

Koszalin, dnia 16 maja 2022 roku

dr hab. inż. Zdzisław Domiszewski, prof. PK
Katedra Procesów i Urządzeń Przemysłu Spożywczego
Wydział Mechaniczny
Politechnika Koszalińska

RECENZJA

poprawionej rozprawy doktorskiej mgr. inż. Tomasza Sawickiego
pt. „Aktywność protez mięśniowych w procesie dojrzewania marynat z uwzględnieniem
wybranych czynników technologicznych i sezonu połowu śledzia bałtyckiego (*Clupea harengus
membras L.*)” wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Mariusza Szymczaka, prof. ZUT
w Laboratorium Przetwórstwa Organizmów Wodnych
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

Podstawą formalną niniejszej oceny jest pismo prof. dr hab. inż. Krzysztofa Formickiego
Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu
Technologicznego w Szczecinie, z dnia 5 kwietnia 2022 roku (L.dz. WNoZiR 28/2022).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Aktywność protez mięśniowych
w procesie dojrzewania marynat z uwzględnieniem wybranych czynników technologicznych
i sezonu połowu śledzia bałtyckiego (*Clupea harengus membras L.*)” jest poprawioną wersją
rozprawy o tym samym tytule otrzymaną z pismem Pana Dziekana z dnia 29 czerwca 2021 r.

Do poprawionej przede wszystkim w zakresie językowo – stylistycznym rozprawy
dołączona została odpowiedź Doktoranta na uwagi, komentarze i sugestie zamieszczone
w poprzedniej recenzji.

Uważam, że po dokonanych porwakach wartość naukowa i merytoryczna rozprawy
naukowej praktycznie nie zmieniła się i tym samym pozostaje na wysokim poziomie o czym
wspominałem w poprzedniej recenzji. Pod względem językowo - stylistycznym widać bardzo
dużą poprawę w rozprawie. Nowe treści umieszczone w pracy dotyczą jedynie pewnych
zależności i istotności różnic w zakresie analizy statystycznej wyników, które Autor pominął
w pierwotnej wersji. W związku z powyższym w przeważającej części recenzji moje
sposobienia i komentarze pozostają praktycznie bez zmian.

1. Trafność wyboru problemu badawczego i tematu rozprawy

W poprawionej wersji rozprawy doktorskiej zarówno temat jak i problem badawczy nie zmieniły się. Społeczeństwo staje się coraz bardziej świadome tego, jak bardzo ważną rolę dla naszego organizmu odgrywają żywność i prawidłowe odżywianie. Ryby oraz produkty rybne od bardzo dawna są uważane za bardzo cenny składnik diety, przede wszystkim ze względu na obecność długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 (LC n-3 PUFA). LC n-3 PUFA występują w m.in. owocach morza, algach, jednak głównym źródłem LC n-3 PUFA są ryby tłuste w tym m.in. śledzie bałtyckie. Polski rynek detaliczny ryb cechuje się malejącym udziałem ryb nisko przetworzonych w odniesieniu do produktów wysoko przetworzonych, wygodnych w użyciu, takich jak m.in. ryby marynowane. Podczas dojrzewania marynat kształtuje się m.in. charakterystyczny smak, zapach oraz tekstura dzięki czemu są one bardzo cenione wśród konsumentów. Dojrzewanie mięsa marynat jest złożonym procesem, w którym dominują enzymatyczne przemiany białek. Za proces ten odpowiedzialne są głównie katepsyny oraz inne proteazy.

Dlatego podjęcie tematyki badań nad aktywnością proteaz mięśniowych w procesie dojrzewania marynat jest bardzo ważne i aktualne. Tym bardziej, że istniejące badania wydają się być niewystarczające dla obserwacji aktywności proteaz, a dodatkowo bardzo często wyniki badań bywają rozbieżne. W związku z tym poznanie wpływu czynników biologicznych i technologicznych w procesie enzymatycznego dojrzewania marynat i później ich przechowywania jest bardzo interesującym problemem. Do tej pory nie stanowiło ono przedmiotu tak kompleksowej pracy badawczej, jaką zrealizowano w przygotowanej rozprawie. Zagadnienie to nie jest proste do rozwiązania, ponieważ tkanka mięśniowa ryb stanowi bardzo dynamiczny układ, podlegający intensywnym przemianom biochemicznym i chemicznym zachodzącym po śmierci zwierzęcia, a na jej intensywność wpływa wiele czynników występujących w czasie przetwarzania surowca, a następnie przechowywania utrwalonych produktów. Autor wiele z tych czynników uwzględnił (w tym ten najważniejszy czyli wpływ sezonu) i wykazał, m.in. że sezon połowu decydował o aktywności katepsyn w surowym śledziu, która przekładała się na ich aktywność w śledziu marynowanym. Uważam, że tytuł pracy bardzo dobrze odzwierciedla jej treść.

