



Olsztyn, 12/2/2025 r.

Dr hab. inż. Marek Adam Aljewicz, prof. UWM
Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Recenzja rozprawy doktorskiej

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Kowalczyk pt. „ Wpływ dodatku błonnika i różnych szczepów probiotycznych na przeżywalność bakterii, biodostępność makroelementów oraz jakość lodów z mleka owczego”, wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Agaty Znamirowskiej - Piotrowskiej, prof. UR. oraz dr inż. Małgorzaty Pawłos.

Podstawą wykonania niniejszej recenzji było pismo prorektora ds. Kolegium Nauk Przyrodniczych, dr hab. Józefa Cebulskiego, prof. UR (CN/167/2024/Z) z dnia 19/12/2024 oraz Uchwała 40/12/2024 Rady Naukowej Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego z dnia 9 grudnia 2024 w sprawie wyznaczenia recenzentów we wszczętym przewodzie doktorskim mgr inż. Magdaleny Kowalczyk.

Ocena formalna dorobku naukowego

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska obejmuje 91-stronicowe opracowanie, które zawiera m.in. streszczenie w języku polskim i angielskim (5 stron), wykaz stosowanych skrótów (2 strony), wstęp (5 stron), cel pracy (1 strona), materiał i metody (2 strony), wyniki i dyskusję (42 strony), wnioski (2 strony), bibliografię (19 stron), spis wykresów i schematów (2 strony) oraz listę aktywności naukowych doktorantki (4 strony). Układ pracy jest logiczny i spójny, co ułatwia czytelnikowi śledzenie kolejnych etapów badań i uzyskanych wyników. Tytuł rozprawy doktorskiej „Wpływ dodatku błonnika i różnych szczepów





probiotycznych na przeżywalność bakterii, biodostępność makroelementów oraz jakość lodów z mleka owczego” precyzyjnie odzwierciedla tematykę badań opisanych w pracy.

Doktorantka jest współautorką dziewięciu anglojęzycznych publikacji naukowych, opublikowanych w latach 2020–2024 w czasopismach naukowych z listy Journal Citation Reports, takich jak *Molecules*, *Foods*, *Animals*, *Nutrients*, *Journal of Microbiology*, *Biotechnology and Food Science*. Ponadto, jest współautorką dwóch polskojęzycznych publikacji opublikowanych w czasopiśmie *Żywność, Nauka, Technologia Jakość* oraz dziesięciu rozdziałów w monografiach naukowych. Wyniki jej badań były prezentowane na szesnastu konferencjach naukowych, co świadczy o jej aktywności badawczej i zaangażowaniu w rozwój dyscypliny naukowej. Wszystkie publikacje zostały przyporządkowane do dyscypliny naukowej technologia żywności i żywienia. Wskaźniki bibliometryczne publikacji wchodzących w skład dysertacji obejmują sumaryczny impact factor wynoszący 20,361 oraz łączną liczbę punktów zgodnie z listą MNiSzW wynoszącą 480. W ujęciu całościowym dorobek naukowy doktorantki wynosi 1300 punktów, co potwierdza jej wysoką aktywność naukową.

Wszystkie publikacje wchodzące w skład dysertacji są współautorskie, a w ich opracowaniu uczestniczyli m.in. promotor rozprawy oraz promotor pomocniczy. We wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem i zgodnie z jej oświadczeniem, była odpowiedzialna za opracowanie koncepcji badań, prowadzenie eksperymentów oraz przygotowanie manuskryptów. W autoreferacie nie zamieszczono informacji o odbytych stażach naukowych, co mogłoby stanowić istotny element wzbogacający dorobek doktorantki w kontekście międzynarodowej współpracy badawczej.





Uzasadnienie podjęcia tematu

Badania nad zastosowaniem błonnika i probiotyków w lodach na bazie mleka owczego stanowią istotny obszar naukowy dyscypliny technologia żywności i żywienia, specjalności technologia mleczarska. Probiotyki, ze względu na ich korzystny wpływ m.in. na mikroflorę jelitową, stanowią kluczowy element żywności funkcjonalnej, jednak ich skuteczność w produktach mrożonych wciąż budzi wątpliwości. W literaturze naukowej podkreśla się, że procesy zamrażania i przechowywania mogą istotnie wpływać na przeżywalność kultur bakteryjnych, co wymaga dalszych badań nad optymalizacją ich stabilności w matrycy lodowej. Ponadto, wpływ błonnika na przeżywalność probiotyków oraz biodostępność składników mineralnych w lodach pozostaje słabo poznany. Dotychczasowe prace sugerują, że niektóre polisacharydy mogą wykazywać właściwości ochronne wobec bakterii, jednak ich skuteczność w produktach mrożonych nie została jednoznacznie potwierdzona. W związku z powyższym, badania w tym obszarze wydają się uzasadnione i celowe, szczególnie w kontekście projektowania innowacyjnych, prozdrowotnych produktów funkcjonalnych.

