

dr hab. inż. Katarzyna Antosik, prof. UPH

Siedlce, dn.16.04.2018

Zakład Dietetyki i Oceny Żywności

Instytut Nauk o Zdrowiu

Wydział Przyrodniczy

Uniwersytet Przyrodniczo – Humanistyczny w Siedlcach

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Ilony Mitki pt: „*Rola wybranych genów szlaku biosyntezy triacylogliceroli w kształtowaniu parametrów jakościowych i sensorycznych mięsa wieprzowego*”
wykonanej pod kierunkiem promotora głównego dr hab. Mirosława Tyry prof. IZ i promotora
pomocniczego dr hab. Katarzyny Ropka – Molik
opracowana na wniosek

Rady Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach

Mięso wieprzowe jest chętnie spożywane przez polskich konsumentów, co wynika z tradycji kulinarnych oraz stosunkowo przystępnych cen jego zakupu. Nabywcy poszukują mięsa o czerwonoróżowej barwie, niskiej zawartości tłuszczu oraz wysokiej wartości odżywczej i jakości sensorycznej. Ażeby spełnić oczekiwania konsumentów dotyczące atrakcyjności sensorycznej produktu, mięso kulinarne powinno zawierać odpowiednią ilość tłuszczu śródmięśniowego, bowiem mięso chude charakteryzuje się po obróbce cieplnej niższą jakością sensoryczną, niż mięso o wyższym stopniu marmurkowatości. Bez tłuszczu śródmięśniowego i międzymięśniowego trudno mówić o smaku, zapachu i kruchości mięsa i przetworów mięsnych. Zarówno jakość sensoryczna jak i technologiczna mięsa wieprzowego, w tym zawartość tłuszczu śródmięśniowego, uwarunkowana jest przez szereg czynników genetycznych i środowiskowych. Kwestia jakości wieprzowiny jest przedmiotem badań wielu naukowców i aktualnie nabiera szczególnego znaczenia. Należy bowiem pamiętać, że wskutek prowadzonej intensywnej selekcji dość szybko zmienia się genotyp i metabolizm zwierząt. Instytucje odpowiedzialne za hodowlę świń koncentrują się obecnie na możliwościach sterowania właściwościami mięsa wykorzystując osiągnięcia genetyki molekularnej. Szczególną uwagę poświęca się genom wpływającym w znaczący sposób na zmienność cech ilościowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. **Ilony Mitki pt: „*Rola wybranych genów szlaku biosyntezy triacylogliceroli w kształtowaniu parametrów jakościowych i sensorycznych mięsa wieprzowego*”** wpisuje się w nurt, prowadzonych aktualnie na całym świecie,

Antosik

badania nad uwarunkowaniami parametrów kształtujących wartość odżywczą oraz jakość kulinarną i przydatność technologiczną mięsa. Biorąc pod uwagę coraz większe wymagania konsumentów mięsa wieprzowego pod względem jego jakości podjęte badania przez mgr Ilonę Mitkę uważam za w pełni uzasadnione i interesujące, zarówno z punktu widzenia naukowego, praktyki produkcji świń, praktyki żywieniowej jak i praktyki produkcji wyrobów mięsnych.

Ocena układu i charakterystyka formalna pracy

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 164 stron maszynopisu, w tym 73 tabele, 9 wykresów, 8 zdjęć, 63 rysunki i 14 stron spisu piśmiennictwa zawierającego 177 pozycji. Układ pracy jest poprawny, typowy dla tego rodzaju opracowań. W początkowej części pracy umieszczono wykaz najczęściej stosowanych skrótów. W moim przekonaniu, bardziej przejrzyste byłoby wyodrębnienie z rozdziału „Wstęp” informacji dotyczących opisu jakości i tekstury mięsa oraz genów warunkujących jakość mięsa wieprzowego i przedstawienie ich jako rozdział „Przegląd piśmiennictwa”.

Treść pracy jest zgodna z jej tytułem. Praca napisana jest rzeczowo i poprawnie. Zdarzają się niezręczne sformułowania językowe, skróty myślowe i błędy interpunkcyjne, które w większości mają charakter redakcyjny i nie obniżają wartości merytorycznej pracy, a które z obowiązku recenzenta wymienię w dalszej części recenzji.

