

dr hab. Bożena Danyłuk
Instytut Technologii Mięsa
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 12 kwietnia 2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej
mgr inż. Karoliny Drzewieckiej

p.t.: „**Barwa przetworów mięsnych blokowych z dodatkiem likopenu i zmniejszoną dawką azotanu (III) sodowego**”

zrealizowanej pod opieką naukową prof. dr hab. inż. Marka Cieracha, prof. zw.
w Katedrze Technologii i Chemii Mięsa, na Wydziale Nauki o Żywności Uniwersytetu
Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie

Uwagi wstępne

Peklowanie należy do podstawowych etapów w procesie produkcji wyrobów mięsnych. Stosowany w mieszance peklującej azotan (III) sodu działa wielokierunkowo: nadaje produktom charakterystyczną smakowitość, barwę, działa przeciwutleniająco, hamuje rozwój niektórych drobnoustrojów, w tym patogennych, oraz zapobiega powstawaniu toksyny botulinowej. Mimo korzyści wynikających z jego stosowania, od lat wskazuje się na potencjalne ryzyko zdrowotne związane ze spożywaniem wyrobów peklowanych. Badania prowadzone w ośrodkach naukowych na całym świecie udowodniły udział azotanów (III) w tworzeniu nitrozoamin w żywności. Nitrozoaminy są odpowiedzialne za indukcję nowotworów w różnych organach, najczęściej wątroby, jelita grubego, płuc, trzustki, żołądka, nerek, pęcherza moczowego, przełyku i języka. Od wielu lat prowadzone są badania, mające na celu wyeliminowanie azotanu (III) sodu z mieszanki peklującej, jednak do tej pory nie znaleziono substancji, która mogłaby pełnić wszystkie jego funkcje. Z drugiej strony

właściwości technologiczne niektórych dodatków funkcjonalnych stwarzają możliwości ograniczania ilości azotanu (III) sodu, stosowanego w procesie peklowania.

Recenzowana praca wpisuje się w ten obszar badawczy, ponieważ Doktorantka za cel postawiła sobie wyprodukowanie modelowych, blokowych przetworów mięsnych ze zredukowaną ilością azotanu (III) sodu i udziałem naturalnych substancji barwiących. Na podstawie wykonanych badań (wartość pH, ilość wycieku cieplnego, parametry barwy w czasie naświetlania, ocena sensoryczna) za najlepszy uznano produkt zawierający likopen. Produkt z likopenem został poddany dalszym badaniom, które wykazały jego dobrą jakość, w tym mikrobiologiczną, po 21 dobach przechowywania. Wybór tematu pracy uważam za uzasadniony – mimo pojawienia się na rynku wyrobów mięsnych peklowanych alternatywnie wciąż jednak konsumentom oferowane są przede wszystkim produkty peklowane tradycyjnie. Wyniki uzyskane w pracy mogą być wykorzystane również przy produkcji wyrobów mięsnych przeznaczonych do grillowania. Z uwagi na wysoką temperaturę panującą podczas tego zabiegu ryzyko powstawania N-nitrozoamin jest znacznie większe niż w przypadku wyrobów parzonych. Ograniczenie ilości azotanu (III) sodu w produkcji wyrobów mięsnych wiąże się z pogorszeniem ich barwy i koniecznością wprowadzania dodatków barwiących. Za godne uwagi uważam zastosowanie naturalnych środków barwiących, w tym likopenu charakteryzującego się największą aktywnością przeciwutleniającą w grupie karotenoidów.

