

Prof. dr hab. Henryk Zieliński

Olsztyn, 19.01.2023 r.

Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności

Oddział Nauk o Żywności

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności

Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

Tel.: 89 523 4682 (795 985 825)

Fax: 89 524 0124

e-mail: [h.zielinski@pan.olsztyn.pl](mailto:h.zielinski@pan.olsztyn.pl)

### Ocena

osiągnięcia naukowego - indywidualnej rozprawy naukowej w formie cyklu publikacji pod tytułem „Ocena potencjału makuchu lnianego jako surowca do opracowania grupy roślinnych alternatyw dla produktów nabiałowych” – w postępowaniu habilitacyjnym dr inż. Łukasza Łopusiewicza

#### *Podstawa wykonania recenzji*

*Opinia została przygotowana na wniosek Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie na podstawie art. 221 ust. 5 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym (L.Dz.WNoŻiR/D/211/2022), który to 5 grudnia 2022 roku uchwala nr 304 powołał mnie na recenzenta komisji w postępowaniu wszczętym w sprawie nadania Panu dr inż. Łukaszowi Łopusiewiczowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienie. Ocena została przygotowana na podstawie przesłanej pracy habilitacyjnej w formie cyklu monotematycznych publikacji i dołączonej do niego dokumentacji charakteryzującej dorobek i sylwetkę naukową Kandydata.*

#### **1/ Informacje podstawowe o Kandydacie**

Dr inż. Łukasz Łopusiewicz jest absolwentem Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z roku 2014. Pracę inżynierską pt. „Analiza determinantów kształtujących katalityczne optimum pH wybranych alfa-amylaz pochodzących z bakterii z rodzaju Bacillus” wykonał pod kierunkiem dr inż. Radosława Drozda, uzyskując w

2013 r. tytuł inżyniera biotechnologii. Pracę magisterską pt. „Analiza właściwości antymikrobiologicznych i fitotoksycznych *Macrolepiota konradii* oraz próba ich wykorzystania do modyfikacji folii PLA” wykonał pod kierunkiem Pani dr inż. Małgorzaty Mizielińskiej, uzyskując tytuł magistra biotechnologii. W latach 2014-2018 mgr inż. Łukasz Łopusiewicz był uczestnikiem studiów doktoranckich prowadzonych na Wydziale Nauk o Żywności i Rybactwa ZUT. W roku 2013 Kandydat odbył 5-miesięczny staż Mendel Univeristy w Brnie. Pracę doktorską w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia pt. „Charakterystyka wybranych melanin pochodzących z biomasy grzybowej i ich zastosowanie do poprawy właściwości użytkowych materiałów opakowaniowych” obronił z wyróżnieniem w 2018 r. na Wydziale Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie – promotorem pracy był prof. dr hab. inż. Artur Bartkowiak. Habilitant odbył w 2018 r. 3-miesięczny w ramach programu Erasmus+ w Polytechnic Institute of Coimbra, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture w Portugalii. Dr inż. Łukasz Łopusiewicz do kwietnia 2021 r. był zatrudniony na etacie naukowo-technicznym w Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, natomiast do chwili obecnej jest w tej jednostce organizacyjnej adiunktem badawczym.

## **2/ Charakterystyka dorobku naukowego**

Zgodnie z danymi zamieszczonymi w dokumentacji (załącznik IV) ogólny dorobek dr inż. Łukasza Łopusiewicza (wraz z pracami wchodzącymi w skład *Osiągnięcia*) obejmuje łącznie 111 pozycji, w tym 38 to oryginalne prace indeksowane w bazie JCR, 22 publikacje w czasopismach z listy B MEiN, 8 rozdziałów w monografiach, 3 patenty oraz łącznie 40 doniesień na konferencjach naukowych w kraju i zagranicą. Suma punktów uzyskanych za dorobek, bez prac wchodzących w skład *Osiągnięcia*, obliczona zgodnie z obowiązującą punktacją MEiNw roku wydania wynosi 4074; sumaryczny Impact Factor 134,391; liczba cytowań wg bazy Web of Science 290 (bez autuzytowań 191), natomiast Indeks Hirscha wg bazy Web of Science : 10.

### **a/ ocena liczebności dorobku i czasopism, w których publikowane były prace oraz udział Kandydata w publikacjach zbiorowych**

Przed uzyskaniem stopnia doktora Pan Łukasz Łopusiewicz był autorem/współautorem pięciu oryginalnych prac twórczych opublikowanych w czasopismach z listy JCR (*Polymers x 2, Molecules, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine i Romanian Biotechnological Letters*), 19 oryginalnych prac twórczych opublikowanych w czasopismach spoza listy JCR (*Opakowanie, World Scientific News, Folia Pomeranae Univ. Technol. Stetin. Agric. Aliment. Piscaria Zootech., Herba Polonica, Kosmos, World News of Natural*



*Sciences, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, Acta Mycologica*) oraz 6 rozdziałów monograficznych w j-polskim. W tych publikacjach wkład Pana mgr inż. Łukasza Łopusiewicza był istotny. Habilitant był pierwszym autorem jednej pracy opublikowanej w czasopiśmie z listy JCR, 13 prac opublikowanych w czasopiśmie spoza listy JCR oraz w sześciu publikowanych monografiach, z czego 4 były to monografie autorskie. Pan Łukasz Łopusiewicz był również autorem/współautorem 17 doniesień i komunikatów prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym 5 wystąpień ustny.

