału przedstawiającego mleko jako emulsja typu olej w wodzie, niewątpliwie wymagało od Autorki kompleksowego spojrzenia na aktualny stan wiedzy o technologii mleka spożywczego, by w syntetyczny sposób przedstawić współzależności pomiędzy składnikami mleka wpływającymi na fizykochemiczną równowagę dyspersyjnego układu mleka, jak też omówić wybrane czynniki wpływające na stabilność emulsji mleka, takie jak sezonowość, proces standaryzacji zawartości tłuszczu i homogenizacja mleka. Interesującym opracowaniem w tej części pracy jest zestawienie i omówienie danych literaturowych dotyczących wpływu kolejności procesów homogenizacji i obróbki termicznej na parametry fizykochemiczne mleka, istotne w ocenie stopnia rozdrobnienia składników mleka i przydatności technologicznej mleka. Napisanie podrozdziału, dotyczącego technik badania rozkładu wielkości cząstek fazy rozproszonej jako metody badania stabilności fizycznej emulsji, umożliwiło Doktorantce wykazanie: zasadności wyboru statycznej dyfrakcji laserowej jako właściwej techniki w badaniu wpływu różnego typu obróbki technologicznej i/lub przechowywania na stabilność emulsji mleka; konieczności przygotowania próbki analitycznej przed pomiarem rozkładu wielkości poprzez wstępne

podgrzanie i/lub rozcieńczenie mleka w buforze, takim jak EDTA i SDS, rozbijającym agregaty tłuszczowe i/lub dysocjującym micele kazeinowe.

Oceniając tę część pracy uważam, że została napisana interesująco. Opracowane w przeglądzie literatury zagadnienia układają się w logicznie usystematyzowane opracowanie monograficzne dobrze dokumentujące stan wiedzy w aspektach badań podejmowanych przez Doktorantkę. Szkoda, że Autorka nie podjęła się napisania podsumowania Rozdziału drugiego, który mógłby być spójnym i klarownym uzasadnieniem zakresu badań podejmowanych przez Doktorantkę.

Ocena zastosowanego piśmiennictwa w ramach rozprawy doktorskiej

W pracy cytowanych jest 164 pozycji piśmiennictwa, głównie prac oryginalnych (130 pozycji) publikowanych w renomowanych czasopismach. Cytowane publikacje pochodzą głównie z wiodących recenzowanych czasopism, poświęconym badaniom w dziedzinie mleczarstwa na świecie, takich jak Journal of Dairy Science (27 pozycji), Journal of Dairy Research (12 pozycji), International Dairy Journal (10 pozycji), Milchwissenschaft (4 pozycje), Netherlands Milk and Dairy Journal (4 pozycje), Le lait (4 pozycje), Australian Journal of Dairy Technology (2 pozycje), Mljekarstvo/Dairy (2 pozycje). Pozostałe cytowane publikacje pochodzą z czasopism powiązanych z różnymi dziedzinami nauk o żywności i żywieniu (Journal of Food Science, European Journal of Lipid Science and Technology, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Food Research International, Comprehensive reviews in food Science and Food Safety Foods, Innovative Food Science & Emerging Technologies, Journal of Food Processing and Preservation, Journal of Food Quality, Lipids in Health and Disease, LWT, Molecules, Food & Nutrition Research, Food Chemistry), jak też z dziedziny nauki zajmującej się koloidami i układami heterogenicznymi zdyspergowanymi (Food Hydrocolloids, Colloids and Surfaces, Journal of Colloid and Interface Science, Current Opinion in Colloid & Interface Science). Taki dobór wysokiej jakości i wpływowych czasopism cytowanych publikacji stanowi właściwe forum do dyskusji wyników recenzowanej dysertacji.

Pozostałe pozycje zastosowanego piśmiennictwa w ramach rozprawy doktorskiej stanowią pozycje powiązane z podstawami teoretycznymi badań, jak też niezbędne w metodyce badań i/lub interpretacji wyników, takie jak: podręczniki (monografie) z zakresu nauki i technologii mleczarstwa, fizykochemii żywności, struktury żywności i układów emulsyjnych żywności wydanych przez różne naukowe wydawnictwa jak Elsevier, Marcel Dekker, CRC Press, Blackie Academic & Professional, Springer (15 pozycji); normy, instrukcje i raporty badawcze, źródła internetowe (e-booki) (11 pozycji); monografie rozpraw doktorskich/dyplomowych zagranicznych uniwersytetów (6 pozycji); materiały z przedmiotu realizowanego na UWM w Olsztynie (1 pozycja). Jednak, według opinii recenzenta, prace nie będące publikacjami, jak monografie prac dyplomowych i materiały z przedmiotu, nie powinny być cytowane jako źródło informacji naukowej w tekście pracy naukowej jaką jest rozprawa doktorska.

Pozycje zastosowanego piśmiennictwa w ramach rozprawy doktorskiej pochodzą z lat 1983-2021. W tym 13% (22) pozycji piśmiennictwa pochodzi z okresu ostatnich 5-ciu lat, 31% (51) pozycji z okresu ostatnich 10-ciu lat oraz 54% (88) pozycji z okresu ostatnich 20-ciu lat.

