

Prof. dr hab. Stanisław Mleko

Lublin, 1 sierpień 2019 r.

Zakład Technologii Mleka i Hydrokoloidów

Katedra Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Doroty Krzykowskiej pt.: "Kontrola procesu żelowania mikropartykułowanych białek serwatkowych poprzez badanie właściwości reologicznych" wykonanej w Katedrze Inżynierii i Aparatury Procesowej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
pod opieką Promotora Pana dr. hab. inż. Tomasza Kiljańskiego
i Promotora pomocniczego Pana dr. inż. Grzegorza Proboli

Do oceny przedstawiono pracę w postaci wydruku komputerowego. Tekst pracy został zawarty na 109 stronach. Rozprawa dotyczy otrzymywania mikrokoagulatów białek serwatkowych. Jako materiał wyjściowy zastosowano koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 80%. Sporządzano roztwory o zawartości 4-10% białka, które następnie ogrzewano w łaźni wodnej w temperaturze 80 °C przez 30 minut. Otrzymany produkt zakwaszano przy użyciu laktonu kwasu D-glukonowego i następnie poddawano procesowi mikrokoagulacji przy użyciu wysokociśnieniowego homogenizatora lub skrobakowego wymiennika ciepła. Koncepcja pracy polega na tym, że wstępnie zdenaturowane białka będące roztworami zawierającymi częściowo skoagulowane białka poddaje się procesowi "żelowania na zimno" (cold gelation - popularnie stosowana nazwa tego procesu w literaturze anglojęzycznej) przez zakwaszanie, które powoduje ekranowanie ujemnych ładunków na powierzchni białek przez jony hydroniowe. Tak otrzymane żel poddaje się działaniu sił ścinających powodujących rozbitcie żelu na agregaty o wielkości niewyczuwalnej w ustach, które można stosować jako imitację tłuszczu.

Podstawowy problem na który napotykamy się podczas analizy tej rozprawy stanowi fakt, że materiał użyty do badań sprawia, że koncepcja pracy jest błędna. Przy użyciu koncentratu białek serwatkowych o zawartości białka 80% nie da się przeprowadzić procesu żelowania "na zimno". Wyjątek stanowią bardzo drastyczne wartości pH roztworu, które nie mają praktycznego wykorzystania w produkcji żywności. Roztwory używanego koncentratu w wodzie destylowanej, które Doktorantka stosowała, żelują już przy stężeniu 5-6%

podczas ogrzewania w 80 °C przez 30 min. Potwierdzają to wyniki badań reologicznych przedstawione w pracy (Rys. 19), gdzie tangens kąta stratności wynosił od 0,37 do 0,23, co świadczy o otrzymaniu żelu. W naszym laboratorium wykonano wiele badań przy użyciu takiego samego materiału od tego samego producenta i wykazano również tworzenie się żelu w identycznych warunkach ogrzewania. Ogrzewanie takich roztworów w łaźni wodnej w temperaturze 80 °C przez 30 minut jest bowiem standardową procedurą. Tak więc w rzeczywistości Doktorantka otrzymywała żele pod wpływem ogrzewania, następnie po dodaniu laktonu kwasu D-glukonowego i wymieszaniu doprowadzała do zniszczenia struktury żelowej, która następnie odbudowywała się w warunkach niższego pH.

Ten pierwszy zarzut w kontekście całej pracy jest do przewyższenia. Można bowiem przeprowadzać taką procedurę. Nie jest to jednakże klasyczny proces żelowania na zimno, tylko powtórnego żelowania po zniszczeniu pierwotnej struktury żelu. Należy wobec tego poprawić pod tym kątem całą pracę (koncepcję pracy, przegląd literatury, dyskusję). Drugim podstawowym mankamentem koncepcji tej pracy jest cel. Proces mikrokoagulacji jest dobrze poznanym procesem. Jedynym możliwym do zaakceptowania celem tych badań jest porównanie dwóch metod mikrokoagulacji w celu otrzymania produktu imitującego stały tłuszcz. Praca staje się wtedy poznawcza i użyteczna. Tymczasem w pracy nie ma analizy tekstury finalnego produktu. Powinna ona być wykonana zamiast reologii rotacyjnej czyli wyznaczania krzywych płynięcia. Nie ma analizy sensorycznej, albo przynajmniej organoleptycznej. Te dwie analizy należy powiązać z analizą wielkości cząstek mikrokoagulatów i wykazać która metoda przeprowadzania procesu mikrokoagulacji jest lepsza i jakie warunki procesu są najlepsze. Należy zwrócić uwagę na to, jakiej wielkości cząstki w produkcie końcowym nie są wyczuwalne w ustach. W pracy brakuje więc najważniejszych badań a tymczasem wykonano takie, które służą tylko do zwiększenia objętości pracy (analiza mikrostruktury proszku WPC czy też właściwości pianotwórcze i emulgacyjne jego roztworów). Badania dotyczą roztworów tego koncentratu a więc po otrzymaniu dyspersji mikrostruktura proszku znika i nie ma żadnego wpływu na wyniki badań. Właściwości pianotwórcze i emulgacyjne nie mają żadnego związku z tematem pracy. Można oczywiście pozostawić je w pracy.