Ocena merytoryczna pracy

Wstęp rozprawy doktorskiej zawiera szeroką analizę mleka owczego jako surowca o wysokiej wartości odżywczej oraz jego potencjalnego zastosowania w przemyśle mleczarskim. Autorka prawidłowo podkreśliła, że mleko owcze charakteryzuje się wyższą zawartością białka, tłuszczu oraz makroelementów w porównaniu do mleka krowiego, co może stanowić istotny atut w produkcji żywności funkcjonalnej. Wskazano również na jego potencjalne właściwości prozdrowotne, takie jak działanie antyoksydacyjne oraz niższa alergenicność w porównaniu do mleka krowiego. Zasadniczym elementem wstępu jest omówienie rosnącego zapotrzebowania na żywność zawierającą kultury probiotyczne lub potencjalnie probiotyczne oraz znaczenia błonnika pokarmowego jako składnika o właściwościach prebiotycznych. Wskazano, że spożycie błonnika w diecie współczesnych konsumentów jest niewystarczające, co uzasadnia potrzebę





wzbogacania produktów mlecznych w ten składnik. Wstęp zawiera również przegląd dostępnych badań dotyczących probiotyków oraz ich wpływu na mikroflorę jelitową, co jest zgodne z aktualnymi trendami. Stwierdzenie, że bakterie probiotyczne to szczepy wykazujące określone oddziaływanie czy przeżywalność w badaniach *in vitro*, jest niewystarczające, ponieważ nie uwzględnia pełnego obrazu ich funkcjonalności i skuteczności.

Pomimo szerokiego ujęcia problematyki, we wstępie zabrakło odniesienia się doktorantki do ekonomicznych i rynkowych aspektów wykorzystania mleka owczego w produkcji lodów. Wysoka cena tego surowca oraz jego ograniczona dostępność mogą stanowić wyzwanie dla komercyjnego wdrożenia. Dodatkowo, nie uwzględniono analizy potencjalnych barier technologicznych związanych z produkcją tzw. lodów probiotycznych na bazie mleka owczego z polisacharydami, tj. stabilność struktur białkowo-tłuszczowych czy zachodzące w procesie zamrażania interakcje pomiędzy składnikami.

W tekście, pomimo zawarcia wielu istotnych informacji, miejscami charakteryzuje się zbyt dużą liczbą skrótów myślowych, co ogranicza jego przejrzystość i utrudnia odbiór przez czytelnika. Przykładowo, na stronie 10 znajduje się zdanie: „aktywność biologiczna egzopolisacharydów jest związana z zawartością wapnia, co również ma wpływ na przeżywalność komórek probiotycznych w przewodzie pokarmowym.” Informacja ta mogłaby być istotna, jednak nie została rozwinięta, co sprawia, że jej znaczenie dla czytelnika pozostaje niejasne. W końcowej części wstępu autorka omawia zagadnienia związane z biodostępnością składników mineralnych. Wskazano, że biodostępność wapnia wynosi średnio 30–40%, jednak nie podano, do jakich produktów odnosi się ta wartość. Jest to istotne, ponieważ biodostępność wapnia może wahać się od 10 do 80% w zależności od składu produktu i zastosowanych procesów technologicznych. Pominięcie tej informacji powoduje, że czytelnik nie uzyskuje pełnego obrazu mechanizmów regulujących biodostępność tego makroelementu.