Po uzyskaniu doktoratu dorobek publikacyjny Habilitanta znacząco wzrósł i obejmuje, z wyłączeniem 5 prac wchodzących w skład *Osiągnięcia*, 33 anglojęzyczne oryginalne artykuły opublikowane w czasopiśmie indeksowanych w bazie *Journal Citation Report*, 3 prace opublikowanych w czasopiśmie nieindeksowanych w bazie JCR, oraz 2 rozdziały w monografiach w języku polskim. Najważniejsze pozycje ukazały się w takich czasopiśmie indeksowanych w JCR jak: *Molecules x 4, Fermentation, Applied Sciences, Microorganisms, Polymers x 3, Biomolecules, journal of Food Measurement and Characterization, Foods, Antioxidants, Materials x 3, International Journal of Molecular Sciences x 4, Chemistry & Biodiversity, Antibiotics, Letters in Applied Microbiology, Current Microbiology, Life x 3, Fresenius Environmental Bulletin, Agronomy Industrial Crops* oraz *Products*. Łączny IF publikacji po uzyskaniu stopnia doktora według listy *Journal Citation Report* wynosi 134,391 a suma punktów MEiN wynosi 3764. Należy zaznaczyć, że 10 pracach opublikowanych w czasopiśmie indeksowanych w bazie *Journal Citation Report* udział Habilitanta był dominujący, o czym świadczy pierwsza pozycja w zespole autorskim. Z kolei analiza dorobku zamieszczonego w czasopiśmie wymienionych w części B wykazu MEiN jasno wskazuje, że w 2 pracach Habilitant był pierwszym autorem. Wkład ten wynikał z uczestnictwa w realizacji jednego projektu badawczego finansowanego w ramach programu Horyzont (wykonawca), jednego projektu Miniatura 5 finansowego przez Narodowe centrum Nauki (kierownik projektu), jednego projektu Lider XI finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (kierownik projektu) oraz czterech projektów finansowanych ze środków Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój w latach 2014-2021, w których Habilitant pełnił rolę głównego wykonawcy. Habilitant posiada bogaty dorobek w zakresie prezentowania wyników na konferencjach krajowych i międzynarodowych (łącznie 23 doniesienia, w tym 13 wystąpień ustnych).

W charakterystyce dorobku naukowego Habilitanta po doktoracie należy podkreślić udział w realizacji zleceń ze strony przemysłu. Habilitant wykonał 12 prac zleconych przed uzyskaniem stopnia doktora oraz aż 14 prac zleconych po uzyskaniu stopnia doktora, które potwierdzają otwartość Habilitanta na transfer wiedzy z nauki do zainteresowanych odbiorców z sektora przemysłu rolno-spożywczego. Wskaźniki cytowań publikacji dr inż. Łukasza Łopusiewicza w porównaniu do polskich naukowców pracujących w obszarze nauki o żywności można uznać za spełniające wymagania w świetle kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Przedstawiony dorobek naukowy Habilitanta uzyskany w okresie 4 lat po uzyskaniu stopnia doktora, biorąc pod uwagę wartość merytoryczną prac, należy uznać za bardzo wartościowy, liczbowo imponujący oraz wnoszący wkład w rozwój nauki o żywności.



## **b/ ocena istotnej aktywności naukowej**

Wybór kierunku i przedmiotu badań dr inż. Łukasza Łopusiewicza wynikał z doświadczeń zawodowych zdobytych w ramach przygotowania pracy magisterskiej, pracy doktorskiej, współpracy z Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych (CBiMO) ZUT w Szczecinie i wysokiej aktywności naukowej związanej z uczestnictwem w realizacji projektów badawczych. Obszar zainteresowań i badań naukowych dr inż. Łukasza Łopusiewicza obejmował w początkowym okresie prace dotyczące określenia właściwości przeciwdrobnoustrojowych i fitotoksycznych ekstraktów z hodowli myceliarnych czubajki gwieździstej (*Macrolepiota konradii*) oraz próby wykorzystania ich do modyfikacji folii z poli(kwasu mlekowego) w celu otrzymania aktywnego materiału opakowaniowego. W tym czasie Pan dr inż. Łukasz Łopusiewicz miał możliwość kształtowania swojego warsztatu badawczego obejmującego zasadniczo metody analiz fizykochemicznych, mikrobiologicznych i oceny bioaktywności, techniki spektrofotometryczne, bliskiej podczerwieni, mikroskopowe i inne przydatne początkowo w analizie chemicznej biomasy grzybowej traktowanej jako źródło melanin. Efektem prowadzonych prac było wykazanie, że biomasa grzybowa może z powodzeniem być wykorzystana do modyfikacji powłok chitozanowych i skrobiowych, folii z tworzyw sztucznych, folii PLA oraz powłok żelatynowych. Warsztat ten Habilitant wykorzystał już po obronie pracy doktorskiej pt. „Charakterystyka wybranych melanin pochodzących z biomasy grzybowej i ich zastosowanie do poprawy właściwości użytkowych materiałów opakowaniowych” do rozszerzenia zakresu badań dotyczących:

- wykorzystania surowców roślinnych do opracowania żywności fermentowanej i dodatków do żywności o działaniu emulgującym i stabilizującym;
- wykorzystania substancji aktywnych do modyfikacji materiałów opakowaniowych;
- ocenę wpływu naturalnych substancji aktywnych na drobnoustroje chorobotwórcze;
- badania roślin stosowanych jako żywność funkcjonalna, zioła, kwiaty jadalne, rośliny przyprawowe, lecznicze i ozdobne.

W zakresie wykorzystania surowców roślinnych do opracowania żywności fermentowanej ważnym pierwszym aplikacyjnym i praktycznym rezultatem prowadzonych badań, we współpracy z badaczami z Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Mecklenburg-Vorpommern Research Centre for Agriculture and Fisheries w Niemczech, była praca na temat wykorzystania ziaren kefirowych do otrzymania bioaktywnej przekąski z nasion łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius*). Kolejne badania dotyczyły wykorzystania łubinu jako surowca do opracowania roślinnej alternatywy sera Camembert i zmian zachodzących w produkcie w czasie chłodniczego przechowywania. W tak ukształtowanym obszarze badawczym Habilitant rozpoczął podstawowe prace na temat fermentacji makuchów z lnicznika siewnego, czarnuszki, lnu, konopii, słonecznika i amarantusa.



