SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO

Warsaw, 08.11.2022

Review Report on PhD Thesis

Author: mgr inż. Justyna Tarapata
Afiliation: University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Faculty of Food Science, Department of Dairy Science and Quality Management

Title: Fractionation of milk components and valorization of by-products obtained with membrane filtration of dairy streams

Supervisor: dr hab. Justyna Żulewska, prof. UWM

Co-supervisor: prof. dr hab. Marcin Zieliński

Warsaw University of Life Sciences WULS-SGGW

Institute of Food Sciences

Department of Food Engineering and Process Management

Katarzyna Samborska, PhD
Associate professor

159c Nowoursynowska St.
02-776 Warsaw
+48 22 59 37 569
katarzyna_samborska@sggw.edu.pl

Legal basis

The legal basis for this review is the resolution of the Scientific Council of the discipline Food Technology and Nutrition of UWM in Olsztyn dated on October 14, 2022.

The research problem and the scope of the thesis

The research topic fits perfectly into the current trends in food processing, which are strongly related with environmental issues. Recently, it is becoming increasingly important to manage resources in a sustainable manner, in line with the assumptions of the circular economy and "zero waste" trend. Dairy sector produces side streams, which are considered as high polluting agents, even though they still contain some valuable components. These are: whey and buttermilk -

by-products of cheese, acid-coagulated cheese, Greek yoghurt and butter production. One the one hand, they can be treated as intermediate products, and after necessary processing, can be incorporated in further development of value-added products. On the other hand, they require a proper treatment, because the inadequate disposal creates an environmental problem when they are incorporated into the wastewater of dairy plants. Among unit operations applied in dairy, membrane techniques play a vital role. They make possible to concentrate and fractionate products into separated components, by a low-temperature and low-energy approach. However, one of the biggest disadvantages of membrane techniques is permeate flux reduction due to membrane fouling. Membrane fouling is caused by concentration polarization, adsorption, the formation of cake layer on the surface, which in turn is a consequence of protein content, ionic interactions or calcium content, especially when acid whey is the feed material. Side streams (permeate) from membrane treatment of whey and buttermilk can be further treated as raw materials for further processing to obtain biogas, electricity or heat which is in line with current trend to maximize the amount of renewable energy sources. All those issues were the scope of the thesis submitted for review.

Formal evaluation

The dissertation presented for review is written in English. I consider the layout of the doctoral dissertation and the order of chapters appropriate and logic. It consists of 3 thematically coherent scientific papers published in 2022, and a 64-pages study containing:

- The list of abbreviations
- Abstract (in English and Polish)
- Introduction - description of the current state of knowledge about
- Objective
- Materials and Methods
- The list of publications
- Research results in the thematically related series of publications
- Summary and conclusions
- References
- Appendices

The articles were published in *Journal of Food Engineering*, *International Dairy Journal* and *Energies*. The total impact factor of the publications is 13.027. In all publications,

the PhD candidate is the first author and in two – also a corresponding author. The number of co-authors in each paper is three. All co-authors are affiliated at UWM, the same faculty as PhD candidate, and one co-author is affiliated at UWM - Faculty of Geoengineering. The attached statements show that the contribution of PhD candidate in the development of the concept, implementation of the experimental part, the interpretation of the results and the preparation of the publications was high, and ranged from 70 to 75%. I consider the publication of results in high-rated scientific journals as a proof of their high level and correctness in terms of research plan, methodology, and discussion of results. The full texts of the original papers are attached to the study, which is a guide and at the same time a supplement to the articles.

The thesis is prepared in good editing standard. The language is comprehensive and coherent, while errors and inaccuracies are relatively rare.

Evaluation of the content of the thesis

First part of 64-pages study, after the list of abbreviations and abstract (in English and Polish), is 10-pages introduction. PhD candidate structured this part in a very logic way, as she characterized:

- two waste materials which are raw materials applied in research (whey and buttermilk), in terms of the types, chemical composition, possible valorization methods, including membrane treatment,
- membrane fouling, in terms of mechanisms, possible reduction methods, and modeling,
- the problem and possibilities with the valorization of side streams (permeates) created during membrane treatment of whey and buttermilk, including anaerobic digestion for biogas production.

I find this part of the work highly valuable, as it allows the reader to get acquainted with the most important prerequisites to research and the scope of work.

