

prof. dr hab. Edward Pospiech
Instytut Technologii Mięsa
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 31
60-624 Poznań

Poznań, dn. 25. 11. 2016 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. wet. Piotra Karpińskiego nt.

„Badania nad zastosowaniem wybranych technik instrumentalnych w ocenie jakości
i autentyczności szynek dojrzewających na przykładzie kumpiaka podlaskiego”

Praca została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Mieczysława W. Obiedzińskiego w Zakładzie Oceny Jakości Żywności Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Wstęp

Produkty regionalne, tradycyjne, a także żywność ekologiczna określane niekiedy jako niszowe stanowią coraz większą grupę artykułów żywnościowych poszukiwanych na rynku. Mimo że handel tego typu produktami szczególnie w Polsce jest jeszcze stosunkowo niewielki cieszą się one rosnącym zainteresowaniem. Zgodnie z panującą opinią są to produkty o podwyższonym standardzie zdrowotnym, charakteryzujące się wysoką jakością i wyjątkowymi właściwościami organoleptycznymi. Różnią się istotnie od tzw. konwencjonalnej żywności, która aczkolwiek jest wystandaryzowana i bezpieczna, to jednak rzadko wnosi pełną satysfakcję podczas jedzenia. Dokonując zakupu wyrobów niszowych zdajemy sobie jednak sprawę, że tradycyjna technologia i szczególne walory smakowe wyrobów tradycyjnych powodują, że produkty te są droższe. Wynika to z przekonania, a także z praktyki, że zarówno surowiec użyty do ich produkcji, jak i technologia, są z reguły bardziej wyszukane, wymagają o wiele większego wysiłku i prowadzone są w szczególnych warunkach, które zwykle ograniczają skalę produkcji. Znane są jednak przypadki, że oferowany produkt nie spełnia deklaracji składanych przez producenta i oczekiwań konsumenta. Odnosi się to nie tylko do walorów zdrowotnych i sensorycznych, ale i jego składu, mimo że coraz to nowsze wymagania odnośnie znakowania żywności powinny prowadzić do eliminacji tego typu zjawisk. Ocena jakości i autentyczności produktów tradycyjnych, regionalnych, czy wszelkiego tego typu produktów oferowanych na rynku jest

więc niezwykle istotna. Obok zadań związanych w pewnym stopniu z ochroną konsumenta może ona spełniać również jeszcze inną rolę. Opracowane kryteria jakości mogą być pomocne w kontroli procesu produkcyjnego stanowiąc doskonałe narzędzie dla producentów żywności, a także dla służb kontrolnych, którym pozwolą one na przeprowadzenie rzetelnej oceny produktu.

Dzisiejsze techniki analityczne są coraz bardziej złożone. Pozwalają określać związki, które występują w śladowych ilościach i co jest równie ważne są coraz szybsze, aczkolwiek i w tym zakresie jest jeszcze wiele do zrobienia i stąd obserwuje się ciągle modyfikacje metod i sprzętu używanego w analizie żywności.

Praca doktorska Lek. wet. Piotra Karpińskiego wpisuje się w tę tematykę doskonale. Dotyczy bowiem surowca mięsnego, z którego produkuje się wyroby tradycyjne, a także podejmuje próbę oceny ich jakości i autentyczności biorąc najnowsze metody analityczne, które są stosunkowo szybkie, choć precyzja i dokładność bywa zróżnicowana. Uzyskane wyniki analizuje przy pomocy zaawansowanych metod statystycznych, co ułatwia ich wszechstronną ocenę.

