

dr hab. inż. Joanna Stadnik

Lublin, 24.05.2016

Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

ul. Skromna 8

20-704 Lublin

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Adama Kosteckiego

pt.: „**Ocena możliwości wykorzystania suszy owocowo-warzywnych jako źródła azotanów w produkcji kielbasy średnio rozdrobnionej**”

wykonanej w Instytucie Technologii Mięsa Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem dr hab. Bożeny Danyluk

Uzasadnienie podjęcia tematu

Peklowanie, polegające na oddziaływaniu na mięso mieszaniny soli kuchennej z azotanem (III) lub azotanem (V) sodu, jest istotnym etapem produkcji wędlin. Używane w tym procesie substancje, a zwłaszcza azotan (III) sodu, kształtują właściwości organoleptyczne (barwę, smak oraz zapach) wyrobów mięsnych i spowalniają procesy utleniania, a co najistotniejsze, hamują rozwój wielu gatunków bakterii patogennych, zwłaszcza *Clostridium botulinum*. Niezależnie od korzyści wynikających ze stosowania azotanu (III) sodu, ze względu na jego wysoką reaktywność i możliwość tworzenia kancerogennych związków *N*-nitrozowych, poszukuje się alternatywnych metod peklowania mięsa. Najbardziej aktualną przesłankę ku temu stanowi opublikowany w październiku 2015 r. przez WHO komentarz do badań Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) dotyczący wpływu konsumpcji czerwonego mięsa oraz przetworzonego mięsa na ryzyko wystąpienia nowotworów, zwłaszcza jelita grubego. W poszukiwaniu alternatywnych metod peklowania mięsa przebadano szereg substancji, lecz nie udało się do tej pory znaleźć takiej, która w pełni zastąpiłaby wielofunkcyjne właściwości azotanu (III) sodu. Współczesne sposoby modyfikowania procesu peklowania koncentrują się zatem na możliwie maksymalnym ograniczeniu wyjściowej ilości stosowanych związków azotowych, a także minimalizowaniu ich pozostałości w gotowych produktach mięsnych. Podejmowane są również próby wykorzystania suszy i soków warzywnych jako źródła azotanów (V) z jednoczesnym dodatkiem kultur bakterii denitryfikujących (głównie z rodzaju *Staphylococcus*). Uzyskane wyniki badań wskazują, iż otrzymanie produktów

charakteryzujących się obniżoną zawartością związków azotowych, a jednocześnie o atrakcyjnych cechach sensorycznych i bezpiecznych dla konsumenta, wiąże się z koniecznością stosowania różnych substancji chemicznych lub specyficznych czynników technologicznych, często w sposób skojarzony. Zagadnienie to wymaga zatem dalszych badań zarówno podstawowych jak i aplikacyjnych.

Recenzowana praca wpisuje się w ten obszar badawczy, bowiem jej podstawowym celem było określenie wybranych wyróżników jakości kiełbas peklowanych z wykorzystaniem suszy owocowo-warzywnych jako źródła azotanów (V) i porównaniu ich z właściwościami kiełbas peklowanych z wykorzystaniem azotanu (III) sodu. Wybór tematyki rozprawy uważam za trafny i aktualny z punktu widzenia technologii mięsa, biorąc pod uwagę fakt, że w Polsce zdecydowaną większość wyrobów mięsnych otrzymuje się z mięsa peklowanego przy użyciu peklosoli, czyli mieszaniny soli kuchennej i azotanu (III) sodu. Wprowadzie badania nad alternatywnymi metodami peklowania mięsa prowadzone są od wielu lat zarówno w kraju, jak i na świecie, to zaprezentowane w rozprawie podejście można uznać za oryginalne ze względu na podjętą próbę zastąpienia soku z selera (zaliczanego do produktów powodujących alergię) jako źródła azotanów (V), sokiem z buraka liściowego. Za bardzo trafny uważam również wybór przedmiotu badań, który stanowiła kiełbasa śląska, według Doktoranta najczęściej grillowana kiełbasa w Polsce. Wysoka temperatura stosowana podczas tego rodzaju obróbki zaliczana jest do czynników sprzyjających tworzeniu *N*-nitrozoamin.