Dokładne przeanalizowanie literatury umożliwiło wyznaczenie luk informacyjnych w tematyce przedmiotu oraz umożliwiło postawienie hipotez badawczych i wyznaczenie celu głównego, którym było zbadanie możliwości zastosowania czterech komercyjnie dostępnych szczepów bakterii sprzedawanych jako kultury probiotyczne (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12, *Lactocaseibacillus paracasei* L-26, *Lactocaseibacillus casei* 431, *Lactobacillus acidophilus* LA-5) oraz jednego potencjalnie probiotycznego *Lactocaseibacillus rhamnosus* w produkcji wzbogaconych o inulinę i błonnik jabłkowy lodów z mleka owczego. Należy jednak zauważyć, że zastosowany w badaniach szczep *Lactocaseibacillus rhamnosus* nie posiadał konkretnego numeru identyfikacyjnego, co oznacza, że może być określany jako szczep potencjalnie probiotyczny, a nie probiotyczny. Brak tych informacji w całej pracy sugeruje, że nie jest to błąd edytorski.

W pracy sformułowano siedem hipotez badawczych, odnoszących się do całości przeprowadzonych i zaprezentowanych badań. W wielu przypadkach hipotezy zostały sformułowane w sposób zbyt ogólny. Na przykład hipoteza H1: „zastosowanie różnych szczepów bakterii probiotycznych kształtuje cechy fizykochemiczne i organoleptyczne lodów z inuliną” odnosi się wyłącznie do inuliny, pomijając błonnik jabłkowy, który również był przedmiotem badań. W związku z tym zasadne byłoby wyjaśnienie, dlaczego w tej hipotezie uwzględniono tylko jeden z badanych dodatków. Należy uwzględnić oba dodatki, aby hipoteza odzwierciedlała rzeczywisty zakres badań. Podobne nieścisłości występują w hipotezach H3 i H5, w których użyto sformułowania „rodzaj zastosowanych błonników”. Termin ten odnosi się do szerokiej gamy dodatków funkcjonalnych, a nie tylko tych konkretnych, które zostały wykorzystane w badaniach. Doprecyzowanie tej kwestii pozwoliłoby uniknąć niejasności interpretacyjnych. Natomiast, w hipotezie H6, tj. „przeżywalność bakterii w układzie pokarmowym zależy od zastosowanego szczepu probiotycznego” należy zaznaczyć, że doktorantka nie badała przeżywalności czystych kultur bakterii dostępnych w suplementach tylko w produkcie jakim są lody. Precyzyjne sformułowanie tej hipotezy pozwoliłoby uniknąć nadinterpretacji wyników.





W sekcji "Materiał i metody" przedstawiono w ogólny sposób opis zastosowanych surowców i metod badawczych. Dokładnie wyszczególniono zastosowane odczynniki chemiczne oraz zaprezentowano schemat technologii produkcji lodów w formie graficznej. We wszystkich częściach pracy doktorantka podaje, że badano wpływ dodatku błonnika jabłkowego, co jest nieprecyzyjne, gdyż w rzeczywistości badano preparat błonnika jabłkowego, w którym sam błonnik stanowił zaledwie 51%. Oznacza to, że rzeczywista zawartość samego błonnika jabłkowego w mieszankach lodowych była istotnie niższa, niż wskazano w opracowaniu. Jest to kluczowy aspekt, który powinien zostać doprecyzowany, ponieważ wpływa na interpretację uzyskanych wyników. W autoreferacie oraz publikacjach nie przedstawiono wg jakich kryteriów dokonano wyboru preparatów oraz ich ilości. W związku z tym proszę doktorantkę o przedstawienie ww. kryteriów podczas publicznej obrony dysertacji. Brakuje również informacji dotyczących kryteriów doboru poszczególnych szczepów, co stanowi istotny brak w opisie metodyki badań. W związku z tym, zasadne byłoby odniesienie się doktorantki do tej kwestii. Ponadto, z uwagi na fakt, że przedmiotem badań były lody, czyli produkt o długim okresie przydatności do spożycia, niejasne jest, dlaczego ocena ich wybranych właściwości funkcjonalnych – w tym liczebności bakterii – została przeprowadzona jedynie po 7 i 21 dniach przechowywania w warunkach zamrażalniczych. Brak analiz obejmujących dłuższy okres przechowywania utrudnia ocenę przeżywalności szczepów probiotycznych i ich potencjalnego wpływu, który mógłby wystąpić po spożyciu produktu.