Ocena formalna pracy

Otrzymana do recenzji praca doktorska mgr inż. Karoliny Drzewieckiej, p. t.: „Barwa przetworów mięsnych blokowych z dodatkiem likopenu i zmniejszoną dawką azotanu (III) sodowego” zawiera 196 numerowanych stron, w tym 91 tabel (8 w części przeglądowej i 83 z wynikami badań), 5 rysunków, 31 wykresów, 14 fotografii oraz wykaz 120 źródłowych materiałów bibliograficznych. Struktura pracy jest typowa dla eksperymentalnych rozpraw doktorskich i zawiera stronę tytułową w języku polskim i angielskim, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz rozdziały: *Wstęp* (1 strona), *Przegląd piśmiennictwa* (36 stron), *Cel pracy* (1 strona), *Hipoteza naukowa* (1 strona), a w części doświadczalnej: *Materiał eksperymentalny i układ doświadczenia* (3 strony), *Metody badań* (8 stron), *Omówienie i dyskusja wyników* (*Etap I* – 79 stron, *Etap II* – 14 stron), *Wnioski* (1 strona) oraz *Wykaz literatury* (11 stron). Na końcu pracy umieszczono *Spis fotografii* (1 strona), *Spis rysunków* (1 strona), *Spis tabel* (6 stron), *Spis wykresów* (3 strony), *Fotografie* (6 stron) oraz *Wykresy* (16 stron). Układ pracy jest logiczny. Przegląd piśmiennictwa Doktorantka podzieliła na podrozdziały, których tytuły w zwięzły sposób odzwierciedlają ich treści.

Prezentowana praca świadczy o dobrym przygotowaniu mgr inż. Karoliny Drzewieckiej do planowania i realizacji zadań technologicznych i naukowych. Zdaniem recenzenta wszystkie tabele i rysunki powinny być opisane w tekście; nie stało się tak w przypadku tabel I – V, rys. 1 – 4, fot. 1 – 14 oraz wykresy 1 – 7.

Ocena merytoryczna pracy

Sformułowany przez Doktorantkę tytuł pracy jest zwięzły i odpowiada treściom zawartym w pracy doktorskiej. We wstępie Autorka krótko przedstawia problem stosowania azotanów w przemyśle mięsnym, podkreślając zarówno negatywny wpływ azotanu (III) na organizm człowieka jak i korzystny na barwę wyrobów oraz hamowanie rozwoju *Clostridium botulinum* i przeciwdziałanie powstawaniu toksyny botulinowej. Wskazuje na coraz częstsze próby ograniczenia ilości azotanów w technologii produkcji wyrobów mięsnych poprzez wprowadzenie dodatków barwiących i utrwalających oraz uzasadnia cel podjętych badań. W przeglądzie piśmiennictwa zdefiniowana została barwa oraz metody jej oceny. Doktorantka szczegółowo omówiła czynniki kształtujące barwę mięsa oraz wpływające na trwałość barwy. W dalszej części opisano proces peklowania mięsa: funkcje technologiczne, czynniki wpływające na szybkość procesu peklowania, reakcje chemiczne kształtujące barwę surowego mięsa peklowanego oraz poddanego obróbce cieplnej. Pani mgr inż. Karolina Drzewiecka uzasadniła konieczność stosowania azotanu (III) podczas peklowania, ze względu na działanie utrwalające, w tym hamowanie rozwoju *Clostridium botulinum*, oraz udział tego związku w zapobieganiu procesom utleniania lipidów i kształtowaniu smakowitości gotowego wyrobu. Autorka wskazała także na zastrzeżenia wobec azotanów, tj. ich negatywny wpływ na zdrowie człowieka oraz przemiany azotanów zachodzące w jego organizmie i wynikające z tego próby ograniczenia stosowania azotanów poprzez peklowanie bezazotynowe. W dalszej części pracy opisane zostały aspekty prawne stosowania barwników oraz dodatki barwiące, wykorzystane przez Doktorantkę w I etapie badań (likopen, burak ćwikłowy, dzika róża, jagody Acai, morela pospolita, morwa indyjska, papryka roczna, papryka kajeńska, śliwki, winorośl właściwa, wiśnia, żurawina wielkoowocowa). Dokonany przez Doktorantkę przegląd literatury potwierdza Jej wiedzę teoretyczną z zakresu nauki o mięsie. Część teoretyczna została opracowana na podstawie prawidłowo dobranych materiałów źródłowych i wystarczająco wyjaśnia cel podjętych badań. Cel pracy i hipotezy naukowe zostały sformułowane prawidłowo. Za zbędne uważam jednak opisywanie w celu pracy preferencji konsumenckich czy istoty procesu peklowania. Część doświadczalna została podzielona na dwa etapy, co uważam za zasadne. Zastosowane metody należą do typowych i powszechnie

