

Warszawa, 09.06.2025

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Łukasza Wysockiego
„Biotechnologiczna produkcja enancjomerów kwasu
mlekowego na odpadach kawowych
w aspekcie ich całkowitej biorafinacji”

Podstawa prawna

Podstawą wykonania niniejszej recenzji jest pismo przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Politechniki Warszawskiej prof. dr hab. Michała Chudego z dn. 02.04.2025 informujące o wyznaczeniu mnie na recenzenta na posiedzeniu ww. Rady w dn. 18.03.2025.

**Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie**

Instytut Nauk o Żywności

dr hab. Katarzyna Samborska, prof.
SGGW

ul. Nowoursynowska 159C
02-787 Warszawa
+48 22 59 37 551
katarzyna_samborska@sggw.edu.pl

Uwagi ogólne

Rozprawa doktorska została napisana pod kierunkiem dr hab. Joanny Cieśli, prof. ucz. (Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska) i prof. dr hab. inż. Andrzeja Chwojnowskiego (Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. Macieja Nałęcz PAN). Pracę zrealizowano w ramach IV edycji programu Doktorat Wdrożeniowy (finansowanego ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego) we współpracy z firmą EcoBean Sp. z o. o. Zaprezentowane wyniki stanowią podwaliny do opracowania i wdrożenia wielowymiarowego procesu przetwarzania fusów kawowych w skali przemysłowej, który ma prowadzić do otrzymania szeregu produktów cennych gospodarczo.

Wybór i znaczenie tematu

Podjęta tematyka badawcza doskonale wpisuje się w aktualne trendy związane z gospodarką cyklu zamkniętego.

<część niejawna>

Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Rozprawa ma układ charakterystyczny dla monografii, ma formę polskojęzycznego, bardzo obszernego maszynopisu, obejmującego 285 stron tekstu podzielonych na następujące rozdziały: 1. Wprowadzenie, 2. Cel i zakres pracy, 3. Materiały i metody, 4. Wyniki, 5. Bilans energetyczny biorafinerii przetwarzającej SCG, 6. Dyskusja, 7. Podsumowanie, 8. Bibliografia. Rozdziały numerowane poprzedzono streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz wykazem stosowanych skrótów, natomiast w końcowej części rozprawy zamieszczono wykaz ilustracji i tabel oraz załączniki zawierające wyniki badań, a także schemat ideowy procesu biorafinacji fusów kawowych. W pracy umieszczono 64 tabele i 70 rysunków (niektóre z nich nazwane jako ryciny, inne jako wykresy, choć zwyczajowo wszystkie ilustracje w tego typu rozprawach nazywa się po prostu rysunkami).

Praca doktorska rozpoczyna się „Streszczeniem” (w języku polskim i angielskim) stanowiącym skrótowe omówienie przesłanek skłaniających do podjęcia badań, napotkanych wyzwań, zastosowanych metod badawczych oraz uzyskanych efektów.

W rozdziale „Wprowadzenie” Kandydat w 3 podrozdziałach na 39 stronach nakreślił przesłanki, którymi kierował się przy wyborze tematyki badawczej, poczynając od przedstawienia fusów kawowych jako potencjalnego surowca, przez charakterystykę kwasu mlekowego jako głównego produktu na którym się skupił w badaniach, aż do charakterystyki biotechnologicznych metod jego wytwarzania. Rozdział ten wprowadza czytelnika w zagadnienia poruszane w rozprawie oraz uzasadnia podjęcie tematu. Jednakże, czuję pewien niedosyt po zapoznaniu się z tym rozdziałem. Uważam, że niektóre części mogły zostać pominięte, jak np. 1.2.3. *Rola kwasu mlekowego i jego soli w organizmie człowieka* (nie widzę związku z tematem pracy, aby poświęcać temu ponad dwie strony tekstu), lub skrócone, jak np. p. 1.3.1. *Systematyka bakterii kwasu mlekowego, Fermentacja mlekowa, Zastosowanie LAB w innych gałęziach przemysłu* (fragmenty te są zbyt ogólne i podręcznikowe). Uważam, że zamiast tego powinien zostać rozwinięty rozdział o biotechnologicznym wytwarzaniu kwasu mlekowego z użyciem fusów kawowych lub podobnych/innych surowców. Kandydat zawarł na ten temat tylko kilka ogólnych informacji w rozdziale 1.2.2. *Otrzymywanie kwasu mlekowego*, natomiast