W kolejnej części manuskryptu, doktorantka przedstawiła syntetyczny opis wyników i osiągnięć badawczych. W rozprawie przedstawiono szczegółową analizę wyników badań dotyczących wpływu preparatów błonnika i stosowanych kultur bakterii na właściwości funkcjonalne lodów na bazie mleka owczego. Analiza wpływu bakterii probiotycznych na cechy lodów wykazała, że kultura *Lactocaseibacillus casei* 431 w lodach z dodatkiem preparatu błonnika jabłkowego istotnie obniżyła pH lodów po 14 dniach przechowywania. Jest to wynik interesujący, gdyż w temperaturach ujemnych (w doświadczeniu -22°C) metabolizm





bakterii, w tym probiotycznych ulega zahamowaniu. W związku z tym, zasadne jest wyjaśnienie podczas obrony, dlaczego ten szczep wykazywał wysoką aktywność metaboliczną podczas przechowywania. W podsumowaniu doktorantka napisała, że „trójczynnikiowa analiza wariancji wykazała, że rodzaj bakterii probiotycznych w istotny sposób wpływa na wartość pH i zawartość kwasu mlekowego w mieszankach lodowych”, co w istocie jest błędnym zapisem z uwagi na stosowanie jednoczynnikowej analizy wariancji. W związku z tym konieczne jest skorygowanie tego zapisu oraz uwzględnienie, jakie czynniki faktycznie były analizowane.

Jakość sensoryczna lodów została oceniona zarówno metodą subiektywną (ocena sensoryczna panelu ekspertów), jak i obiektywną (analiza instrumentalna). W pracy poprawnie przedstawiono wpływ okresu przechowywania na zmianę wyróżników barwy, jednak brak jest wyjaśnienia przyczyn zaobserwowanych różnic. Autorka wskazała, że intensywność barwy żółtej zależała zarówno od rodzaju bakterii, jak i dodatku błonnika, jednakże interpretacja statystyczna wyników jest niepełna. W autoreferacie, doktorantka napisała „Analiza wariancji (ANOVA) pokazuje, że na parametr a^* wpływał rodzaj bakterii, czas przechowywania, dodatek błonnika jabłkowego i interakcje pomiędzy czasem przechowywania a dodatkiem błonnika jabłkowego”, co w mojej opinii jest niezrozumiałe z uwagi na fakt, że w opisie podpunktu doktorantka postanowiła się odnieść tylko do inuliny, a nie preparatu błonnika jabłkowego. Ponadto, powyższe stwierdzenie, z uwagi na zbyt ogólny charakter jest niepoprawne ponieważ nie identyfikuje czynnika oraz jego wpływu. W dalszej części doktorantka ponownie opisała interpretację statystyczną wyników „Nieco wyższy udział koloru żółtego oznaczono w lodach fermentowanych przez *Lactobacillus acidophilus* i *Lactocaseibacillus casei*. Wyniki te potwierdziła analiza wariancji, która wykazała, że rodzaj bakterii, dodatek błonnika oraz interakcja tych dwóch czynników istotnie wpływają na intensywność barwy żółtej oraz że rodzaj bakterii, czas przechowywania i dodatek błonnika jabłkowego i interakcja tych czynników istotnie wpływają na intensywność żółtej barwy”. Niestety i tym razem, ze względu na niepełność przeprowadzonej analizy oraz sposób jej opisu czytelnik tekstu nie uzyskuje





odpowiedzi co faktycznie wpłynęło na zmianę barwy lodów czy była to kultura czy czas przechowywania. Z związku z powyższym prosiłbym podczas obrony, aby doktorantka postarała się wyjaśnić zróżnicowanie wyróżników barwy, w tym nasycenia lodów w zależności od rodzaju zastosowanej kultury starterowej.

Dodatkowym aspektem wymagającym doprecyzowania podczas obrony jest wpływ interakcji pomiędzy dodatkami funkcjonalnymi a cechami fizykochemicznymi i organoleptycznymi lodów. W pracy uwzględniono wyniki analiz instrumentalnych, jednak brak jest jednoznacznego odniesienia się doktorantki do wpływu poszczególnych szczepów probiotycznych na strukturę produktu.