stosowanych w analizie wyrobów mięsnych. Niektóre fragmenty opisujące materiał doświadczalny i układ doświadczenia powinny być jednak uzupełnione. W części metodycznej brakuje informacji o udziale procentowym zastosowanych barwników naturalnych w składzie surowcowym. Informacje te można znaleźć dopiero w rozdziale „*Omówienie i dyskusja wyników*”. Autorka stwierdza, że bloki parzono stosując metodę Δ -T, nie podając jaką różnicę między temperaturą czynnika grzejącego a centrum bloku utrzymywano i jaką temperaturę w centrum bloku osiągnięto po zakończeniu ogrzewania. Niewystarczający jest opis oceny mikrobiologicznej. Doktorantka pisze, że wszystkie oznaczenia wykonywano z rozcieńczeń dziesiętnych, nie dotyczy to chyba jednak oznaczania obecności *Listeria monocytogenes* i *Salmonella*. Należałoby także podać w jakiej ilości produktu oznaczano w. w. bakterie. W opisie brakuje podstawowych informacji na temat podłoża, na których prowadzono hodowlę poszczególnych drobnoustrojów, warunków inkubacji czy norm, na podstawie których wykonywano ocenę mikrobiologiczną. Na podstawie opisu wykonania oceny organoleptycznej (pkt. 5.2.7) wnioskuję, że nie była to jednak ocena organoleptyczna a sensoryczna. Wyniki badań opracowano statystycznie, wykorzystując program komputerowy STATISTICA 12.5. Istotność różnic określono na podstawie testu Duncana, przy założonym poziomie istotności $p < 0,05$. Pomimo przedstawionych uwag stwierdzam, że metody zostały dobrane poprawnie i pozwoliły na realizację celu pracy.

W części wynikowej rozprawy mgr inż. Karolina Drzewiecka połączyła w jeden rozdział omówienie i dyskusję wyników. W I części Doktorantka przedstawiła i opisała wyniki pomiaru pH surowca i gotowego wyrobu, wycieku cieplnego oraz parametrów barwy wyrobów w czasie naświetlania. Pewne zastrzeżenia budzi dyskusja uzyskanych wyników. Pani mgr inż. Karolina Drzewiecka stwierdza np. (s. 62), że o wartości pH gotowych wyrobów decydował surowiec mięsny oraz rodzaj i ilość użytych substancji barwiących oraz „*Po przeprowadzonej analizie uzyskanych średnich wartości pH dla wyrobów modelowych drobno rozdrobnionych z różnymi dodatkami zauważono, że podobne zmiany wartości pH uzyskała Dzieszuk i in. (2005)*” (62⁸⁻¹¹). Nie wiadomo jednak jaki był skład surowcowy wyrobów badanych przez Dzieszuk i współautorów, jakie dodatki zastosowano, czy także różne substancje barwiące czy jedynie skrobię modyfikowaną (tak wynikałoby z tytułu pracy, przedstawionego w spisie literatury). Różnice oznaczonych wartości pH surowca Doktorantka tłumaczy różną zawartością tkanki łącznej i tłuszczu. Czy wobec tego oznaczano zawartość tłuszczu i tkanki łącznej w wyrobie i czy należy rozumieć, że do każdego wariantu stosowano inny surowiec mięsny? W dalszej części porównywane są wyniki wycieku cieplnego

