

Warszawa, dnia 5.03.2018 r.

Prof. dr hab. Jacek Szczawiński

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Kamila Adamczewskiego
"Możliwości wykorzystania narzędzi mikrobiologii prognostycznej w zapewnieniu
bezpieczeństwa żywności na przykładzie produkcji masła metodą periodyczną"
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Bogusława Staniewskiego (promotor) oraz
dr hab. inż. Jarosława Kowalika (promotor pomocniczy)
w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością
Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Podstawą formalną wykonania recenzji jest Uchwała Rady Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w sprawie powołania recenzentów oraz skierowane do mnie pismo Pani Dziekan Wydziału Nauki o Żywności – prof. dr hab. Małgorzaty Darewicz (numer pisma WNoŻ-DZ.6350.8.2018) z prośbą o opracowanie recenzji rozprawy doktorskiej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma objętość 91 stron. Na początku rozprawy Autor zamieścił stronę tytułową w języku polskim i angielskim, streszczenie polskie, streszczenie angielskie i spis treści, po którym następują kolejne rozdziały rozprawy doktorskiej, tj. wstęp, cel i hipotezy pracy doktorskiej, materiał i metodyka, wyniki i dyskusja oraz literatura. Rozprawa została wydrukowana czytelnym drukiem wysokiej jakości i bardzo estetycznie oprawiona.

Temat ocenianej pracy doktorskiej jest bardzo aktualny i istotny dla higieny i technologii żywności. Wybór do badań *Listerii monocytogenes* jako drobnoustroju testowego jest w pełni uzasadniony. W ostatnich latach obserwuje się znaczne przedłużenie okresów przydatności do spożycia produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego przechowywanych w warunkach chłodniczych. W tej sytuacji, wzrasta rola chorobotwórczych drobnoustrojów zimnolubnych. Wśród bakterii psychrofilnych najbardziej groźna dla konsumentów i najbardziej kłopotliwa dla producentów żywności jest *Listeria monocytogenes*, która szczególnie często występuje w mleku i przetworach mlecznych. Powoduje ona listeriozę - chorobę, która w kilkudziesięciu procentach przypadków kończy się śmiercią. Jest ona szczególnie niebezpieczna dla kobiet w

ciąży, noworodków i osób dorosłych z osłabioną odpornością. Wprawdzie zapadalność na listeriozę w UE jest stosunkowo niska (ok. 0,3 na 100 000), to jednak wykazuje ona wyraźną tendencję wzrostową. Z powyższych względów, *L. monocytogenes*, zgodnie z rozporządzenia (WE) 2073/2005 oraz jego nowelizacją zawartą w rozporządzeniu (WE) 1441/2007, stanowi jedno z kryteriów mikrobiologicznych bezpieczeństwa żywności.

Podjęcie przez Pana mgr inż. Kamila Adamczewskiego badań nad możliwością wykorzystania mikrobiologii prognostycznej do przewidywania zachowania się *L. monocytogenes* podczas produkcji masła metodą periodyczną ma zatem istotne znaczenie dla ochrony zdrowia konsumenta i należy je ocenić w pełni pozytywnie.

Rozdział „Wstęp” obejmuje 15 stron tekstu. W pierwszej części wstępu Autor podaje informacje dotyczące bezpieczeństwa żywności, analizy ryzyka mikrobiologicznego i mikrobiologii prognostycznej, wybranych modeli prognostycznych, możliwości aplikacyjnych i oceny przydatności narzędzi mikrobiologii prognostycznej w przewidywaniu zagrożeń mikrobiologicznych oraz wykorzystaniu narzędzi prognostycznych w aspekcie wymagań norm i przepisów prawa. W drugiej części wstępu Autor przedstawia informacje dotyczące *L. monocytogenes*, opisując kolejno charakterystykę gatunku, dane dotyczące zachorowań, przypadki zanieczyszczeń żywności w branży mleczarskiej, metody eliminacji listerii z produktów spożywczych oraz możliwości adaptacyjne tych bakterii w produktach wysokotłuszczowych.