Ocena układu pracy i merytoryczna jej treści

Przedłożona do oceny praca obejmuje 175 stron maszynopisu, spośród których 5 ma charakter informacyjny. Mimo tego uważam, że test ona bardzo obszerną. Dysertacja została podzielona na 2 części A i B. Część B stanowi wykaz osiągnięć kandydata do stopnia doktora nauk przyrodniczych, a w pierwszej z nich (A) w zasadzie zawarta jest treść pracy, która obejmuje 7 rozdziałów. Obok nich dysertacja zawiera jeszcze *Streszczenie* w języku polskim i angielskim, *Spis treści*, *Wykaz skrótów i akronimów*, *Wstęp* oraz *Aneks*, w którym zamieszczone są 3 tabele. Przed nim w rozdziale 7. zatytułowanym „*Piśmiennictwo*” zamieszczono wykaz literatury obejmujący 181 pozycji z czego 20 stanowią cytowania polskojęzyczne. Literatura obejmuje prace badawcze i przeglądowe oraz podręczniki. Kilka cytowań odnosi się do stron internetowych i zapisów ustawowych związanych głównie z produkcją wyrobów tradycyjnych będących przedmiotem pracy. Mimo tej dużej liczby cytowań uważam, że wszystkie pozycje są dobrze dobrane i dominują prace opublikowane po 2000 roku. Zdarza się jednak, że sposób ich cytowania może budzić pewne zastrzeżenia. Najczęściej dotyczą one błędów w zapisie nazwisk [np. str. 11. jest *Czarnecka-Skubina i wsp. 2007*, a w odwołaniu poz. 27 – *Czarnecka-Skubina* (zapis w rozdziale prawidłowy)]. Podobny błąd zrobiono przy cytowaniu *Wajdziak, 2013*, które dokonano na tej samej stronie oraz dalszych (np. str. 19). W tym wypadku popełniono błąd w nazwisku zarówno cytując,

jak i podając pełne dane artykułu w wykazie literatury (poz. 167). Faktyczne nazwisko autora pracy brzmi Wajdzik. Ponadto, w tym ostatnim przypadku, w rozdziale 7. *Piśmiennictwo*, nie podano numeru stron, na których zamieszczono artykuł.

Rozdział 1. dotyczy przeglądu piśmiennictwa i obejmuje 4 podrozdziały. Jest napisany bardzo dobrze zarówno pod względem treści, jak i jego zakresu. Może być on dla czytających tę pracę cennym źródłem informacji o produktach tradycyjnych krajowych i zagranicznych. Opisy dotyczą metod ich produkcji, oceny jakości i autentyczności. Scharakteryzowano także związki decydujące o walorach tych produktów i metody ich oznaczania. Przy pisaniu tego rozdziału popełnione błędy, które dobrze byłoby skorygować przed podjęciem się opublikowania go w czasopiśmie, do czego bardzo zachęcam, gdyż ten opis jest bardzo ciekawy. Przykładem takich błędów jest np. twierdzenie, że białka roślinne pozbawione są lizyny (str. 14₄). Brak precyzji przy opisie umiejscowienia lipidów (str. 14/15). Zastosowano termin „*udziec wieprzowy*” (str. 16₇, 19₁₅, 47₁₁ itd.), choć powinno być *szynka*. Użyto „*kopyto*” (str. 18¹¹) zamiast „*raciczki*”. Posłużenie się tymi ostatnimi określeniami może być usprawiedliwione przy potraktowaniu tego działania, jako odwołanie się do języka potocznego, ale nie jest to najlepsze rozwiązanie szczególnie w wypadku pracy doktorskiej. Pragnę jeszcze zwrócić uwagę na użycie terminu „*mapa peptonowa*”. Powinno zastosować się określenie „*mapa peptydowa*” (str. 41¹¹, 41₁₅). Przy okazji polecałbym zapoznać się z pracami Montowska M. i wsp. *Food Chem.*, 2015, 187, 297-304 oraz Montowska M. i wsp. *Anal. Chem.* 2014, 86, 10257–10265, które prezentują najnowsze i bardzo ciekawe rozwiązania w tym zakresie. Sądzę, że niefortunnym jest zdanie „*Stwierdzono, że enzymy glikolityczne wpływające na zmienność jakości mięsa związane są z teksturą i barwą.*” (str. 32⁷⁻⁸). Prosiłbym Doktoranta o wyjaśnienie mi tego zapisu.

