

Łódź, 14.11.2016 r.

dr hab. inż. Dorota Żyżelewicz
Instytut Technologii i Analizy Żywności
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr inż. Bartosza Kruszewskiego

pt.: „Ocena zmian kompozycji wybranych składników bioaktywnych w masach kakaowych podczas procesu produkcji czekolady gorzkiej”

Pracę wykonano pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Mieczysława W. Obiedzińskiego w Zakładzie Oceny Jakości Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW) w Warszawie. Rozprawa została przygotowana w 2016 roku.

Recenzję przygotowano na podstawie Uchwały Rady Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie z dnia 20 września 2016 roku, w imieniu której o sporządzenie recenzji wystąpił prof. dr hab. Mirosław Słowiński, Dziekan Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie pismem o sygnaturze WNoŻ-V-2/104/2016 z dnia 4 października 2016 roku.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska mgr inż. Bartosza Kruszewskiego liczy 220 stron, w tym 20 stron spisu literatury, zawierającego 262 pozycje. Praca zawiera 46 rysunków i 46 tabel. Struktura rozprawy jest typowa dla prac eksperymentalnych, z zachowaną właściwą kolejnością rozdziałów i wzajemnymi ich proporcjami. Układ przedstawionego opracowania obejmuje krótkie streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp z przeglądem literatury (20% maszynopisu), cel i zakres pracy, materiał i metodykę badań (ok. 7%), wyniki i dyskusję (ok. 53%), stwierdzenia i wnioski oraz wspomniany wyżej spis literatury.

Ocena merytoryczna

Przedstawiona do oceny praca doktorska dotyczy określenia i oceny zmian składu jakościowo-ilościowego wybranych składników bioaktywnych oraz niektórych cech jakościowych, zachodzących w czasie procesu produkcyjnego czekolady gorzkiej w materiale badawczym pobranym bezpośrednio z linii technologicznych trzech różnych producentów czekolad, których fabryki znajdują się na obszarze województwa mazowieckiego. Producenci

ci posiadają różne parki maszynowe, zaopatrują się w surowce u różnych dostawców, stosują różną technologię, receptury i parametry procesu otrzymywania czekolad. Analizie poddano surowce i półprodukty (ziarna kakaowe pochodzące z Ekwadoru i Dominikany, miazgi kakaowe, proszki kakaowe, tłuszcze kakaowe, emulgatory, sacharoza), próby materiału pobrane z różnych punktów linii technologicznych producentów (śruty kakaowe, masy kakaowe po zagniataniu i mieszaniu, prószki, masy kakaowe przed konszowaniem, po suchym i mokrym konszowaniu, przed i po temperowaniu) oraz wyroby gotowe, tj. tabliczki czekolady.

Czekolada to najszlachetniejszy wyrób spośród wyrobów cukierniczych. Ceniona jest nie tylko za swe unikalne walory smakowe, ale również ze względu na zawartość związków biologicznie aktywnych, takich jak polifenole, tokoferole, fitosterole, aminy biogenne, co zawdzięcza ziarnu kakaowemu i produktom jego przerobu. Jednakże, aby z ziarna kakaowego można było otrzymać czekoladę, musi ono przejść skomplikowany proces technologiczny. Niezwykle istotnym etapem jest fermentacja i suszenie ziarna, odbywające się u producentów ziarna. Procesy te w znacznej mierze decydują o właściwościach sensorycznych i składzie chemicznym wyrobu gotowego – czekolady. Kolejnym etapem jest prażenie ziarna, przeprowadzane w zakładach produkujących czekoladę. Ma ono na celu uzyskanie z przefermentowanego i wysuszonego surowego ziarna, czysty mikrobiologicznie surowiec, o charakterystycznym aromacie i smaku oraz odpowiedniej kruchości. Prażeniu może być poddawana również śruta lub miazga kakaowa. Wyprażone ziarno kakaowe jest śrutowane, a następnie zgniatane/rozdrabniane na miazgę, z której tłoczony jest tłuszcz kakaowy zwany masłem kakaowym. Dopiero miazga kakaowa w połączeniu z innymi składnikami mas czekoladowych podlega właściwym procesom związanym z produkcją czekolady, tj. procesom mieszania, walcowania, konszowania, temperowania i formowania. W każdym etapie procesu technologicznego, począwszy od fermentacji ziarna kakaowego może następować ubytek substancji odżywczych i biologicznie aktywnych na skutek wielokierunkowych i skomplikowanych przemian o różnym charakterze. Mogą także formować się związki o charakterze antyżywniowym, takie jak akrylamid, furan, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (wwa). Literatura przedmiotu w tym zakresie jest wciąż zbyt uboga. Nie wyjaśniono dotychczas mechanizmów wielu zachodzących reakcji i przemian. Wybór tematu badawczego przez mgr inż. Bartosza Kruszewskiego można zatem uznać za trafny i aktualny.