Świadczy to o stałym zainteresowaniu podejmowanymi zagadnieniami w świecie, jak i o aktualności cytowanej literatury i o bieżącym śledzeniu omawianych zagadnień przez Autorkę.

Listę wszystkich pozycji zastosowanego piśmiennictwa w ramach rozprawy doktorskiej (bez podziału na rodzaje cytowanych źródeł) przygotowano alfabetycznie. Niestety utworzono listę punktowaną korzystając z punktora w postaci dużej kropki. Zastosowanie tu listy numerowanej, moim zdaniem, byłoby bardziej adekwatne.

O ile pozytywnie oceniam dobór i wykorzystanie źródeł w aspekcie wiarygodności, trafności i zupełności, to mam wiele uwag odnośnie przygotowania spisu piśmiennictwa, bowiem spis zawiera znaczącą liczbę odstępstw od jednolitości, jak też od kompletności danych.

Wskazanie oraz ocena celu pracy kandydata

W rozdziale trzecim Autorka uzasadnia, że koncentracja produkcji i przetwarzania mleka wymagają zwiększenia stabilności oraz standaryzacji cech fizykochemicznych mleka płynnego. W związku z powyższym Autorka wskazała cztery cele prowadzonych badań. Pierwsze dwa można uznać jako bezpośrednie i podstawowe cele pracy. Obejmują one ocenę wpływu wybranych parametrów obróbki technologicznej w warunkach przemysłowych na zmianę składu i stabilności mleka w czasie przechowywania oraz zbadanie różnicy składu i stopnia dyspersji kuleczek tłuszczowych mleka surowego w zależności od sezonu. Kolejne dwa cele niejako wynikają w realizacji poprzednich i dotyczą oceny przydatności wybranych metodyk do śledzenia zmian stabilności emulsji oraz zbadanie mechanizmu destabilizacji emulsji mleka z wykorzystaniem tych technik. Autorka założyła, że realizacja celów pracy umożliwi sprawdzenie czterech postawionych hipotez badawczych.

Problematyka rozprawy dotyczy stabilności mleka jako zdyspergowanego układu emulsyjnego. Jest to problematyka aktualna w obszarze technologii mleczarstwa, mająca ścisły związek bezpośrednio z praktyką wobec ciągłego rozwoju innowacyjnych rozwiązań w zarówno w produkcji mleka surowego, jak i w produkcji mleka spożywczego w zakładach mleczarskich w Polsce. Jest to problematyka również aktualna odnośnie rozwoju nauk podstawowych dyscypliny technologia żywności i żywienia, takich jak nauka o zdyspergowanych układach wielofazowych żywności i nauka o koloidach. Mleko bowiem jest mieszaniną wieloskładnikową i jednocześnie wielodyspersyjnym układem trzech głównych faz: emulsyjnej (tłuszczowej), zawiesiny koloidalnej (białkowej) i molekularnej, w której laktoza i prawie wszystkie sole mineralne tworzą właściwy roztwór w wodzie, pozostając w stanie molekularnego, a pewnym stopniu i jonowego rozproszenia. Tłuszcz mleka tworzy emulsję; w układzie tym fazę ciągłą tworzy plazma mleka, a fazę rozproszoną – nierównej wielkości kuleczki tłuszczowe. Układ emulsyjny mleka jest przedmiotem zainteresowania Autorki ocenianej pracy w aspekcie wpływu zabiegów technologicznych utrwalania/wytwarzania (normalizacji tłuszczu, pasteryzacji/sterylizacji i homogenizacji) w warunkach przemysłowych, pory roku i chłodniczego przechowywania na zmiany składu mleka w powiązaniu ze stanem dyspersji tłuszczu mleka. Stan dyspersji tłuszczu mleka ma duże znaczenie, gdyż w mleku surowym i technologicznym wpływa na procesy technologiczne w mleczarstwie, a w mleku spożywczym decyduje o jakości produktu końcowego. Ponadto, co należy wysoko ocenić, w ambitnie zamierzonym projekcie, Doktorantka postawiła sobie za cel

wyjaśnienie mechanizmu zjawisk destabilizacji emulsji mleka w czasie długoterminowego chłodniczego przechowywania. Oryginalność podejścia Doktorantki wiąże się z badaniem prób mleka pobieranych na różnych etapach przemysłowej produkcji mleka pitnego ESL i UHT, i następnie dodatkowo konserwowanych chemicznie, co sprawia, że ocena destabilizacji emulsji mleka dotyczy głównie fizycznych zjawisk, ograniczając wpływ czynników mikrobiologicznych/enzymatycznych. O ile w literaturze przedmiotu zwraca się uwagę na pewne zmiany w składzie mleka w ciągu roku, to trudno znaleźć dane wiążące zmiany w składzie mleka z porą roku i stanem dyspersji tłuszczu. To zagadnienie znalazło się w zakresie badań ocenianej dysertacji.