Napowietrzanie masy lodowej jest jednym z krytycznych parametrów, który bardzo często determinuje wykorzystanie określonego dodatku strukturotwórczego w produkcji lodów. W badaniach wykazano, że napowietrzenie lodów różniło się w zależności od zastosowanego szczepu bakterii oraz rodzaju preparatu błonnika. Wyniki badań w tym zakresie są istotne i charakteryzują się dużym potencjałem wdrożeniowym. Niestety i tym razem doktorantka nie podjęła się próby wyjaśnienia dlaczego niektóre szczepy wpływały korzystniej na ten parametr. W badaniach doktorantka wykazała, że zastosowanie *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 lub *Lactocaseibacillus rhamnosus* w połączeniu z inuliną umożliwiało uzyskanie lodów o wysokim stopniu napowietrzenia, dochodzącym do 80%. Powyższe jest istotne i wskazuje inulinę jako potencjalny składnik funkcjonalnych mający zastosowanie w przemysłowej produkcji lodów. Powyższe jest tym istotne gdyż w pozostałych wariantach testowych, napowietrzanie wynosiło od 23 do 65%. W pracy zabrakło mi dyskusji poświęconej temu jakże istotnemu zagadnieniu. Z opisu graficznego (wykres 8) w autoreferacie można wnioskować, że istotnie wyższe wyniki są konsekwencją zastosowania innych kultur starterowych, co może być mylące z uwagi na odmienny skład chemiczny lodów. Istotny jest również fakt, że w badaniach wykazano, że stopień napowietrzenia istotnie wpłynął na przeżywalność testowanych kultur bakterii. Ważnym elementem badań była analiza przeżywalności bakterii w procesie fermentacji i zamrażania. Wykazano, że liczebność bakterii





wzrosła, w niektórych wariantach, nawet o 2 log po fermentacji, co może być istotnym aspektem optymalizacji kosztów produkcji przemysłowej. Z kolei zamrażanie lodów skutkowało redukcją liczby bakterii, jednak była ona stosunkowo niska, co wskazuje na dobrą ich odporność na warunki panujące podczas produkcji lodów. Najwyższą przeżywalność w lodach stwierdzono dla *Lacticaseibacillus rhamnosus*, co predysponuje ten szczep do wykorzystania do produkcji potencjalnie probiotycznych lodów z mleka owczego. Jakkolwiek, zaprezentowane przez doktorantkę wyniki należy przyjmować z pewną dozą ostrożności z uwagi na bardzo krótki czas doświadczenia, który wynosił zaledwie 21 dni, co z uwagi, że przedmiotem badań były lody, które charakteryzują się istotnie dłuższym okresem przydatności do spożycia niż 21 dni.

Topliwość lodów jest jednym z kluczowych czynników wpływających na akceptację produktu przez konsumentów. W badaniach wykazano, że lody zawierające preparat błonnika jabłkowego topiły się szybciej niż warianty z samą inuliną, co wskazuje na istotne znaczenie zastosowanego dodatku funkcjonalnego. Dodatkowo zaobserwowano, że wraz z wydłużeniem czasu przechowywania lodów ich czas topnienia ulegał skróceniu. Jest to wynik oczekiwany, jednak w pracy zabrakło pogłębionej dyskusji na temat mechanizmu tego zjawiska. W analizach wykazano również, że topliwość lodów istotnie zależała od zastosowanej kultury bakterii. Przykładowo, lody fermentowane przy udziale *Lacticaseibacillus casei* 431 charakteryzowały się dłuższym czasem topienia w porównaniu do lodów zawierających *Lacticaseibacillus paracasei* L-26 czy *Lactobacillus acidophilus* La-5. Pomimo istotnych różnic, w pracy nie podjęto próby wyjaśnienia, dlaczego topliwość w większym stopniu zależała od rodzaju bakterii niż od składu produktu. W związku z powyższym proszę doktorantkę o ustosunkowanie się do powyższego podczas obrony.





W kolejnej części autoreferatu doktorantka przeprowadziła ocenę zawartości wybranych składników mineralnych, tj. wapnia, fosforu, magnezu i potasu, oraz wpływu kultur bakterii i wybranych preparatów na ich biodostępność w lodach. Z uwagi na rosnącą świadomość konsumentów oraz wzrost zainteresowania badaniami nad biodostępnością składników odżywczych podjęcie się przez doktorantkę ww. badań uważam za celowe. W literaturze naukowej można zaobserwować dynamiczny wzrost opracowań naukowych poświęconych tej tematyce. Obecnie większość badań przeprowadzana jest zgodnie ze znormalizowanym protokołem trawienia *in vitro* tzw. INFOGEST. Protokół ten określa szczegółowe parametry każdego etapu trawienia, w tym skład płynów trawiennych oraz ilości enzymów w przeliczeniu na ich aktywność, co zapewnia większą powtarzalność wyników. Pierwsza faza trawienia, czyli faza oralna, trwa standardowo 2 minuty i obejmuje zarówno ujednolicenie struktury produktu, jak i wstępne trawienie enzymatyczne. Nie jest jasne, dlaczego w badaniach doktorantki czas ten wydłużono aż do 10 minut, zwłaszcza że w składzie lodów nie było skrobi, która podlega działaniu alfa-amylazy. Nikt również nie żuje lodów przez 10 min. Samo stwierdzenie, aby uzyskać większą powtarzalność wyników jest niezrozumiałe.