W części opracowania poświęconej przeglądowi piśmiennictwa przedstawiono charakterystykę podstawowych surowców stosowanych w produkcji czekolady. Autor zawarł tu informacje o pochodzeniu, uprawie, charakterystyce botanicznej kakaowców (*Theobroma cacao* L.) i ziarna kakaowego, jego odmianach, opisał produkty przerobu ziarna kakaowego, takie jak miazga, tłuszcz, proszek kakaowy oraz alternatywy tłuszczu kakaowego, wanilinę i emulgatory takie jak lecytyna i polirycynooleinian poliglicerolu (PGPR). W kolejnym

rozdziale opisano procesy technologiczne w produkcji czekolady, począwszy od fermentacji ziarna kakaowego poprzez jego czyszczenie, sortowanie, prażenie, śrutowanie, zgniatanie/miażdżenie, tłoczenie tłuszczu, otrzymywanie proszku kakaowego po zagniatanie/mieszanie mas kakaowych, ich walcowanie, konszowanie i temperowanie. W rozdziale trzecim przedstawiono informacje o wybranych substancjach bioaktywnych w czekoladach, tj. sterolach, tokoferolach, polifenolach, substancjach mineralnych, metalach ciężkich oraz akrylamidzie i furanie. Osobny rozdział poświęcono barwie czekolady jako cesze mającej duże znaczenie w postrzeganiu tego produktu przez konsumentów.

Przegląd piśmiennictwa to kompendium aktualnej wiedzy w zakresie podjętego tematu badań, które stanowi dobre wprowadzenie w problematykę rozprawy doktorskiej mgr inż. Bartosza Kruszewskiego. Autor jednoznacznie wskazał potrzebę przeanalizowania zmian składników biologicznie aktywnych w czasie przemysłowego otrzymywania czekolad gorzkich oraz poznania czynników wpływających na wysoką retencję najcenniejszych spośród nich z punktu widzenia żywieniowego. Dokonany przegląd literatury pozwolił na sformułowanie celu badań, postawienie hipotezy badawczej oraz zdefiniowanie zakresu prac. Powyższe elementy rozprawy doktorskiej zostały w mojej opinii poprawnie określone.

Materiał badawczy, opis procesu technologicznego produkcji czekolad w firmach X, Y, Z oraz opis procedur analitycznych zaprezentowano w sposób szczegółowy i systematyczny. Metodologię analityczną przedstawiono w sposób pozwalający na powtórzenie badań. Spośród cech jakościowych oznaczono procentową zawartość łuski w ziarnie kakaowym, zawartość suchej masy, procentową zawartość tłuszczu, aktywność wody oraz barwę metodą odbiciową w skali CIE $L^*a^*b^*$. Bardzo istotnymi wyróżnikami jakości mas czekoladowych są lepkość i granica płynięcia. Parametry te są wypadkową składu recepturowego, zawartości wody i emulgatorów w masie, właściwie przeprowadzonych kolejnych procesów technologicznych i innych czynników. Tego oznaczenia w ocenianej pracy mi brakuje, choć nie umniejsza to merytorycznej wartości całej dysertacji. W pracy wykorzystano nowoczesne metody instrumentalne, takie jak chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (oznaczenie tokoferoli, steroli, akrylamidu, furanu – metoda HS-SPME GC/MS), emisyjna spektrometria atomowa (składniki mineralne, metale ciężkie). Do oznaczenia związków fenolowych i ich frakcji wykorzystano standardowe, często wykorzystywane choć nieselektywne metody spektrofotometryczne. W mojej opinii ciekawe byłoby dokładne poznanie składu polifenoli w badanych próbach materiału badawczego. Ziarno kakaowe i czekolada to bogate źródło tych związków. Podobnie jak w przypadku tokoferoli i tokotrienoli metody chromatograficzne dałyby dokładniejsze wyniki w tym zakresie. Jednakże rezultaty oznaczeń uzyskane w wyniku zastosowania przez doktoranta metod spektrofotometrycznych także dobrze charakteryzują

badany materiał. Wszystkie zaprezentowane w rozprawie doktorskiej wyniki badań zostały właściwie zanalizowane pod względem statystycznym.

