

## RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Krzysztofa Wojtyczy

pt. „Wpływ żywienia na skład związków lotnych w mięsie i tłuszczu Gęsi Białej Kołudzkiej<sup>®</sup>”,  
wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Roberta Gąsiora  
w Instytucie Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego

### 1. Wprowadzenie

Istnieje szereg doniesień naukowych potwierdzających możliwość wykorzystania analizy związków lotnych połączonej z metodami chemometrycznymi do różnicowania czy weryfikacji autentyczności produktów spożywczych. Dotyczy to również produktów pochodzenia zwierzęcego, takich jak surowe mięso wieprzowe, drobiowe, jak również wyrobów mięsnych typu salami, szynka parmeńska czy nawet smalec. Wykorzystanie do analizy mięsa surowego jest znacznie rzadziej stosowane ze względu na jego ubogi profil związków lotnych i konieczność stosowania metod charakteryzujących się większą czułością chociażby takich jak pełna dwuwymiarowa chromatografia gazowa. Jednakże moim zdaniem badania autentyczności produktów spożywczych powinny iść w kierunku poszukiwania metod nie wymagających specjalistycznego, drogiego sprzętu tylko powszechnie stosowanych urządzeń, łatwych w obsłudze i szybkich w wykonywaniu analiz. Błyskawiczny rozwój technik analitycznych powoduje, że swego czasu trudno dostępne urządzenia są w coraz większym stopniu osiągalne i wykorzystywane w podstawowych laboratoriach. Do takich technik możemy zaliczyć mikroekstrakcje do fazy stacjonarnej (SPME), chromatografię gazową (GC) i spektrometrię mas (MS), które w połączeniu dają narzędzie analityczne SPME/GC/MS cechujące się, ogromnymi zdolnościami badawczymi będąc jednocześnie narzędziem prostym w obsłudze, szybkim w działaniu i coraz bardziej dostępnym cenowo.

Z tego względu uważam, że zadanie, które postawił przed sobą Doktorant, czyli zastosowanie analizy związków lotnych za pomocą mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej połączonej z chromatografią gazową i spektrometrią mas (SPME/GC/MS), które są powszechnie stosowane od ponad 20 lat, do różnicowania a co za tym idzie weryfikacji autentyczności gęsi Białej Kołudzkiej<sup>®</sup> uważam za przydatne za względów praktycznych jak również interesujące od strony naukowej.

## **2. Ogólna charakterystyka ocenianej pracy:**

Przedstawiona do oceny praca zawiera 140 stron maszynopisu, 22 tabel i 19 rysunków. Spis literatury zawiera 187 pozycji, w większości oryginalne i anglojęzyczne, z których znaczna część to prace opublikowane w czasopismach międzynarodowych z listy filadelfijskiej. Większość pozycji bibliograficznych pochodzi z ostatnich 10 lat.

Praca została podzielona na 10 zasadniczych rozdziałów, których spis zamieszczony na wstępie ułatwia czytelnikowi orientację w przedstawionym opracowaniu. Proporcje poszczególnych rozdziałów są racjonalne: wstęp i przegląd literatury zajmuje 28 stron, dwie strony Autor przeznaczają na sformułowanie i uzasadnienie celu pracy, 19 stron zajmuje opis materiału i zastosowanych metod, wyniki i dyskusja wyników zajmuje 61 stron, następnie Autor zamieścił wypunktowane podsumowanie, po którym formułuje wniosek podstawowy i 4 wnioski dodatkowe. Dodatkowo w początkowej części pracy zamieszczone jest 2 stronicowe streszczenie w języku polskim i angielskim. Rozprawa jest zredagowana starannie, napisana poprawnym językiem, wskazuje na dobrą orientację Doktoranta w obszarze poruszanych zagadnień.

## **3. Ocena merytoryczna pracy**

Zawarty we wstępie przegląd piśmiennictwa wyczerpująco wprowadza w problematykę badawczą. W tej części pracy Autor przedstawia ogólną charakterystykę gęsi Białej Kołudzkiej®, reakcje powstawania związków lotnych mięsa, jak również techniki stosowane w analizie związków lotnych, w tym przygotowanie próbek, techniki separacyjne i łączone. W ostatniej części Autor przedstawia metody statystyczne wykorzystywane w badaniach autentyczności żywności.