Wątpliwości budzi również wybór warunków trzeciej fazy trawienia, w której zastosowano mieszaninę 5 mL pankreatyny (4 g/L) oraz soli żółciowych (25 g/L). W autoreferacie oraz publikacjach nie podano uzasadnienia dla takiej modyfikacji protokołów. Z tego względu zasadne byłoby wyjaśnienie, na jakiej podstawie dobrano te parametry, zwłaszcza że pankreatyna oraz sole żółciowe odpowiadają za trawienie białek i tłuszczów, które w lodach występują w określonych proporcjach.

Wyniki badań wykazały, że biodostępność składników mineralnych istotnie zależała od rodzaju zastosowanej kultury bakterii. Najwyższą biodostępność wapnia (54,4%) odnotowano w lodach fermentowanych przez *Lactocaseibacillus paracasei* L-26, natomiast najniższą w lodach zawierających *Lactocaseibacillus casei* 431. Z kolei w lodach z *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 stwierdzono najwyższą biodostępność fosforu, wynoszącą ponad 50%. Istotnym wynikiem było również





wykazanie, że stosunek wapnia do fosforu w badanych lodach wynosił średnio 1,3:1, co jest wartością korzystną z punktu widzenia metabolizmu wapnia i jego resorpcji czy desorpcji z tkanki kostnej. Analiza statystyczna wyników potwierdziła, że zastosowane szczepy bakterii miały istotny wpływ na biodostępność wapnia i magnezu, jednak nie wpływały znacząco na przyswajalność fosforu i potasu. Z kolei ocena wpływu preparatów błonnika na biodostępność związków mineralnych wykazała, że dodatek 4% inuliny obniżył biodostępność wapnia o 3–5%, co w porównaniu do innych polisacharydów stosowanych w przemyśle spożywczym jest wartością niewielką. Znacznie większy wpływ odnotowano w przypadku dodatku preparatu błonnika jabłkowego – jego zastosowanie w ilości 4% zmniejszyło biodostępność wapnia o 6–12%, co może mieć istotne konsekwencje żywieniowe. Również w przypadku magnezu i potasu wykazano istotne zależności pomiędzy ich biodostępnością a dodatkiem błonnika, co sugeruje, że opracowywane produkty mogą wymagać modyfikacji składu w celu minimalizacji negatywnego wpływu tych dodatków na przyswajalność wybranych składników mineralnych. Jedynie w przypadku fosforu nie stwierdzono takiej zależności. Badania w tym zakresie wykazują, że konsekwencją stosowania dodatków strukturotwórczych w produkcji żywności jest nie tylko otrzymanie, pożądanej przez konsumenta tekstury, ale również mogą one wpływać na ograniczenie biodostępności związków mineralnych.

Doktorantka, analizując uzyskane wyniki, podjęła decyzję o ponownej weryfikacji hipotezy 5, co ostatecznie doprowadziło do jej odrzucenia. Niemniej jednak, biorąc pod uwagę fakt, że w pracy badano jedynie cztery składniki mineralne, a w przypadku trzech z nich wykazano wpływ dodatku polisacharydów na ich biodostępność, zasadne byłoby przeformułowanie hipotezy bądź poszerzenie modelu badawczego o inne pierwiastki śladowe i związki mineralne. Dopiero wtedy możliwe byłoby jednoznaczne określenie, w jakim stopniu badane dodatki wpływają na biodostępność wybranych związków mineralnych czy pierwiastków śladowych.