rozdział 1.3.2. *Techniki hodowli mikroorganizmów*, gdzie powinny znaleźć się szczegółowe informacje nt. dotychczasowych osiągnięć w zakresie wytwarzania kwasu mlekowego, jest znów podręcznikowym ogólnym przedstawieniem charakterystyki poszczególnych typów hodowli. Jest to wiedza ogólnie znana czytelnikowi rozprawy, oczekuje on raczej nakreślenia tła, na którym może, czytając dalszą część rozprawy, wyrobić sobie zdanie, na ile uzyskane wyniki są kolejnym krokiem w rozwoju tej dziedziny. Kandydat powołuje się na 3 pozycje literaturowe dotyczące produkcji kwasu mlekowego z użyciem fusów kawowych (str. 36), lecz zupełnie nie rozwija tego tematu, pozostawiając czytelnika z pytaniami: w jaki sposób przygotowano podłoże hodowlane? Jak dobrano odpowiedni szczep bakterii? Jaka była skala i warunki hodowli? W jaki sposób wydzielono produkt? Jaka była wydajność procesu? Informacje to powinny zostać zebrane np. w formie tabeli, mogłyby być one być doskonałym punktem odniesienia w dalszej dyskusji wyników. Nie zaszkodziłoby też stabelaryzowanie danych z szeregu innych wymienionych publikacji odnoszących się do produkcji kwasu mlekowego na innych odpadach odnawialnych (słoma, melasa, hydrolizat drzewny, odpady kartonowe). Nasuwają się te same pytania co powyżej, jak również takie: jakie były różnice pomiędzy zastosowaniem tych innych surowców w porównaniu do SCG? To zestawienie również mogłoby być pomocne w rozwinięciu dyskusji wyników w dalszej części rozprawy. Ponadto, również rozdział 1.3.3. jest znacznie za długi i szczegółowy, niepotrzebne są szczegóły dotyczące różnych technik membranowych, zwłaszcza że ponownie są to informacje podręcznikowe, nie mające związku z wykonywanymi badaniami. Zamiast tych informacji podręcznikowych, bardziej oczekiwałabym rozwinięcia punktu pt. *Techniki membranowe w produkcji kwasu mlekowego*, który został skondensowany do zaledwie 9 wersów. Niemniej, podsumowując ocenę tego rozdziału należy stwierdzić, iż Kandydat wykazał się teoretyczną wiedzą w zakresie biotechnologii, która była niezbędna do prowadzenia badań naukowych.

Cel i zakres pracy w kolejnym rozdziale zostały sformułowane w sposób niezbyt klarowny. Nie zostały one wypunktowane, lecz czytelnik musi sam je odnaleźć w tekście. <część niejawna>

W tym rozdziale brakuje schematu przeprowadzonych badań, który znalazł się dopiero na początku rozdziału „Wyniki”. Również tam dopiero przedstawiono listę poszczególnych etapów, które raczej powinny być zdefiniowane we wcześniejszej części rozprawy. <część niejawna> Kolejna nieścisłość dotyczy podania informacji o opisywaniu kolejnych etapów prac współczynnikiem gotowości technologicznej TRL, czego jednak nie znalazłam w dalszej części rozprawy. Proszę o podanie w czasie obrony poziomów tego współczynnika osiągniętych po ukończeniu badań, jeśli rzeczywiście zostały one zdefiniowane. Ponadto,

brak informacji o hipotezach badawczych, które powinny być sformułowane w tym miejscu. Odwołanie do jednej hipotezy, która nie została tu nawet sformułowana, znajduje się dopiero na początku rozdziału „Wyniki”.