Ocena formalna pracy

Rozprawa obejmuje 98 numerowanych stron maszynopisu, w tym 20 rysunków i 9 tabel oraz wykaz 197 źródłowych materiałów bibliograficznych. Jej struktura jest typowa dla prac eksperymentalnych i składa się z siedmiu rozdziałów: *Wstęp* (2 strony), *Przegląd literatury* (26 stron), *Cel i zakres pracy* (1 strona), *Materiał i metody* (7 stron), *Omówienie i dyskusja wyników* (35 stron), *Wnioski* (1 strona), *Literatura* (17 stron) poprzedzonych *Streszczeniami* w języku polskim (3 strony) i angielskim (3 strony), stroną tytułową oraz spisem treści. Układ pracy jest logiczny i przejrzysty, a proporcje objętości rozdziałów właściwe. Przegląd literatury i część doświadczalną Doktorant podzielił na podrozdziały, których tytuły w zwięzły sposób odzwierciedlają zawarte w nich treści. Rozprawa została przygotowana z należytą starannością i wskazuje na dobrą orientację Doktoranta w obszarze poruszanych zagadnień. Zdaniem recenzenta w pracy należało zamieścić wykaz używanych skrótów oraz spis tabel i rysunków, co ułatwiłoby czytelnikowi analizowanie tekstu rozprawy.

Ocena merytoryczna pracy

Sformułowany przez Doktoranta tytuł pracy jest zwięzły, jasny i w pełni odpowiada treściom zawartym w dysertacji. Rozdział 1 stanowi *Wstęp*, w którym Doktorant w skondensowanej formie wprowadza czytelnika w tematykę badawczą rozprawy i nakreśla jej cel.

Przegląd literatury Autor rozpoczął od omówienia czynników kształtujących barwę mięsa. Scharakteryzował zawartość, budowę oraz przemiany barwników hemowych tkanki mięśniowej. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż rozważania te mają nie tylko charakter teoretyczny, Autor odnosi je bowiem do zmian barwy zachodzących podczas przetwarzania i przechowywania mięsa. Najobszerniejszą część przeglądu piśmiennictwa Autor poświęcił charakterystyce procesu peklowania mięsa. Przedstawił jego genezę, omówił mechanizm tworzenia tzw. „czerwieni peklowniczej” i czynniki (m.in. pH, temperatura) warunkujące przebieg reakcji zachodzących podczas peklowania. Szczegółowo scharakteryzował zasadnicze (sól kuchenna, azotany) i wspomagające (kwas askorbinowy i izoaskorbinowy oraz ich sole sodowe, glukono-delta-lakton) substancje wykorzystywane w tym procesie. Rolę substancji wspomagających przedstawił nie tylko w kontekście ich wpływu na tworzenie barwy i jej trwałość, ale także na jakość i bezpieczeństwo zdrowotne wyrobów z mięsa peklowanego. Tej problematyce w całości poświęcony jest kolejny podrozdział, w którym Autor omawia potencjalne niepożądane skutki procesu peklowania wynikające z wysokiej reaktywności tlenu azotu powstającego z azotanu (III) sodu. Szczególną uwagę zwraca na *N*-nitrozoaminy, substancje o działaniu kancerogennym, których źródłem mogą być peklowane produkty mięsne. Jako przeciwwagę prezentuje wyniki badań świadczące o pozytywnym wpływie azotanów (V) na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego. Wykorzystanie związków azotowych w technologii mięsa Autor przedstawia również w aspekcie legislacyjnym omawiając zarówno historyczne jak i aktualnie obowiązujące limity dotyczące ich stosowania. Omawiając inne źródła azotanów (III) i (V) w diecie człowieka (warzywa, woda) podkreśla zmiany zawartości tych związków w trakcie obróbki kulinarnej i przechowywania, które znacząco redukują ich podaż. W ostatnim podrozdziale przeglądu literatury Autor przedstawia dotychczasowe kierunki i wyniki badań nad peklowaniem alternatywnym. Stanowi on doskonałe wprowadzenie do części eksperymentalnej pracy, wynika bowiem z niego celowość kontynuowania badań nad możliwościami ograniczenia zarówno użycia, jak i pozostałości azotanów w wyrobach mięsnych.

