



SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE
INSTYTUT NAUK O ŻYWNOSCI
KATEDRA TECHNOLOGII I OCENY ŻYWNOSCI

Warszawa 02.10.2020 r.

Dr hab. Krzysztof Dasiewicz
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Instytut Nauk o Żywności
ul. Nowoursynowska 159c
02-776 Warszawa

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Diany Kononiuk

„Wpływ liofilizowanej serwatki kwasowej na cechy fizykochemiczne i zawartość składników bioaktywnych w surowo dojrzewających kielbasach z mięsa przeżuwaczy”

wykonanej w Katedrze Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego

Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii

pod kierunkiem naukowym dr hab. Małgorzaty Karwowskiej, prof. UP, jako promotora

i dr inż. Agnieszki Latoch, jako promotora pomocniczego

PODSTAWA PRAWNA

Recenzję opracowano na zlecenie Pana prof. dr hab. Waldemara Gustawa, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, po wyznaczeniu mojej osoby na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Diany Kononiuk przez Radę Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. W recenzji przyjęto kryteria wynikające z obowiązującej ustawy z dnia 14 marca 2003 r., z późniejszymi zmianami: Dz.U. z 2016 r. poz. 882 ze zm., Dz.U. z 2018 r. poz. 1669.

W produkcji fermentowanych wędlin, oprócz etapu fermentacji/dojrzewania, istotnym procesem jest peklowanie mięsa polegające na stosowaniu mieszaniny soli z azotanem(III) i/lub azotanem(V) (E250, E251, E252). Z pozycji konsumenta peklowanie kształtuje pożądaną barwę, smak oraz zapach, natomiast z punktu prawa żywnościowego jest procesem w którym stosowany jest konserwant, więc substancja hamująca rozwój patogennych drobnoustrojów, szczególnie *Clostridium botulinum* i *Listeria monocytogenes* ponadto w trakcie tego procesu produkt uzyskuje swoiste cechy sensoryczne i stabilność oksydacyjną. Mechanizm tworzenia barwy peklowanego

mięsa jest skomplikowany i determinowany wieloma czynnikami (m.in. surowcowymi, dodatkiem podstawowych i wspomagających substancji proces peklowania, obecnością enzymów własnych tkanki mięśniowej, zawartością mioglobiny, potencjałem oksydacyjno-redukcyjnym). W fermentowanych wyrobach mięsnych proces tworzenia pożądanej barwy jest jeszcze bardziej skomplikowany ze względu na obecność mikroflory rodzimej oraz kultur startowych dodawanych w procesie produkcji. Ze względu na wysoką reaktywność azotanu(III) sodu i możliwość tworzenia z aminami biogennymi szkodliwych dla zdrowia kancerogennych nitrozoamin, szczególnie w środowisku kwaśnym i w podwyższonej temperaturze, ogranicza się jego stosowanie. Od kilkunastu lat poszukuje się związku, który pełniłby te same funkcje co azotan(III) sodu lecz nie oddziaływały negatywnie na zdrowie konsumenta. Jak do tej pory nie znaleziono jednej substancji zastępczej mającej takie same właściwości jak azotan(III) sodu. Dlatego też inną opcją jest poszukiwanie alternatywnych metod/technologii prowadzących do uzyskania pożądanej czerwonej barwy zbliżonej do nitrozylomioglobiny bez stosowania azotanu(III) sodu. Badania wielu badaczy, w tym również zespołu pracowników UP w Lublinie wskazują, że nitrozylomioglobina w fermentowanych wyrobach mięsnych może powstawać bez udziału mieszanki peklującej. Kluczową rolę przypisuje się wybranym szczepom bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Staphylococcus*. W wyniku prowadzonego procesu proteolizy wytwarzają tlenek azotu z L-argininy, który następnie może łączyć się z cząsteczką mioglobiny tworząc nitrozylomioglobinę. Trwałość mięsnych wyrobów dojrzewających zależy również od szybkości utleniania tłuszczów i stabilizacji mikrobiologicznej, dlatego poszukuje się metod ograniczania niekorzystnych zjawisk. Należą do nich: pozyskiwanie surowca mięsnego o dużym potencjale antyoksydacyjnym lub wprowadzanie związków przeciwutleniających w trakcie procesu technologicznego. Jedną z możliwych substancji do zastosowania w produkcji wędlin surowo dojrzewających może być serwatka kwasowa.