Duże znacznie praktyczne dla przemysłu spożywczego miały badania Habilitanta w kontekście wykorzystania białka i polisacharydów z makuchu Inianego jako substancji funkcjonalnych w procesie tworzenia emulsji oraz proszków. Polisacharyd wyizolowany z makuchu Inianego (guma Iniana) okazał się być dobrym naturalnym stabilizatorem napoju z fermentowanej serwatki kwasowej co stanowiło przedmiot patentu nr P.442095. Płyn z makuchu Inianego posiadał pożądane cechy z punktu widzenia przemysłu spożywczego albowiem obniżał napięcie powierzchniowe, zwiększał lepkość i posiadał wysoką zdolność do wiązania wody i oleju. Również proszki pozyskane z tego płynu na drodze suszenia rozpyłowego cechowały się dobrymi właściwościami emulgującymi. Habilitant wykazał, że płyn z makuchu Inianego może być zastosowany jako emulgator w formie płynnej, w formie rozpuszczalnego proszku a także może stanowić środek przeciwutleniający podczas suszenia rozpyłowego. Ważnym rezultatem badań było zastosowanie ekstraktu z makuchu Inianego jako zastępnika wody w chlebach bezglutenowych o ulepszonym profilu odżywczym i nutraceutycznym co daje szansę na zwiększenie podaży tego niezbędnego artykułu spożywczego dla osób z celiakią.

Ważnym obszarem badawczym Habilitanta są modyfikowane materiały opakowaniowe, w których wykorzystuje się nowe matryce polimerowe i nowe dodatki aktywne pozwalające na migrację z matrycy polimerowej do płynów modelowych. Przykładem są badania wykorzystania melaniny z nasion arbuza (*Citrullus lanatus*) do (1) modyfikacji filmów z koncentratu i izolatu białka serwatkowego i (2) jako czynnika redukującego w tzw. „zielonej biosyntezie” nanocząstek srebra i tlenku cynku *in situ* w matrycy jednego z najczęściej wykorzystywanych w opakowalnictwie i biomedycynie naturalnego polisacharydu – alginianu sodu oraz melaniny z pieczarki dwuzarodnikowej do modyfikacji filmów z karboksymetylocelulozy sodowej o celowanych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i przeciwutleniających oraz badania wykorzystujące poli(bursztynian butylenu) PBS z dodatkiem różnych składników bioaktywnych jak np. kwercytyna do przedłużania trwałości wybranych pakowanych produktów przy jednoczesnej możliwości biodegradacji tego typu opakowań. Habilitant kontynuując te współprace, zwłaszcza z UM w Szczecinie i Łodzi, bierze aktualnie udział w szerokich badaniach atybiotykoopornych szczepów mikroorganizmów w kontekście wpływu substancji naturalnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, efektywności ich stosowania w połączeniu więcej niż jednego związku. Dotychczas w spektrum zainteresowania znalazł się olejek eteryczny z lawendy, tymolu, geraniolu, eugenolu oraz niektóre związki jak 8-cineol, eugenol i trans-anetol, metycilina, octanu ( $\pm$ )-linalilu i trans-anetol. Jednocześnie starając się poszyć swój warsztat badawczy Habilitant odbył krótki staż w Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej UM w Łodzi dotyczący metod hodowli, identyfikacji mikroorganizmów oraz określania ich wrażliwości na substancje aktywne.

Kolejnym obszarem badawczym realizowanym przez Habilitanta jest poszukiwanie roślin bogatych w substancje bioaktywne, z możliwością ich stosowania jako żywność lub dodatek do żywności o cechach funkcjonalnych. W tym kontekście badane są zioła, kwiaty jadalne, rośliny przyprawowe, lecznicze i ozdobne oraz zawarte w nich związki bioaktywne i ich multifunkcjonalne działanie.



Otrzymane w czasie pracy zawodowej Habilitanta wyniki pogłębiły już istniejącą oraz dostarczyły nowej wiedzy o surowcach odpadowych przemysłu rolno-spożywczego i możliwości ich zastosowania w żywności, opakowaniach i lekach. W tym miejscu chciałbym podkreślić zdolność Habilitanta do prowadzenia badań na poziomie wielośrodkiem, albowiem powyższe prace były prowadzone we współpracy z Polytechnic Institute of Coimbra w Portugalii, Shoolini University (Indie), Kyung Hee University (Korea Południowa), Instytutem Innowacji Przemysłu Mleczarskiego w Mrągowie, Pomorskim Uniwersytetem Medycznym w Szczecinie, Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie oraz Uniwersytetem Medycznym w Łodzi. Rezultatem aktywności naukowej Habilitanta był szereg wartościowych publikacji indeksowanych w JCR, publikacji w krajowych czasopismach branżowych oraz znaczna aktywność na konferencjach międzynarodowych organizowanych w kraju i zagranicą. Habilitant wykonał 177 recenzji publikacji dla polskich i zagranicznych czasopism naukowych, w tym 45 w czasopismach ujętych w wykazie Journal Citation Reports.

Podsumowując tę część stwierdzam, że Habilitant wykazuje się wyróżniającą aktywnością naukową i jest bardzo dobrze przygotowany do samodzielnej pracy badawczej, co potwierdza jego udział w wielu projektach badawczych, w tym w dwóch w charakterze kierownika projektu badawczego.