Cel i zakres pracy został przedstawiony w jej drugim rozdziale pod tym samym tytułem. Jest on napisany przejrzyście i nakreśla bardzo precyzyjnie całe dalsze postępowanie analityczne w tej pracy. Jedyna drobna uwaga, jaką mam odnośnie tej części pracy, dotyczy opisu polędwicy (str. 43₁). Zamiast słowa „*mięso*” proponowałbym użycie „*wyrób*”. W następnym rozdziale przedstawiono materiał i metody badawcze. Materiał stanowiły szynki surowo-dojrzewające zarówno produkcji krajowej (kumpiak podlaski), jak i produkowane we Włoszech, Hiszpanii i w Niemczech oraz polędwica o tym samym charakterze (surowo-dojrzewająca). Kumpiak i polędwicę produkowano w Polsce na użytek niniejszej pracy. Proces produkcji i dojrzewania pierwszego z ww. wyrobów trwał 30 tygodni, a polędwicy 18. W przypadku wyrobów pochodzących z zagranicy oceny ich dokonywano w oparciu o końcowy produkt, którego zakupu dokonywano w Polsce. Badania dokonywano zawsze na co najmniej 3 produktach. W rozdziale tym przedstawiono w formie

syntetycznej opis produktów zagranicznych oraz szczegółowo kumpiaka i polędwicy załączając ich fotografie na różnych etapach produkcji (łącznie 6 sztuk, przy czym pierwszą z nich zamieszczono w rozdziale 1). Na str. 51₁₃ wdarł się błąd do nazw rodzimych ras świń, z których surowiec może być idealnym źródłem do produkcji najlepszych gatunków wędlin. Najgorsze w tym jest to, że błąd wynika z błędnej informacji podanej na stronie internetowej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Prawdopodobnie powinna być podana nazwa „złotnicka pstra”, która w wyglądzie jest czarno-biała. Taki też termin użyto w pracy.

W rozdziale tym dość szczegółowo opisano postępowanie analityczne i przedstawiono najważniejsze informacje odnoszące się do zastosowanych metod badawczych oraz statystycznych wykorzystywanych do oceny uzyskanych rezultatów. Użyte metody i urządzenia są najnowszymi i wnoszą dużo nowości do badań realizowanych w ramach tej pracy. Brak mi jednak szczegółowszej informacji w jaki sposób wyznaczano zawartość węglowodanów i jaki związek służył za ich miarę. Byłbym wdzięczny za uzupełnienie tej informacji podczas obrony pracy.

W rozdziale 4. przedstawiono uzyskane wyniki i dokonano ich omówienia. Przy dokonywaniu opisu wyników Lek. wet. Piotr Karpiński posługuje się często rysunkami (łącznie 36; pierwszy z nich zamieszczono w rozdziale 3) i tabelami, które wspomagają tę analizę. Łącznie w pracy zawarto 21 tabel, przy czym pierwsze 3 i ostatnie 3 są umieszczone odpowiednio w rozdziałach poprzedzających i w *Aneksie*. Opisy zaczynają się od przedstawienia najważniejszych składników zawartych w analizowanych produktach ze szczególnym zwróceniem uwagi na składniki o charakterze odżywczym. W wyrobach tych stwierdza się dość dużą zawartość soli i węglowodanów, których w przypadku mięsa po tak długim okresie przechowywania byłoby albo niewiele (np. soli) lub by nie wykryto (węglowodany). W większości tabel opis pod nimi odnoszący się do istotności różnic między porównywanymi średnimi jest moim zdaniem błędny. Można bowiem porównywać zawartość np. białka na różnym etapie dojrzewania kumpiaka (tab. 4), polędwicy (tab. 9), czy w rynkowych produktach mięsnych (tab. 14) poprzez analizę średnich zamieszczonych w kolumnach, ponieważ porównywane próby z ww. produktów są zestawione pionowo, a oceniane składniki, w tym wspomniane białko, znajdują się w głowie tabeli. Taka sytuacja nie zachodzi jednak, gdy analizowane składniki i próby są ustawione odwrotnie (np. tab. 5 i inne).