Wskazanie oraz ocena zastosowanych metod badawczych

Wysoko oceniam sposób przedstawienia metodycznej części rozprawy zawartej w rozdziale 4, na który składają się dwa odrębne podrozdziały: *Materiały i Metody*. W pierwszym z nich Doktorantka prezentuje szczegółowy opis stosowanych materiałów: komercyjne mleka pitne ESL i UHT pochodzące od różnych producentów z sezonu jesienno-zimowego i wiosenno-letniego oraz próbki mleka pobierane na różnych etapach przemysłowej produkcji tych mlek pitnych, w tym próbki: mleka surowego zbiorczego, mleka po standaryzacji do zawartości tłuszczu 3,2% i pasteryzacji, oraz mleka po homogenizacji, w tym mleko ESL po homogenizacji nieaseptycznej, mleka UHT po homogenizacji nieaseptycznej z dwóch źródeł i mleko UHT po homogenizacji aseptycznej. Doktorantka szczegółowo opisała: etapy produkcji mlek, parametry przemysłowej obróbki termicznej i homogenizacji, sposób poboru prób mleka i przygotowania z nich próbek analitycznych do wykonania testów przechowalniczych i zaplanowanych oznaczeń analitycznych oraz sposób kodowania próbek wraz z listą objaśnień stosowanych skrótów.

W drugim z rozdziałów metodycznych Doktorantka przedstawia procedury metod analitycznych. Opis metod, podający niezbędne szczegóły mogących mieć znaczenie w przeprowadzeniu oznaczeń, nie tylko obrazuje sposób prowadzenia badań i wiarygodność uzyskanych wyników, ale również pozwala na powtórzenie identycznego eksperymentu przez innych badaczy. W przypadku metod dokładnie opisanych w przedmiotowych normach lub publikacjach, Doktorantka nie zamieszcza opisu a powołuje się na odpowiednią literaturę. Metody obejmują: zawartość białka, azotu niebiałkowego, białek serwatkowych i kazeiny metodą Kjeldahla; zawartość tłuszczu metodą grawimetryczna; profil kwasów tłuszczowych metodą chromatograficzną; zawartość WKT (Wolne Kwasy Tłuszczowe) metodą BDI; liczbą nadtlenkową metodą miareczkową; śmietankowanie specyficzną metodą podstojową; wolny tłuszcz, zmodyfikowaną metodą Gerbera; ocenę skuteczności homogenizacji zmodyfikowaną metodą mikroskopową; analizę rozkładu wielkości cząstek metodą dyfrakcji laserowej; ocenę jednorodności/ skuteczności homogenizacji metodą NIZO; ilość białka związanego z kuleczkami tłuszczowymi; test przechowalniczy; szacowanie stabilności mleka z wykorzystaniem siły odśrodkowej.

Zastosowane metody pomiarów i analiz są wiarygodne oraz adekwatne do zakresu pracy. W części doświadczalnej wykorzystano wysokiej klasy aparaturę oraz wysoce specjalistyczne techniki analityczne i badań struktury. Sposób prezentacji pozwala na prześledzenie podejścia Doktorantki do poszczególnych etapów pracy i świadczy o

opanowaniu bardzo rozległego i zróżnicowanego warsztatu metodycznego niezbędnego do przeprowadzenia licznych testów analitycznych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje nakład pracy, który włożyła Ona w przeprowadzenie analiz powiązanych ze swoistymi cechami mleka jako dyspersyjnego układu emulsyjnego, to jest stanu rozproszenia tłuszczu mleka w plazmie mleka. Analizy rozkładu wielkości cząstek w próbach mlekach ESL i UHT na różnych etapach ich produkcji Doktorantka przeprowadziła w czterech wariantach (w buforze EDTA i SDS, bez i z podgrzewaniem próbki) w każdej próbce mleka i na każdym poziomie czasowym przechowywania, wyznaczając wreszcie dla każdego wariantu wartości dziesięciu charakterystycznych parametrów rozkładu (w tym span, jednorodność i powierzchnia właściwa oraz średnice D32, D43, D53, D(10), D(50), D(90). Zaowocowało to ogromem materiału wynikowego – 3050 wyników (bez powtórzeń) parametrów rozkładu oraz ponad 450 różnych wyników związanych z wolnym tłuszczem, osadem, procentowym udziałem kuleczek tłuszczowych >2μm, skuteczności homogenizacji, ilości białka związanego z kuleczkami tłuszczowymi. Ponadto, wyniki parametrów fizykochemicznych i profilu kwasów tłuszczowych mleka to kolejne zestawy wyników, liczące odpowiednio 1212 i 2369 wartości średnich.