### **3/ Charakterystyka dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego**

Pan dr inż. Łukasz Łopusiewicz w okresie studiów doktoranckich był zaangażowany w kształcenie studentów w wymiarze godzinowym wymaganym dla doktorantów oraz uczestniczył w merytorycznym wsparciu nad badaniami do pięciu prac magisterskich. Po uzyskaniu stopnia doktora, z uwagi na zatrudnienia na etacie badawczym, nie uczestniczy bezpośrednio w procesach dydaktycznych, natomiast jest nadal zaangażowany w realizację zadań badawczych studentów i doktorantów. Habilitant był opiekunem dwóch staży zrealizowanych w CBiMO, a obecnie wspiera najlepszych studentów w realizowaniu prac badawczych w ramach Szkoły Orłów ZUT będąc jednocześnie promotorem pomocniczym dwóch Uczestników Szkoły Doktorskiej ZUT.

Ważniejszymi elementami dorobku organizacyjnego Habilitanta jest działalność na rzecz macierzystej uczelni. Sukcesem organizacyjnym było powołanie interdyscyplinarnego i międzyinstytucjonalnego (2 uczelnie – ZUT i PUM) zespołu w ramach projektu LIDER XI i zdobycie funduszy na doposażenie zaplecza naukowo-badawczego CBiMO i utworzenie nowych stanowisk badawczych. Habilitant był również inicjatorem podpisania umowy o współpracy pomiędzy Zachodniopomorskim Uniwersytetem Technologicznym w Szczecinie a Pomorskim Uniwersytetem Medycznym w Szczecinie i jednym instytutem badawczym Polskiej Akademii Nauk.

W zakresie działalności popularyzującej nauki Habilitant angażuje się i wykorzystuje współczesne formy przekazu jak Facebook, Instagram, Twitter, TikTok oraz LinkedIn. Brał również udział w promocji Uczelni podczas wydarzenia „Dzień dobry ZUT 2021”.Wraz z Zespołem prowadzi stronę internetową

projektu ProBioVege ([www.probiovege.com.pl](http://www.probiovege.com.pl), w języku polskim i angielskim), a także na serwerze uczelnianym prowadzi również swoją stronę internetową ([www.llopusiewicz.zut.edu.pl](http://www.llopusiewicz.zut.edu.pl)), na której podaje informacje nt. swojej aktywności naukowej. Starając się promować makuchy lniane wygłosił w Centrum Nauki Kopernik w Warszawie wykład „Makuchy jako surowce do rozwoju innowacyjnych roślinnych produktów spożywczych i dodatków do żywności”, opublikował artykuł popularno-naukowy „Makuchy potencjałem żywności roślinnej i zamienników mleka?”, wystąpił też w podcaście ZUT w Eterze pt. „Będziemy zajadali makuchy?”, a także w programie TVP „Stacja innowacja”. Od 2017 roku Pan dr inż. Łukasz Łopusiewicz jest członkiem zwyczajnym Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, zaś od 2021 członkiem zwyczajnym Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Pan dr inż. Łukasz Łopusiewicz jest laureatem nagrody (2019 r.) Oddziału Polskiej Akademii Nauk w Gdańsku dla młodych naukowców na najlepszą pracę twórczą opublikowaną w kategorii nauk biologicznych i rolniczych. Był również nominowany w Plebiscycie Osobowość Roku w kategorii Nauka zajmując pierwsze miejsce w województwie Zachodniopomorskim oraz do nagrody Ambasador Innowacyjności przez Europejski Ośrodek Rozwoju Gospodarki.

Przytoczone przykłady działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej Habilitanta świadczą bardzo pozytywnie o możliwościach i efektach Jego pracy. Reasumując – dorobek Habilitanta w zakresie dydaktycznym, organizacyjnym i popularyzatorskim należy ocenić pozytywnie.

#### **4/. Ocena indywidualnego osiągnięcia naukowego - cyklu publikacji pod tytułem „Ocena potencjału makuchu lnianego jako surowca do opracowania grupy roślinnych alternatyw dla produktów nabiałowych”**

##### **a/ Ocena formalna dzieła**

*Osiągnięciem* naukowym Habilitanta jest cykl publikacji naukowych pod tytułem „**Ocena potencjału makuchu lnianego jako surowca do opracowania grupy roślinnych alternatyw dla produktów nabiałowych**”. Obejmuje on następujące prace:

1. **Łopusiewicz Ł., Drożdżowska E., Siedlecka P., Mężyńska M., Bartkowiak A., Sienkiewicz M., Zielińska-Bliźniewska H., Kwiatkowski P.** Development, Characterization, and Bioactivity of Non-Dairy Kefir-Like Fermented Beverage Based on Flaxseed Oil Cake. *Foods* 2019, 8(11):544. (Wkład Habilitanta w powstanie pracy = 65%).

IF<sub>2019</sub> = 3,011; MNiSW = - 70 pkt., liczba cytowań wg WoS = 31,



2. **Łopusiewicz Ł.**, Drożłowska E., Siedlecka P., Mężyńska M., Bartkowiak A. Preparation and characterization of novel flaxseed oil cake yogurt-like plant milk fortified with inulin. *Journal of Food and Nutrition Research* 2020, 59, 61–70. (Wkład Habilitanta w powstanie pracy = 80%).

IF<sub>2020</sub> = 0,756; MNiSW = 40 pkt., liczba cytowań wg WoS = 10,

3. **Łopusiewicz Ł.**, Drożłowska E., Trocer P., Kostek M., Bartkowiak A., Kwiatkowski P. The development of novel probiotic fermented plant milk alternative from flaxseed oil cake using *Lactobacillus rhamnosus* GG acting as a preservative agent against pathogenic bacteria during short-term refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 2021, 33, 266–276. (Wkład Habilitanta w powstanie pracy = 70%).