Układ pracy, kompletność rozdziałów

Rozdział 2 "Zagadnienie w świetle literatury" powinien nosić nazwę "Przegląd literatury". W rozdziale tym brakuje w podrozdziale 2.8.1. jakiegokolwiek opisu badań prowadzonych wcześniej na białkach serwatkowych jeżeli chodzi o mikrokoagulację. Dotyczy to również rozdziału 7 "Wyniki i dyskusja". Doktorantka nie cytuje ani jednej pracy dotyczącej mikrokoagulacji. Wszystkich cytowanych prac w dyskusji jest 7. Doktorantka omawia po kilka stron wyników bez jednego odniesienia do literatury (np. od strony 70 do 76 bez żadnego cytowania, od strony 90 do 100 bez żadnego cytowania). Rozprawa wygląda tak, jakby nikt przed Doktorantką nie otrzymywał wcześniej mikrokoagulatów z białek serwatkowych. Tymczasem takich publikacji są co najmniej dziesiątki. Również jest wiele prac dotyczących zakwaszania i mikrokoagulacji. Recenzent również zajmował się tym zagadnieniem w latach 90. Owocem tego było kilka prac począwszy od "Obtaining a fat substitute by microcoagulation of a whey protein isolate and a whey protein concentrate", Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 1996. Podobnie jak Doktorantka ogrzewając zakwaszone roztwory między innymi WPC80 otrzymano mikrokoagulatory przy użyciu procesu homogenizacji.

Rozdział 4 powinien być rozdziałem "Materiał i metody". Doktorantka dokonała jego rozbicia na kilka innych zaciemniając i komplikując całą treść. Dodatkowo stosuje "wstępy", które powinny znajdować się w rozdziale "Przegląd literatury". Kolejność analiz jest chaotyczna a opisy niedokładne. Nie wiadomo czasami o jakie próbki chodzi. Bardzo dobrze że Doktorantka przedstawiła schemat postępowania na stronie 61, gdyż bez niego trudno byłoby uchwycić kiedy i jakie analizy były wykonywane. W rozdziale 7 "Wyniki i dyskusja" wyniki przedstawione są w sposób bardzo chaotyczny. Na początku tego rozdziału Doktorantka omawia właściwości reologiczne końcowego produktu, aby kilka podrozdziałów dalej powrócić do właściwości reologicznych produktów po wstępnym ogrzaniu. Często omawia wspólnie produkty po wstępnym ogrzewaniu i końcowe, co utrudnia porównanie odpowiednich próbek. W pracy brak jest tabeli zestawiającej wyniki analiz ze strony 59.

Wnioski z pracy na skutek błędnego celu pracy są w większości stwierdzeniami oczywistych prawd. Parafrazując: czym większe stężenie białka tym lepsze właściwości reologiczne a czym intensywniejsze ścinanie tym właściwości gorsze. Jeżeli chodzi o inne wnioski, to wpływ substancji zakwaszającej jest trudny do oceny, gdyż Doktorantka żelowała zniszczone żele. Przy okazji, Doktorantka cały czas używa wyrażenia

"koncentracja" zamiast "stężenie" i wyraża go czasami w takich jednostkach jak g/100 g roztworu (czyli powinno być procenty!) lub procenty na 100 g roztworu (???)

Literatura, jak wskazano wcześniej, nie zawiera ani jednej publikacji związanej ściśle z tematem pracy (czyli mikrokoagulacją zakwaszanych roztworów białek serwatkowych). Spis publikacji jest wykonany nieuważnie. Wiele zacytowanych prac nie znajduje się w spisie literatury. Streszczenie pracy zawiera szereg błędów merytorycznych. Doktorantka krytykuje denaturację białek a sama w swojej pracy zaczyna proces od wstępnej denaturacji.

W pracy jest bardzo dużo błędów szczegółowych. Podam tylko jeden przykład. Opisując metodę analizy reologicznej napisano iż „wykonano tzw. przemieszczanie amplitudą” (str. 63). Amplituda jest to różnica pomiędzy jakąkolwiek największą a najmniejszą zmierzoną wartością. Tymczasem w pracy nie podano o jaką wielkość fizyczną chodzi. W dalszej części tekstu jest napisane, iż zostało to przeprowadzone w zakresie naprężeń 1-10 Pa, a więc nie dokonano klasycznego przemieszczania odkształceniem w celu wyznaczenia wartości pomiarowej tej wielkości. Następnie podano, że dokonywano pomiarów przemieszczania częstotliwością przy wybranej wartości odkształcenia 0,5%. W jaki sposób wybrano taką wartość, skoro dokonano przemieszczania naprężeniem od 1 do 10 Pa, a nie odkształceniem.