W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Autor przedstawia cel pracy, który polega na zweryfikowaniu hipotezy badawczej zakładającej możliwość różnicowania produktów pochodzenia zwierzęcego za pomocą analizy związków lotnych na przykładzie gęsi karmionych owsem lub pszenicą. Cel ten realizuje poprzez przeprowadzenie doświadczeń w dwóch latach 2015 i 2016 na materiale badawczym pochodzącym od 160 gęsi hodowanych w Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Kołudzie Wielkiej. Dobór materiału jest szeroki i wystarczający do przeprowadzenia niezbędnej analizy statystycznej. Uważam, że cel pracy jest ambitny, posiada zarówno cechy naukowe jak i zastosowanie praktyczne. Niestety w punkcie 5 (cel i hipoteza badawcza) trudno jest czytelnikowi znaleźć wyraźnie i precyzyjnie sformułowany cel pracy, który np. pojawia się w streszczeniu.

Założony w pracy cel badawczy Doktorant realizuje w oparciu o rozbudowany i logicznie zaplanowany cykl doświadczeń obejmujący 9 analiz chemicznych, w tym m.in. oznaczenie zawartości witamin A i E, cholesterolu czy profilu kwasów tłuszczowych, oraz analizę związków lotnych przeprowadzonych na trzech próbkach uzyskanych z gęsi; mianowicie: mięśnie udowe,

mięśnie piersiowe i tłuszcz sadełkowy w stanie surowym oraz poddanych obróbce termicznej w dwóch wariantach. Ze względu na mnogość kombinacji układu doświadczenia, oraz sposobu prezentacji wyników: podział na płeć oraz rok doświadczenia, za użyteczne uważam zamieszczenie przez Doktoranta schematu przeprowadzonych badań (str. 50), który ułatwia czytelnikowi analizę uzyskanych wyników. Prezentowany układ doświadczeń, a także nowoczesna analiza fizykochemiczna i instrumentalna, wyniki weryfikowane i obiektywizowane trafnie dobraną do potrzeb analizą statystyczną świadczą o rzetelnym przygotowaniu Doktoranta do rozwiązywania problemów i prowadzenia badań naukowych.

Wyniki badań zebrane w trzech głównych punktach: doświadczenie żywieniowe, identyfikacja związków lotnych oraz opracowanie modeli klasyfikacyjnych zostały szczegółowo opisane i przedyskutowane. Interesujące są wyniki badań składu chemicznego mięsa pochodzącego od gęsi Białej Kołudzkiej®, wskazujące na niewątpliwe korzyści wynikające z karmienia gęsi ziarnem owsa, które wpływa na zwiększenie zawartości witamin A i E oraz zwiększenie udziału procentowego, korzystnych dla organizmu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Kolejne doświadczenie polegające na zastosowaniu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej oraz chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas pozwoliło na identyfikację lotnych związków organicznych w próbkach mięsa mięśni nóg oraz tłuszczu sadełkowym. Związki te podzielono na 9 grup chemicznych takich jak: węglowodory, aldehydy, alkohole, ketony, estry, kwasy tłuszczowe, związki siarkowe i azotowe oraz furany. W tym miejscu chciałabym jednak zwrócić uwagę na prezentację wyników dotyczących analizy składu kwasów tłuszczowych i organicznych związków lotnych, które zostały zaprezentowane w pracy jako udział procentowy i tak też powinny być omawiane w przeciwieństwie do używanego od czasu do czasu określenia „zawartość” (np. str. 77, rysunek 11). Porównując profil związków lotnych analizowanych próbek, zaznaczono związki występujące tylko w mięsie i tłuszczu gęsi z określonej grupy żywieniowej: tuczu owsianego lub pszenicznego, które mogłyby służyć jako związki różnicujące, tzw. markery. Wyniki te uważam za cenne, dlatego szkoda, że nie zostały ujęte we wnioskach czy podsumowaniu. W kluczowym moim zdaniem, etapie badań Doktorant poprzez powiązanie oznaczeń analitycznych związków lotnych z analizą statystyczną tworzy modele klasyfikacyjne, które następnie waliduje wyznaczając procent prawidłowo zaklasyfikowanych próbek oraz dokładności klasyfikacji próbek pochodzących z danej grupy lub podgrupy. Niewątpliwą wartością jest w tej części pracy, szerokie zastosowanie przez Doktoranta metod statystycznych takich jak techniki logarytmowania danych, systematyczna normalizacja logarytmowanych stosunków, stosunek Fisher'a, analiza składowych głównych oraz liniowa analiza dyskryminacyjna. Niemniej jednak, w mojej opinii, ta część doktoratu (punkt 7.3) byłaby jeszcze bardziej wartościowa po przeprowadzeniu wnikliwej dyskusji uzyskanych wyników z wynikami badań prezentowanych z tego zakresu w literaturze fachowej. Na szczególne podkreślenie zasługuje, moim zdaniem, konsekwentne dążenie Doktoranta do