OCENA FORMALNA I MERYTORYCZNA PRACY

Przedstawiona przez Panią mgr inż. Annę Dianę Kononiuk rozprawa doktorska obejmuje 121 stronicowe opracowanie z przedstawionym cyklem pięciu spójnych tematycznie publikacji. Struktura pracy w zakresie stawianych wymogów formalnych jest prawidłowa i zgodna z wymogami edycji prac doktorskich. Opracowanie to obejmuje jedenaście rozdziałów. W części wprowadzającej opracowania przedstawiono wstęp i wprowadzenie, które podejmują aktualne problemy i wyzwania w produkcji surowo dojrzewających kielbasach bez dodatku azotanów. Przytoczenie licznych, trafnie dobranych i interesujących przykładów literaturowych świadczy o dogłębnym rozpoznaniu problematyki. Po właściwym sformułowaniu hipotezy badawczej w rozdziale Hipoteza badawcza i cel pracy Doktorantka sformułowała cel główny pracy, którym było określenie wpływu liofilizowanej serwatki na przebieg zmian fizykochemicznych podczas procesu dojrzewania kielbas surowo dojrzewających bez dodatku azotanów z mięsa daniela oraz mięsa wołowego kształtujących ich bezpieczeństwo oraz wartość odżywczą. W celu weryfikacji tak

sformułowanych założeń badawczych wyznaczono cele szczegółowe, które sukcesywnie zrealizowano, a uzyskane wyniki zaprezentowano w pięciu publikacjach. Na uwagę zasługuje podział pracy na etapy z wyeksponowaniem zakresu badań i przeprowadzonych analiz. Takie podejście ukierunkowuje pracę eksperymentalną ułatwiając osiągnięcie zasadniczego celu badań i tym samym gwarantując rozwiązanie problemu badawczego. W rozdziale dotyczącym materiału i metodyki pracy Doktorantka przedstawiła pochodzenie surowca i sposób postępowania a w zakresie metodyki wykorzystywanej w poszczególnych zadaniach badawczych Doktorantka odwołała się do informacji zawartych w poszczególnych publikacjach. Należy przy tym docenić dbałość o dokładność i jasność przekazu w czym pomogło zestawienie tabelaryczne czynności wykonywanych w ramach poszczególnych etapów badań. Na uwagę zasługuje różnorodność zastosowanych testów dotyczących właściwości fizycznych, chemicznych, fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych nadających pracy charakter wybitnie interdyscyplinarny wymagający szerokiej i głębokiej wiedzy naukowej, pozwalającej sformułować konstruktywne wnioski na podstawie obszernego zasobu informacji w postaci uzyskanych wyników. Zaproponowana procedura postępowania świadczy o profesjonalnym i godnym naśladowania podejściu metodycznym sprzyjającym efektywnemu rozwiązaniu złożonych problemów badawczych.

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła i omówiła wyniki badań, otrzymane dzięki konsekwentnej realizacji celu pracy zgodnie z przyjętą metodyką i podziałem na etapy. Taki podział wynika m.in. z opublikowania wyników pracy w postaci manuskryptów tworzących cykl odpowiadający tematowi ocenianej rozprawy doktorskiej. Doświadczenie w redagowaniu publikacji zostało wykazane w rzetelnej dyskusji uzyskanych wyników w oparciu o rezultaty innych autorów zajmujących się podobną problematyką badawczą. Świadczy to o odpowiedzialności i dojrzałości naukowej Doktorantki. Badania w zakresie bezpieczeństwa wytwarzanych kielbas surowo dojrzewających wytwarzanych bez dodatku azotanów(III) i azotanów (V) wypełniają lukę w problematyce związanej z otrzymywaniem produktów bezpiecznych w technologii bezazotanowej. Autorka przedstawiła czynniki wpływające na obniżenie pH, aktywności wody oraz tworzenie amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających. W szczególności wyroby tego rodzaju charakteryzują się dużą zmiennością występowania amin biogennych oraz niskocząsteczkowych związków pochodzących z frakcji białkowej. Do czynników odgrywających istotną rolę w tworzeniu tych związków należą głównie: jakość surowca, warunki higieniczne podczas jego przetwarzania oraz czynniki technologiczne, takie jak: temperatura, pH, aktywność wody, zawartość NaCl i potencjał redoks. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie liofilizowanej serwatki kwasowej w produkcji dojrzewających kielbas z mięsa daniela i z mięsa wołowego bez dodatku azotanów umożliwia uzyskanie takiej samej jakości mikrobiologicznej oraz klasy bezpieczeństwa (pH i a_w) jak w przypadku produktów z dodatkiem azotanów. Ponadto bezazotanowe prowadzenie procesu z udziałem serwatki znacząco wpływa na ograniczenie zawartości amin biogennych w produktach surowo dojrzewających.