poszczególnych wariantów wyrobów. Prosiłabym o wyjaśnienie zdania: „Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że istotny wpływ na wielkość wycieku cieplnego ma rodzaj oraz ilość dodatku barwiącego” (63₁₅₋₁₃) skoro w tab. 2. której tytuł brzmi: „Wielkość wycieków cieplnych wyrobów modelowych (%)” przedstawiono wyciek cieplny w zależności od rodzaju substancji barwiącej i zawartości azotanu (III) sodu w mieszance peklującej. Nie można mówić o wpływie ilości dodatku barwiącego, skoro każdy dodatek stosowany był w jednym stężeniu. Ponadto informacja pod tabelą wskazuje, że statystycznie porównywano jedynie wartości w obrębie tego samego rodzaju dodatku. Nie przekonuje mnie również tłumaczenie stosunkowo dużego wycieku cieplnego w próbce zawierającej sok z wiśni niską wartością pH surowca użytego do produkcji. Wartość pH próbki z suszoną żurawiną była jeszcze niższa, a mimo to wyciek cieplny znacznie mniejszy.

W dalszej części pracy przedstawione zostały wyniki pomiarów parametrów barwy (L^* , a^* , b^* , C^* , ΔE^*) po naświetlaniu w różnym czasie (0, 15, 30, 60, 120, 240 i 360 min.) próbki kontrolnej oraz wszystkich próbek zawierających dodatki barwiące. W większości publikacji wartość ΔE^* definiuje się jako bezwzględną/całkowitą różnicę barwy określającą wykrywalną dla oka ludzkiego różnicę barw. Doktorantka używa określenia współczynnik stabilności barwy ΔE^* , wobec czego przy opisywaniu tych wartości dobrze byłoby zaznaczyć, że im wyższa wartość ΔE^* tym stabilność barwy mniejsza. Interpretacja wyników byłaby jeszcze łatwiejsza, gdyby Autorka posłużyła się kryterium przyjętym przez Międzynarodową Komisję Oświetleniową, według którego różnice barw ΔE^* mieszczące się w przedziale 0-1 są nierozpoznawalne, 1-2 rozpoznawalne przez osobę doświadczoną, a $\Delta E^* > 5$ oznacza dużą różnicę w barwie. Wyniki pomiarów parametrów barwy przedstawiono w osobnych tabelach dla każdego parametru barwy i rodzaju próbki, co daje łącznie 70 tabel. Uważam, że wyniki można było pogrupować i ograniczyć liczbę tabel, z pewnością ułatwiłoby to porównywanie wyników.

W pracy przedstawiono i opisano także wyniki oceny sensorycznej, które wskazują na próbki z likopenem jako najbardziej pożądane.

Na podstawie wyników uzyskanych w pierwszej części Doktorantka wytypowała do dalszych badań wyrób modelowy, zawierający 0,025% likopenu i peklowany mieszanką zawierającą 99,6% NaCl i 0,4% NaNO₂. Wariant ten porównano z próbką kontrolną, do produkcji której użyto peklosoli o składzie 99,4% NaCl i 0,6% NaNO₂.

Doktorantka, omawiając wyniki uzyskane w pracy, powołuje się na źródła literaturowe związane z tematem, potwierdzające możliwość obniżenia ilości azotanu (III) sodu i wykorzystania likopenu w produkcji wyrobów mięsnych. Autorka rozprawy zbyt