osiągnięcia założonego celu poprzez przeprowadzenie dodatkowych procedur walidacyjnych oznaczania związków lotnych (punkt 6.6) takich jak: pobór i przygotowanie próbki czy parametry izolacji i identyfikacji związków lotnych a następnie walidacji modelu klasyfikacyjnego.

Praca kończy się wnioskiem głównym, który jest sformułowany na podstawie osiągniętych efektów praktycznych i aspektów poznawczych wskazując, że analiza związków lotnych połączona z wykorzystaniem wielowymiarowych technik statystycznych może być zastosowana do stworzenia modelu umożliwiającego potwierdzenie autentyczności mięsa czy tłuszczu pochodzącego od gęsi Białej Koludzkiej®.

#### **4. Uwagi dyskusyjne i wymagające wyjaśnienia:**

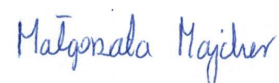
Oceniając pracę pod względem formalnym stwierdzam, że praca jest napisana poprawnym językiem, starannie zredagowana i opracowana edytorsko. Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na pewne zagadnienia, które pominięto, które wymagają rozwinięcia, lub bardziej szczegółowego wyjaśnienia.

- W części metodycznej pominięto pewne szczegóły, które byłyby przydatne do wykorzystania stosowanych metod w innych tego typu analizach. Byłabym wdzięczna, gdyby Doktorant zechciał uzupełnić te informacje:
  - Str. 42; tabela 3, trzeci wiersz, druga kolumna powinno być „SPME-MS”, zamiast „SPME-GC/MS”
  - Str. 45; zamiast „Koludzkich®” powinno być Kołudzkich®
  - Str. 51; jaka była faktyczna naważka mięsa/tłuszczu w przypadku analizy SPME
  - Str. 51; czy analizy związków lotnych były wykonywane w powtórzeniach?
  - Str 52; zamiast „TIC” powinno być „pełnego przemiatania widma (skan)” - spektrometr masowy pracuje w trybie skan, sim, mrm itp.; TIC (total ion current) – oznacza sposób prezentacji chromatogramu
  - Str. 52; czy powierzchnie pików związków lotnych były integrowane dla wszystkich (TIC) czy dla wybranych jonów?
  - Str. 72; „kwasy pożądane dla organizmu człowieka (DFA) to suma kwasów nienasyconych i kwasu stearynowego” – brak źródła literatury
  - Str. 86, w tabeli dwa razy pojawia się nazwa tego samego związku – 2-heptanon
- Tabela 10; W jaki sposób można wyjaśnić większą zawartość cholesterolu w mięsie (piers i noga gęsi) niż w tłuszczu sadełkowym?
- Czy otrzymane w niniejszej pracy modele klasyfikacyjne można bezpośrednio wprowadzić i wykorzystać w innych laboratoriach?

- Który z uzyskanych modeli klasyfikacyjnych posiada najlepsze właściwości predykcyjne do weryfikacji autentyczności gęsi Białej Kołodzkiej® i mógłby zostać wprowadzony do rutynowych badań?

## 5. Podsumowanie

Niezależnie od wymienionych uwag pracę doktorską mgr inż. Krzysztofa Wojtyczy pt. „Wpływ żywienia na skład związków lotnych w mięsie i tłuszczu Gęsi Białej Kołodzkiej®”, oceniam jako wartościową pod względem naukowym oraz aplikacyjnym. Praca została wykonana w oparciu o logiczny plan, przy wykorzystaniu właściwej metodyki na dobrze dobranym materiale, a uzyskane wyniki zostały prawidłowo zinterpretowane i podsumowane wnioskami. Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Zootechniki – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie Pana mgr inż. Krzysztofa Wojtyczy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. Małgorzata Majcher