Dariusz

Przeprowadzone badania dostarczają cennych informacji z zakresu wpływu zastosowania liofilizowanej serwatki kwasowej na wartość odżywczą kielbas z mięsa daniela i mięsa wołowego. Przedstawione wyniki wskazują na znaczne różnice w wartości odżywczej oraz zawartości związków bioaktywnych w badanych kielbasach w zależności od zastosowanego rodzaju mięsa. Kielbasy z mięsa daniela cechowały się niższą zawartością białka i tłuszczu oraz wyższą zawartością wody, ponadto są one bogatszym źródłem peptydów o wyższej aktywności przeciwutleniającej L-karnityny, czy tauryny. Kielbasy wołowe zawierały natomiast więcej glutationu, CLA oraz żelaza hemowego w odniesieniu do kielbas z mięsa daniela. Zastosowanie liofilizowanej serwatki kwasowej wpłynęło na zwiększenie zawartości L-karnityny oraz obniżenie zawartości peptydów w obu rodzajach kielbas. W przypadku kielbas wołowych zaobserwowano również wpływ serwatki na ograniczenie utraty żelaza hemowego. Natomiast w przypadku kielbas z mięsa daniela próby z dodatkiem serwatki kwasowej cechowały się wyższą zawartością CLA.

Uzyskane w pięciu przedstawionych pracach wyniki badań pozwoliły na sformułowanie przez Doktorantkę stwierdzeń i wniosków. Każde z nich wpisuje się w stawiane cele pracy. Zdaniem Recenzenta ich ilość jest adekwatna do zakresu prowadzonych badań i koresponduje z dużą ilością uzyskanych danych.

W przedstawionej do oceny dysertacji Doktorantka powołała się na 77 pozycji literaturowych, które zostały dobrane prawidłowo do zakresu pracy i tematyki badawczej. Zdecydowana większość prac to opracowania anglojęzyczne, a wśród nich można znaleźć aktualne artykuły naukowe dotyczące omawianych zagadnień, co świadczy o nowatorskim charakterze opracowania. Prace kończy wykaz i teksty publikacji stanowiących przedmiot rozprawy, streszczenie w języku polskim i angielskim, zastawienie dorobku naukowego i oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Podsumowując przedstawione przez Doktorantkę opracowanie napisane jest poprawnym językiem naukowym. Zawiera ono prawidłowo umieszczone odnośniki do literatury. Autorka opracowania w wyraźny sposób zaznaczyła i przedstawiła treści odnoszące się do poszczególnych artykułów stanowiących cykl publikacyjny, co znacząco ułatwiło śledzenie wątku prowadzonych badań.

Lektura pracy zarówno w odniesieniu do zakresu badawczego, jak i samej treści rodzi pewne uwagi. Niektóre z tych uwag mają charakter dyskusyjny wynikający z innego spojrzenia na stronę metodyczną i rezultaty pracy. Można mieć pewne wątpliwości dotyczące tytułu dysertacji. W opinii recenzenta zaproponowany temat pracy w pewien sposób wyklucza pierwszy etap pracy, w którym Doktorantka oceniała potencjał serwatki kwasowej jako alternatywy do produkcji kielbas surowo dojrzewających bez dodatku azotanu. Bez wątplenia wyeliminowanie azotanów z produkcji produktów surowych dojrzewających jest bardzo istotne w aspekcie bezpieczeństwa żywności, jednak należy pamiętać, że wraz z dodatkiem serwatki kwasowej do produktu wprowadzane są białka o charakterze alergennym, o czym Doktorantka nie wspomina. W przeprowadzonych

badaniach, w których wykonano liczne testy fizyczne, chemiczne i mikrobiologiczne w opinii recenzenta zabrakło przeprowadzenia analiz sensorycznych. Badania sensoryczne powinny być nieodłącznym elementem przy określaniu wpływu czynników surowcowych, technologicznych i przechowalniczych na jakość końcową produktu czy badaniach pilotażowych opracowania nowych produktów.