Przy opisie wyników w tym rozdziale zdarzają się błędy związane z cytowaniem danych z tabel (np. str. 79₁₄ podano wartość 339,93 mg/100 g, a winno być: 363,54 mg/100 g, str. 82 – 8 błędnych przeniesień, str. 84³ - pomyłka w terminie badań – zamiast 21 tygodni, co podano w tekście, winno być 18). Błąd jeszcze innego typu dotyczy nazwy omawianego

związku. W tekście (str. 84₁₀) jest 2,3-dimetylodekan, a w tab. 11 podano 2,2-dimetylodekan. Zastanawia mnie brak jednostek przy wyrażaniu względnego udziału różnych grup związków wchodzących w skład metabolomu, co prezentowano na wielu rysunkach (np. 3, 4, 7 i 8 itd.). Podobna kwestia pojawia się przy przedstawianiu profilu związków lotnych i ich względnego udziału charakterystycznego dla określonego wyrobu o różnym stopniu dojrzałości. Moim zdaniem ich udział powinien być wyznaczony w procentach. Proszę o wyjaśnienie tej kwestii.

Opis danych zawartych w tab. 13 zmieniono w erracie pracy. Pomijając jednak te różne rodzaje błędów, o których wspomniałem powyżej, stwierdzam, że mimo wszystko opis wyników jest czytelny i przemyślany. Ciekawie została przeprowadzona analiza chemometryczna wyników określających wybrane cechy jakościowe ocenianych produktów. W przypadku tak dużej ilości danych było to w zasadzie najlepsze rozwiązanie, aczkolwiek wymagające roztropności w podejmowaniu końcowych wniosków. Przy analizie składowych głównych mamy bowiem do czynienia między innymi z korelacjami między składowymi głównymi a określonymi związkami. Pozwala ona na grupowanie związków jako określonych markerów względnie dokonywanie projekcji próbek analizowanych produktów na płaszczyzny wyznaczone przez wybrane składowe. Uzupełnieniem tej oceny była analiza skupień, która umożliwiła grupowanie produktów używając różnych związków jako swoistego rodzaju kryteriów.

Dyskusja wyników przedstawiona w rozdziale 5 podsumowuje dokonane obserwacje. Jest wnikliwa, ale bardzo trudna ze względu na liczbę oddziaływań określonych grup związków i relacji jakie występują między nimi i w stosunku do wyników oceny sensorycznej. Jej kontynuacją jest podsumowanie, które zawarte jest w tym samym rozdziale 6. „Podsumowanie i wnioski”.

Doktorant stwierdza w nim, że *„dla obu badanych mięsnych produktów dojrzewających (tj. dla szynki ... oraz dla polędwicy ...), dominującym związkiem lotnym w początkowym etapie dojrzewania był nonanal oraz 2,3-oktanodion, natomiast w końcowym etapie dojrzewania-heksanal*. Spostrzeżenie jest celne. Jednakże dla praktyka ciekawym byłoby informacja w jakim zakresie udział tego związku lub grupy określonych substancji może wskazywać na dojrzałość danego wyrobu, jeśli mielibyśmy na podstawie pomiaru jego udziału decydować o zakończeniu procesu dojrzewania. W przypadku kumpiaka podlaskiego na podstawie uzyskanych wyników i analizy PCA zaproponowano, że za produkt dojrzały można uznać taki, który dojrzewał 18 miesięcy. Udział nonanal wynosił w tym terminie 15,77% i wielkość ta nie była istotnie różna od stwierdzonej w 24 tygodniu. W przypadku 2,3-oktanodionu wartości zaprezentowane w tab. 6 dla wszystkich okresów badań nie były istotnie zróżnicowane, a dla heksanal uzyskano wynik podobny jak dla nonanal. Oceniając