2. Cel pracy i hipotezy badawcze

Także główny cel pracy oraz założenia i szczegółowe cele badawcze w poprawionej wersji rozprawy doktorskiej pozostały bez zmian. Cel pracy sformułowano poprawnie, wyraźnie wyznaczając w nim kierunki badań. Oprócz głównego celu jakim było określenie

udziału poszczególnych proteaz mięśniowych w procesie marynowania śledzia bałtyckiego postanowiono dodatkowo:

- określić które grupy proteaz uczestniczą w procesie marynowania,
- zbadać aktywność mięśniowych proteaz przed i podczas marynowania w zależności od sezonu połowu surowca,
- wyznaczyć aktywność endoproteaz i egzoproteaz w mięsie, oraz
- zbadać wpływ dodatków do żywności i surowców pomocniczych stosowanych w technologii marynowania śledzi na aktywność proteaz mięśniowych.

Wybór powyższych celów uważam za słuszny i uzasadniony dotychczasowym stanem wiedzy, a także niezwykle istotny z punktu widzenia praktyki przemysłowej.

Także założenia pracy są jasno sformułowane i zgodne z zakresem badań, przedstawionych w rozprawie. Należy podkreślić, że zakres pracy jest bardzo szeroki ale moim zdaniem z punktu naukowego jest on zwarty i kompletny.

3. Struktura pracy

Po dokonaniu poprawek struktura pracy nie zmieniła się. Nie zmieniły się również tytuły rozdziałów i podrozdziałów. Przedstawiona poprawiona rozprawa doktorska jest pracą o charakterze eksperymentalnym, o typowym układzie. Dysertacja obejmuje 182 strony maszynopisu, na które składają się: strona tytułowa, oświadczenie oraz podziękowania (3 str.), streszczenie w języku polskim i angielskim (po 2 str.), spis treści (3 str.), lista skrótów (1 str.), wstęp (2 str.), przegląd literatury (27 str.), teza i cel pracy (1 str.), materiał i metody (15 str.), wyniki (63 str.), dyskusja (23 str.), wnioski (2 str.), podsumowanie (2 str.), bibliografia (18 str.), spis rysunków oraz tabel (5 str) oraz aneks (13 stron). Proporcje poszczególnych części pracy są prawidłowe.

Obecna postać również rozpoczyna się dwustronicowym wstępem, w którym ujęto problem badawczy realizowany w dysertacji. Na następnych 27 stronach przeprowadzono analizę piśmiennictwa związanego z tematem pracy. Wyniki badań własnych przedstawiono na 51 rysunkach, w 4 tabelach umieszczonych w tekście + 24 tabel umieszczonych w załączniku. Układ pracy jest prawidłowy, zawiera ona części niezbędne w tego typu opracowaniach, we właściwej kolejności. Część teoretyczna – Wstęp a także Dyskusja są stosunkowo obszerne. Uważam, że przedstawiona praca spełnia formalne wymagania stawiane pracom dysertacyjnym na stopień doktora.

4. Ocena merytoryczna

Tak jak napisałem wcześniej moja ocena merytoryczna i naukowa poprawionej rozprawy doktorskiej pozostaje taka sama. Przeprowadzona w większym zakresie analiza statystyczna wyników praktycznie nie zmieniła najważniejszych dokonań, które uzyskał Doktorant. Oczywiście pod względem statystycznym praca została istotnie wzbogacona. Uważam, że wprowadzone dodatkowe wyniki analizy statystycznej nie zmieniły najistotniejszych wątków naukowych pracy co potwierdzają generalnie pozostawione bez zmian wnioski. Założonym przez Autora celem przeprowadzonych badań, bardzo interesujących z punktu widzenia chemii i technologii żywności oraz żywienia człowieka było zbadanie wpływu sezonu połowu oraz wybranych substancji na aktywność wybranych proteaz i ich udział w dojrzewaniu mięsa śledzia bałtyckiego oraz kształtowaniu jakości sensorycznej zimnych marynat.

Część badawczą pracy poprzedza krótki wstęp, w którym Autor uzasadnia swoje zainteresowanie naukowe oraz potrzebę dogłębnego zbadania aktywności proteaz. Następnie w siedmiu częściach rozdziału „Przegląd literatury” Doktorant bardzo dokładnie scharakteryzował najważniejsze zagadnienia bardzo ściśle związane z głównym celem pracy. Autor posłużył się tutaj bardzo szerokim zakresem piśmiennictwa, głównie źródłowego, oraz wykazał się bardzo dobrym rozeznaniem w przedmiotowej literaturze. Dokonując przeglądu danych z literatury naukowej Doktorant zestawiał często sprzeczne wyniki badań, opatrując własnym, wyważonym komentarzem. Rozbieżności w wynikach badań dotyczących roli oraz aktywności enzymów proteolitycznych podczas marynowania skłoniły Autora do podjęcia kompleksowych badań w tym zakresie.