Zastosowany warsztat metodyczny jest właściwie dobrany do realizacji założonego celu badań. Materiał do badań był pozyskiwany i dobrany prawidłowo pod względem przydatności analitycznej, aczkolwiek występują pewne niejasności i spostrzeżenia, które zostaną przedstawione przy ocenie merytorycznej rozdziału „Materiał i metody”. Na szczególną, wartą podkreślenia uwagę zasługuje fakt, iż Doktorantka bardzo dokładnie i szczegółowo omówiła zastosowane analizy genetyczne, wykorzystując nowe techniki do poszukiwania polimorfizmów w obrębie genów, amplifikacji wybranych fragmentów genu czy sekwencjonowania DNA. Ze względu na słabą adnotację sekwencji dla genu GPAT2 w bazie Ensembl zaprojektowano startery, które obejmowałyby większe fragmenty genu, co znacznie zwiększało specyficzność otrzymanych produktów PCR. Świadczy to o pracowitości i rzetelnym, naukowym podejściu mgr Ilony Mitki do realizacji pracy doktorskiej.

Ocena merytoryczna pracy

Wybór tematyki pracy doktorskiej mgr inż. Ilony Mitki należy uznać za jak najbardziej uzasadniony, ponieważ dotyczy bardzo istotnych i aktualnych dla hodowli oraz produkcji mięsa, a także preferencji konsumenckich i zdrowia człowieka zagadnień badawczych. Wyniki recenzowanej pracy są nie tylko dopełnieniem dotychczasowych badań naukowych, ale w większej części stanowią

Amborkley

novum (np. przeprowadzenie po raz pierwszy badań poszukiwania polimorfizmów w obrębie genów *GPAT1* i *GPAT2*) i mogą także znaleźć zastosowanie praktyczne.

We wstępie Autorka bardzo dobrze uzasadnia celowość przeprowadzenia badań ukazując je w kontekście wyników innych badaczy. W rozdziale tym Doktorantka omówiła dość szczegółowo parametry będące wyznacznikami jakości technologicznej i sensorycznej mięsa oraz dokonała analizy genów *GPAT* jako potencjalnych genów kandydujących, warunkujących jakość wieprzowiny, aczkolwiek recenzent odniósł wrażenie, że bliższa jest Doktorantce znajomość aspektów genetycznych aniżeli zagadnień dotyczących mięsoznawstwa czy jakości mięsa. Świadczą o tym pewne uproszczenia oraz nieprawidłowe sformułowania czy zwroty stosowane w pracy. Dla przykładu na str. 13 i 19 zwrot „*dieta zwierzęcia*” powinien raczej brzmieć „*sposób żywienia*”. Na str. 14 z kolei autorka używa sformułowania, „*żywy mięsień charakteryzuje się obojętnym pH*”, a przecież nie ma powiedzenia „*martwy mięsień*”, raczej powinno się stosować „*wartość pH mięśni mierzonych in vivo wynosi*”. Niefortunne jest także użycie słowa „*chronometr*” zamiast „*chromameter*” czy „*spektrofotometr*” (str. 13). Chronometr służy bowiem do określania czasu w oparciu o urządzenia elektroniczne, łączność radiową czy satelitarną (tzw. zegar mechaniczny). Do określania barwy różnych produktów, co było wykonywane w pracy, wykorzystuje się natomiast chromameter.

Dyskusyjne jest także stosowanie przez Doktorantkę zamiennie słowa „*wodochłonność*”, „*WHC*” czy „*wyciek naturalny*”. Są to trzy różne wyznaczniki jakości mięsa i nie powinny być używane jako synonimy. Szczegółową interpretację tego zagadnienia przedstawię w ocenie części dotyczącej rozdziału „*Materiał i metody*”.

Nie do końca zgadzam się również, że „*dla mięsa dobrej jakości zawartość IMF powinna mieścić się w przedziale 2,5-3,5 %*” (str.18). Chyba raczej chodzi w tym przypadku o oczekiwania konsumenckie, wartość kulinarną i przetwórczą mięsa. Mięso o zawartości IMF < 2,5 % też może mieć dobrą jakość. Powinno się raczej mówić o optymalnym poziomie IMF w zakresie 2,5 – 3,5 % warunkującym przydatność technologiczną i kulinarną mięsa wieprzowego. Podobnie, na str. 21 autorka podaje, że „*selekcja wspomagana markerami genetycznymi jest szczególnie istotna w przypadkach cech związanych z jakością mięsa, która może być mierzona dopiero po uboju*”. Jest to stwierdzenie poniekąd prawdziwe, aczkolwiek należy pamiętać, że dobrym wyznacznikiem jakości mięsa wieprzowego mierzonym *in vivo* jest pomiar potencjału glikolitycznego (Przybylski 2002) czy wykorzystanie takich technik jak usg czy spektroskopia Ramana do określania np. zawartości IMF. Na podkreślenie zasługuje natomiast trafny dobór licznych pozycji piśmiennictwa, w większości w języku angielskim. Duża liczba zacytowanych prac naukowych, opublikowanych w wysokiej rangi

Anchorley

czasopiśmie, świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki i szerokim zakresie wiedzy z omawianego zagadnienia.