Analiza tak dużej ilości danych wymagała wykorzystania odpowiednich analiz statystycznych, które Doktorantka przeprowadziła przy użyciu programów Microsoft Excel 2019 i Statistica 13.3. Doktorantka szczegółowo opisała procedurę statystycznej analizy danych, która w pierwszej kolejności obejmowała grupowanie danych oraz sprawdzenie założeń i dobór odpowiedniego testu statystycznego, a następnie badanie wpływu poszczególnych czynników (sezonowości, czasu przechowywania oraz standaryzacji i homogenizacji mleka) na zmiany badanych parametrów, głównie z wykorzystaniem testów ANOVA/ MANOVA, takich jak testy post hoc czy test rang Kruskala-Wallisa.

Ocena części rozprawy doktorskiej dotyczącej omówienia wyników badań

Rozdział piąty rozprawy doktorskiej pt. Wyniki i dyskusja jest ściśle powiązany załącznikiem, w którym zostały zamieszczone wyniki uzyskane przez Doktorantkę, zestawione w obszernych siedemnastu tabelach na trzydziestu dwóch stronach. W tabelach tych zestawiono kolejno wyniki: parametrów fizykochemicznych, profilu kwasów tłuszczowych, wolnego tłuszczu na powierzchni lustra cieczy, osadu, wolnego tłuszczu w buteleczkach Babocka, procentowego udziału kuleczek tłuszczowych >2μm, parametry rozkładu wielkości cząstek, jednorodności / skuteczności homogenizacji, ilości białka związanego z kuleczkami tłuszczowymi, ilości osadu wytrąconego z mleka komercyjnego pod wpływem wirowania. W tabeli z zestawem parametrów fizykochemicznych zawarto następujące dane ilościowe: pH i liczba nadtlenkowa oraz zawartość: białka, azotu niebiałkowego, kazeiny/ kompleksów kazeiny, białka serwatkowego, tłuszczu, kwasów tłuszczowych nasyconych, jedno- i wielonienasyconych, kwasów tłuszczowych trans. Zestaw profilu kwasów tłuszczowych obejmuje dane ilościowe dwudziestu trzech kwasów tłuszczowych.

Rozdział piąty rozprawy doktorskiej poświęcony prezentacji wyników i dyskusji został podzielony na cztery podrozdziały, w których Autorka konsekwentnie z wykorzystaniem aparatu statystycznego, umiejętnie analizuje wyniki doświadczeń i efekt wpływu założonych poszczególnych czynników wejściowych. Obrany przez Doktorantkę sposób omówienia

wyników to sukcesywna prezentacja istotności każdego pojedynczego czynnika i efektów działania poziomów tego czynnika na poszczególne wielkości składu mleka i parametry rozproszonej fazy tłuszczowej, w odpowiednio zgrupowanych zestawach próbek mleka, stosując przy grupowaniu danych różną konfigurację zmiennych niezależnych. Do tak obranego sposobu omówienia wyników, Doktorantka wykorzystuje porównawcze wykresy (uzyskane w programie statystycznym właściwe dla stosowanego testu) wraz z wynikami wnioskowania statystycznego. Tabelaryczne zestawienia wyników wnioskowania statystycznego bez wykresów oraz część wykresów (tych z wynikami analizy „co najmniej istotne"), prezentowanych pojedynczo (podpisane jako rysunek) lub w zestawach (podpisane jako tabela), Doktorantka zmieściła w Rozdziale pt. Wyniki i dyskusja (22 rysunki i 25 tabel). Pozostałe tabelaryczne zestawienia wykresów wnioskowania statystycznego Doktorantka zamieściła w Załączniku (10 obszernych tabel na 83 stronach). Omawiając wyniki, Autorka powołuje się na rysunki i tabele zawarte zarówno w części rozprawy doktorskiej dotyczącej omówienia wyników badań, jak i na tabele zawarte w załączniku. Uważam, że przyjęty przez Autorkę dysertacji sposób omówienia wyników jest bardzo trudny w odbiorze dla czytelnika i również dość wyczerpujący dla recenzenta.

W pierwszym podrozdziale, obejmujących odpowiednio 31 stron rozdziału wyników i dyskusji, Doktorantka w poszczególnych podpodrozdziałach analizuje wpływ sezonu. Wpływ sezonowości na poszczególne zmienne zależne, Doktorantka analizuje osobno dla mleka surowego (SR), standaryzowanego (ST), homogenizowanego ESL i UHT (H) oraz komercyjnego ESL i UHT (K), porównując próbki mleka pochodzące z sezonów wiosenno-letniego i jesienno-zimowego w poszczególnych czasach chłodniczego przechowywania.

W drugim podrozdziale, obejmującym 9 stron, Doktorantka analizuje istotność zmian zachodzących w czasie chłodniczego przechowywania prób mleka w odniesieniu do poszczególnych zmiennych zależnych, w analogicznej kolejności jak w podrozdziale pierwszym. Wpływ czasu chłodniczego przechowywania na poszczególne zmienne zależne, Doktorantka analizuje porównując próbki mleka po różnych czasach po uprzednim grupowaniu danych w różnych konfiguracjach zmiennych niezależnych.