Najobszerniejszy rozdział recenzowanego opracowania stanowią wyniki i dyskusja. Wykonane w ramach pracy doktorskiej badania potwierdzają różną zawartość i aktywność wody w różnych surowcach pochodzenia kakaowego oraz w próbach materiału badawczego pobranych w różnych etapach przemysłowego procesu otrzymywania czekolad gorzkich różnych producentów województwa mazowieckiego. Kluczowe ze względu na obniżanie zawartości wody były procesy prażenia ziarna i konszowania mas czekoladowych. Praca potwierdza także, że w czasie prażenia ziarna następuje migracja części tłuszczu z jądra ziarna do łuski a także brak wpływu procesu śrutowania na ten parametr.

Autor zaobserwował, że na barwę gotowych czekolad ma wpływ wiele czynników począwszy od surowca, jakim jest ziarno kakaowe, miazga kakaowa czy proszek kakaowy, poszczególne procesy produkcyjne i zastosowane urządzenia. W przypadku czekolad otrzymywanych wyjściowo z miazg kakaowych, proszków kakaowych, sacharozy i tłuszczu kakaowego (w przypadku firmy X) największe znaczenie w kształtowaniu barwy miały procesy walcowania i temperowania mas czekoladowych, natomiast w przypadku czekolad otrzymywanych wg zbliżonej technologii jak w firmie Z (począwszy od ziarna kakaowego) największe modyfikacje barwy mogą następować w czasie prażenia i konszowania.

Autor dowiódł, że każdy z procesów technologicznych w produkcji czekolady powodował straty steroli i tokoferoli, niezależnie od zastosowanej linii produkcyjnej. Mniejsze ubytki ww. substancji zaobserwowano w czekoladach uzyskanych z surowców o mniejszym stopniu przetworzenia.

W czasie procesów technologicznych następowała również redukcja stężenia polifenoli. Skład jakościowy i ilościowy tych związków zależny był jednak od zastosowanych surowców pochodzenia kakaowego, wykorzystanych maszyn i urządzeń oraz parametrów procesów przetwórczych. Czynniki te wpływały w sposób złożony na ostateczną zawartość polifenoli i udział poszczególnych frakcji tych związków w wyrobach gotowych firm X, Y i Z.

Analiza stężenia akrylamidu w badanych próbach pokazała, że czekolady nie są liczącym się źródłem tego związku w diecie. Największe jego stężenie (108 ng/g) oznaczono w czekoladach wyprodukowanych w firmie Y. Analiza wyników oznaczenia akrylamidu w czekoladach otrzymanych na tej samej linii produkcyjnej (firma Z), lecz różniących się zastosowanym ziarnem kakaowym wskazują, że rodzaj ziarna ma znaczenie z punktu widzenia formowania się akrylamidu w czasie produkcji czekolady. W analizowanym materiale badawczym wyższe stężenie tego związku oznaczono w czekoladach wyprodukowanych z ziarna pochodzącego z Ekwadoru.

Ponadto wykazano, że badane w ramach pracy czekolady charakteryzowały się bardzo niskimi stężeniami furanu oraz niskimi stężeniami metali ciężkich. Stanowiły jednakże dobre źródło substancji mineralnych: związków magnezu, potasu, żelaza i fosforu. Zaobserwowano, że proces alkalizacji surowców kakaowych przyczyniał się do wzrostu zawartości sodu w gotowych czekoladach.

Stwierdzenia i wnioski są sformułowane poprawnie i wynikają jednoznacznie z analizy uzyskanych wyników badań. Warto w tym miejscu dodać, że wyniki badań zostały starannie opracowane oraz właściwie i szeroko zinterpretowane z uwzględnieniem analizy statystycznej.

Największym osiągnięciem doktoranta w mojej opinii jest dowiedzenie, że w kształtowaniu zawartości i profilu związków biologicznie aktywnych w czekoladach gorzkich otrzymywanych przemysłowo istotne są zarówno czynniki surowcowe, ze wskazaniem na jak najmniejsze ich przetworzenie jak i zastosowane maszyny i urządzenia oraz parametry procesu technologicznego.