Rozdział „Materiały i metody” zazwyczaj w rozprawach doktorskich zawiera wyodrębnione podrozdziały „Materiały”, „Metody technologiczne”, „Metody analityczne” oraz „Metody statystyczne” w takiej logicznej kolejności, aby było wiadomo jakie materiały poddano jakim procesom, oraz jakie później wykonano oznaczenia i analizy wspomagające omówienie wyników. O ile pierwsza część tego rozdziału to rzeczywiście przedstawienie materiałów, to dalej Kandydat nie utrzymał tej logicznej kolejności, ponieważ najpierw przedstawił metody analityczne, a później technologiczne, błędnie nazwane metodami „badawczymi”. W tej części zabrakło odwołań do literatury i podania na jakiej podstawie zostały wybrane poszczególne metody i ich parametry. Brak opisu metody oznaczenia aktywności przeciwutleniającej uzyskanych antyoksydantów. Zastosowane metody technologiczne i analityczne oceniam jako prawidłowe. <część niejawną> Rozdział „Obliczenia statystyczne” powinien być zatytułowany „Metody statystyczne”, a metoda Taguchi powinna być opisana jako jedna z nich. Metoda ta została scharakteryzowana ogólnie, lecz nie podano jaki proces i przy jakich poziomach jakich parametrów optymalizowano. O tym przekonać się można dopiero w rozdziale „Wyniki”. Rozdział „Metody statystyczne” niepotrzebnie powielił informacje o liczbie powtórzeń hodowli oraz oznaczenia zawartości kwasów (informacje te podano przy opisie metod). Zupełnie nie jest potrzebne podawanie wzoru na obliczenie odchylenia standardowego. Zabrakło natomiast informacji o zastosowanej metodzie do oceny istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi. Z dalszej treści pracy nie wynika, aby taką metodę (analizę wariancji), wogóle zastosowano. Według mnie jest to największy mankament przedstawionej do recenzji rozprawy. Wnioskowanie na temat wpływu modyfikowanych metod traktowania fusów, wpływu zmiennych parametrów hodowli lub składu pożywki na uzyskiwane efekty hodowli i wytwarzanie kwasu mlekowego, powinno być oparte o analizę statystyczną (analiza wariancji z wyodrębnieniem grup jednorodnych), która jest bardzo prosta w wykonaniu np. za pomocą pakietu Statistica. Tylko w oparciu o wyniki takiej analizy, uwzględniającej podział wartości średnich na grupy homogeniczne, można stwierdzić czy wpływ danego czynnika był istotny czy też nie. Kandydat zaś dokonywał tej oceny jakby „na oko”, w wielu miejscach komentując, że np.: „próby osiągnęły podobną produktywność”, „produkcja osiągnęła porównywalny poziom”, „uzyskano wyniki porównywalne z próbą odniesienia”, „cytrynian nieznacznie hamował produkcję”, „do znaczącego wzrostu przyczynił się...”, „produkcja była taka jak w hodowli...”, „efekt był niewielki, wręcz pomijalny”, „wobec niewielkich różnic” itp.

Kilkukrotnie zostało użyte sformułowanie o uzyskaniu lub też nie „istotnego wzrostu” lub „istotnej poprawy produktywności”, lecz jeżeli nie dokonano tej oceny istotności na podstawie analizy statystycznej, wnioskowanie takie jest bezpodstawne.