Wniosek końcowy

Z uwagi na powyższe zarzuty praca w przedstawionej do recenzji wersji jest nie do zaakceptowania. Rozprawa wymagała jednakże dość dużego nakładu pracy laboratoryjnej. Otrzymano wartościowe wyniki, które po dodaniu analizy końcowego produktu mogą mieć znaczące walory poznawcze i aplikacyjne. Poprawę i uzupełnienie rozprawy doktorskiej umożliwia Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. W punkcie 6 paragrafu 6 czytamy: "Recenzja może zawierać wnioski dotyczące uzupełnienia lub poprawy rozprawy doktorskiej, które rada jednostki organizacyjnej przeprowadzającej przewód doktorski przekazuje kandydatowi i promotorom, o których mowa w § 2 ust. 1 i ust. 2 pkt 1 i 2. Uzupełnioną lub poprawioną rozprawę doktorską kandydat przedkłada radzie jednostki organizacyjnej przeprowadzającej przewód doktorski, która kieruje ją do ponownej oceny przez tych samych recenzentów.

Recenzenci przedstawiają recenzję uzupełnionej lub poprawionej rozprawy doktorskiej w terminie miesiąca od dnia zlecenia sporządzenia tej recenzji".

Wnioski dotyczące uzupełnienia i poprawy prezentowanej do oceny rozprawy doktorskiej

1. Zmiana koncepcji pracy w kierunku porównania dwóch metod otrzymywania mikrokoagulatów. Należy wykazać która daje lepszy produkt i która byłaby bliższa aplikacji przemysłowej.
2. Na podstawie rysunku 19 stwierdzić, iż używając stosowanego koncentratu nie da się przeprowadzić procesu żelowania "na zimno", gdyż już po wstępnym ogrzaniu i ochłodzeniu tych roztworów otrzymano żele.
3. Wybrać po trzy próbki z każdej z dwóch metod otrzymywania mikrokoagulatów i te trzy próbki przeanalizować przy użyciu teksturometru. Metodyka w pracy Jakubczyk i inni, 2014. CHARAKTERYSTYKA TEKSTURY WYBRANYCH MIKSÓW TŁUSZCZOWYCH. Przeprowadzić analizę organoleptyczną lub sensoryczną tych sześciu finalnych produktów.
4. Porównać powyższe analizy z analizą wielkości cząstek mikrokoagulatów.
5. Poprawić układ pracy według powyższych uwag (poprzenosić fragmenty, zmienić kolejność prezentacji wyników w logiczny ciąg).
6. Pewne opisy w metodyce są niezrozumiałe. Czego dotyczy na przykład podrozdział 5.2.4?
7. Dodać podrozdział w "Przeglądzie literatury" dotyczący obecnego stanu wiedzy na temat otrzymywania i właściwości mikrokoagulatów na bazie białek serwatkowych ze szczególnym uwzględnieniem procesów z zakwaszaniem. Należy wyszukać i wykorzystać minimum 15 takich publikacji. Odszukać publikacje traktujące o procesie żelowania białek serwatkowych przez podwójne ogrzewanie (double heated) i dodać je do przeglądu literatury. Wszystkie te publikacje następnie wykorzystać do poprawy rozdziału "Wyniki i dyskusja" tak aby wszystkie otrzymane wyniki były dyskutowane z wynikami otrzymanymi przez innych autorów. Na prawie każdej stronie powinno być po kilka cytowań, co oczywiście nie jest regułą, ale pewnym wskazaniem określającym stopień prezentowanej dyskusji.
8. Dokładnie przeanalizować odnośniki literaturowe i spis publikacji aby była zgodność cytowań ze spisem.

9. Poprawić rysunki aby były bardziej czytelne.

10. Poprawić błędy merytoryczne i stylistyczne. Wskazuję tylko na kilka. Nie można na przykład pisać: "krzywe lepkości agregatów". Agregaty nie mają właściwości reologicznych tylko ich roztwory. Lepiej byłoby pisać po prostu "wstępnie ogrzewanych roztworów koncentratu". Albo wykres 21: "podczas żelowania na zimno za pomocą roztworów agregatów". Powinno być "za pomocą czynnika zakwaszającego" a nie roztworów. Tabela 6 - co to jest "stężenie próbki", powinno być "zawartość białka w próbce".

Kierownik Zakładu

Prof. dr hab. Stanisław Mleko

Stanisław Mleko