często poprzestaje na opisie wyników, bez próby wyjaśnienia przyczyn występowania różnic, czy też ich praktycznego znaczenia (np. przy opisie wyników przedstawionych w tab. 77-79). Moim zdaniem zasadne byłoby statystyczne porównanie wyników uzyskanych dla próbki modelowej i kontrolnej, a nie tylko w obrębie tego samego rodzaju próbki. W swoich badaniach Doktorantka wykazała, że zmniejszenie ilości wprowadzonego w procesie technologicznym azotanu (III) sodu o 33% (próbki peklowane z dodatkiem likopenu - 92mg/kg wyrobu, kontrolna - 138mg/kg wyrobu) spowodowało redukcję zawartości azotanów (III) w wyrobie o ok. 50%. Przeprowadzone badania nie wykazały przy tym pogorszenia jakości mikrobiologicznej gotowego wyrobu, stąd podjęcie tematu i przeprowadzenie badań w tym kierunku uważam za bardzo cenne. Mam jednak pewne uwagi co do tytułu punktu 6.2.6 oraz tab. 83 w brzmieniu: „Zmiany mikrobiologiczne zachodzące po przechowywaniu”. Uważam, że nie można mówić o zmianach, jeśli nie ma informacji o początkowym zanieczyszczeniu mikrobiologicznym badanych próbek. Dane w tab. 83 przedstawiają raczej stan mikrobiologiczny próbek po 21 dobach przechowywania. Stwierdzenie (150₆): „W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono obecności *Listeria monocytogenes* oraz *Salmonelli ssp.*” powinno być uzupełnione o masę próbki poddanej analizie (25g). Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka poprawnie sformułowała trzy wnioski.

Wykorzystana w pracy literatura obejmuje 120 pozycji, w tym 3 źródła internetowe. Prawie połowę stanowią publikacje obcojęzyczne, a ok. 80% publikacje z ostatniej dekady. Świadczy to o bieżącym śledzeniu omawianego tematu i wskazuje na dobrą orientację Doktorantki w zakresie poruszanych zagadnień.

Ocena edytorskiego przygotowania pracy oraz uwagi szczegółowe

Przedstawiona do recenzji dysertacja jest całościowo poprawnie przygotowana. Autorka nie uniknęła jednak pewnych błędów i nieścisłości. Niektóre z nich, z obowiązku recenzenta, przedstawiam poniżej:

- uważam za dyskusyjne stosowanie określenia „czerwoność” i „żółtość” barwy, za bardziej adekwatne np.: „intensywność barwy czerwonej/ żółtej”, „parametr a*/b* barwy”
- za niewłaściwe uważam niektóre sformułowania (np.: „spadek parametru barwy” – s. 71¹, 101³; „Najniższą końcową „czerwonością” cechował się ...” – s. 116¹; „wartość średnia „żółtości” – s. 117¹; „pozytywne zastosowanie likopenu” – s. 46₁₀)
- przy porównywaniu wartości wyrażonych w % powinno się stosować określenie punkty procentowe (np. str. 147 - jeśli próbka kontrolna charakteryzowała się średnią

wartością przereagowania barwników 43,94%, a próbka z likopenem 49,47%, to różnica nie wynosi 5,53%, tylko 5,53 pkt %)

- wyniki byłyby bardziej czytelne, gdyby opis poszczególnych wariantów przedstawiony został pod tabelami a nie w omówieniu i dyskusji wyników (np. rodzaj i ilość dodanych środków barwiących – s. 59; zawartość azotanu (III) sodu i likopenu s. 149, 150).

Wymienione w recenzji pewne niedociągnięcia nie umniejszają wartości pracy. Uwagi czynię z myślą, że mogą być pomocne Doktorantce w przygotowaniu materiału do publikacji. Być może nie ze wszystkimi Autorka pracy się zgadza.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Karoliny Drzewieckiej stanowi oryginalne opracowanie naukowe dotyczące wykorzystania likopenu do stabilizacji barwy blokowych przetworów mięsnych o zredukowanej ilości azotanu (III) sodu. Podjęte przez Doktorantkę badania są uzasadnione, cel pracy został sformułowany prawidłowo i w pełni zrealizowany.

Przedstawiona do recenzji praca świadczy o dobrym przygotowaniu Pani mgr inż. Karoliny Drzewieckiej do pracy naukowo-badawczej, znajomości i umiejętności doboru metod analitycznych oraz szerokiej wiedzy teoretycznej z zakresu opisywanego zagadnienia.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

Stawiam wniosek do Rady Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Karoliny Drzewieckiej do dalszego postępowania w przewodzie doktorskim.