Podany we wstępie przegląd piśmiennictwa oraz jego zestawienie wskazują, że Autor posiada rozległą wiedzę na temat bezpieczeństwa żywności i związanego z nim prawa żywnościowego, mikrobiologii prognostycznej oraz problemów związanych z występowaniem *L. monocytogenes* w mleku i przetworach mlecznych. Cytowane we wstępie publikacje są właściwie dobrane i ściśle powiązane z tematem pracy. Podane informacje są aktualne, interesujące pod względem merytorycznym i dobrze usystematyzowane poprzez odpowiedni podział tekstu na podrozdziały.

Rozdział „Cel i hipotezy pracy doktorskiej” zawiera uzasadnienie podjęcia badań własnych oraz cele pracy i jej główne hipotezy.

Materiał i metodyka zostały opisane na 10 stronach tekstu pracy. Po dokładnej charakterystyce materiałów użytych w badaniach, tj. pożywek mikrobiologicznych, surowców i produktów oraz szczepów bakterii Autor szczegółowo opisuje organizację i schematy

poszczególnych doświadczeń dotyczących kolejno mleka, śmietanki, masła extra i masła smakowego. Zamieszczone w tekście schematy, prezentujące w formie graficznej sposób postępowania, bardzo ułatwiają czytelnikowi zrozumienie skomplikowanych układów doświadczalnych. Schematy poszczególnych eksperymentów świadczą o tym, że Kandydat przeprowadził bardzo starannie analizę zagrożeń mikrobiologicznych występujących podczas produkcji masła i trafnie określił etapy produkcji, na których może dojść do skażeń *L. monocytogenes*, a następnie dokonał starannie przemyślanego wyboru surowców, półproduktów i produktów, w których należy określić zachowanie się tej bakterii podczas przechowania w różnych temperaturach.

W dalszej części rozdziału „Materiał i metodyka” Doktorant opisuje hodowlę i oznaczanie *L. monocytogenes* w badanych produktach, sposób zanieczyszczania i przechowywania próbek, dodatkowe oznaczenia związane z analizą składu chemicznego poszczególnych produktów oraz analizę matematyczną uzyskanych wyników.

Każdy z 10 badanych produktów był sztucznie skażony *L. monocytogenes* i przechowywany w temperaturze 3, 6, 9, 12 i 21°C. W określonych odstępach czasu, zależnych od wariantu doświadczenia, oznaczano liczbę *L. monocytogenes*. Niektóre produkty, np. masło skażone na etapie pakowania, przechowywano przez 1500 godzin. Każde doświadczenie wykonywano w trzech powtórzeniach, badając próbki z trzech różnych partii produkcyjnych. Autor musiał zatem wykonać setki trudnych ilościowych oznaczeń *L. monocytogenes*, a oprócz tego przeprowadzał szereg innych oznaczeń i czynności związanych z realizacją zaplanowanych eksperymentów. Przytoczone dane świadczą o wyjątkowej pracowitości i czasochłonności wykonanych badań.

Podobnie dużo wysiłku kosztowała Autora analiza wyników. Dla każdego produktu i każdej temperatury przechowywania próbek Doktorant wygenerował pierwszorzędowe modele wzrostu *L. monocytogenes* według równania Baranyi i Robertsa wykorzystując aplikację DMFit. Następnie z platformy ComBase Predictor wygenerował prognozowane modele wzrostu przy wprowadzeniu do programu warunków fizyko-chemicznych odpowiadających badanym produktom. W efekcie uzyskał obserwowane i prognozowane współczynniki tempa wzrostu μ dla każdego wariantu doświadczenia. Oceny dopasowania modeli pierwszorzędowych dokonał przez obliczenie wartości błędu średniokwadratowego MSE. Następnie dokonał walidacji graficznej i matematycznej uzyskanych modeli. Do

walidacji graficznej wykorzystał wykresy przedstawiające prognozowane i obserwowane współczynniki tempa wzrostu. Walidacji matematycznej dokonał poprzez wyliczenie współczynników odchylenia Bf (z ang. Bias factor) oraz dokładności Af (z ang. Accuracy factor). W tekście pracy Autor zamieścił również wykresy uzyskane z modelu drugorzędowego Ratkowskiego, wykreślone za pomocą programu do analizy regresji nieliniowej NLREG (z ang. Nonlinear Regression Analysis and Curve Fitting Program). Krzywe zaprezentowane na tych wykresach umożliwiają ocenę zależności między temperaturą i tempem wzrostu *L. monocytogenes* w poszczególnych produktach.