Część rozprawy doktorskiej poświęcona biodostępności składników mineralnych jest miejscami chaotyczna – nie wszystkie prezentowane treści są zgodne z nagłówkami, pod którymi zostały umieszczone. Uporządkowanie tej części oraz precyzyjne wyjaśnienie poszczególnych etapów badania mogłoby istotnie zwiększyć przejrzystość wyników oraz ich wartość poznawczą.

W kolejnej części autoreferatu doktorantka podjęła się próby weryfikacji hipotezy 6. Był to istotny etap pracy, ponieważ skład produktu oraz procesy technologiczne mogą zarówno zwiększać, jak i ograniczać przeżywalność bakterii. Wyniki badań wykazały, że średnia przeżywalność większości testowanych szczepów wynosiła około 50%, co wskazuje na znaczne straty populacji bakterii w symulowanych warunkach trawienia. Wyjątek stanowił szczep *Lactobacillus acidophilus* La-5, którego przeżywalność wynosiła około 82%. Uzyskane rezultaty badań umożliwiły doktorantce przyjęcie postawionej hipotezy.

Ostatni etap badań dotyczył wpływu rodzaju zastosowanego preparatu błonnika na przeżywalność bakterii probiotycznych w lodach podczas symulowanego trawienia *in vitro*. Badania nad wpływem błonnika na stabilność kultur probiotycznych w jelicie mają istotne znaczenie dla opracowywania produktów spożywczych o właściwościach prozdrowotnych. Wyniki wskazują, że błonniki takie jak inulina oraz preparat błonnika jabłkowego odgrywają kluczową rolę w ochronie bakterii probiotycznych przed niekorzystnymi warunkami trawiennymi. Na etapie trawienia w jelicie wykazano, że odpowiednia kombinacja badanych preparatów może znacząco zwiększyć przeżywalność bakterii probiotycznych, co ma istotne znaczenie dla ich skuteczności. W szczególności inulina wspierała wzrost i aktywność metaboliczną *Lactobacillus rhamnosus* i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12, natomiast preparat błonnika jabłkowego poprawiał odporność *Lactobacillus casei* 431 i *Lactobacillus paracasei* L-26 na warunki trawienne. Co istotne, przeżywalność probiotyków w jelicie musi przekraczać poziom 6 log cfu g⁻¹, aby produkt mógł wywoływać efekt terapeutyczny, a dodatek błonnika znacząco zwiększył liczebność bakterii w tym zakresie, co potwierdziło zasadność hipotezy 7. Biorąc pod uwagę rosnące





zainteresowanie żywnością funkcjonalną, badania nad wpływem błonnika na stabilność probiotyków w przewodzie pokarmowym są niezbędne. Wiedza ta pozwala na projektowanie produktów o wyższej skuteczności zdrowotnej, co może mieć istotne znaczenie w profilaktyce chorób przewodu pokarmowego, wzmocnieniu odporności oraz poprawie ogólnego stanu zdrowia konsumentów. Dalsze badania powinny skupić się na określeniu optymalnych proporcji błonnika i probiotyków w celu maksymalizacji ich korzystnego wpływu na mikroflorę jelitową.

Rezultaty pracy doktorantki zostały podsumowane w 14 wnioskach, które bezpośrednio odnoszą się do analizowanych zagadnień i przedstawionych wyników badań. Do najważniejszych aspektów merytorycznych należy m.in. wykazanie, że:

- Właściwości funkcjonalne oraz jakość sensoryczna lodów z mleka owczego były w znacznym stopniu determinowane przez rodzaj zastosowanego preparatu błonnika. Wykazano, że dobór konkretnego dodatku błonnikowego wpływał na teksturę oraz akceptację sensoryczną produktu, co jest istotnym zagadnieniem zarówno w kontekście poznawczym, jak i aplikacyjnym.
- Biodostępność wybranych składników mineralnych mogła zostać zwiększona poprzez zastosowanie kultur probiotycznych. Natomiast dodatek preparatu błonnika, w przeciwieństwie do bakterii, prowadził do istotnego ograniczenia biodostępności wapnia, magnezu oraz potasu. Wyniki te wskazują na potencjalny wpływ dodatków strukturotwórczych na przyswajalność minerałów i wymagają dalszej analizy w kontekście projektowania żywności funkcjonalnej.
- Matryca produktu odgrywała kluczową rolę w przeżywalności kultur probiotycznych, co stanowi istotny aspekt poznawczy badań. Przeżywalność szczepów probiotycznych w lodach oraz podczas trawienia istotnie zależała zarówno od zastosowanego dodatku funkcjonalnego, jak i od konkretnego gatunku szczepu bakterii. Jest to istotne, ponieważ niektóre polisacharydy mogą pełnić funkcję ochronną, zwiększając przeżywalność bakterii zarówno podczas procesu zamrażania, jak i pasażu jelitowego. Pomimo wartości poznawczej tych wyników, należy podkreślić, że z uwagi na stosunkowo krótki czas trwania