połudwice obserwowano szybsze zmiany (jako dojrzałe uznano te, które dojrzewały 12 tygodni) ale podobne, choć udział 2,3-oktanodionu wyznaczony dla ww. terminu różnił się istotnie w stosunku do wielkości stwierdzonych na początku i w 3 tygodniu dojrzewania. Gdybyśmy te dane chcieli przenieść na produkty rynkowe (szynki zagraniczne) analizowane w niniejszej pracy, które powinny być dojrzałe, w większości przypadków udział ww. związku (2,3-oktanodionu) wynosił „0” (wyjątek szynka parmeńska, szwarcwaldzka i wspomniany kumpiak) (tab. 16). Poziom nonanal wahał się od 8,10 do 23,43%, a heksanal w zakresie 7,72÷60,84%. Wartości te były więc w niektórych wypadkach bardzo mocno zróżnicowane, a w innych zerowe. Wynika więc z tego jednoznacznie, że dla każdego produktu należy wyznaczyć osobno markery i przy nawet bardzo wysokich korelacjach określonych związków ze składowymi głównymi, czy między markerami metabolomu a wyróżnikami smakowo-zapachowymi analizy sensorycznej trudno wskazać na pojedyncze związki, na podstawie których można byłoby kontrolować proces dojrzewania i określać jakość wyrobów.

Analizując wnioski podsumowujące niniejszą pracę uważam, że wniosek 2 jest trochę uproszczonym i nie w pełni odpowiada uzyskanym rezultatom. Przy szynkach proces dojrzewania był dłuższym.

Domyślam się jaką informację chciał Doktorant przekazać we wniosku 3, ale należałoby go przeredagować. Sądzę, że taki sam los powinien spotkać wniosek 5. Stwierdza się w nim, że *„Dobrym markerem potwierdzającym autentyczność mięsnych wyrobów dojrzewających jest zawartość alfa i beta-pinenu, tj. związków charakterystycznych dla otoczenia, w którym dojrzewają produkty uznane jako tradycyjne i regionalne”*. Związki te nie występują w ogóle w szynce parmeńskiej (PON), Prosciutto Mantville (PMN), Crudo (CSN) i Serrano (SSN). W szynce Prosciutto (SPN) występuje tylko β -pinen, a oba te terpeny występują w kumpiaku (KN) i szynce szwarcwaldzkiej (SN). Czy mogą być potwierdzeniem autentyczności? Przy omawianiu metabolomu połędwicy nie wspomina się β -pinenu (tab. 11). Moim zdaniem udział zerowy związku w metabolomie nie może stanowić jedyne kryterium autentyczności. Powinny być znalezione jeszcze inne związki, które stwierdza się w określonym zakresie i korelują one z wyróżnikami oceny organoleptycznej wyrobu.

Pytań, które rodzą się przy analizie wyników tej pracy jest jeszcze wiele, bo jej zakres jest bardzo obszerny. Uważam jednak, że jest ona bardzo ciekawym i wartościowym dziełem. Otwiera ogromne pole do poszukiwania wskaźników jakości tego typu wyrobów. Stanowią one szczególną grupę produktów. Ich konsumenci chcą mieć pewność, że oferowany produkt odpowiada określonym standardom, które gwarantują najwyższą jakość. Praca ta ze względu swą tematykę może być uznana za pionierską.

Na koniec dodam jeszcze, że wg mnie tytuł tej pracy nie w pełni odzwierciedla jej treści. Analizowanym materiałem był nie tylko kumpiak podlaski, ale także polędwica i zagraniczne wyroby rynkowe.

Podsumowanie

Pragnę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji praca doktorska Lek. wet. Piotra Karpińskiego jest ciekawą zarówno pod względem naukowym, jak i praktycznym. Uzyskane wyniki wskazują jakimi metodami można oceniać jakość wyrobów tradycyjnych lub regionalnych i sugeruje metody, które pozwolą na identyfikację markerów ich jakości i autentyczności, mimo że zadanie to jest bardzo złożone.

Zwracam uwagę na te walory pracy pomimo tego, że powyżej wskazałem na niektóre jej usterki. Praca niesie ładunek nowości dając perspektywę postępu w nauce i w praktyce.

Powyższe skłania mnie do sformułowania stwierdzenia, że przedstawiona do recenzji rozprawa Lek. wet. Piotra Karpińskiego odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim, w tym art. 13 ust. 1 ustawy z dn. 14 marca 2003 roku "O stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki" (Dz.U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i wnoszę o jej dopuszczenie do publicznej obrony.



prof. dr hab. Edward Pospiech