Kolejna, zasadnicza część pracy to rozdział „Wyniki”. Jest on bardzo obszerny – na 111 stronach maszynopisu zawarto 7 podrozdziałów, a których każdy jest podzielony na od 3 do 9 części. Tak jak wcześniej wspomniano, rozpoczynający ten rozdział fragment i schemat (str. 82) powinien zostać raczej scalony z rozdziałem „Cel i zakres pracy” gdyż do nich się odnosi. Również tytuł pierwszego podrozdziału „Weryfikacja hipotezy” nie jest zbyt trafiony. Każda część rozprawy powinna być weryfikacją jakiejś hipotezy, lecz nie zostały one uprzednio sformułowane. Co cenne i warte podkreślenia – kolejne podrozdziały tej części pracy kończą się zazwyczaj krótkim podsumowaniem, co ułatwia odbiór rozprawy i przekierowuje uwagę czytelnika na dalsze etapy, logicznie wynikające z poprzednich. Oceniając ten rozdział od strony formalnej zwróciłam uwagę ponadto na następujące mankamenty:

- zmienny układ wykresu słupkowego przedstawiającego zawartość kwasu mlekowego; w większości słupki mają układ poziomy (co uznaję za mniej prawidłowe, gdyż zmienna zależna z reguły powinna znaleźć się na osi Y a nie X), lecz w niektórych przypadkach jest to układ pionowy (str. 137, 138, 140, 142). Warto to ujednolicić w przygotowywanym autoreferacie. Podobna sytuacja dotyczy wykresów przedstawiających zawartość monosacharydów (do str. 123 układ poziomy, str. 130 i 131 – pionowy). Duży mankament to brak przedstawienia grup jednorodnych na tych wykresach, o czym wspominałam we wcześniejszej części recenzji.
- brak odchyłeń standardowych w tabelach i na wykresach innych niż słupkowe przedstawiające zawartości kwasu mlekowego. Przedstawianie uzyskanych wartości jako średnie $\pm$ SD oraz dodanie słupków błędów jest standardem w pracach naukowych, ich brak nie powinien mieć miejsca. Według informacji przedstawionej w p. 3.2.1. zawartość cukrów była oznaczana w 2 powtórzeniach, zatem wyniki powinny zostać przedstawione wraz z wartościami SD.
- z zasady tytuły osi na wykresach powinny być pisane od wielkiej litery,
- w całym rozdziale na 111 stronach znalazłam zaledwie 28 odwołań do literatury (z tego większość w części dotyczącej suplementacji). Rozumiem, że Kandydat przyjął odmienny od typowego układ rozprawy i umieścił dyskusję jako osobny rozdział, lecz w ten sposób poszczególne wyniki na kolejnych etapach nie zostały porównane/przedyskutowane z literaturą. Również sposób postępowania

i przechodzenie od etapu do etapu nie zostały merytorycznie uzasadnione w oparciu o dotychczasową wiedzę.

W rozdziałach „Dyskusja” i „Podsumowanie” Kandydat przedstawił syntetyczne porównanie otrzymanych wyników z literaturą oraz ich podsumowanie. Jednakże, dyskusja wyników jest bardzo lakoniczna, odnosi się głównie to finalnego poziomu zawartości kwasu mlekowego po zoptymalizowanej hodowli, a nie dyskutowano szczegółowo wyników osiągniętych na poszczególnych etapach badań. Z kolei rozdział „Podsumowanie” również zawiera odniesienia do literatury, a więc te fragmenty w mojej opinii powinny zostać przeniesione do poprzedniego rozdziału. Rozprawa powinna zakończyć się sformułowaniem wniosków i odniesieniami do hipotez badawczych (przyjęcie lub odrzucenie hipotez).