Przegląd literatury kończy syntetyczne podsumowanie, które wykazuje luki w aktualnym stanie wiedzy (tej części brakowało mi w pierwszej wersji rozprawy doktorskiej). Teraz Autor dokładnie wskazał, które obszary wiedzy należy uzupełniać i dlaczego.

Cel pracy został zrealizowany w trzech dobrze zaplanowanych zadaniach badawczych (w porównaniu do wersji oryginalnej ta część pracy nie zmieniła się). Pierwsza, główna część pracy dotyczyła wpływu sezonu połowu na dojrzewanie marynowanych filetów. Surowcem wykorzystanym był śledź bałtycki, który był pobierany do badań każdego miesiąca od lutego 2019 do lutego 2020 roku. W drugiej części pracy zbadano wpływ rodzaju soli kuchennej, rodzaju kwasu octowego, dodatku kwasu mlekowego lub winowego, dodatku substancji słodzących i konserwantów oraz dodatku inhibitorów proteaz na enzymatyczny proces dojrzewania marynat. Zaplanowanie dwóch pierwszych części badań ma nie tylko wysoką

wartość naukową ale także są niezmiernie cenne pod względem praktycznym. W trzeciej części pracy zmierzono aktywność oczyszczonych katepsyn B, D i L przy różnym pH i stężeniu NaCl oraz w różnym stężeniu wybranych substancji. Należy podkreślić, że materiał badawczy oraz część technologiczna (czynniki) zostały dobrane bardzo starannie i precyzyjnie, a przede wszystkim bardzo adekwatnie do założonego celu.

Do monitorowania procesu dojrzewania, oraz przechowywania marynat wykorzystano szereg właściwie dobranych wyróżników pozwalających określić wpływ aktywności proteaz mięśniowych oraz wybranych czynników technologicznych (ogólna aktywność proteolityczna; aktywność katepsyn B, D, E i L; aktywność aminopeptydaz AAP i LAP). Przeprowadzono również analizę sensoryczną z uwzględnieniem tekstury, którą oznaczono dwoma metodami tj. instrumentalną i sensoryczną. Autor wykonał także podstawowe badania jakości marynat (zawartość białka, tłuszczu, wody, soli oraz kwasowość miareczkową i pH) zgodnie z normami, a całość wyników poddał odpowiedniej analizie statystycznej. W wersji poprawionej na rysunkach z własnymi wynikami naniesione zostały istotności różnic, które pozwalają na bardzo dokładne przeanalizowanie danych.

Niezmiernie ważnymi z punktu praktycznego jest wyliczenie w pracy wydajności marynowania oraz wydajności całkowitej. Część zastosowanych metod w pracy Autor dopracował i zoptymalizował np. ekstrakcję katepsyn, co pozwoliło na rozróżnienie aktywności katepsyny L od B. Świadczy to, że Doktorant wykazuje się nie tylko dużą starannością i dociekliwością analityczną ale przede wszystkim potrafi krytycznie spojrzeć na warsztat badawczy, co jest niezmiernie ważne przy rozwiązaniu każdego problemu naukowego. W poprawionej wersji rozprawy doktorskiej zostały wyjaśnione i uzupełnione wszystkie uwagi dotyczące rozdziału: Materiał i metody. Uważam, że ciekawym rozwiązaniem było przeliczenie pobieranej próbki marynat na wielkość i ilość słoików marynat rybnych (dostępnych w handlu detalicznym).

Kolejność przedstawionych wyników w pracy odpowiada przyjętym założeniom tworząc kompleksową odpowiedź na postawione zagadnienia naukowe. Dzięki tak przedstawionym wynikom uzyskujemy odpowiedzi na pytania, które powstają po poszczególnych zadaniach badawczych. Niezmiernie ważnym osiągnięciem naukowym pracy jest wykazanie, że sezon połowu decydował o aktywności katepsyn w surowym śledziu, która przekładała się na ich aktywność w śledziu marynowanym. Autor wykazał, że największy udział podczas marynowania miała katepsyna D, zależnie od miesiąca 77,4 - 94%, następna była katepsyna L z udziałem na poziomie 14,5 – 5,6%, a katepsyna B posiadała 11,8 – 0,05% udziału sumy aktywności trzech katepsyn. Bardzo istotne w szczególności dla przemysłu

rybnego są otrzymane wyniki zarówno z pierwszego jak i z drugiego doświadczenia. Przemysł rybny cały czas modyfikuje receptury i proces technologiczny marynat w celu otrzymania produktu nie tylko o wyższej jakości ale również lepszej wydajności. Autor wykazał, że prawdopodobnie bardziej korzystne jest dostosować metodę marynowania śledzia do właściwości technologicznych surowca niż do danego miesiąca w roku. Jestem przekonany, że wyniki tych badań mogłyby mieć zastosowanie w przemyśle.