Podsumowując, przegląd literatury został opracowany w oparciu o prace źródłowe powiązane z tematyką rozprawy i stanowi dobre uzasadnienie podjętego problemu naukowego. Treści w nim zawarte świadczą o przygotowaniu teoretycznym Doktoranta do realizacji badań

i wprowadzają czytelnika w zagadnienia związane z częścią eksperymentalną rozprawy. W trakcie obrony rozprawy, proszę Doktoranta o bardziej szczegółowe wyjaśnienie zmian barwy mięsa zachodzących bezpośrednio po dodaniu peklosoli.

Z obowiązku recenzenta wskazuje fragmenty przeglądu literatury, które wymagają korekty w oparciu o podane poniżej uwagi:

- umami został oficjalnie uznany za piąty podstawowy smak w 2000 r. (str. 21);
- potencjalnym substratem powstawania *N*-nitrozoamin i ich głównym źródłem są przede wszystkim aminy drugorzędowe, które tworzą stabilne *N*-nitrozoaminy (str. 28);
- glicyna, walina oraz prolina to aminokwasy (str. 28).

Hipoteza badawcza została sformułowana poprawnie. Jako *Cel pracy* Autor przyjął, cytując: „określenie wybranych wyróżników jakości doświadczalnych kiełbas peklowanych z wykorzystaniem azotanu (III) sodu oraz suszy owocowo-warzywnych, jako źródła azotanów (V)”. W tym brzmieniu cel pracy nie odzwierciedla przyjętej hipotezy i rzeczywistego zakresu zaplanowanych i zrealizowanych badań. Próby peklowane z użyciem azotanu (III) sodu stanowiły jedynie odniesienie w stosunku do wariantów w których tradycyjne peklowanie zastąpiono „beزازotynowym” i ten aspekt należało uwypuklić w celu pracy. Moim zdaniem cel pracy można było sformułować jako: „określenie wpływu suszy owocowo-warzywnych jako źródła azotanów (V), na wybrane wyróżniki jakości kiełbasy średnio rozdrobnionej.” Analiza aktów prawnych dotyczących deklaracji zawartości azotanów w wyrobach mięsnych nie ma charakteru eksperymentalnego i powinna zostać zamieszczona w przeglądzie literatury.

Rozdział *Materiał i metody* Autor rozpoczął od charakterystyki materiału do badań, który stanowiły cztery warianty kiełbas wieprzowych średnio rozdrobnionych peklowanych z użyciem soli peklującej zawierającej azotanu (III) sodu (warianty E1 i E1B), i peklowanych z udziałem mieszanin w których źródło azotanów (V) stanowiły suszone soki warzywne (warianty E0 i AE0). Do wszystkich wariantów, z wyjątkiem E1, dodawano kultury bakterii denitryfikujących (*Staphylococcus carnosus* i *Staphylococcus vitulinus*). W przypadku tych prób dokonano modyfikacji procesu technologicznego w celu optymalizacji warunków rozwoju i oddziaływania bakterii zawartych w dodanej szczepionce. Sposób opisu składu surowcowego kiełbas doświadczalnych i procesu ich produkcji nie budzi większych zastrzeżeń. Zdaniem recenzenta, lepszym rozwiązaniem byłoby podanie składu receptury w postaci udziałów procentowych poszczególnych jej składników. Brakuje również informacji o udziale procentowym składników zastosowanych mieszanin ME0 i MAE0, co uniemożliwia stwierdzenie na ile istotny był udział poszczególnych komponentów w kształtowaniu jakości produktów. Zwłaszcza, że Autor często pisze, iż używał suszonego soku z selera lub buraka

podczas gdy w rzeczywistości w skład użytej mieszanki wchodził też sok z marchwi. Czy użyte mieszanki były sporządzane przez Doktoranta czy były to preparaty handlowe?. Brakuje również informacji, czy bakterie denitryfikujące były dodawane w formie komercyjnej kultury startowej?. Jeżeli tak, należało podać jej nazwę i postać w jakiej była dodawana do farszu. Proszę również Doktoranta o wyjaśnienie roli jaką pełniły soki owocowe w użytych mieszaninach.