IF<sub>2021</sub> = 1,006; MNiSW = 40 pkt., liczba cytowań wg WoS = 10,

4. **Łopusiewicz Ł.**, Bogusławska-Wąs E., Drożłowska E., Trocer P., Dłubała A., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Bartkowiak A. The Application of Spray-Dried and Reconstituted Flaxseed Oil Cake Extract as Encapsulating Material and Carrier for Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Materials* 2021, 14(18):5324. (Wkład Habilitanta w powstanie pracy = 65%).

IF<sub>2021</sub> = 3,623; MNiSW = 140 pkt., liczba cytowań wg WoS = 3),

5. **Łopusiewicz Ł.**, Drożłowska E., Tarnowiecka-Kuca A., Bartkowiak A., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Salachna P. Biotransformation of Flaxseed Oil Cake into Bioactive Camembert-Analogue Using Lactic Acid Bacteria, *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum*. *Microorganisms* 2020, 8(9):1266. (Wkład Habilitanta w powstanie pracy = 65%).

IF<sub>2020</sub> = 4,152; MNiSW= 20 pkt., liczba cytowań wg WoS = 17.

Obok publikacji, stanowiących osiągnięcie naukowe, dołączone jest omówienie celu, wyników poszczególnych prac oraz obszernie podsumowanie. Odnosząc się do cyklu publikacji na wstępie pragnę stwierdzić, że ich zakres pokrywa się z podanym przez Habilitanta tytułem. Prace zostały opublikowane w latach 2019-2021 w zagranicznych czasopismach z obszaru nauki o żywności takich jak *Foods*, *Journal of Food and Nutrition Research*, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *Materials* i *Microorganisms*. Potwierdza to ich sumaryczny IF: 12,548 oraz suma punktów MNiSW: 310. Zważywszy na rygorystyczny charakter recenzji obowiązujący w tych czasopismach, oczywistym jest moje stwierdzenie, że nie dopatruję się w publikacjach błędów merytorycznych. We wszystkich pięciu pracach Habilitant jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Oświadczenia współautorów potwierdzają zasadniczy udział dr inż. Łukasza Łopusiewicza w sformułowaniu problemu badawczego, stworzeniu koncepcji badań, zaplanowaniu eksperymentu, przeprowadzeniu badań pilotażowych, stworzeniu interdyscyplinarnego zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim, opracowaniu metodyki badań, przeprowadzeniu analiz



statystycznych danych, opracowaniu i interpretacji wyników, opracowaniu graficznym, napisaniu pierwszej wersji manuskryptu oraz dalszych prac związanych z odpowiedziami na recenzje przed zaakceptowaniem pracy do publikacji.

**Stwierdzam, że przedstawione osiągnięcie naukowe stanowiące cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych odpowiada wymaganiom będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego w myśl art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).**

#### **b/ Ocena merytoryczna osiągnięcia naukowego**

Celem naukowym, na którym skupił się Autor w *Osiągnięciu*, było określenie możliwości wykorzystania makuchu lnianego do opracowania grupy roślinnych produktów spożywczych mogących stanowić alternatywę dla nabiału mlecznego.

Makuchy, czyli pozostałości po tłoczeniu oleju z nasion roślin oleistych, stanowią interesujący surowiec dla różnych gałęzi przemysłu spożywczego ze względu na zawartość cennych biopolimerów oraz składników bioaktywnych. Wzrastające w ostatnich latach zainteresowanie olejem lnianym, szczególnie zimnotłoczonym, sprawia, że coraz więcej nasion lnu jest przetwarzanych w tym kierunku. Powstający w tym procesie odpad, jakim jest wytlók lniany, charakteryzuje się prawie takim samym składem chemicznym co surowiec wyjściowy, jedynie ma obniżoną zawartość oleju. Odpad ten może być cennym dodatkiem do wielu produktów spożywczych. Jadalne makuchy (np. z nasion soi, słonecznika, rzepaku) o wysokiej wartości odżywczej są zwykle przeznaczane na paszę dla zwierząt. Możliwe jest jednak wykorzystanie wytlóków lnianych jako komponentu produktów spożywczych dla ludzi. Ich bardzo wysoka jakość jest zachowana dzięki niskotemperaturowym procesom tłoczenia oleju. Pozyskane z nich białka oraz ich hydrolizaty o określonych właściwościach mogą służyć jako składniki żywności funkcjonalnej. Obecnie wytloki lniane wykorzystywane są w formie bezpośredniej lub w postaci pastylek, jako suplement diety. Ze względu na obniżoną zawartość tłuszczu i korzystny skład (wysoką zawartość białka i błonnika), wytloki lniane mogą stanowić dobre uzupełnienie produktów zbożowych. Stosowano je jako zamiennik mąki przy wypieku chleba, czy też jako komponent przecieru aroniowego. Ciekawym aspektem wykorzystania makuchów lnianych jest pozyskanie z nich ekstraktu wodnego, a dalej wykorzystanie go do opracowania nowej formuły chleba bezglutenowego. Ten krótki przegląd daje podstawę do stwierdzenia, że *Osiągnięcie naukowe* Habilitanta, określające możliwości wykorzystania makuchu lnianego do opracowania grupy roślinnych produktów spożywczych mogących stanowić alternatywę dla nabiału mlecznego, jest ważnym



elementem poznawczym w badaniach nad wyłokami z roślin oleistych o istotnym znaczeniu dla przemysłu przetwórczego.