Next part of the work (Objectives) summarizes in 3-pages the scope of the work included in PhD thesis, presents its objectives and hypothesis. I appreciate the fact that PhD candidate prepared the diagram to present visually the scope of done research. This kind of visual presentation makes it easier to track the investigations, while it is very often omitted in similar works. The objectives and hypothesis were clearly and logically identified and described, as the whole work was properly planned and arranged. However, in this place I would like to share my opinion – I think that for better accuracy of the whole work, the part connected with valorization of permeates by anaerobic digestion, could also use the

permeates originating from whey and/or buttermilk treatment, not milk. Such approach was suggested in "Introduction". PhD candidate wrote, that the waste (permeate) from membrane treatment of waste (whey) can be further treated: "UF of whey or milk serum generate another stream – UFP, which require further processing". Of course, the applied approach, based on milk permeate treatment, does not diminish the value of work, which is very high. I understand that it can be difficult to organize research based on whey/buttermilk permeates, as the availability of this type of material is probably limited. It can be the suggestion for future plans, to verify/compare the obtained results with whey or buttermilk permeates.

The objectives of work were clearly presented, and they included: the evaluation of the fractionation efficiency of ultrafiltration, diafiltration and MF of dairy streams, indication of the main causes of fouling, the relation of the model parameters of a resistance-in-series (RIS) model to the different feeds tested, the evaluation of the possibility to valorize UF and DF permeates in biogas production.

Next part of the dissertation (Materials and methods), presents in 19 pages the methodology applied during investigations. I highly appreciate the fact that the main research materials used in research (acid whey, buttermilk) were not model material, nor reconstituted, but originated from cheesemaking plants: EkoŁukta and SM Mlekovita. The applied methods were clearly described. The selection of the methods is correct, some basic, as well as advanced analytical methods were applied. The main technological device for UF was laboratory scale membrane unit with 3.5 L feed container and the ceramic membrane of 20 nm pore size, while for MF it was pilot-scale with 60 L feed tank and 0.1 μm pore size membrane. The amount of material treated in one batch was 3.5 kg and 160 kg (feed and bleed mode), respectively. What has to be underlined in this place of review is the fact that membrane processing in laboratory and pilot scale, together with required preprocessing and cleaning, is highly time and labor consuming. Adding a wide variety of physicochemical determinations which were done, it is clear that PhD candidate had to be well-organized and hardworking person during thesis preparation.

Next part of the review is the presentation of results, which I evaluate below, as an opinion about the publications being the part of dissertation.

Publication 1 includes the extensive analysis of ultrafiltration of two types of whey (sweet and acid) performed at constant pressure. The physicochemical properties of feed and resulting streams, as well as the fouling mechanism and its modeling by resistance-in-series model were presented. The results demonstrated that the protein content and other characteristics of whey affected the course of ultrafiltration and the total hydraulic resistance: during UF of sweet whey higher protein content cause more severe fouling. In

general, the resistance due to adsorption and concentration polarization dominated from the first minutes of filtration, whereas the growth of cake layer was much slower and gradual for each feed tested. The applied resistance-in-series model, based on cake formation, concentration polarization and adsorption mechanisms, fitted the experimental data with high accuracy.

From my point of view the most interesting part of this work is the detailed analysis of material deposited on the membrane surface and inside the membrane based on SDS-PAGE electrophoresis. It made possible to state which compounds were responsible for membrane blocking, and which fractions of proteins were present in analyzed places. Based on this results, it was concluded that α-lactalbumin and β-lactoglobulin were the main contributors to pore blocking. Moreover, the difference in minerals content and pH between two types of whey could also affect the permeate flux change during UF, which was carefully analyzed and explained by PhD candidate. The performed research was properly planned and performed, the results brought new knowledge in the understanding the fouling mechanism and possible modeling. Moreover, the results can be applied practically. However, I have question connected with this part of work:

- according to the information presented in point 2.5 (publication 1), the samples of whey before processing, final retentates and permeates were analyzed for total solids, total nitrogen, noncasein nitrogen, and nonprotein nitrogen content, minerals content. Tables 2 and 4 present the results of determinations for feed whey and retentates, respectively. However, I can not see similar table about permeates. Based on such data, combined with the known amount/weight of feeds, permeates and retentates, the retention (rejection) rate of particular compounds after the UF process can be derived. It can add some important information about the selectivity of the applied membrane to the discussion. In particular, the most interesting is to see the differences in retention between total solids, total nitrogen, casein, noncasein nitrogen, nonprotein nitrogen and minerals.