Podsumowując można stwierdzić, że część eksperymentalna pracy została zaplanowana w sposób pomysłowy i logiczny, a przyjęte metody badań zostały właściwie dobrane do realizacji celów, które wytyczył sobie Autor.

Rezultaty badań zostały przedstawione w rozdziale „Wyniki i dyskusja” na 72 rysunkach i w 10 tabelach oraz opisane w tekście odpowiednich podrozdziałów. Na uznanie zasługuje solidne udokumentowanie wyników. Pozytywnie należy ocenić logiczny układ poszczególnych rysunków i tabel oraz ich umiejętne rozmieszczenie w tekście pracy, ułatwiające czytelnikowi śledzenie opisywanych przez Autora zależności.

Na podstawie uzyskanych wyników Autor wysuwa logiczne i w pełni uzasadnione wnioski.

Silną stroną pracy jest obszerny i bardzo aktualny spis piśmiennictwa. Zawiera on 101 pozycji ściśle związanych z tematem pracy doktorskiej. W większości są to prace oryginalne opublikowane w renomowanych czasopismach w języku angielskim.

Spełniając obowiązek recenzenta powinienem również wskazać ujemne strony ocenianej rozprawy doktorskiej, co w tym przypadku nie jest sprawą łatwą, ponieważ badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej zostały wykonane bardzo solidnie pod względem metodycznym, a opis pracy został starannie przygotowany.

Niemniej jednak pewne zastrzeżenia głównie o charakterze redakcyjnym mogą budzić sprawy następujące:

- jednym z głównych celów badań było określenie możliwości wzrostu *L. monocytogenes* w mleku, śmietance, maślanie i maśle produkowanym metodą periodyczną, jednak nazwa tego drobnoustroju nie pojawia w tytule rozprawy, co może sprawić, że osoby

zainteresowane tym patogenem nie dotrą do ciekawych informacji podanych w pracy doktorskiej;

- rozdział „Cel i hipotezy pracy doktorskiej” zawiera dosyć obszerne uzasadnienie podjęcia badań własnych, które z powodzeniem mogłoby zostać przeniesione do rozdziału „Wstęp”;

- w rozdziale „Wyniki i dyskusja” występuje fragmentu tekstu, które powinny być umieszczone w rozdziale „Materiał i metodyka”;

- rozdział „Wyniki i dyskusja” jest za bardzo rozbudowany i zawiera głównie wyniki i ich omówienie, stosunkowo niewiele elementów dyskusji oraz na końcu podsumowanie i wnioski. Uważam, że podział omawianego tekstu na trzy odrębne rozdziały, tj. „Wyniki i ich omówienie”, „Dyskusja” i „Wnioski” uczyniłby rozprawę bardziej przejrzystą;

- tabele od 1 do 10 są identycznie zatytułowane: „Współczynniki poprawności dopasowania modelu Ratkowskiego do danych eksperymentalnych.” Wprawdzie lokalizacja tabel w odpowiednich podrozdziałach umożliwi czytelnikowi zorientowanie się jakiego produktu dotyczą wyniki podane w poszczególnych tabelach, to jednak bardziej poprawne byłoby podanie tych informacji w samych tytułach tabel, podobnie jak uczynił to Autor w tytułach wykresów;

- zarówno cele jak i wnioski pracy są sformułowane poprawnie, ale brakuje między nimi pełnej zgodności.