W trzecim podrozdziale, obejmującym 10 stron, Doktorantka analizuje wpływ standaryzacji, w odniesieniu do większości analogicznych zmiennych zależnych jak w poprzednich podrozdziałach (oprócz wolnego tłuszczu), porównując mleko standaryzowane (ST) z mlekiem surowym (SR) w poszczególnych w czasach chłodniczego przechowywania niezależnie od sezonu i źródła pochodzenia.

W czwartym podrozdziale, obejmującym 16 stron, Doktorantka analizuje wpływ homogenizacji w odniesieniu do: parametrów składu mleka, porównując mleko homogenizowane H z mlekiem komercyjnym K oraz mleko standaryzowane ST z mlekiem homogenizowanym H w poszczególnych w czasach chłodniczego przechowywania; wybranych parametrów fazy rozproszonej porównując mleko homogenizowane ESL z mlekami homogenizowanymi UHT łącznie, jak też porównując mleka homogenizowane UHT pomiędzy sobą (niezależnie od sezonu i czasu przechowywania). Doktorantka przedstawia również wyniki badania przechowalniczego dla komercyjnego mleka UHT w kartonach na podstawie oceny obecności/ilości tłuszczu pokrywającego wieczko i osadu pokrywającego dno opakowania. Ponadto Doktorantka przedstawia porównanie między metodami: mikroskopową,

dyfrakcji laserowej i NIZO na podstawie procentowego udziału kuleczek tłuszczowych <2μm, przeprowadzone dla prób mleka homogenizowanego, co wiązało się z zastosowaniem dodatkowych obliczeń wyników uzyskanych metodą mikroskopową i dyfrakcji laserowej.

Próby zinterpretowania wyników i ich oceny w świetle dostępnych aktualnie danych literaturowych Doktorantka dokonuje każdorazowo po przedstawieniu wyników własnych. Autorka dokonuje podsumowań i wyjaśnia obserwowane zależności na tle potencjalnych mechanizmów, bardzo często przywołując liczne pozycje piśmiennictwa, co jest świadectwem bardzo dobrej znajomości przedmiotowych zagadnień z dyscypliny technologia żywności i żywienia. Jakkolwiek Doktorantka w wyczerpujący i poprawny sposób ustosunkowała się do swoich wyników w kontekście ich zmian będących skutkiem analizowanych czynników, również w świetle dostępnego piśmiennictwa, to przy omawianiu wyników własnych i ich dyskusji odczuwa się brak interpretacji wartości uzyskanych wyników.

Całość opracowania poświęconego prezentacji wyników i dyskusji zamyka rozdział 6., zatytułowany *Wnioski*. Autorka sformułowała siedem wniosków, które odpowiadają jasno na zagadnienia określone w celu pracy i w całości wynikają z przeprowadzonych badań. Wnioski pierwszy, drugi, szósty i siódmy stanowią kolejno potwierdzenia postawionych czterech hipotez, co wyraźnie Autorka podkreśla po każdym z tych wniosków.

Najważniejszych naukowe i praktyczne osiągnięcia ocenianej pracy

W rozprawie doktorskiej Autorka analizuje interesujące zagadnienie, tak z punktu widzenia naukowego, jak i praktycznego. Ten opis rozprawy nie oddaje wszystkich atutów pracy: wyboru istotnego dla produkcji mleka pitnego problemu badawczego – dotychczas w literaturze przedmiotu nie zbadanego w takim zakresie, szeroko zakrojonego eksperymentu wymagającego ogromnego nakładu pracy, wyboru prawidłowych narzędzi do analizy i logicznego myślenia. Prowadzanie badań powiązanych z przemysłową produkcją, zwłaszcza w mleczarstwie jest szalenie trudne ze względu na konieczność uwzględnienia wielu czynników wpływających na ich przebieg. Uznaję, że Doktorantka swoją pracą udowodniła, że posiada nie tylko duży zasób wiedzy, ale i umiejętnie się nią posługuje, co zaowocowało opracowaniem o niezaprzeczalnym potencjale praktycznego zastosowania uzyskanych wyników badań w branży mleczarskiej.

Do najważniejszych naukowych i praktycznych osiągnięć ocenianej pracy w mojej opinii należą:

1. Wykazanie, że porę roku pozyskiwania mleka krowiego można traktować jako czynnik istotnie przyczyniający się do zmian w składzie tłuszczu mleka i w stabilności emulsji mleka surowego jak i homogenizowanego, a różnice w profilu kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka surowego (głównie w zawartości C4:0, C16:1, C20:0 i C18:2) i stopniu dyspersji tłuszczu w zależności od sezonu, można wskazać jako potencjalne przyczyny różnej skuteczności homogenizacji.

2. Potwierdzenie, że procesy standaryzacji i pasteryzacji, niezależnie od sezonu pozyskiwania mleka, powodują zmiany w stanie rozproszenia tłuszczu w mleku, co prowadzi do zmiany sposobu agregacji kuleczek tłuszczowych i zmniejszenia szybkości śmietankowania

w porównaniu do mleka surowego oraz przyspieszenia przemian proteolitycznych w czasie przechowywania.