Zestawienie literatury („Bibliografia”) przygotowano z dużą starannością, a dobór literatury jest prawidłowy. Nie zostało ono niestety ponumerowane, lecz oceniam je na około 300 pozycji, z czego większość to pozycje anglojęzyczne z ostatnich kilkunastu lat.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

<część niejawna>

Podsumowując tę część oceny rozprawy, należy podkreślić bardzo szeroki zakres wykonanych badań. Przeprowadzono kilkadziesiąt wariantów obróbki wstępnej fusów oraz hodowli. Biorąc pod uwagę zaplanowany cel i zakres pracy, stosowane metody, sposób przedstawienia wyników i ich interpretacji oraz ich podsumowanie, oceniana rozprawa doktorska została wykonana w sposób dostatecznie dobry/akceptowalny. Otrzymane wyniki mają wartość poznawczą i wnoszą nową wiedzę w zakresie biotechnologii, chociaż nie zostały one z mojego punktu widzenia dogłębnie zanalizowane, czego zazwyczaj wymaga się od prac naukowych na poziomie doktoratu. Nie do końca przemyślany przegląd literatury oraz lakoniczna dyskusja wyników nie umożliwiają czytelnikowi zorientowania się, w jakim zakresie uczyniony został postęp w stosunku do badań już opublikowanych, odnoszących się do poszczególnych etapów proponowanego procesu bazującego na fusach kawowych, lub podobnych badań wykonanych na innych materiałach. Oczywiście, ze względu na wdrożeniowy charakter rozprawy główna wartość otrzymanych wyników to wartość aplikacyjna. Główny cel wykonywania badań, aby tę wartość aplikacyjną dostarczyć, został zrealizowany bardzo dobrze. Z tego punktu widzenia rezultaty badań są bardzo wartościowe, a ich komercjalizacja jest oczywista i to ogromnie cieszy. Zgłoszone powyżej uwagi mają charakter dyskusyjny, gdyż jako recenzent i naukowiec czuję niedosyt w tym, w jaki

sposób Kandydat wyjaśniał naukowo uzyskane wyniki.

Inne uwagi

Poprawność językową oraz poziom redakcyjny rozprawy oceniam jako dobre. Ponieważ zwyczajowym elementem recenzji rozpraw doktorskich, jest wskazanie uchybień metodycznych, edytorskich i językowych, z obowiązku recenzenta przedstawiam ich przykłady:

- język często zbyt potoczny, zawierający sformułowania osobowe, nieprecyzyjne, nienaukowe i skróty myślowe np. : „smak, który *znamy* z życia codziennego”, „przemysł kawowy *nie zwracał uwagi*”, „zastosowanie ciśnienia *na* roztwór”, „sitko”, „hipoteza była *dość prosta*”, „*drastyczny spadek*”, „w tabeli *zebrano poziomy parametrów*”, „*spadek* wartości pH” (zamiast „obniżenie” lub „zmniejszenie”), „*lepsze stężenie kwasu*” (zamiast „wyższe”), „*lekkiego mieszania*”, „w hodowlach *gdzie* dodano wysokie stężenie...” (zamiast „w których”), „*niezwykle dużo* błonnika”, itp.,
- niepotrzebne powtarzanie w wielu miejscach sformułowań: „w ramach niniejszej pracy”, „w ramach doktoratu” itp.,
- stosowanie czasu teraźniejszego przy opisie wyników, podczas gdy powinien być używany czas przeszły.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Łukasza Wysockiego jest oryginalnym opracowaniem stanowiącym rozwiązanie problemu naukowego. Co ważne, ze względu na wdrożeniowy charakter rozprawy, uzyskane wyniki są już wykorzystywane w działalności gospodarczej firmy EcoBean sp. z o.o. Rozprawa zawiera elementy nowości naukowej, a wymienione powyżej uwagi nie umniejszają mojej pozytywnej oceny. Pan mgr inż. Łukasz Wysocki wykazał się zdolnością prowadzenia studiów literaturowych, umiejętnością planowania i samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, interpretowania otrzymanych wyników badań.

Reasumując, stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Łukasza Wysockiego pt. „Biotechnologiczna produkcja enancjomerów kwasu mlekowego na odpadach kawowych w aspekcie ich całkowitej biorafinacji” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim (art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Pana mgr inż.

Łukasza Wysockiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


.....
Dr hab. Katarzyna Samborska, prof. SGGW