Jako wyróżniki jakości doświadczalnych kiełbas Doktorant wybrał kwasowość czynną (pH), ilość wycieku w opakowaniu, aktywność wody, profil kwasów tłuszczowych, zawartość azotanów (III) i azotanów (V). Dokonał również pomiaru parametrów barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ i obliczeń całkowitej różnicy barwy ΔE^* oraz przeprowadził ocenę sensoryczną metodą pięciopunktową. W pracy zamieścił również wyniki badań mikrobiologicznych, które obejmowały oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby bakterii grupy coli, gronkowców koagulazododatnich, beztlenowców przetrwalnikujących oraz obecności bakterii *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* spp. Wyniki badań zostały opracowane statystycznie z wykorzystaniem analizy wariancji. Istotność różnic między średnimi weryfikowano testem t-Tukey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Większość zastosowanych metod należy do typowych i powszechnie używanych w analizie produktów mięsnych, zaś ich charakterystyka jest dostatecznie szczegółowa i oparta na odpowiednich rekomendacjach literaturowych. Pewnego uzupełnienia wymaga jedynie opis oceny sensorycznej metodą pięciopunktową. W jej klasycznym ujęciu, zaproponowanym w 1957 roku przez prof. Damazego Tilgnera, należy podać definicje dla pięciu poziomów jakości każdej wybranej cechy oraz ustalić współczynniki ważkości dla poszczególnych cech z uwzględnieniem ważności danej cechy dla ogólnej oceny produktu. Szkoda, że Doktorant oprócz przeprowadzenia oceny konsumenckiej nie zbadał zależności między cechami sensorycznymi otrzymanych produktów a warunkującymi je czynnikami korzystając z metod analizy opisowej np. szeroko stosowanej w pracach badawczych metody QDA. Istotnym uzupełnieniem przeprowadzonych analiz byłoby również podanie wydajności poszczególnych wariantów kiełbas. Pewien niedosyt budzi także brak bardziej szczegółowej charakterystyki zmian barwy wyrobów poprzez obliczenie wskaźnika określającego intensywność barwy peklowanego mięsa (R650/R570), tym bardziej że Doktorant wymienia go w przeglądzie literatury. Pomimo tych uwag, zakres badań i dobór metod analitycznych uważam za poprawny i adekwatny do realizacji celu pracy. Świadczy on o opanowaniu przez Doktoranta narzędzi wykorzystywanych w technologii mięsa nie tylko w zakresie analizy produktów, ale również planowania i realizacji procesu technologicznego.

W części wynikowej rozprawy mgr inż. Adam Kostecki połączył w jeden rozdział omówienie i dyskusję wyników. Rezultaty przeprowadzonych oznaczeń zostały omówione i porównane z danymi literaturowymi w dziewięciu podrozdziałach, na 35 stronach i wzbogacone 17 wykresami i 7 tabelami ułatwiającymi analizę danych doświadczalnych. Zarówno wykresy jak i tabele rozmieszczono w korespondujących fragmentach podrozdziałów, co ułatwia szybkie porównanie opisu znajdującego się w tekście z ich graficznym przedstawieniem. Omówienie dotyczy wszystkich istotnych rezultatów przeprowadzonych badań a wyniki analizy statystycznej uwiarygodniają prezentowaną interpretację. Przy omawianiu uzyskanych wyników Doktorant przywołuje pozycje piśmiennictwa mające związek z analizowanym zagadnieniem, co pozwala mu na uwypuklenie wielu spójności z badaniami innych autorów. Pewien niedosyt budzi natomiast fakt, iż Autor rozprawy zbyt rzadko podejmuje próby wyjaśnienia przyczyn istotnych zależności stwierdzonych na podstawie uzyskanych wyników. Dotyczy to na przykład początkowego zróżnicowania zawartości azotanów (V) w kielbasach w zależności od głównego surowca będącego ich źródłem. Przy takiej samej początkowej zawartości tych związków, w drugiej dobie przechowywania w próbie E0 stwierdzono dwukrotnie wyższe ich stężenie w porównaniu do wariantu AE0. Jaki wpływ na sumaryczną zawartość azotanów (III) i (V) miała kwasowość czynna kielbas?. W oparciu o uzyskane wyniki przedyskutowania wymaga także zasadność rezygnacji ze stosowania substancji redukujących. Z obowiązku recenzenta pragnę również zauważyć, iż symbolem N oznacza się wielkość populacji generalnej, liczbę przebadanych próbek oznaczamy symbolem n. Na potrzeby graficznej prezentacji, wyniki oznaczeń ogólnej liczby drobnoustrojów należało transformować do postaci logarytmicznej (\log jtk/g). Pragnę podkreślić, że powyższe uwagi mają charakter polemiczny i nie podważają walorów naukowych i poznawczych recenzowanej pracy.