W kilku miejscach tekstu zauważyłem następujące drobne błędy literowe lub niezręczne sformułowania:

- na str. 5, w wierszu 4, w streszczeniu angielskim jest „contamination raw naterials”, a powinno być „contamination of raw naterials”;

- na str. 5, w streszczeniu angielskim *Listeria monocytogenes* jest napisana w jednym miejscu kursywą, a w trzech innych miejscach tekstu normalną czcionką;

- na str. 5, w wierszu 12 jest „was perform”, a powinno być „was performed”;

- na str. 5, w wierszu 19 brakuje odstępów przed nawiasem;

- na str. 11, w wierszu 9 jest „To – temperatura koncepcyjna [°C], nie mając znaczenia metabolicznego”. Chyba powinno być „nie mająca znaczenia metabolicznego”.

- na str. 15, w wierszu 16 jest „zwiększenia ryzyka istniejącego ryzyka”, a powinno być „zwiększenia istniejącego ryzyka”;

- na str. 29, w wierszu 2 jest „Podczas doświadczalnej produkcji masła...”, a powinno być „Podczas doświadczalnej produkcji masła...”;
- na stronie 32, w punkcie 3.2.3 na końcu podtytułu jest kropka;
- na stronie 41, w wierszu 17 jest stwierdzenie „nie zaobserwowano czasu trwania lagfazy”, a może lepiej byłoby „nie zaobserwowano występowania lagfazy”;
- na stronie 53, na końcu tytułu rysunku 27 jest niepotrzebny nawias.

Wszystkie wymienione powyżej niewielkie usterki redakcyjne i drobne błędy mogą być łatwo usunięte podczas przygotowania pracy do publikacji i nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej, którą oceniam bardzo pozytywnie.

W wyniku szeroko zakrojonych badań Autor uzyskał wiele wartościowych wyników zarówno pod względem poznawczym jak i użytkowym. Do osiągnięć Autora istotnych zarówno dla producentów mleka i przetworów mlecznych jak i służb kontrolnych można zaliczyć:


- wykazanie, że w mleku surowym, mleku pasteryzowanym, śmietance pasteryzowanej, maśle bez dodatków smakowych i maślanie możliwy jest wzrost *Listeria monocytogenes* w zakresie temperatur od 3 do 21°C;
- stwierdzenie, że *Listeria monocytogenes* namnaża się w poprodukcyjnych, co może mieć negatywny wpływ na stan sanitarno-higieniczny zakładu;
- stwierdzenie, że rozwój *L. monocytogenes* może być zahamowany poprzez dodatek granulatu czosnkowego (8,4%) i NaCl (1,9%) do masła produkowanego metodą periodyczną ze śmietanki skażonej tym drobnoustrojem oraz wykazanie, że w przypadku masła zanieczyszczonego *L. monocytogenes* na etapie pakowania efekt zahamowania wzrostu tej bakterii przez dodatki smakowe występuje tylko w niskich temperaturach, w granicach 3-9°C;
- wykazanie przydatności programu DMFit do generowania pierwszorzędowych modeli wzrostu bakterii na podstawie uzyskanych wyników badań własnych oraz platformy ComBase Predictor do generowania prognoz teoretycznych w oparciu o znajomość właściwości fizykochemiczne produktu;
- stwierdzenie, że dokładność generowanych prognoz w przypadku produkcji masła metodą periodyczną jest większa, jeżeli korzysta się z aplikacji prognostycznych uwzględniających wyniki badań prowadzonych na konkretnych produktach.

Uzyskane przez Kandydata wyniki stanowią oryginalny i istotny wkład do krajowego i międzynarodowego piśmiennictwa w zakresie wykorzystania mikrobiologii prognostycznej do zapewnienia bezpieczeństwa żywności i mają istotne znaczenie dla ochrony zdrowia konsumenta.

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata, a także Jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy badawczej. Tym samym praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r., poz. 1852 ze zm. w Dz. U. z 2015 r. poz. 249)

W związku z powyższym przedstawiam Radzie Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie jej Autora – mgr inż. Kamila Adamczewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na nowatorski charakter oraz dużą pracowitość i szeroki zakres wykonanych badań, a przede wszystkim ze względu na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników, uprzejmie proszę Wysoką Radę o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej.


Prof. dr hab. Jacek Szczawiński