Publication 2 describes the microfiltration process of buttermilk as a method of protein fractionation. Similarly to P1, PhD candidate analyzed in details the fouling mechanism based on measured permeate flux values and the collection of foulants according to well-established procedure. Feed material and MF products (permeate and retentate) were analyzed for the series of physicochemical properties, including among others total solids, total nitrogen, noncasein nitrogen, fat, lactose, calcium content. Moreover, SDS-PAGE electrophoresis was used to identify the proteins present as external or internal foulants. The collected data were analyzed by resistance-in-series model considering the following fouling

mechanisms: adsorption, concentration polarization, cake formation. Moreover, the polynomial correction of the exponential growth of mass deposited on the membrane surface was proposed. After the MF process the fouling coefficient was 0.88, which indicated the severe fouling of the membrane. As was explained by PhD candidate, the obtained value was difficult to compare with previous literature due to different operating parameters and characteristics of raw material. Even though, in a brief discussion PhD candidate concluded that the major protein responsible for fouling (pore blocking and cake layer formation) was casein, while also the role of some other high molecular mass serum proteins can not be neglected. Important massage from this part of work is the fact that the fouling was fully reversible, as the water flux was fully restored after MF process. On the contrary to P1, here PhD calculated retention coefficient to show the rejection ability of the membrane. The full amount of casein, MFGM proteins and the majority of fat were rejected, while in the case of α-LA and β-LG the transmission was selective. It was discussed and explained by PhD candidate, as resulting from pre-pasteurization and formation of intermolecular disulfide bonds between β-LG and κ-casein. As the work aimed for the separation of proteins into two streams (casein and MFGM-rich retentate and serum protein-rich permeate), according to PhD candidate low permeation of serum proteins was up to some point disappointing - almost 63% was rejected in the retentate. However, this fraction (permeate) which was enriched in α-LA could be also interesting for further applications for infant nutrition.

My question connected with this publication:

- What was the rejection rate (R) of lactose? Please explain the obtained value. Please explain if and how R is dependent on time of the process. Is it possible to obtain R of lactose equal to 0 by the application of MF membrane?

In this place it is worth to mention, that the high value of the dissertation is also connected with the facts that:

- a time-based evolution of resistance-in-series model parameters was determined for the first time, when raw materials were streams obtained from industrial scale,
- results obtained for two different feed materials (whey and buttermilk) and two different processing methods (UF and MF) were additionally compared by PhD candidate in the study in point 5.3. Based on such comparison PhD candidate concluded that the mechanism of cake layer formation dominated during MF of buttermilk in contrast to UF of whey, when the decrease in membrane performance was caused mainly by adsorption and concentration polarization. It is an added-value of the dissertation, expanding the knowledge about differences in the progress of membrane processing depending on the type of raw materials. This knowledge can be applied for process

enhancement in the real industrial systems.

Publication 3 is connected with the valorization of UF/DF permeates from milk and milk serum protein concentration by anaerobic digestion. The permeates were treated as possible raw materials for the production of methane, electricity and heat. The publication is divided into two parts. First of them deals with anaerobic digestion and determination of methane yield of the tested substrates. Moreover, the relationship between the degree of lactose recovery and the amount of biogas obtained was investigated. The methane potential of the process varied from 149 to 181 NL per kg of added COD, and no significant differences between the methane yields and reaction rates between four substrates were detected, however, the higher COD of the substrate the higher methane yield. The data were compared with previous literature, although the methods to express the productivity applied by other researchers were different. The average composition of the produced biogas was presented as 69% of methane and 31% of CO_2. Those data were not commented, so my question is to try to explain if such composition of biogas is typical and useful for further application.

The second part of this publication is the case study about the possible application of the generated biogas for the production of heat and electric power in large-scale dairy plant. The plant of interest processes daily 1200 t of raw milk and 800 t of whey with application of membrane techniques (the source of permeates for biogas production), and additionally produces cheese, yoghurts and buttermilk. The data analysis led to the conclusion that the amount of generated biomethane is enough to cover the total heat and electric power requirements of a large-scale dairy factory. Such possibility to reuse its own effluents is especially important nowadays, when we are facing the global energy crisis.

The next part of dissertation, Summary and conclusions, includes the brief description of the most important outcomes of the work, followed by the list of novelties, hypothesis which were verified and conclusions. The presentation of those data is clear and logic.

The list of references contains 109 positions, in the majority published recently, but also some of them are the basic positions published earlier. Such selection of references confirms form one hand a good theoretical preparation and orientation of PhD candidate in the subject, and on the other hand the novelty and being in line with the current research done in the topic.

Minor comments

The dissertation itself (a study) and the publications being a part of it were prepared with very high editing standard. The structure, layout and visualization of results are clear and comprehensive. I have only one comment regarding possible improvement in the data

visualization: P1, Fig 2-4: it would be better readable if the names/codes of β-LG and α-LA were marked directly in the pictures, without coding them as WP4 and WP5 (as it was done in P2, Fig. 3 and 7).

