

Prof. zw. dr hab. Maria H. Borawska
Kierownik Zakładu Bromatologii
Uniwersytetu Medycznego
w Białymstoku

Białystok, 4 kwietnia 2016 r.

R e c e n z j a

rozprawy doktorskiej mgr inż. Adama Ambroziaka

pt.: „**Pojemność antyoksydacyjna mleka i wybranych preparatów do żywienia niemowląt**” wykonanej w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Warmińsko- Mazurskiego w Olsztynie.

W ciągu ostatnich lat popyt na tradycyjne mleko i produkty mleczne zwiększa się, także dzięki wzrostowi eksportu z Unii Europejskiej do krajów trzecich (Egiptu, Pakistanu, Japonii, Filipin, Bangladeszu, Wietnamu, Tajlandii oraz Meksyku). Głównym motorem wzrostu popytu jest przekonanie konsumentów, że te produkty są „zdrowsze”. Jednak istnieje nadal niepewność względem tego przekonania; czy i w jakim zakresie stosowanie nowych metod żywienia krów, powoduje znaczące zmiany w jakości odżywczej mleka i przetworów mlecznych?

W ostatnich 20 latach ukazała się znaczna liczba wyników badań naukowych dotyczących porównania zawartości istotnych składników odżywczych w mleku, pochodzącym z systemów ekologicznych i konwencjonalnych produkcji mleka. Większość z nich koncentruje się na porównaniu składu tłuszczu mleka, a tylko nieliczne opublikowane dane odnoszą się do zawartości przeciwutleniaczy, witamin i/lub stężenia składników mineralnych w mleku i przetworach mlecznych.

Jedną z najpopularniejszych metod żywienia wysokomlecznych krów jest system z wykorzystaniem TMR (ang. total mixed ration - całkowicie wymieszana dawka). TMR - to mieszanina pasz objętościowych i treściwych z dodatkiem składników witaminowo-mineralnych. Według prawideł żywienia krów mlecznych, których roczna wydajność mleka przekracza 8000 kg, niemożliwe jest optymalne żywienie krowy mlecznej bez zastosowania TMR.

Czy jednak uzyskane mleko w takim systemie produkcji jest równoważne pod względem właściwości antyoksydacyjnych jak mleko od krów żywionych tradycyjnie i co determinuje te właściwości mleka? Czy właściwości antyoksydacyjne mleka zależą od pory roku jego pozyskiwania? Czy pojemność antyoksydacyjna mleka krowiego jest porównywalna do preparatów do żywienia niemowląt i jak długo te preparaty są pod tym względem bezpieczne w żywieniu niemowląt?

Próby odpowiedzi na powyższe pytania, między innymi, zostały podjęte w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej mgr inż. Adama Ambroziaka.

Wobec tego badania, które podjęto w niniejszej rozprawie uważam za bardzo potrzebne i w pełni uzasadnione naukowo.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma typowy układ i obejmuje 100 stron; w tym 249 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa, z czego około 56 procent to publikacje z ostatnich 10 lat. Dokumentację wyników badań, umieszczonych w treści rozprawy stanowi 9 rycin i 5 tabel. Dodatkowo dołączono 5 załączników, które dotyczą w załączniku nr 1 - wartości odżywczej preparatów do żywienia niemowląt oraz w pozostałych czterech załącznikach, w zależności od pory roku i systemu żywienia krów, następujących danych: średniego składu kwasów tłuszczowych (%) w badanych mlekach [zał.2], udziału kwasów tłuszczowych w mleku [zał.3], zawartości witamin alfa-tokoferolu i β -karotenu ($\mu\text{g/g}$ tł.) w mleku krów z poszczególnych gospodarstw [zał.4] i średniej zawartości tych witamin ($\mu\text{g/g}$ tł.) w mleku [zał.5].

Rozprawa posiada ładną szatę graficzną z kolorowymi rycinami.

Wstęp pracy składa się z 3 głównych podrozdziałów, w których Autor wyczerpująco omawia stan wiedzy z zakresu:

- znaczenia antyoksydantów w zapobieganiu skutkom stresu oksydacyjnego; w tym omawia powstawanie wolnych rodników, mechanizmy obronne organizmu i metody oceny pojemności antyoksydacyjnej;
- antyoksydacyjnych właściwości mleka, w tym antyoksydantów fazy hydrofilnej i lipofilnej;
- możliwości antyoksydacyjnych preparatów do żywienia niemowląt, w tym opisuje skład preparatów do żywienia niemowląt, aktywność biologiczną białek serwatkowych i stabilność oksydacyjną frakcji lipidowej tych preparatów.

Uważam, że cel pracy, którym była ocena właściwości antyoksydacyjnych mleka w zależności od profilu kwasów tłuszczowych i zawartości lipofilnych antyoksydantów oraz zmiany pojemności antyoksydacyjnej preparatów do żywienia niemowląt - było ambitnym i trudnym zadaniem, także pod względem metodycznym.

W rozdziale „Materiał i Metody” Doktorant podaje, że badaniu poddano próbki mleka pochodzące z 4 gospodarstw z systemem karmienia TMR i 4 gospodarstw tradycyjnych, które pobierano w 4 porach roku; co łącznie stanowiło 32 próbki mleka surowego i 6 próbek preparatów do żywienia niemowląt.