3. Potwierdzenie, że procesy homogenizacji i hartowania lub sterylizacji mleka ESL i UHT powodują, w odniesieniu do mleka surowego i standaryzowanego, zwiększenie stopnia rozdrobnienia tłuszczu, odporności fazy rozproszonej na zjawiska niestabilności (podstawanie, agregacje i koalescencję) i stopnia denaturacji białek serwatkowych oraz zahamowanie przemian proteolitycznych i lipolitycznych w czasie przechowywania.

4. Wykazanie, że homogenizacja ciśnieniowa, realizowana w skali przemysłowej przy ciśnieniu nieprzekraczającym 200 bar, prowadzi do bardziej efektywnego rozdrobnienia kuleczek tłuszczowych przy następujących warunkach procesu: wyższe ciśnienie na pierwszym stopniu w przypadku homogenizacji dwustopniowej; homogenizacja dwustopniowa w porównaniu do jednostopniowej przy takim samym ciśnieniu na pierwszym stopniu homogenizacji; homogenizacja aseptyczna w porównaniu do nieaseptycznej przy zbliżonych ciśnieniach homogenizacji dwustopniowej.

5. Wykazanie, że pomiary rozkładu wielkości cząstek w mleku z wykorzystaniem techniki dyfrakcji laserowej i różnych ośrodków zawieszających, takich jak bufory rozbijające agregaty tłuszczowe i dysocjującym micele kazeinowe, i następnie analiza odpowiednich parametrów rozkładu wielkości cząstek jest metodą umożliwiającą opisanie i śledzenie zmian zjawisk destabilizacji, agregacji i koalescencji, właściwych dla układu emulsyjnego typu olej w wodzie. Wykazanie również, że metoda ta, bardziej niż obserwacje mikroskopowe, może mieć zastosowanie do oceny skuteczności homogenizacji, ponieważ wyniki tej metody korelują z wynikami przyspieszonego testu metodą NIZO, najczęściej wykorzystywanego przemysłowo do przewidywania stabilności mleka.

Uwagi krytyczne dotyczące układu treści i merytoryczne – do dyskusji

Prawdopodobnie ze względu na wielość wątków badawczych i szeroko zakrojony opis monograficzny Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów i nieścisłości. W czasie studiowania rozprawy nasunęło mi się parę uwag, które ujmę w punktach. Poniższe uwagi nie umniejszają wartości pracy. Większość z nich są jedynie wskazówkami dla Autorki. Parę uwag Autorka mogłaby wziąć pod uwagę przed opublikowaniem pracy.

1. Tytuł pracy jest sformułowany dość ogólnikowo, powinien zwierać więcej słów znaczących wnoszących informacje jakie czynniki są uwzględniane w badaniach. Moim zdaniem trafniejsze byłoby sformułowanie „...emulsji mleka" niż „...emulsji mlecznych typu o/w", które kojarzy się z przetworami mlecznymi płynnymi różnego typu.
2. Moim zdaniem korzystniejsze byłoby poprowadzenie omówienia i dyskusji wyników w kolejności adekwatnej do kolejności sformułowanych celów pracy (i najprawdopodobniej bardziej adekwatnej do wielkości efektów eksperymentalnych każdego czynnika), to jest najpierw omówienie wpływu wybranych parametrów obróbki technologicznej w czasie przechowywania, a następnie przedstawienie wpływu sezonu. Warto też rozważyć kolejność z uwagi na treści merytoryczne, to jest najpierw omówienie wpływu wszystkich czynników na skład mlek, a następnie przedstawienie wpływu tych czynników na stan dyspersji tłuszczu, co moim zdaniem pozwoliłoby na korzystne skondensowanie treści przy dyskusji wyników.