Zdarzające się nieliczne błędy stylistyczne gramatyczne, edycyjne oraz zbędne powtórzenia stanowiące przypadkowe błędy redakcyjne nie wpływają na percepcję treści pracy o wysokiej wartości naukowej i dużym znaczeniu użytecznym (poniżej kilka przykładów):

str. 4 (Koniuk, Karwowska 2020) - brak w spisie literatury,

str. 6 (Toldra 2006) w spisie Toldrà F. (2006),

str. 11 O'Grady, 2006 - powinno być O'Grady i in. 2006,

str. 12 składniki powinno być składników,

str. 22 tłuszczu – powinno być tłuszczów,

str. 26 Bureš i in. 2014 brak w spisie występuje pozycja Bureš i in. 2015,

str. 27 10 % - powinno być 10%,

str. 48 w spisie literatury nie zachowano chronologii cytowanej literatury (pozycje 39-41; Moler...., Papavasiliou..., Nowak)

Jednocześnie proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się do następujących pytań dyskusyjnych:

-Jaka jest Pani opinia w sprawie stosowania „azotanów naturalnego pochodzenia” w tzw. bezazotowym peklowaniu.

- Czym jest warunkowane bezpieczeństwo mięsa pozyskiwanego ze zwierząt dziko żyjących.

- Jaka jest Pani opinia na temat perspektyw pozyskiwania mięsa z hodowli zwierząt dzikich np. danieli.

Rozprawę doktorską pt. Wpływ liofilizowanej serwatki kwasowej na cechy fizykochemiczne i zawartość składników bioaktywnych w surowo dojrzewających kielbasach z mięsa przeżuwaczy stanowi spójny tematycznie zbiór pięciu artykułów opublikowanych w języku angielskim w czasopiśmie naukowym o międzynarodowym zasięgu, wydanych przez renomowane wydawnictwa. Prace zostały przygotowane we współautorstwie (zespół dwuosobowy), przy czym zawarte w dokumentacji oświadczenia współautora pracy (promotora) pozwalają na precyzyjne określenie indywidualnego wkładu Doktorantki w powstanie rozprawy. Doktorantka jest pierwszym autorem czterech spośród pięciu prac cyklu, a Jej wkład w powstanie publikacji kształtował się w zakresie od 40 (publikacja 1) do 90% (publikacje 2-5) i obejmował: opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie eksperymentów, wykonanie części analiz, zestawienie i opracowanie wyników, przygotowanie manuskryptów. Należy dodać, że w realizacji prac nad kompleksowym rozwiązaniem zagadnienia, szczególnie w naukach przyrodniczych, praca

Doktorantka

zespołowa jest istotnym warunkiem osiągnięcia wartości dodanej w nauce. Pod względem formalnym przedstawiony dorobek naukowy mgr inż. Anny Diany Kononiuk spełnia wymagania.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w latach 2018 i 2020. Są to następujące pozycje:

1. Karwowska, M., **Kononiuk, A.** (2018). Addition of acid whey improves organic dry-fermented sausage without nitrite production and its nutritional value. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 246-253.

(oryginalna praca twórcza, MNiSW=25 I_h-2,281, liczba cytowań wg Web of Science: 7)

2. **Kononiuk, A. D.**, Karwowska, M. (2020). Comparison of the effect of freeze-dried acid whey on physicochemical properties of organic fermented sausages made from beef and fallow deer meat. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 5, 1753-1762.