Mgr Ilona Mitka za cel pracy przyjęła „ustalenie czy istnieje związek pomiędzy kodującymi enzymy GPAT genami GPAT1 i GPAT2, a cechami jakości mięsa, parametrami tekstury, jak również cechami tucznymi i rzeźnymi w zarodowym pogłowie trzody chlewnej w Polsce”. Na podkreślenie zasługuje szeroki zakres badań i kompleksowy charakter ocenianej pracy. Uważam, że postawione przez Doktorantkę cele szczegółowe zostały sformułowane prawidłowo i pozwalają na realizację ustalonego głównego celu pracy.

W rozdziale Materiał i metody autorka dokonała opisu materiału doświadczalnego i bardzo precyzyjnego opisu przeprowadzonych analiz genetycznych. Wykorzystane podczas realizacji pracy metody analityczne, z zakresu „genetyki” są aktualne, poprawne i nie budzą zastrzeżeń merytorycznych. Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem nowoczesnej, powszechnie akceptowanej aparatury badawczej. Szkoda, że w ten sam sposób nie zostały opisane metody oceny cech jakości mięsa. Mam niewielkie uwagi odnośnie opisu materiału badawczego i metod oceny jakości mięsa oraz przygotowania próbek do badań:

- ✓ Brak informacji o liczbie zwierząt, na których prowadzono badania, o sposobie i poziomie żywienia zwierząt oraz metodzie uboju
- ✓ Brak informacji czy pomiar kwasowości pH był wykonywany na tuszy wiszącej czy w pobranych próbkach mięśni
- ✓ Brak informacji o sposobie wyliczenia wodochłonności. Przytoczona metoda Grau i Hamm'a (1952) służy do określenia zawartości wody wolnej, inaczej WHC (water holding capacity) czyli zdolności utrzymywania wody własnej przez mięso. Wodochłonność mięsa z kolei jest to zdolność do chłonięcia i utrzymywania wody przez tkankę i najczęściej oznaczana metodą Wierbicki i wsp. 1962 polegającą na rozdzieleniu w polu odśrodkowym homogenatu próbki mięsa z wodą destylowaną (Dolatowski i wsp. 2004). Metoda Grau i Hamma'a może być wykorzystana do określenia wodochłonności, ale należy dokładnie podać opis badań i sposób wyliczenia. Nie powinno się stosować zamiennie „wodochłonność” i WHC. Lepiej byłoby określić badany w pracy parametr jako „WHC” lub „wodochłonność wyrażoną jako WHC” albo po prostu jako „wskaźnik odzwierciedlający wodochłonność”.
- ✓ Na str. 30 autorka podaje, że „pomiaru odczynu pH dla mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. longissimus lumborum*; polędwicy).....” czy „parametry..... analizowano w próbkach materiału pobranych z mięśnia najdłuższego grzbietu”. Mięsień najdłuższy grzbietu to *m. longissimus dorsi* a *m. longissimus lumborum* to jedynie fragment mięśnia LD. Powinna być

Amkorky

zatem zamieszczona informacja z jakiej części bądź fragmentu mięśnia najdłuższego grzbietu pobierano próbki czy wykonywano pomiary np. „...w próbkach mięśnia najdłuższego grzbietu w części *longissimus lumborum*”

- ✓ Przy opracowaniu statystycznym wyników brak jest informacji o zastosowanym teście do ustalenia istotności różnic między średnimi badanych cech

Przeprowadzone badania należy uznać za kompleksowe. Na podkreślenie zasługuje bardzo szeroki zakres badań, ogromna pracowitość i kosztowność zastosowanych analiz genetycznych oraz duże zdolności organizacyjne Autorki. Przeprowadzone analizy wstępne określające brak wpływu ojca, matki i stacji kontroli na poziom analizowanych cech oraz przyjęty sposób analizy statystycznej wyników badań umożliwił zrealizowanie postawionego celu badań.