Po poprawieniu pracy znana jest już dokładnie moc oraz istotność korelacji pomiędzy analizowanymi czynnikami. Przeprowadzone badania wykazały m.in. istotny wpływ leucyno – aminopeptydazy na wydajność.

W rozdziale „Dyskusja”, zarówno w wersji pierwotnej jak i poprawionej Autor odniósł uzyskane wyniki badań poszczególnych wskaźników do danych literaturowych oraz do stwierdzeń w innych częściach pracy. Uważam, że także w tym rozdziale przeszło 90% spostrzeżeń i komentarzy jakie uzyskał Doktorant nie zmieniły się istotnie. Autor w rozdziale „Dyskusja” przeprowadził bardzo dogłębną dyskusję naukową uzyskanych wyników. Wykorzystane w obecnej wersji pracy dodatkowe wyniki analizy statystycznej oczywiście wzbogacają pracę jednakże najważniejsze zaobserwowane zależności nie zmieniły się. Sposób opracowania tego rozdziału i informacje w nim zawarte potwierdzają, że Autor jest bardzo dobrze rozeznany w przedmiotowej literaturze oraz posiada bogate doświadczenie w badanej problematyce. Interpretacja wyników i konfrontacja ich z wynikami światowego piśmiennictwa jest wyczerpująca, bardzo szczegółowa i dociekliwa.

W poprawionej wersji pracy Autor uzupełnił dyskusję wyników o możliwości zainteresowania przemysłu uzyskanymi wynikami m.in. dotyczącymi wpływu sezonu na wydajność masy marynat, szybkość dojrzewania czy wpływu substancji dodatkowych na przebieg procesu marynowania.

Wnioski zamieszczone w pracy sformułowano w sposób jasny i przekonujący, odpowiadają na wszystkie postawione w celu pracy założenia. W porównaniu do pracy pierwotnej także wnioski praktycznie pozostały te same. Wniosek nr 3 został w nieznacznym stopniu przeredagowany jednakże i on w dużym stopniu odzwierciedla pierwotne spostrzeżenia Doktoranta. Sformułowane wnioski uświadamiają złożoność problematyki badawczej i ogrom włożonej pracy w wyjaśnienie szeregu zjawisk o charakterze nie tylko z dyscypliny technologii żywności i żywienia ale również biologii oraz biochemii. Chciałbym zaznaczyć, że wszystkie wnioski dotyczące poszczególnych zadań badawczych znajdują uzasadnienie w wynikach badań, wykonanych przy użyciu właściwych metod i potwierdzonych analizą statystyczną.

Obecna wersja pracy napisana została poprawnym językiem. W porównaniu do wersji poprzedniej Autor wprowadził liczne korekty językowe, które w znaczny sposób podniosły aspekty językowo – stylistyczne rozprawy.

5. Wniosek końcowy

Podobnie jak wersję pierwotną rozprawy doktorskiej Pana mgr. Tomasza Sawickiego także wersję po poprawkach oceniam wysoko. Pan mgr. inż. Tomasz Sawicki przeprowadził badania wielokierunkowe, kompletne i w ich realizację włożył ogrom pracy. Takie podejście nie jest łatwe szczególnie do tak zmiennego surowca jakim są ryby. Udzielenie odpowiedzi na założone hipotezy w pracy wymagało od Doktoranta nie tylko dobrego opanowania warsztatu analitycznego ale przede wszystkim dużej wiedzy z zakresu wpływu czynników biologicznych i technologicznych na właściwości surowca rybnego (śledzi). Autor znakomicie poradził sobie z trudnościami wynikającymi z różnorodnych użytych metod jak i interpretacji otrzymanych wyników. W pracy uzyskano ważne rezultaty, znacznie poszerzające wiedzę z zakresu dojrzewania marynat i tym samym wnoszą oryginalny wkład do rozwoju wiedzy z zakresu nauk o żywności.

W moim przekonaniu przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Tomasza Sawickiego pt. „Aktywność proteza mięśniowych w procesie dojrzewania marynat z uwzględnieniem wybranych czynników technologicznych i sezonu połowu śledzia bałtyckiego (*Clupea harengus membras* L.) spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Komisji Doktorskiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Tomasza Sawickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uważam, że ze względu na wysoki poziom merytoryczny pracy oraz uzyskanie ważnych wyników zarówno z punktu naukowego jak i praktycznego stawiam ponownie wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Tomasza Sawickiego (uzasadnienie wniosku w załączniku).

Zdaniem
Dariusza