3. Autorka uzyskała bogaty materiał liczbowy, który jest trudny do interpretacji i nie zawsze prowadzi do jednoznacznych konkluzji, gdyż prawdopodobna jest istotność współdziałania czynników (przykładowo efekt działania czynnika sezon zależny jest od poziomu innego czynnika, przykładowo od czasu chłodniczego przechowywania czy rodzaju próby mleka). Autorka w ocenie istotności i efektów czynników zawsze bada wpływ tylko jednego czynnika (kontrolowanego na kilku poziomach) na wyniki stosując procedury porównań wielokrotnych - testy post-hoc (zwane testami po fakcie lub a posteriori). Prowadzi to do kolejnego bogatego materiału liczbowego również trudnego do interpretacji. Ponadto, rozważając każdy czynnik z osobna, niemożliwe jest stwierdzenie współdziałania analizowanych czynników, jak też trudna jest ocena wielkości efektów eksperymentalnych każdego czynnika. Wydaje się, że przy tak dużej liczbie danych korzystniejsze byłoby w pierwszej kolejności zastosowanie analizy statystycznej badającej jednoczesne działanie wszystkich czynników, co pozwoliłoby na ocenę, które z czynników i w jakim stopniu różnicują właściwości badanych mlek.
4. Autorka w małym stopniu odnosi się do wartości uzyskanych wyników, zarówno w części pracy poświęconej omówieniu wyników, jak i streszczeniu pracy. Uważam, że omówienie wyników na zasadzie „dany czynnik miał istotny wpływ na…" lub „dany czynnik wywołał zmiany…" lub „dana próba charakteryzowała się niższą/wyższą zawartością…" zatraca nieco merytoryczną wagę uzyskanych wyników. Przedstawiając istotność zmian właściwości mlek wywołanych badanymi czynnikami, wskazane byłoby podanie i skomentowanie wartości średnich lub zakresów wartości mierzonych wielkości (przynajmniej niektórych). Przykładowo, korzystnie byłoby znaleźć informację, że w grupach mleka surowego SR, standaryzowanego ST, homogenizowanego H i komercyjnego K, zawartość tłuszczu wahała się w granicach 3,71 - 4,31%, 2,90 - 3,29%, 3,08 - 3,28% i 3,15 - 3,25 wobec średnich wartości wynoszących odpowiednio 4,09%, 3,16%, 3,21% i 3,21%. Podobnie, korzystnie byłoby znaleźć informację, że w grupach mleka surowego SR, standaryzowanego ST, homogenizowanego H, wartości średnicy D43 (pomiary w EDTA) wahały się odpowiednio od 3,90 do 7,27 μm od 3,58 do 6,93 μm i od 0,37 do 0,63 μm. Podane tu wahania wartości zawartości tłuszczu i średnicy D43 wywołane są wieloma czynnikami, porą roku, źródłem pochodzenia i czasem chłodniczego przechowywania. Pytanie, który z czynników wywołuje najsilniejszy efekt wahań tych wielkości?
5. W punkcie 4.1 Materiały wskazane byłoby podanie roku, w którym pobierano próby.
6. W punkcie 4.2.9. wskazane jest podanie typu (producenta) wykorzystanego aparatu.
7. Tabele 45, 46, 56, 57, 58, 59, 60 i 61: Wskazana byłaby przebudowa tabel polegająca na przesortowaniu danych i ich zestawienie według następującej kolejności czynników: typ próbki, sezon i czas chłodniczego przechowywania. Wskazana byłaby też zmiana stylu graficznego tabel odnośnie obramowań komórek - stosowanie tyko linii poziomych po zestawieniu bloku danych. To poprawiłoby znacznie czytelność tabel, umożliwiając śledzenie wahań wartości. Tabele wielostronicowe powinny być podzielone na tabele jednostronicowe, a w tytule tabel kontynuowanych na kolejnych stronach należy podać nr tabeli. Czy w tabelach zestawiono wartości średnie z pomiarów? Jakie były wartości odchyleń od wartości średnich? Czy w analizach statystycznych wykorzystywano wartości średnie z pomiarów czy wszystkie wartości z powtórzeń? Czy zaokrąglając wartości średnich

uwzględniono wartości odchyleń? Wydaje się wartości średnie dla niektórych wielkości podano ze zbyt dużą dokładnością.

8. Tabela 58 Wskazane byłoby wyjaśnienie, dlaczego wyniki rozkładu wielkości cząstek dla poniższych próbek tak bardzo odbiegają od pozostałych wyników w grupie danego rodzaju próby SR, ST lub H.

   L/3,2/H 50C EDTA/0/C1, L/3,2/SR 50C EDTA/2/C1, L/3,2/ST 50C EDTA/2/C1, L/3,2/H 50C SDS/0/C1, L/3,2/SR 50C SDS/2/C1, L/3,2/ST 50C SDS/2/C1, L/3,2/H EDTA/0/C1, 3,2/SR EDTA/2/A, L/3,2/ST EDTA/2/C1, L/3,2/H SDS/0/C1, L/3,2/ST SDS/2/C1

9. Tabela 58: Wskazane byłoby wyjaśnienie, dlaczego wyniki D32 i D(10) dla poniższych próbek przyjmują tak małe wartości, oraz wyniki powierzchni właściwej (obliczanej z wykorzystaniem D32) tak duże wartości. Wszystkie wyniki dotyczą pomiarów rozkładu wielkości cząstek w buforze rozbijającym agregaty kuleczek tłuszczowych (SDS) bez podgrzewania próbek.

   L/3,2/SR SDS/0/A, L/3,2/SR SDS/0/C1, L/3,2/SR SDS/0/C2, L/3,2/SR SDS/1/A, L/3,2/SR SDS/1/B, L/3,2/SR SDS/1/C1, L/3,2/SR SDS/2/A, L/3,2/SR SDS/2/C1, L/3,2/SR SDS/2/C2, 3,2/SR SDS/0/C1, 3,2/SR SDS/0/C2, 3,2/SR SDS/1/A, 3,2/SR SDS/1/B, 3,2/SR SDS/1/C1, 3,2/SR SDS/1/C2, 3,2/SR SDS/2/A, 3,2/SR SDS/2/B, 3,2/SR SDS/2/C1, L/3,2/ST SDS/0/A, L/3,2/ST SDS/1/A, L/3,2/ST SDS/1/B, L/3,2/ST SDS/1/C1, L/3,2/ST SDS/2/B, L/3,2/ST SDS/2/C1, 3,2/ST SDS/1/A, 3,2/ST SDS/2/B