W ramach *Osiągnięcia* Autor zrealizował cele szczegółowe, które obejmowały badanie możliwości wykorzystania makuchu lnianego do opracowania:

- roślinnej przekąski półstałej fermentowanej jako alternatywy dla kefiru;
- napoju fermentowanego z udziałem kultury jogurtowej oraz ustalenia wpływu dodatku prebiotyku na właściwości produktu;
- napoju lnianego fermentowanego za pomocą szczepu probiotycznego, który mógłby mieć potencjalne zastosowanie w prewencji lub łagodzeniu zatruc pokarmowych;
- proszków otrzymanych w wyniku suszenia rozpyłowego fermentowanego napoju lnianego o właściwościach probiotycznych;
- roślinnej alternatywy sera Camembert i określenie wpływu rodzaju kultury starterowej (monokultura i kultura mieszana) na procesy zachodzące podczas dojrzewania produktu.

Efektom realizowanych chronologicznie poszczególnych celów jest cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących *Osiągnięcie* o charakterze poznawczym i o istotnym znaczeniu dla rozwoju dyscypliny technologia żywności i żywienia ukazujące wykorzystywanie mikroorganizmów fermentacji mlekowej, w tym probiotyków, do rozwoju innowacyjnej żywności. Jest to bardzo aktualna tematyka wymagająca dobrze opanowanego warsztatu analitycznego a zarazem właściwy kierunek badań podjętych przez Habilitanta w świetle braku w kraju linii technologicznych ani technologii pozwalających na zagospodarowanie makuchu lnianego.

W pierwszej pracy pt. „Development, Characterization, and Bioactivity of Non-Dairy Kefir-Like Fermented Beverage Based on Flaxseed Oil Cake” Autor przedstawił wykorzystanie makuchu lnianego do opracowania roślinnej przekąski półstałej fermentowanej jako alternatywy dla kefiru wykorzystując do fermentacji ziarna kefirowe. W wyniku wstępnej pasteryzacji uzyskał surowiec o odpowiedniej czystości mikrobiologicznej i niskim poziomie związków cyjanogennych pozwalającym do bezpiecznego wykorzystania makuchu lnianego do fermentacji z wykorzystaniem ziarna kefirowego. Po fermentacji (24 h, 25°C) produkty były przechowywane w warunkach chłodniczych przez 21 dni i okresowo monitorowane pod względem poziomu mikroorganizmów. Habilitant wykazał, że makuch lniany jest dobrą matrycą do rozwoju mikroorganizmów zawartych w ziarnach kefirowych, bowiem w każdym okresie, w jakich przeprowadzono analizy poziom mikroorganizmów nie spadł poniżej rekomendowanych wartości. Ponadto stwierdził wysoką aktywność metaboliczną mikroorganizmów, skutkiem której był obserwowany spadek pH i wzrost kwasowości produktów, tendencja spadkowa zawartości cukrów redukujących na skutek hydrolizy oligosacharydów do cukrów prostych i wykorzystania ich przez mikroorganizmy. Ponadto zaobserwował wzrost poziomu związków fenolowych uwolnionych z wiązań ze ścian komórkowych biomasy roślinnej w formie wolnych kwasów fenolowych i aglikonów flawonoidów, skutkiem czego był wzrost pojemności



antyoksydacyjnej produktów mierzonych na zasadzie wymiatania kationorodników ABTS i rodników DPPH.

Finalnym efektem badań było ustalenie, że:

- obróbka cieplna zapewnia bezpieczeństwo stosowania makuchu lnianego,
- z makucha lnianego można otrzymać półstały produkt wykorzystując ziarna kefirowe,
- uzyskany produkt charakteryzuje się wysoką zawartością mikroorganizmów kefirowych (bakterii i drożdży),
- uzyskany produkt charakteryzuje się podwyższonym poziomem związków bioaktywnych o potencjalnym działaniu przeciwutleniającym.

Ciekawym aspektem jest potencjał wdrożeniowy tego typu produktu, na który Habilitant powinien zwrócić uwagę.

W drugiej pracy pt. „ Preparation and characterization of novel flaxseed oil cake yogurt-like plant milk fortified with inulin” Autor przedstawił wykorzystanie makucha lnianego do opracowania napoju fermentowanego z udziałem kultury jogurtowej oraz ustalił wpływ dodatku inuliny na właściwości produktu. Wybór inuliny był podyktowany jej odpornością na działanie enzymów trawiennych oraz wywieranym efektem bifidogennym na skutek fermentacji w jelitach przez bytującą tam mikrobiotę, rezultatem której jest wzrostem populacji oraz aktywności metabolicznej LAB, które konkurują z bakteriami chorobotwórczymi o miejsce adhezji na nabłonku jelitowym. Ma to szczególne znaczenie w profilaktyce i ograniczaniu ryzyka występowania nowotworów , zwłaszcza w jelicie grubym. Starter pochodzący z firmy VIVO-AKTIV (Browary, Ukraina) obejmował następujące szczepy: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium lactis*. W przeprowadzonych badaniach Autor stwierdził korzystny wpływ dodatku inuliny w stężeniach 5 g/l i 10 g/l na liczebność bakterii jogurtowych w produkcie po procesie fermentacji jak i w trakcie chłodniczego przechowywania przez 21 dni. Świadczyło to jednoznacznie, że uzyskany napój lniany był dobrą matrycą do namnażania i utrzymania wysokiej liczebności bakterii jogurtowych. Cechowała go wyższa kwasowość i niższe pH w porównaniu do fermentowanego napoju bez dodatku inuliny jak i również do napoju niepoddanego fermentacji. W przeciwieństwie do roślinnej przekąski półstałej fermentowanej, w uzyskanym fermentowanym napoju z dodatkiem inuliny Autor stwierdził tendencję wzrostową zawartości cukrów redukujących w trakcie chłodniczego przechowywania przez 21 dni, która mogła wynikać z doboru mikroorganizmów wykorzystanych do biotransformacji makucha lnianego. Autor badał również wielkość cząstek fermentowanych napojów z dodatkiem inuliny oraz właściwości reologiczne stosując model Herschela-Bulkleya. Uzyskane wyniki pokazały, że fermentowane napoje z dodatkiem inuliny charakteryzowały się większą średnicą cząstek, niższą granicą płynięcia i spadkiem lepkości w czasie chłodniczego przechowywania związanym z hydrolizą polisacharydów. Finalną konkluzją przeprowadzonych badań było stwierdzenie, że z makucha lnianego można otrzymać napój roślinny, który



można poddać procesowi fermentacji z udziałem bakterii jogurtowych, zaś dodatek inuliny jako prebiotyku korzystnie wpływa na liczebność mikroorganizmów w napoju i ich aktywność metaboliczną.