Final statement

In my opinion the dissertation submitted for review was carefully planned, performed and written. I rate its scientific value as very high. It is and original elaboration of scientific problem, which enriches the knowledge in the field of food technology. Moreover, the results can be useful and used practically. It contains elements of scientific novelty. The PhD candidate demonstrated the ability to conduct in-depth studies, planning and performing experiments, interpreting the obtained research results, critically assessing facts and formulating conclusions. In my opinion, MSc. Justyna Tarapata is a scientist fully prepared to conduct independent research.

To sum up, I declare that the PhD thesis submitted for review meets the requirements for doctoral dissertations according to point 187 of the act Law on Higher Education and Science (July 20, 2018, uniform text: Journal of Laws of 2022, item 574, as amended). Therefore, I apply to Scientific Council of the discipline Food Technology and Nutrition of UWM in Olsztyn for admission to M.Sc. Justyna Tarapata to the following stages of the PhD procedure.

.....

Dr hab. Katarzyna Samborska, prof. SGGW

SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO

Warszawa, 08.11.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Justyny Tarapaty
„Frakcjonowanie składników mleka i waloryzacja produktów ubocznych otrzymanych poprzez filtrację membranową w produkcji mleczarskiej"
wykonanej na Wydziale Nauki o Żywności UWM w Olsztynie pod kierunkiem dr. hab. inż. Justyny Żulewskiej, prof. UWM i prof. dr. hab. inż. Marcina Zielińskiego

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk o Żywności

Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji

Dr hab. Katarzyna Samborska, prof. SGGW

ul. Nowoursynowska 159 C
02–776 Warszawa
+48 22 59 375 69
katarzyna_samborska@sggw.edu.pl

Podstawa prawna

Podstawą wykonania niniejszej recenzji jest uchwała Rady Naukowej Dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dn. 14 października 2022 r. wyznaczająca mnie na recenzenta.

Problem badawczy i zakres pracy

Podjęty temat badań doskonale wpisuje się w aktualne trendy w przetwórstwie spożywczym, które są silnie związane z zagadnieniami środowiskowymi. W ostatnim czasie coraz większego znaczenia nabiera zarządzanie zasobami w sposób zrównoważony, zgodny z założeniami gospodarki o obiegu zamkniętym i trendu „zero waste". Sektor mleczarski wytwarza strumienie uboczne, które są uważane za czynniki silnie zanieczyszczające, mimo że nadal zawierają potencjalnie cenne składniki. Są to min.: serwatka i maślanka – produkty uboczne z produkcji sera, twarogu,

jogurtu greckiego i masła. Z jednej strony, mogą one być traktowane jako półprodukty, a po niezbędnym przetworzeniu mogą być wykorzystywane w dalszym wytwarzaniu produktów o wartości dodanej. Z drugiej strony, wymagają odpowiedniego przetworzenia, ponieważ nieodpowiednia utylizacja stwarza problem środowiskowy, gdy zostaną bezpośrednio wyprowadzone do ścieków z zakładów mleczarskich.

Wśród operacji stosowanych w mleczarstwie istotną rolę odgrywają techniki membranowe. Umożliwiają one zagęszczanie i frakcjonowanie, w toku niskotemperaturowego i niskoenergetycznego przetwarzania. Jednakże, jedną z największych wad technik membranowych jest zmniejszanie strumienia permeatu z powodu zarastania membran. Zarastanie to spowodowane jest polaryzacją stężeniową, adsorpcją oraz tworzeniem się warstwy placka na powierzchni, które to zjawiska z kolei są mogą być uzależnione od zawartości białka, wapnia i oddziaływań jonowych, zwłaszcza gdy surowcem jest kwaśna serwatka. Strumienie uboczne (permeat) z membranowej obróbki serwatki i maślanki mogą być dalej traktowane jako surowce do dalszego przetwarzania w celu uzyskania biogazu, energii elektrycznej lub ciepła, co jest zgodne z obecnymi trendami dążenia do maksymalizacji ilości energii otrzymywanej ze źródeł odnawialnych. Wszystkie te zagadnienia poruszano w recenzowanej pracy doktorskiej.

Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest napisana w języku angielskim. Układ pracy oraz kolejność rozdziałów oceniam jako odpowiednie i logiczne. W skład pracy wchodzą 3 tematycznie spójne artykuły naukowe opublikowane w 2022 r. oraz 64-stronicowe opracowanie zawierające:

- Spis skrótów
- Streszczenie (w języku polskim i angielskim)
- Wstęp - opis aktualnego stanu wiedzy
- Cel pracy
- Materiały i metody
- Spis publikacji wchodzących w skład pracy
- Wyniki badań zaprezentowanych w powiązanych tematycznie publikacjach
- Podsumowanie i wnioski
- Spis literatury
- Aneks

Artykuły zostały opublikowane w *Journal of Food Engineering*, *International Dairy Journal* and *Energies*. Całkowity IF publikacji wynosi 13,027. We wszystkich

publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem, a w dwóch także autorem korespondencyjnym. Liczba współautorów w każdym artykule to trzy. Wszyscy współautorzy są afiliowani na UWM, tym samym wydziale co doktorantka, a jeden współautor jest afiliowany na UWM - Wydziale Geoinżynierii. Z załączonych oświadczeń wynika, że wkład doktorantki w opracowanie koncepcji, realizację części eksperymentalnej, interpretację wyników oraz przygotowanie publikacji był wysoki i wynosił od 70 do 75%. Publikację wyników w wysoko ocenianych czasopismach naukowych uważam za dowód ich wysokiego poziomu i poprawności pod względem planu badawczego, metodologii i dyskusji wyników. Pełne teksty prac oryginalnych są dołączone do opracowania, które jest przewodnikiem i jednocześnie uzupełnieniem artykułów.

Praca jest przygotowana w wysokim standardzie edytorskim. Jest poprawna językowo, a błędy i nieścisłości są stosunkowo rzadkie.

Ocena treści pracy

Pierwsza część 64-stronicowego opracowania, po wykazie skrótów i streszczeniach, to 10-stronicowy wstęp. Doktorantka skonstruowała tę część pracy w bardzo logiczny sposób, ponieważ scharakteryzowała:

- dwa mleczarskie produkty odpadowe stanowiące surowce stosowane w badaniach (serwatka i maślanka), pod względem rodzajów, składu chemicznego, możliwych metod zagospodarowania, w tym obróbki membranowej,
- zarastanie membran, pod względem mechanizmów, możliwych metod redukcji i modelowania,
- problem i możliwości zagospodarowania strumieni ubocznych (permeatów) powstających podczas membranowej obróbki serwatki i maślanki, w tym poprzez fermentację beztlenową do produkcji biogazu.

Uważam, że ta część pracy jest bardzo cenna, gdyż pozwala zapoznać się z najważniejszymi przesłankami do podjęcia badań i zakresem pracy.

Kolejna część pracy (Cel pracy) podsumowuje na 3 stronach zakres prac wykonanych w rozprawie doktorskiej, przedstawia jej cele i hipotezy badawcze. Doceniam fakt, że doktorantka przygotowała schemat, aby wizualnie przedstawić zakres przeprowadzonych badań. Taka prezentacja wizualna ułatwia prześledzenie zakresu wykonanych badań, a bardzo często jest pomijana w podobnych pracach. Cele i hipotezy zostały jasno i logicznie zidentyfikowane i opisane, a cała praca została odpowiednio zaplanowana i zorganizowana. Jednakże, w tym miejscu chciałabym

podzielić się swoją opinią – myślę, że dla lepszej adekwatności całej pracy, część związana z waloryzacją permeatów poprzez fermentację beztlenową, mogłaby również bazować na wykorzystaniu permeatów pochodzących z obróbki serwatki i/lub maślanki, a nie mleka. Takie podejście zostało zasugerowane we „Wstępie". Doktorantka napisała, że odpady (permeat) z membranowej obróbki odpadów (serwatki) mogą być dalej oczyszczane: „UF of whey or milk serum generate another stream – UFP, which require further processing". Oczywiście zastosowane podejście, oparte na obróbce permeatu mleka, nie umniejsza wartości pracy, która jest bardzo wysoka. Rozumiem, że zorganizowanie badań w oparciu o permeatu z obróbki serwatki/maślanki mogło być trudne, ponieważ dostępność tego typu materiałów jest prawdopodobnie ograniczona. Takie podejście może być sugestią do przyszłych planów badawczych, aby zweryfikować/porównać uzyskane wyniki z permeatami serwatki lub maślanki.

Cele pracy zostały jasno przedstawione, a obejmowały one: ocenę skuteczności frakcjonowania mleczarskich strumieni ubocznych poprzez ultrafiltrację, diafiltrację i mikrofiltrację; wskazanie głównych przyczyn zarastania membran; modelowanie spadku natężenia strumienia permeatu za pomocą modelu oporów szeregowych; określenie zmian parametrów modelu w czasie; ocena możliwości waloryzacji permeatów UF i DF w produkcji biogazu.