badan, ich interpretacja powinna byc dokonywana z ostroznościa. Wydłużenie okresu przechowywania próbek do kilku miesiecy pozwoliloby na pelniejsze zweryfikowanie postawionych hipotez. Nalezy jednak zwrócic uwage, ze wiekszość zastosowanych w badaniach szczepow to bakterie probiotyczne, ktore powinny wykazywac zdolność do przezywania pasażu jelitowego. Wyniki wskazuja, ze ich przezywalność byla stosunkowo niska i w wiekszości przypadków wynosila okolo 50%. Z tego wzgledu zasadne jest wyjasnienie przez doktorantke, dlaczego przezywalność certyfikowanych szczepow probiotycznych w badanych warunkach byla tak ograniczona oraz jakie czynniki mogly wplynac na uzyskane wyniki.

Ostatni rozdzial dysertacji to „spis literatury”, ktory obejmuje 226 pozycji literatury z czego 220, to anglojezyczne oryginalne prace, ktore opublikowane zostaly w renomowanych czasopismach zagranicznych. Zawarte w wykazie pozycje literaturowe zostaly prawidlowo zacytowane w opracowaniu. Wykorzystanie przez doktorantke publikacji pochodzacych z ostatnich lat swiadczy o znajomosci najnowszej literatury naukowej, dotyczacej podjetej tematyki pracy. Calosc opracowania zamyka rozdzial „Pozostale osiagniecia naukowe”, w ktorym zamieszczono spis wspolautorskich publikacji i monografii oraz wykaz konferencji, na ktorej prezentowane byly wyniki aktywnosci naukowej doktorantki.

Strona edytorska pracy

Struktura autoreferatu jest zgodna z wymaganiami stawianymi dla dysertacji. Układ dokumentu charakteryzuje sie logiczna i konsekwentna organizacja treści, co ulatwia nawigacje po poszczegolnych czesciach pracy. Strona tytulowa, spis treści, przypisy oraz bibliografia zostaly sformatowane zgodnie z przyjetymi standardami edytorskimi. Praca zawiera tabele, wykresy i ilustracje, ktore zostaly prawidlowo osadzone w tekście, co ulatwia prezentacje wynikow badan. Jednakze, na wykresach brakuje interpretacji statystycznej, co istotnie utrudnia analize danych oraz wlasciwe





zrozumienie ich znaczenia w kontekście wyników badań. Mimo ogólnej poprawności redakcyjnej, w tekście występują pewne niedociągnięcia stylistyczne, jednak nie wpływają one na ogólną wartość merytoryczną pracy.

Wniosek końcowy

Podsumowując, dysertacja Pani mgr inż. Magdaleny Kowalczyk, ze względu na spójność problematyki badawczej, rzetelność zastosowanych metod analitycznych oraz innowacyjny charakter prowadzonych badań, zasługuje na wysoką ocenę. Przedłożona do recenzji praca stanowi wartościowe i oryginalne opracowanie naukowe, cechujące się wysokim poziomem merytorycznym. Podjęta przez doktorantkę tematyka badań jest istotna zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i aplikacyjnego, a przedstawione wyniki badań stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia. Należy podkreślić, że wszystkie publikacje, których współautorką jest Pani mgr inż. Magdalena Kowalczyk, zostały opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych, co potwierdza jej kompetencje w zakresie planowania i realizacji badań naukowych oraz analizy i interpretacji uzyskanych wyników.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Kowalczyk pt. „Wpływ dodatku błonnika i różnych szczepów probiotycznych na przeżywalność bakterii, biodostępność makroelementów oraz jakość lodów z mleka owczego” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. 2024 Nr 65 poz. 1571 z późniejszymi zmianami) – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.



Signed by / Podpisano
przez:

Marek Adam Aljewicz
Uniwersytet Warmińsko-
Mazurski w Olsztynie

Date / Data: 2025-02-15
14:16