W trzeciej pracy wchodzącej w skład Osiągnięcia pt. „The development of novel probiotic fermented plant milk alternative from flaxseed oil cake using *Lactobacillus rhamnosus* GG acting as a preservative agent against pathogenic bacteria during short-term refrigerated storage” Habilitant skupił się na opracowaniu napoju Inianego fermentowanego za pomocą szczepu probiotycznego, który mógłby mieć potencjalne zastosowanie w prewencji lub łagodzeniu zatruc pokarmowych. Do tego celu Autor wykorzystał szczep LGG używany zwykle jako naturalny środek konserwujący zdolny do produkcji aktywnych metabolitów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Weryfikowana była teza, że wykorzystując probiotyczny szczep LGG można otrzymać fermentowany napój Iniany, który będzie cechować się właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi względem wybranych bakterii patogennych, natomiast wzbogacenie go w 1% dodatek glukozy lub fruktozy wpłynie korzystnie na jego jakość.

Efektom badań było ustalenie, że:

- glukoza i fruktoza w fermentowanym napoju wykazują stymulujące działanie na poziom związków o działaniu przeciwutleniającym (polifenoli i flawonoidów),
- obecność bakterii chorobotwórczych stymulowała LGG do dalszego namnażania i produkcji kwasu mlekowego, czego rezultatem była znacząca redukcja liczebności wszystkich testowanych bakterii chorobotwórczych (*S. enterica*, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*),
- glukoza i fruktoza w fermentowanym napoju w zależności od czasu fermentacji miały wpływ na ograniczanie poziomu bakterii patogennych,
- z napoju Inianego można otrzymać napój fermentowany, który może potencjalnie znaleźć zastosowanie w profilaktyce lub łagodzeniu zatruc pokarmowych bakteriami chorobotwórczymi.

Kolejna praca Habilitanta pt. „The Application of Spray-Dried and Reconstituted Flaxseed Oil Cake Extract as Encapsulating Material and Carrier for Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG” dotyczyła możliwości otrzymania z napoju Inianego fermentowanego z wykorzystaniem szczepu LGG produktu instant czyli sypkiego koncentratu rozpuszczalnego w wodzie o przedłużonej trwałości. Praca ta stanowiła konsekwencję wcześniejszego uzyskania napoju fermentowanego zawierającego probiotyczny szczep *Lactobacillus rhamnosus* GG. Habilitant podjął tę trudną tematykę bazując na wcześniejszych doniesieniach mówiących, że z ekstraktu z makuchu Inianego można uzyskać metodą suszenia rozpyłowego proszku o właściwościach emulgujących. Założył ponadto, że sproszkowany napój Iniany może być materiałem ścianotwórczym w procesie enkapsulacji probiotycznego szczepu LGG zachodzącym podczas suszenia rozpyłowego w różnych temperaturach, natomiast sam szczep LGG po przeprowadzeniu proszku w napój będzie zachowywał wysoką przeżywalność i działanie probiotyczne w czasie przejścia przez symulowany przewód pokarmowy. W tym celu Habilitant wykorzystał suszenie rozpyłowe stosując stały przepływ powietrza oraz temperaturę powietrza wylotowego, natomiast parametrem zmiennym była temperatura



powietrza wlotowego (110°C, 140°C i 170°C), uzyskując z napoju Inianego sproszkowany, rozpuszczalny w wodzie koncentrat. Był on przedmiotem szczegółowych badań w zakresie klasycznych właściwości fizykochemicznych i niektórych właściwości chemicznych związanych ze zmianami grup funkcyjnych analizowanych z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. Uzyskane proszki charakteryzowały się dobrymi właściwościami fizykochemicznymi. Suszenie rozpyłowe znajduje coraz szersze zastosowanie w wielu sektorach przemysłu, w tym także w biotechnologii. Suszenie rozpyłowe jest najczęściej stosowane na skalę przemysłową do suszenia produktów mlecznych i owocowych. Jest to proces trudny, głównie ze względu na dużą zawartość związków niskocząsteczkowych, w tym cukrów (głównie fruktozy, glukozy i sacharozy) i kwasów organicznych (w tym kwas jabłkowy i cytrynowy), których zawartość może sięgać aż 90% suchej masy produktów owocowych. Habilitant na podstawie obrazów SEM pokazujących wielkość cząstek proszków i komórek LGG stwierdził dobrą zdolność składników napoju Inianego do enkapsulacji komórek bakteryjnych. Dla proszku suszonego w temperaturze 110°C odnotował najwyższą przeżywalność komórek LGG, która mogła wynikać z termoprotekcyjnych właściwości białek i polisacharydów Inianych. Dalsza analiza spektroskopowa FTIR pokazała, że wraz ze wzrastającą temperaturą powietrza wlotowego następowała częściowa denaturacja i hydroliza białek, w rezultacie czego zaobserwowano spadek ilości grup tiolowych oraz wzrost ilości mostków disiarczkowych wraz ze wzrastającą temperaturą powietrza wlotowego. Bardzo interesująca i najbardziej istotna część badań dotyczyła oceny właściwości upłynnionego produktu oraz zmian zachodzących w warunkach symulowanego trawienia z wykorzystaniem szeregu połączonych z sobą bioreaktorów, których praca symuluje fizjologiczne warunki panujące w odcinkach ludzkiego przewodu pokarmowego: jamy ustnej, żołądka, soku jelitowego. Habilitant stwierdził, że w odtworzonych napojów przeżywalność komórek LGG na odcinkach symulujących środowisko żołądka i jelita cienkiego była o 1 rząd logarytmiczny mniejsza niż w przypadku napoju nie poddanego procesowi suszenia, natomiast cechy probiotyczne szczepu LGG zostały w dużym stopniu zachowane. Wyniki analiz cech probiotycznych LGG pozwoliły na poszerzenie wiedzy na temat wrażliwości tego szczepu na warunki panujące podczas suszenia rozpyłowego oraz w czasie symulowanego przejścia przez przewód pokarmowy. W mojej ocenie praca ta ma duży potencjał wdrożeniowy, który jednak wymagałby dalszych badań dotyczących wpływu upłynnienia preparatu na ograniczanie poziomu bakterii patogennych.