W dalszej części rozprawy (Materiały i metody) przedstawiono na 19 stronach metodologię zastosowaną w badaniach. Bardzo doceniam fakt, że główne materiały badawcze wykorzystywane w badaniach (serwatka, maślanka) nie były materiałami modelowymi, ani odtworzonymi, lecz pochodziły z zakładów mleczarskich: EkoŁukta i SM Mlekovita. Zastosowane metody zostały jasno opisane. Dobór metod jest prawidłowy, zastosowano zarówno podstawowe, jak i zaawansowane metody analityczne. Głównym urządzeniem technologicznym w przypadku UF była laboratoryjna jednostka membranowa ze zbiornikiem zasilającym o pojemności 3,5 L i membraną ceramiczną o wielkości porów 20 nm, natomiast w przypadku MF była to stacja półtechniczna ze zbiornikiem zasilającym o pojemności 60 L i membraną o wielkości porów 0,1 µm. Ilość przetwarzanego materiału w jednej partii wynosiła odpowiednio 3,5 kg i 160 kg (tryb z okresowym zasilaniem). To, co należy zaakcentować w tym miejscu recenzji, to fakt, że obróbka membranowa w skali laboratoryjnej i pilotażowej, wraz z wymaganym wstępnym przetwarzaniem i czyszczeniem, są bardzo bardzo czasochłonne i pracochłonne. Biorąc pod uwagę również fakt wykonania szerokiego zakresu analiz fizykochemicznych, należy podkreślić, że doktorantka musiał być osobą bardzo dobrze zorganizowaną i obowiązkową podczas wykonywania badań.

Kolejną częścią opracowania jest przedstawienie wyników badań, które poniżej oceniam w postaci opinii o kolejnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy.

W **publikacji 1** dokonano obszernej analizy przebiegu procesu ultrafiltracji dwóch rodzajów serwatki (słodkiej i kwaśnej) przeprowadzonej przy stałym ciśnieniu. Przedstawiono właściwości fizykochemiczne nadawy i strumieni wynikowych oraz mechanizm zarastania membran i jego modelowanie za pomocą modelu oporu szeregowego. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zawartość białka i inne cechy serwatki wpływały na przebieg procesu ultrafiltracji i całkowity opór hydrauliczny: podczas ultrafiltracji słodkiej serwatki wyższa zawartość białka przyczyniła się do bardziej intensywnego zarastania membran. Ogólnie rzecz biorąc, od pierwszych minut filtracji dominował opór wynikający z adsorpcji i polaryzacji stężeniowej, podczas gdy przyrost warstwy placka filtracyjnego był znacznie wolniejszy i stopniowy dla każdej badanej nadawy. Uzyskano dobre dopasowanie modelu oporów szeregowych, opartego na formowaniu placka filtracyjnego, polaryzacji stężeniowej i mechanizmach adsorpcji, do danych eksperymentalnych o czym świadczy wysoka wartość współczynnika determinacji R2.

Z mojego punktu widzenia najciekawszą częścią tej pracy jest szczegółowa analiza materiału osadzonego na powierzchni membrany i wewnątrz membrany w oparciu o elektroforezę SDS-PAGE. Umożliwiło to określenie, które związki odpowiadają za blokowanie membran oraz jakie frakcje białek były obecne w analizowanych miejscach. Na podstawie tych wyników stwierdzono, że α-laktoalbumina i β-laktoglobulina były głównymi czynnikami przyczyniającymi się do blokowania porów. Co więcej, różnica w zawartości minerałów i pH między dwoma rodzajami serwatki może również wpływać na zmianę strumienia permeatu podczas ultrafiltracji, co zostało dokładnie przeanalizowane i wyjaśnione przez Doktorantkę. Przeprowadzone badania zostały odpowiednio zaplanowane i wykonane, a ich wyniki przyniosły nową wiedzę w zakresie zrozumienia mechanizmu zarastania membran i ewentualnego modelowania tego zjawiska. Co więcej, wyniki można zastosować praktycznie. Mam jednak pytanie związane z tą częścią pracy:

- zgodnie z informacjami przedstawionymi w punkcie 2.5 (publikacja 1) w próbkach serwatki przed przetwarzaniem, końcowych retentatach i permeatach analizowano zawartość suchej masy, azotu ogólnego, azotu niekazeinowego, azotu niebiałkowego, i składników mineralnych. W tabelach 2 i 4 przedstawiono wyniki oznaczeń odpowiednio dla serwatki stanowiącej nadawę i retentatów. Brak jednak podobnej tabeli dotyczącej permeatów. Na podstawie tych danych, w oparciu o znane również ilości/masy nadawy, permeatów i retentatów, można wyznaczyć

współczynnik retencji poszczególnych związków po procesie UF. Jego analiza mogłaby dostarczyć w ramach dyskusji ważnych informacji na temat selektywności zastosowanej membrany. W szczególności, najbardziej interesujące byłoby wskazanie różnic w retencji między składnikami związkami azotowymi, związkami azotowymi kazeinowymi, niekazeinowymi, niebiałkowymi i minerałami.