Autor nie ustrzegł się niedociągnięć, które wymieniam poniżej, nie wpływających jednakże na merytoryczną wartość pracy.

Odmiany roślin, w tym drzew kakaowych, przyjęto pisać kursywą, czego doktorant konsekwentnie w całym tekście nie czyni (np. str. 13, 44, 102, 120, 122).

Kakao (proszek kakaowy) jest produktem przerobu ziarna kakaowego. Mgr inż. Bartosz Kruszewski zdaje się często stosować określenie „kakao” w znaczeniu „ziarno kakaowe”. Jest to potoczne i znacznie utrudnia merytoryczne śledzenie tekstu. Z uwagi na to, że część przytaczanych badań była wykonywana w materiale badawczym jakim jest ziarno a część w proszku kakaowym, wymaga to sięgania po materiał źródłowy.

Doktorant na str. 25 podaje średnie stężenia kofeiny i teobrominy w ziarnie kakaowym na poziomie odpowiednio 2 i 1-2%. Teobromina jest dominującą metyloksantyną w ziarnie kakaowym. Eksperymentalne dane opisane w literaturze podają, że teobromina występuje w ww. surowcu w stężeniu nawet do 3,7% masy ziarna, natomiast stężenie kofeiny jest znacznie niższe i kształtuje się w zakresie do 0,2%.

Intencja Autora opracowania do użycia zdrobnienia „cząsteczki” w kontekście cząstek o małych rozmiarach spowodowała, że wkradł się błąd merytoryczny. Mamy zatem nie cząsteczki (molekuły) a cząstki kakao, miazgi, cukru, masy (np. str. 22, 28, 29, 74, 90, 134).

Kolejną sprawą jest konieczność konsekwentnego posługiwania się identyczną w całej rozprawie i prawidłową nomenklaturą, tj. np. triacyloglicerole, diacyloglicerole, monoacyloglicerole (zamiast triglicerydy – str. 48, 97, diglicerydy – str. 17, monoglicerydy – str. 17), barwa (zamiast kolor – wielokrotnie, np. str. 15, 51-53, 82, 86), ditlenek węgla (zamiast dwutlenek węgla – str. 26), akrylamid (zamiast akryloamid – np. str. 47-48), konsza (zamiast konszownik – str. 74, 110, 139, 164), zamiast „kruszenie” ziaren (np. 59, 74, 105, 113) przyjęło

się w przypadku ziarna kakaowego stosować określenie „śrutowanie”, a zamiast „łupina” - „łuska” (np. str. 33, 105).

Doktorant niefortunnie użył słowa „redukcja” (odnosi się do reakcji chemicznej) zamiast redukcja zawartości lub stężenia (s. 30, 75, 105).

Na str. 26 w opisie II etapu fermentacji ziarna kakaowego w zdaniu „Następuje obumieranie ziaren, utlenianie i kondensacja polihydroksyfenoli zawartych w jądrze kawowym” nastąpiło przejęzyczenie. Oczywiście chodziło o jądro kakaowe.

Podobnie jest na str. 69 (pkt. 2.10.2. Chromatograficzne oznaczenie furanu). W zdaniu „Analizę ilościową akrylamidu przeprowadzono ...”. Z pewnością w tym przypadku chodziło o furan.

Wielokrotnie mgr inż. Bartosz Kruszewski myli procenty z punktami procentowymi (np. str. 71, 75, 78, 79). Na przykład w zdaniu „Zawartość łuski w ziarnie z Dominikany jest większa o ponad 3...” punkty procentowe a nie o 3%.

Na str. 77 Autor pisze, że w produkcji czekolady głównym nośnikiem tłuszczu jest miazga i/lub wyekstrahowany tłuszcz kakaowy. Do produkcji czekolady stosuje się tłuszcz kakaowy tłoczony/wyciskany. Dozwolony jest tylko niewielki dodatek tłuszczu ekstrahowanego.

W badaniach przytaczanych na str. 128 (261 pozycja literaturowa) stosowano powietrze prażące o wilgotności względnej 5 i 0,3%, a nie 5 i 3%.