W ostatniej pracy wchodzącej w skład Osiągnięcia pt. „Biotransformation of Flaxseed Oil Cake into Bioactive Camembert-Analogue Using Lactic Acid Bacteria, *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum*” opublikowanej w czasopiśmie *Microorganisms* Habilitant starał się uzyskać z makuchu Inianego roślinną alternatywę sera Camembert. Badania obejmowały określenie wpływu rodzaju kultury starterowej (monokultura i kultura mieszana) na procesy zachodzące podczas dojrzewania produktu. Autor do uzyskania z makuchu Inianego produktu stanowiącego alternatywę dla tradycyjnego dojrzewającego sera pleśniowego Camembert wykorzystał następujące kultury starterowe: LAB - bakteryjną MST Cheese-Tek® (zawierającej *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* i *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*), pleśni PC® (*Penicillium camemberti*) oraz GC - drożdży GEO® (*Geotrichum candidum*).



Badania obejmowały dwa warianty w zależności od zastosowanych kultur: (i) LAB + monokultura PC; (ii) LAB + kultura mieszana PC + GC. Zastosowanie monokultury lub kultury mieszanej nie miało wpływu na wysoką liczebność bakterii kwasu mlekowego, natomiast widoczny był synergistyczny wzrost grzybów w kulturze mieszanej. Autor wykazał, że w roślinnej alternatywie sera Camembert z makuchu Inianego w czasie dojrzewania i chłodniczego przechowywania zachodziły, zależne od dodanej kultury starterowej, zaawansowane procesy proteolityczne i lipolityczne, których markerem był wzrost zawartości wolnych aminokwasów, spadek ilości tłuszczu i wzrost ilości wolnych kwasów tłuszczowych, a także deaminacja białek i aminokwasów. W produkcie wzrastała także zawartość polifenoli ogółem oraz flawonoidów ogółem, w rezultacie czego jego potencjał antyoksydacyjny mierzony na zasadzie wymiatania wolnych rodników (DPPH, ABTS, rodnika hydroksylogowego oraz anionorodnika ponadtlenkowego) również był podwyższony. Wchodząca w skład Osiągnięcia praca jest inspiracją do dalszych badań w ramach projektu Miniatura 5 oraz szerszej współpracy z Katedrą Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie, Instytutem Innowacji Przemysłu Mleczarskiego w Mrągowie oraz Pracownią Badań Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Świadczy to o właściwym kierunku badań, których efektem mogą być nowe innowacyjne produkty.

W posumowaniu stwierdzam, że przedstawione do oceny Osiągnięcie p.t. **„Ocena potencjału makuchu Inianego jako surowca do opracowania grupy roślinnych alternatyw dla produktów nabiałowych”** stanowi obszerne studium eksperymentalne podporządkowane dobrze uzasadnionym względem poznawczym i praktycznym. W pracy wykorzystano właściwe metody badawcze, pozwalające uzyskać wiarygodne i wartościowe wyniki właściwie skonfrontowane z danymi literaturowymi. **Wnoszą one nowe wartości do nauki o żywności i żywieniu w zakresie wykorzystania makuchu Inianego do opracowania nowych produktów pożądaných z punktu widzenia konsumentów.** Należy zaznaczyć, że w przeciwieństwie do innych prac dotyczących makuchu Inianego, w których był on wykorzystywany głównie jako dodatek w recepturze np. chrupiek kukurydzianych czy też w opracowaniu produktów typu tempe, w Osiągnięciu Autor przedstawił możliwości biotransformacji makuchu Inianego jako podstawowego surowca do opracowania nowych produktów. **Tym samym, po analizie Osiągnięcia stanowiącego cykl publikacji naukowych wyrażam jednoznaczną ocenę pozytywną albowiem Osiągnięcie wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienie.**

#### Ocena końcowa

Stwierdzam, że przedstawione osiągnięcie naukowe stanowiące cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych odpowiada wymaganiom będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora



habilitowanego w myśl art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Po analizie Osiągnięcia wyrażam jednoznaczną ocenę pozytywną albowiem wnosi ono znaczący wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienie. Na przedmiotową opinię zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2 bez wpływu pozostała istotna aktywność naukowa Habilitanta realizowana w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej, jak i ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych, czy też popularyzujących naukę.

Stosownie do powyższych opinii, przedkładam Senatowi Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie wnioski o dopuszczenie Pana dr inż. Łukasza Łopusiewicza do dalszych etapów zmierzających do nadania stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienie.