(oryginalna praca twórcza, MNiSW=70 IF= 1,946, liczba cytowań wg Web of Science: 0)

3. **Kononiuk, A. D.**, Karwowska, M. (2020). Comparison of selected parameters related to food safety of fallow deer and beef uncured fermented sausages with freeze-dried acid whey addition. *Meat Science*, 161, 108015.

(oryginalna praca twórcza, MNiSW=140 IF=3,644, liczba cytowań wg Web of Science: 2)

4. **Kononiuk, A. D.**, Karwowska, M. (2020). Influence of freeze-dried acid whey addition on biogenic amines formation in a beef and deer dry fermented sausages without added nitrite. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(2), 332-338.

(oryginalna praca twórcza, MNiSW=100 IF= 1,243, liczba cytowań wg Web of Science: 3)

5. **Kononiuk, A.D.**, Karwowska, M. (2020). Bioactive Compounds in Fermented Sausages Prepared from Beef and Fallow Deer Meat with Acid Whey Addition. *Molecules*, 25, 2429.

(oryginalna praca twórcza, MNiSW=100 IF=3,267, liczba cytowań wg Web of Science: 0)

Sumaryczna liczba pkt. według komunikatu MNiSW obowiązującego w roku wydania pracy: 435

Sumaryczny IF (zgodnie z rokiem opublikowania): 12,381 Sumaryczna liczba cytowań wg Web of Science: 12

W recenzji dorobku naukowego mgr inż. Anny Diany Kononiuk nie można pominąć faktu, że obok cyklu 5 prac stanowiących rozprawę doktorską Doktorantka posiada w dorobku dodatkowo 10 publikacji (w tym 5 w czasopiśmie z listy filadelfijskiej), 10 rozdziałów w monografiach i 16 komunikatów na konferencjach naukowych. Łączna punktacja opublikowanych prac (według listy MNiSzW) wynosi 890, a impact factor (IF) 27,466. Niewielka liczba cytowań wynika z faktu, że publikacje ukazały się stosunkowo niedawno i zapewne w nieodległym czasie znajdą uznanie w cytowaniach świata nauki. Należy podkreślić, że dorobek naukowy (poza rozprawą doktorską) znacznie przekracza ustawowe wymagania sprecyzowane dla osób ubiegających się nadanie stopnia doktora. Zarówno spójny tematycznie zbiór pięciu artykułów stanowiący rozprawę doktorską jak

również pozostała aktywność publikacyjna stanowiąca dorobek naukowy pozwalają stwierdzić, że Doktorantka posiada umiejętność przygotowania manuskryptów, współpracy w zespołach badawczych, co sprzyja szybkiemu zwiększeniu dotychczasowego dorobku, który już teraz można uznać za znaczący na tak wczesnym etapie kariery naukowej.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Anny Diany Kononiuk dotyczy aktualnego i ważnego problemu wykorzystania serwatki kwasowej w produkcji surowo dojrzewających kielbas z mięsa zwierząt przeżuujących bez dodatku azotanów. Stanowi wartościowe opracowanie naukowe, świadczące o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki. Studium literatury dotyczące dotychczasowych osiągnięć w zakresie odpowiadającym tematyce pracy doktorskiej pozwoliło Autorce prawidłowo sformułować hipotezę badawczą, cel główny oraz cele szczegółowe pracy, które zostały rzetelnie zrealizowane w oparciu o dużą wiedzę merytoryczną i bogaty warsztat metodyczny. Szeroki zakres badań o charakterze interdyscyplinarnym pozwolił uzyskać wyniki poszerzające wiedzę naukową w zakresie nauk o żywności. Wyniki te mają zarówno znaczenie poznawcze, jak również aplikacyjne i powinny być wykorzystane w praktyce w produkcji surowo dojrzewających kielbasach bez dodatku azotanów. Opis prezentowanych badań wraz z cyklem publikacji świadczą o dużej dojrzałości naukowej, dobrym warsztacie badawczym, umiejętności formułowania i rozwiązywania złożonych problemów naukowych oraz o pisania prac naukowych. Przedłożoną do recenzji rozprawę oceniam bardzo wysoko i jednocześnie wnioskuję do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o jej wyróżnienie.

Stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr inż. Anny Diany Kononiuk spełnia wymogi stawiane dysertacjom doktorskim i wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Anny Diany Kononiuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