Autor sformułował osiem wniosków, których treść jest merytorycznie poprawna i wynika z przeprowadzonych badań a zwięzły sposób ich opracowania pozwala na szybkie zapoznanie się z najważniejszymi rezultatami recenzowanej pracy. Wniosek siódmy stanowi podsumowanie naukowych i praktycznych osiągnięć rozprawy i wskazuje iż Autor zrealizował wyznaczony cel pracy. Wątpliwości Recenzenta budzi jedynie wniosek ósmy, gdyż jest on odzwierciedleniem aktualnego stanu prawnego a nie wyników uzyskanych przez Autora.

Wykorzystana w pracy literatura obejmuje 197 pozycji bibliograficznych, z których ponad połowa to publikacje w językach obcych (angielskim i niemieckim), co potwierdza znajomość i umiejętność posługiwania się piśmiennictwem związanym z tematem rozprawy. Prace z ostatniej dekady stanowią ponad 40% cytowanych publikacji. Świadczy to o bieżącym

śledzeniu omawianego zagadnienia przez Autora, jak i o aktualności podjętego problemu naukowego. Spis literatury został przygotowany starannie, bez istotnych uchybień.

Ocena formy językowej i technicznej strony opracowania

Edytorskie przygotowanie rozprawy jest właściwe, zarówno pod względem językowym, jak i w zakresie materiałów ilustracyjnych, czytelnych i dobrze opisanych legendami. Świadczy to o dobrym opanowaniu przez Autora techniki redakcji tekstu naukowego. Do uchybień natury językowej i edytorskiej na które zwracam uwagę w kontekście przygotowania materiału do publikacji, należą:

- używanie potocznych określeń: dodatki oznaczone symbolem „E”, dodatki z „E”; zamiast przyjętego w prawie żywnościowym terminu: dodatki do żywności/dozwolone substancje dodatkowe;
- w streszczeniu w języku angielskim zamiast „pickling salt” powinno być „curing salt” i konsekwentnie „curing” a nie „pickling” dla określenia peklowania a zamiast „leakage” dla określenia wycieku używa się pojęcia „drip loss”;
- *Swiss chard* nie jest odmianą buraka liściowego lecz nazwą tej rośliny w języku angielskim (str. 40);
- Autor w treści rozprawy wymiennie posługuje się określeniami: suszone soki owocowe i warzywne, susze owocowo-warzywne, suszone soki warzyw, ekstrakty owoców, susz z selera. Wymaga to ujednoczenia, gdyż pojęcia te nie są tożsame.

Uwagi te nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy, powinny jedynie służyć doskonaleniu umiejętności oraz naukowego warsztatu jej Autora.

Wniosek końcowy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego możliwości zastosowania suszy owocowo-warzywnych jako źródła azotanów (V) w produkcji kiełbasy średnio rozdrobnionej. Świadczy o dobrym przygotowaniu Doktoranta do pracy naukowo-badawczej, znajomości metod technologicznych i analitycznych oraz obszernej wiedzy teoretycznej związanej z podjętym zagadnieniem.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgra inż. Adama Kosteckiego pt. „Ocena możliwości wykorzystania suszy owocowo-warzywnych jako źródła azotanów w produkcji kiełbasy średnio rozdrobnionej” spełnia wymagania zawarte w art. 13 ust. 1.

Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

Stawiam zatem wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pana mgra inż. Adama Kosteckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Joanna Stadnik