W mojej opinii w metodyce badań powinny znaleźć się dwie metody oznaczenia suchej masy, poprzez pośrednie oznaczenie wilgotności badanego materiału. We wszystkich surowcach i masach kakaowych zamieszczona metoda jest jak najbardziej właściwa. W przypadku ziarna kakaowego zastosowanie znajduje metoda polegająca na suszeniu rozdrobnionego ziarna kakaowego w suszarce, w temperaturze $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 16h. (PN-98/A-76101. Ziarno kakaowe. Pobieranie próbek i metody badań). Z doświadczenia własnego wiem, że wyniki oznaczenia wilgotności ziarna kakaowego z zastosowaniem metody opisanej w przytoczonej przeze mnie wyżej normie oraz tej stosowanej przez mgr Kruszewskiego różnią się statystycznie istotnie.


W pracy znajdują się nieliczne usterki natury edytorskiej, literówki i błędy ortograficzne. Doktorant nie przeprowadził korekty związanej z likwidacją przyimków na końcu wersu. Jednostki przy liczbach powinny znajdować się w tej samej linii co liczba. W tekście znajdują się skróty, które nie są nigdzie wyjaśnione. Niektóre z nich są oczywiste, niektóre szybko w trakcie lektury tekstu można odszyfrować. Można było zastosować spis skrótów i oznaczeń na osobnej stronie w pracy (na początku lub jej końcu). Pojawienie się w maszynopisie tabeli, rysunku powinno być poprzedzone cytowaniem, co nie zawsze jest przestrzegane przez Autora. Mimo tych drobnych niedociągnięć rozprawę czyta się dobrze. Łatwo podąża się za tokiem myślenia Autora. Przedstawione przez Recenzenta uwagi mają charakter dyskusyjny i nie

zmieniają mojej wysokiej oceny wartości merytorycznej pracy. Wyjaśnienia wymagają jedynie zagadnienia zawarte w poniższych pytaniach.

1. Na str. 13 Autor wspomina, że oprócz tradycyjnej klasyfikacji odmian drzewa kakaowego istnieje nowa klasyfikacja, przewidująca 10 odmian, która lepiej odzwierciedla genetyczne zróżnicowanie kakaowca. Czytelnik oczekuje w tym miejscu przytoczenia ww. klasyfikacji. Czy mógłby Pan ją podać?
2. Czy podobnie jak w przypadku chromatograficznego oznaczenia furanu (s. 70) zostały przeprowadzone walidacje metod chromatograficznego oznaczenia tokoferoli i steroli oraz akrylamidu (precyzja odzysku, granica wykrywalności i oznaczalności)?
3. Co Autor rozumie pod pojęciem „większa łuska”, stwierdzając, że „ziarno z Azji zazwyczaj ma większą łuskę” (str. 71). Czy chodzi o jej masę (udział procentowy łuski w masie ziarna), grubość, czy rozwinięcie powierzchni?
4. Co może być przyczyną wyższego stężenia steroli w czekoladzie z firmy Z w porównaniu do czekolad z firm X i Y?

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca stanowi nowy i oryginalny wkład do wiedzy nt. zmian składu jakościowego i ilościowego wybranych składników bioaktywnych, jakie mogą zachodzić w gorzkich czekoladach w czasie przemysłowego ich otrzymywania z zastosowaniem surowców kakaowych o różnym stopniu przetworzenia oraz różnej technologii i parametrów procesu produkcyjnego. Otrzymane wyniki badań zawierają zarówno aspekt technologiczny jak i poznawczy. Z tego względu opisane badania uważam za interesujące, ważne i praktyczne. Praca charakteryzuje się właściwym układem, strukturą oraz zawiera wyniki potwierdzające przyjętą hipotezę badawczą. Prace eksperymentalne zostały dobrze i logicznie zaplanowane przez mgr inż. Bartosza Kruszewskiego, a wyniki zostały rzetelnie opracowane i przedyskutowane z wyciągnięciem właściwych wniosków.

Stwierdzam, że praca mgr inż. Bartosza Kruszewskiego pt. „Ocena zmian kompozycji wybranych składników bioaktywnych w masach kakaowych podczas procesu produkcji czekolady gorzkiej” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim na stopień naukowy doktora zgodnie z obowiązującą Ustawą o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (tj. Dz. U. z 2016 roku poz. 882) i stawiam wniosek o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dorota Żyżelewicz