Niektóre z osiągnięć nie zostały wystarczająco podkreślone w dyskusji i wnioskach, co może nasuwać dodatkowe pytania:

- Czy można sformułować otwierające się następne problemy do rozwiązania i projekt dalszych badań? Czy zasadne byłyby badania wpływu sezonu na przestrzeni wielu lat?
- W dalszych analizach, byłoby ciekawe, gdyby w przyszłości przeanalizować mechanizmy stabilności emulsji mleka z wykorzystaniem metody turbidymetrycznej. Czy Doktorantka zna opracowania z wykorzystaniem tej metody (aparat Turbiscan)?

Uwagi redakcyjne:

Spis piśmiennictwa. Wiadomym jest, że lista cytowanego piśmiennictwa musi zawierać wszystkie informacje niezbędne do odszukania cytowanych dzieł w czasopismach i książkach. Jakkolwiek techniczna forma i kolejność zapisu tych informacji może być rozmaita, to tu trzeba się pedantycznie trzymać przyjętego sposobu zestawienia piśmiennictwa. W przypadku artykułów zauważyłam następujące niedociągnięcia: w większości podano pełną nazwę czasopisma, ale w około 10 pozycjach podano skrót czasopisma; w około 25 pozycjach nie zastosowano właściwej wielkości liter w nazwie czasopisma (powinna być forma nazwy własnej); w około 40 pozycjach występują braki w danych dotyczących woluminu i/lub numeru zeszytu; w około 22 pozycjach występują braki w danych dotyczących zakresu stron (brak stron, tylko pierwsza strona, lub inny sposób zapisu). Znacznie więcej niedociągnięć występuje w spisie cytowanych pozycji książkowych. Dane bibliograficzne dla książek, poza nazwiskami autorów, roku wydania i tytułu, muszą zwierać: nazwę firmy wydawniczej, miejsce wydania i ewentualnie numery stron (jeżeli cytat dotyczy fragmentu książki) lub całkowitą liczbę stron. Cytując rozdziały dzieł zbiorowych przyjęto regułę, że podaje się wszystkie istotne informacje: nazwiska autorów rozdziału, rok wydania, tytuł rozdziału, tytuł książki,

nazwisko(-a) redaktora(-ów), nazwę firmy wydawniczej i miejsce wydania, wreszcie numery stron cytowanego rozdziału. W zasadzie wszystkie cytowane pozycje książkowe wymagają poprawy i uzupełnień. Podobnie brak zachowania konsekwencji występuje w spisie monografii prac doktorskich/dyplomowych.

Podsumowanie

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że pomimo wysuniętych w recenzji nielicznych uwag czy wątpliwości, rozprawa doktorska mgr inż. Adriany Bomba pt. „Czynniki wpływające na stabilność emulsji mlecznych typu o/w" prezentuje wyniki oryginalnych badań przeprowadzonych w oparciu o dobrze zaplanowany eksperyment, z wykorzystaniem aktualnie stosowanych i wiarygodnych metod technologicznych i analitycznych, oraz wysoce specjalistycznych technik badań układów dyspersyjnych. Wykonane badania wprowadzają dużo nowych i potwierdzają istniejące dane w stanie wiedzy o czynnikach wpływających na stabilność emulsji mleka, w tym wpływie pory roku i zabiegów utrwalania na skład i właściwości mleka oraz stan rozproszenia tłuszczu w układzie emulsyjnym mleka.

Rozprawa doktorska mgr inż. Adriany Bomba stanowi spójne, dojrzale opracowane dzieło, które prezentuje oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i wykazuje, że Doktorantka posiada zadowalającą wiedzę teoretyczną w dyscyplinie naukowej technologia żywności i żywienia, a także umiejętność planowania i samodzielnego prowadzenia badań oraz interpretowania ich wyników. Otrzymane wyniki stanowią oryginalny i trwały wkład do nauki, a umiejętność rozwiązywania problemów naukowych Doktorantki zaowocowało opracowaniem argumentów przemawiających za konkretnymi rozwiązaniami metodologicznymi i interpretacyjnymi do badania mechanizmów stabilności układów emulsyjnych typu olej w wodzie.

Stwierdzam, że przedłożona rozprawa, spełnia wszelkie wymogi zwyczajowe, stawiane pracom doktorskim, jak również stanowi osiągnięcie naukowe odpowiadające wymaganiom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r., poz. 574 ze zm.). W mojej ocenie przedłożona rozprawa mgr inż. Adriany Bomba w pełni kwalifikuje Kandydatkę, ubiegającą się o nadanie stopnia doktora, do dalszych etapów przewodu doktorskiego, o co wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie.

Warszawa, 24.08.2022r.

prof. dr. hab. inż. Ewa Domian

E Domian