W **publikacji 2** opisano proces mikrofiltracji maślanki jako metodę frakcjonowania białek. Podobnie jak w przypadku publikacji 1, Doktorantka szczegółowo przeanalizowała mechanizm zarastania na podstawie zmierzonych wartości strumienia permeatu i analizy zanieczyszczeń (będących przyczyną zarastania membran) zgodnie z ustaloną procedurą. Nadawę i produkty rozdziału (permeat i retentat) analizowano pod kątem szeregu właściwości fizykochemicznych obejmujących m.in. zawartość suchej masy, azot ogółem, azot niekazeinowy, tłuszcz, laktozę, zawartość wapnia. Ponadto, elektroforeza SDS-PAGE została wykorzystana do identyfikacji białek zanieczyszczających powierzchnię membrany i jej pory. Zebrane dane zostały przeanalizowane za pomocą modelu oporów szeregowych z uwzględnieniem następujących mechanizmów zarastania: adsorpcja, polaryzacja stężenia, tworzenie się placka filtracyjnego. Ponadto, zaproponowano poprawkę w postaci czynnika wielomianowego do wzrostu wykładniczego masy osadzonej na powierzchni membrany. Po procesie MF współczynnik zarastania wyniósł 0,88, co wskazuje na silne zarastanie membrany. Jak wyjaśniła Doktorantka, uzyskaną wartość trudno odnieść do wyników już opublikowanych badań ze względu na odmienne parametry eksploatacyjne i charakterystykę surowca. Jednakże, w zwięzłej dyskusji Doktorantka stwierdziła, że głównym białkiem odpowiedzialnym za zarastanie (blokowanie porów i tworzenie warstwy placka filtracyjnego) była kazeina, jak również nie można pominąć roli niektórych innych białek serum mleka o wysokiej masie cząsteczkowej. Ważnym rezultatem tej części pracy było stwierdzenie, że proces zarastania był w pełni odwracalny, ponieważ wartość strumienia wody została w pełni przywrócona po procesie MF. W przeciwieństwie do publikacji 1, tutaj Doktorantka wyznaczyła współczynnik retencji, aby przedstawić zdolność retencyjną membrany. W strumieniu retentatu zatrzymane zostały: kazeina, białka MFGM i większość tłuszczu, natomiast w przypadku α-LA i β-LG transmisja była selektywna. Doktorantka dokonała omówienia i wyjaśnienia tego zjawiska, jako przyczynę podając wstępną pasteryzację termiczną i tworzenie międzycząsteczkowych wiązań dwusiarczkowych między β-LG i κ-kazeiną. Ponieważ praca miała na celu rozdzielenie białek na dwa strumienie (retentat bogaty w kazeinę i MFGM oraz permeat bogaty w białka serum), według Doktorantki niska przenikalność białek serum mleka była poniekąd niekorzystna - prawie 63% zostało

zatrzymanych w retentacie. Jednakże, frakcja ta (permeat), która została wzbogacona w α-LA, może być również interesująca do dalszych zastosowań w żywieniu niemowląt.

Moje pytanie związane z tą publikacją:

- Jaki był współczynnik retencji (R) laktozy? Proszę wyjaśnić uzyskaną wartość, jak również, czy i w jaki sposób R zależy od czasu procesu. Czy możliwe jest uzyskanie R laktozy równego 0 przez zastosowaniu membran MF?

W tym miejscu warto wspomnieć, że wysoka wartość merytoryczna rozprawy wiąże się również z tym, że:

- po raz pierwszy określono czasową ewolucję parametrów modelu oporów szeregowych, gdy surowce były strumieniami uzyskanymi w skali przemysłowej,
- wyniki uzyskane dla dwóch różnych nadaw (serwatka i maślanka) oraz dwóch różnych metod przetwarzania (UF i MF) zostały dodatkowo porównane przez Doktorantkę w opracowaniu, w punkcie 5.3. Na podstawie tego porównania Doktorantka stwierdziła, że mechanizm tworzenia warstwy placka filtracyjnego dominował podczas MF maślanki w przeciwieństwie do UF serwatki, gdy spadek wydajności membrany spowodowany był głównie adsorpcją i polaryzacją stężeniową. Jest to wartość dodana rozprawy, poszerzająca wiedzę o różnicach w przebiegu obróbki membranowej w zależności od rodzaju surowców. Wiedza ta może być wykorzystana do usprawnienia procesów w rzeczywistych systemach przemysłowych.