Do oceny próbek mleka zastosowano: analizę składu chemicznego mleka za pomocą aparatu MilkoScan FT2, pomiar pH, w wyekstrahowanym tłuszczu analizę profilu kwasów tłuszczowych techniką chromatografii gazowej (GC) z detektorem płomieniowo - jonizacyjnym, oznaczenia α -tokoferolu z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii HPLC-UV, oznaczenie β -karotenu z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej HPLC-DAD oraz tzw. pojemność antyoksydacyjną metodą ORAC_{FL} (oceniająca zdolność antyutleniacza do opóźniania fluorescencji) fazy hydrofilnej i fazy lipofilnej zmodyfikowaną metodą DPPH (opartej na reakcjach wygaszania syntetycznych wolnych rodników) – zarówno w próbkach mleka jak i w preparatach do żywienia niemowląt.

Poza tym, w próbkach preparatów do żywienia niemowląt oznaczano liczbę nadtlenkową, metodą miareczkową zgodnie z normą PN-ISO 3960 1996 i liczbę anizydynową metodą spektroskopową, zgodnie z normą PN-EN ISO 6885:2000.

Przedstawione metody są poprawne i stosowane do badanych parametrów, jednak metody odnoszące się do oceny pojemności antyoksydacyjnej są obarczone pewnymi błędami, co rzetelnie zaznaczono w dyskusji rozprawy.

Natomiast, aby ocenić jakość wykonania analiz chromatograficznych, należałoby w pracy umieścić uzyskane przykładowe chromatogramy GC dla profilu kwasów tłuszczowych, HPLC-UV dla α -tokoferolu i HPLC-DAD dla β -karotenu w mleku.

Poza tym, w metodyce pracy nie podano jakie testy zastosowano w obliczeniach statystycznych.

Mgr inż. Adam Ambroziak wykazał korzystny wpływ żywienia pastwiskowego na wzrost zawartości w mleku wybranych rozgałęzionych kwasów tłuszczowych (C14:0 *iso*, C15:0 *iso*, C15:0, C16:0 *iso*, C17:0, C17:1) i izomerów skoniugowanego kwasu linolowego. Mleko pozyskiwane od krów w okresie żywienia pastwiskowego zawierało procentowo więcej WNKT w porównaniu do mleka z obiektów TMR oraz w okresie zimowym i jesiennym miało najkorzystniejsze proporcje WNKT n-6 do WNKT n-3. Zależny od pory roku sposób żywienia krów wpływał także na zawartość antyoksydantów lipofilnych, w tym α -tokoferolu i β -karotenu i był wyższy w mleku z gospodarstw tradycyjnych niż w mleku krów żywionych w systemie TMR. Jednak należy zaznaczyć, że niezależnie od sposobu żywienia krów pojemność antyoksydacyjna mleka, pozyskiwanego w okresie wiosennym, letnim i jesienią, była większa niż pojemność antyoksydacyjna preparatów do żywienia niemowląt.

Mgr inż. Adam Ambroziak wykazał, że krytycznym etapem w przechowywaniu preparatów do żywienia niemowląt okazał się okres od 6 m-ca, od kiedy to znacznie wzrastała zawartość zarówno pierwotnych (liczba nadtlenkowa) jak też wtórnych (liczba anizydynowa) produktów oksydacji lipidów.

Spadek pojemności antyoksydacyjnej podczas przechowywania preparatów do żywienia niemowląt, większy w fazie lipofilnej niż hydrofilnej, był skutkiem wysokiej zawartości nienasyconych KT, przy niedoborach antyoksydantów lipofilnych.

Rzeczowa dyskusja licząca 11 stron potwierdza bardzo dobrą znajomość tematu i piśmiennictwa.

Pracę kończy 6 wniosków, które są prawidłowe i sformułowane na podstawie analizy uzyskanych wyników badań.

Z obowiązku Recenzenta przedstawiam uwagi, które dotyczą usterek redakcyjnych lub mają charakter dyskusyjny:

- należałoby opisać metodę izolacji tłuszczu wg Toledo i Andrén (str.41);
- tabele powinny zawierać opisy użytych skrótów, pomimo umieszczenia ich w wykazie na początku rozprawy;
- wskazane byłoby umieszczenie w tabelach liczby „n” przebadanych próbek;
- w tekście pracy występują braki redakcyjne w postaci nie zastosowania przerw pomiędzy wyrazami

(np. str.35 – *Laktoperoksydazawspomaga, Lizozymwykazuje, itp.*).

Powyższe uwagi nie mają wpływu na moją, w pełni pozytywną ocenę rozprawy.

Należy podkreślić, że Doktorant wykazał, że bezpieczeństwo zdrowotne preparatów do żywienia niemowląt zmienia się w zależności od czasu ich przechowywania i nie powinno mieć tak długich okresów przydatności do pożycia.

Natomiast wadą systemu TMR jest także produkt (mleko) gorszej jakości, a nie tylko wykazany wcześniej brak indywidualizacji żywienia krów (np. "spłaszcza się" wydajność krów bardzo wysokowydajnych), mniejsza możliwość kontroli pobierania pasz przez krowy, możliwość wymieszania pasz nadpsutych, sortowanie pasz przez krowy i trudności w żywieniu małych grup.

Przedstawione w rozprawie wyniki oznaczeń stanowią następny etap w niezwykle cennych badaniach naukowych nad wartością odżywczą i zdrowotną produktów mlecznych i są kontynuacją badań Promotora - Pani Profesor dr hab. inż. Grażyny Cichosz.

Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia wszystkie formalne wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora, zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku, z późniejszymi zmianami (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.).

Rozprawę oceniam wysoko pod względem merytorycznym, bo zawiera ona nowe dane, które mogą zostać wykorzystane w ocenie jakości preparatów stosowanych w żywieniu niemowląt.

Reasumując, wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego o dopuszczenie **mgr inż. Adama Ambroziaka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego na stopień doktora w dziedzinie nauki rolniczej w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

KIEROWNIK
Zakładu Bromatologii


prof. zw. dr hab. n. farm. Maria H. Borawska