Rozdział 4 tj. Wyniki badań jest najobszerniejszy, bowiem na 57 stronach zebrano i przedstawiono w formie tabel i zdjęć uzyskane wyniki. Należy podkreślić, iż rozdział ten był trudny do opracowania, z uwagi na dużą ilość wykonanych analiz i w związku z tym ogromną ilość danych liczbowych. Przedstawione badania są dość obszerne, aczkolwiek razem tworzą spójną całość. Niemniej jednak mam kilka uwag odnośnie treści tabel oraz interpretacji wyników:

- ✓ Brak w tabelach informacji o liczebności zwierząt, co może wpływać na wnioskowanie
- ✓ W tabelach 27, 29, 31, 33 brak informacji o wpływie rasy na badane cechy. Jakie efekty stwierdzono i przy jakim poziomie istotności?
- ✓ W tabeli 37 nieprawidłowo oznaczono różnice między średnimi takich cech jak wydajność rzeźna, masa polędwicy bez skóry i słoniny
- ✓ Uzyskane i potwierdzone statystycznie wyniki analizy wpływu genotypów locus *GPAT1*, *GPAT12* i *GPAT13* na wybrane cechy rzeźne świń wynikają najprawdopodobniej ze zróżnicowanej liczebności osobników o poszczególnych genotypach i większej zmienności cech zwierząt o genotypach *TT* względem tych locus. Celem potwierdzenia tych rezultatów należałoby przeprowadzić w przyszłości takie badania na grupie o zbliżonym udziale osobników o genotypach *CC*, *CT* i *TT*.
- ✓ Wyjaśnienia wymaga fakt, iż pomimo zastosowanego modelu statystycznego, uwzględniającego efekt interakcji między rasą a genotypami analizowanych locus dla badanych cech, Autorka nie podaje informacji o uzyskanych zależnościach. Być może interpretacja analizy interakcji była niemożliwa ze względu na małą liczebność w grupach?

Przeprowadzona przez Doktorantkę dyskusja wyników (Rozdział 5) została wykonana na wysokim poziomie naukowym. Autorka dokonała omówienia uzyskanych wyników odnosząc je tam, gdzie to możliwe, do analogicznych wyników uzyskanych przez innych badaczy. Uważam, że Pani

Archiwizacja

mgr Ilona Mitka dokonała trafnego doboru wielu cennych pozycji piśmiennictwa by skomentować wyniki badań własnych. Sposób, w jaki Autorka dokonała opracowania tego rozdziału świadczy o Jej dużej znajomości piśmiennictwa zagranicznego oraz umiejętności analitycznego myślenia.

W końcowej części pracy, w rozdziale 6 (Stwierdzenia i wnioski) Autorka w oparciu o uzyskane wyniki i ich dyskusję sformułowała 14 stwierdzeń i wniosków. Proponowałabym wyodrębnić jasno sprecyzowane, konkretne wnioski o charakterze poznawczym i aplikacyjnym, co podkreśliłoby ich zgodność z uzyskanymi wynikami i odniesienie do wcześniej sformułowanych celów szczegółowych pracy.

Rozdział Literatura zawiera imponującą liczbę pozycji (167), z których jedynie 4 w języku polskim, a większość to prace obcojęzyczne, opublikowane w ciągu ostatnich kilku lat w wysokiej rangi czasopismach o zasięgu międzynarodowym z zakresu genetyki, hodowli zwierząt czy nauki o mięsie. W rozdziale Suplement załączono, uzyskane z przeprowadzonych analiz genetycznych, wykresy krzywych topnienia reakcji HRM dla produktów PCR oraz chromatogramy uzyskane po sekwencjonowaniu fragmentu analizowanych genów.

Podsumowując, pragnę zaznaczyć, iż przedstawione przeze mnie uwagi do poszczególnych rozdziałów rozprawy doktorskiej Pani mgr Ilony Mitki nie pomniejszają jej wartości poznawczej i aplikacyjnej. Ponadto, niektóre z wniesionych uwag mogą mieć charakter dyskusyjny. Całość ocenianego opracowania świadczy o dobrej znajomości zagadnień będących przedmiotem badań Doktorantki, a warty podkreślenia jest fakt, iż w dostępnym piśmiennictwie jest niewiele prac, w których analizowano by związek polimorfizmu i poziomu ekspresji genów *GPAT1* i *GPAT2* z cechami użytkowymi świń i jakością mięsa wieprzowego.

Uwzględniając powyższe stwierdzam, iż pomimo wskazanych drobnych uwag, przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Ilony Mitki pt. **„Rola wybranych genów szlaku biosyntezy triacylogliceroli w kształtowaniu parametrów jakościowych i sensorycznych mięsa wieprzowego”** odpowiada wymaganiom i spełnia warunki stawiane pracom doktorskim, określone w Ustawie 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 późniejszymi zmianami). Jednocześnie, zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach z wnioskiem o przyjęcie pracy i dopuszczenie Pani mgr inż. Ilony Mitki do dalszego toku postępowania w przewodzie doktorskim.

Katarzyna Antorka