Tematyka podjęta w **Publikacji 3** dotyczy waloryzacji permeatów uzyskanych podczas ultrafiltracji i diafiltracji mleka i białek serum mleka w wyniku zastosowania fermentacji beztlenowej. Permeaty potraktowano jako możliwe surowce do produkcji metanu, energii elektrycznej i ciepła. Publikacja podzielona jest na dwie części. Pierwsza z nich dotyczy fermentacji beztlenowej i określania uzysku metanu z badanych substratów. Ponadto, zbadano zależność ilości pozyskiwanego biogazu od stopnia odzysku laktozy. Ilość wyprodukowanego metanu wahała się od 149 do 181 NL na kg dodanego ChZT. Nie wykryto znaczących różnic między jednostkowym współczynnikiem produkcji metanu i szybkością reakcji między czterema substratami. Dane porównano z danymi literaturowymi, aczkolwiek warto podkreślić, że nie było to łatwe zadanie ze względu na zastosowanie innych metod wyrażania produktywności przez innych badaczy. Przeciętny skład wyprodukowanego biogazu został przedstawiony jako 69% metanu i 31% CO2. Dane te nie zostały skomentowane, więc moje pytanie to próba wyjaśnienia, czy taki skład biogazu jest typowy i przydatny do dalszego zastosowania.

Druga część niniejszej publikacji to studium przypadku możliwości zastosowania

wytworzonego biogazu do produkcji ciepła i energii elektrycznej w wielkoprzemysłowym zakładzie mleczarskim. Przyjęto, że przykładowy zakład przerabia dziennie 1200 t mleka surowego i 800 t serwatki z zastosowaniem technik membranowych (źródło permeatów do produkcji biogazu), a dodatkowo produkuje sery, jogurty i maślankę. Analiza danych doprowadziła do wniosku, że ilość wytwarzanego biometanu wystarcza na pokrycie całkowitego zapotrzebowania na ciepło i energię elektryczną wielkoprzemysłowej mleczarni. Taka możliwość ponownego wykorzystania własnych odpadów jest szczególnie ważna w dzisiejszych czasach, gdy stoimy w obliczu światowego kryzysu energetycznego.

Kolejna część rozprawy, Podsumowanie i wnioski, zawiera krótki opis najważniejszych wyników pracy, a następnie wykaz nowości, zweryfikowane hipotezy i wnioski. Prezentacja tych danych jest przejrzysta i logiczna.

Spis piśmiennictwa zawiera 109 pozycji, w większości opublikowanych w ostatnim czasie, ale także niektóre z nich są pozycjami podstawowymi opublikowanymi wcześniej. Taki dobór literatury potwierdza z jednej strony dobre przygotowanie teoretyczne i zorientowanie doktorantki w tematyce, z drugiej zaś zgodność z aktualnymi trendami badawczymi.

Drobne uwagi

Sama rozprawa doktorska (opracowanie), jak i publikacje wchodzące w jej skład zostały przygotowane na bardzo wysokim poziomie redakcyjnym. Struktura, układ i wizualizacja wyników są przejrzyste i kompleksowe. Mam tylko jeden komentarz dotyczący możliwej poprawy wizualizacji danych: P1, Fig. 2-4: byłoby lepiej, gdyby nazwy/kody β-LG i α-LA były zaznaczone bezpośrednio na zdjęciach, bez kodowania ich jako WP4 i WP5 (tak jak zrobiono to w P2, Fig. 3 i 7).

Wniosek końcowy

Moim zdaniem przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została starannie zaplanowana, wykonana i napisana. Jej wartość naukową oceniam jako bardzo wysoką. Jest to oryginalne opracowanie problemu naukowego, które wzbogaca wiedzę z zakresu technologii żywności. Ponadto, wyniki mogą być przydatne i wykorzystywane praktycznie. Rozprawa zawiera elementy naukowej nowości. Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia pogłębionych studiów literaturowych, planowania i przeprowadzania eksperymentów, interpretacji uzyskanych wyników badań, krytycznej oceny faktów i formułowania wniosków. Moim zdaniem mgr inż. Justyna Tarapata jest naukowcem w pełni przygotowanym do prowadzenia samodzielnych badań.

Podsumowując, oświadczam, że przedłożona do recenzji praca doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone 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 związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny technologii żywności i żywienia o dopuszczenie mgr inż. Justyny Tarapaty do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

.....

Dr hab. Katarzyna Samborska, prof. SGGW