

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Agnieszki Pluta-Kubicy pt. „Powstawanie i charakterystyka związków smakowo-zapachowych sera ementalskiego produkowanego w Polsce”,
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Jacka Domagały oraz promotora pomocniczego
dr inż. Marka Sady w Katedrze Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych,
Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

1. Wprowadzenie

Aromat, na który składają się odczucia zapachu i smaku, jest jednym z głównych atrybutów ocenianych przez konsumenta w czasie dokonywania akceptacji i wyboru produktu spożywczego, z tego względu jest przedmiotem badań nie tylko technologów żywności, ale również neuropsychologów czy też psychologów. Badania nad związkami zapachowymi i smakowymi mleka oraz produktów mlecznych są interesujące zarówno dla hodowców, którzy poprzez dobór odpowiednich ras zwierząt, sposób karmienia czy też odpowiednie warunki hodowlane mogą wpływać na jakość surowca do produkcji. Mogą również służyć technologom, którzy chcąc zaspokoić wymagania konsumentów, będą tworzyć produkty mleczne o wysokiej jakości kontrolowanej w trakcie wytwarzania czy też przechowywania. Z tego względu otrzymanie, a następnie zachowanie optymalnego aromatu produktów mlecznych jest w interesie zarówno konsumentów jak i tworzących ich technologów.

W skład aromatu produktów mlecznych wchodzi ponad 600 związków lotnych powstających w wyniku szeregu reakcji chemicznych i biochemicznych między innymi takich składników jak białka, tłuszcze i węglowodany. Rezultatem tych przemian są nowo tworzone związki należące do grup wolnych kwasów tłuszczowych, estrów, ketonów, aldehydów, alkoholi, terpenów czy laktonów. Ich drogi powstawania związane są z działaniem rodzimych enzymów znajdujących się w mleku, dodawanych do mleka enzymów koagulujących, enzymów pochodzenia mikrobiologicznego jak również z zastosowaniem pewnych zabiegów technologicznych, np. solankowanie, dojrzewanie, parzenie czy wędzenie.

W literaturze dostępnych jest szereg publikacji opisujących wpływ zabiegów technologicznych na kształtowanie aromatu serów wytwarzanych w takich krajach Europejskich jak Francja, Hiszpania, Niemcy, Holandia czy Włochy. Niewiele jest jednak prac naukowych

dotyczących polskich produktów mlecznych. Z tego względu uważam, że zadanie, które postawiła przed sobą Doktorantka, czyli charakterystyka związków kształtujących aromat ementalera pochodzącego z Polski jak również wpływ warunków technologicznych na ich powstawanie jest przydatne zarówno dla polskiego przemysłu mleczarskiego jak i interesujące od strony naukowej.

2. Ogólna charakterystyka ocenianej pracy:

Przedstawiona do oceny praca obejmuje 171 stron maszynopisu. Spis literatury zawiera 132 pozycje, 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 9 zasadniczych rozdziałów, które zakończone są jednostronicowym streszczeniem. Forma pracy jest przejrzysta a umieszczony na początku opracowania spis treści ułatwia czytelnikowi orientację i szybkie dotarcie do zagadnień zawartych w poszczególnych rozdziałach. Proporcje poszczególnych rozdziałów są racjonalne. Wstęp i przegląd literatury zajmuje 35 stron. Po przedstawieniu hipotezy badawczej i wynikającego z niej celu pracy Autorka opisuje na 20 stronach materiał badawczy i zastosowane w pracy metody. Bardzo obszerne i wnikliwe jest, liczące 98 stron, omówienie uzyskanych w trakcie pracy wyników oraz ich dyskusja, na podstawie których Doktorantka sformułowała 10 szczegółowych wniosków oraz 2 dodatkowe wnioski praktyczne.

Rozprawa jest zredagowana starannie, napisana poprawnym językiem, wskazuje na dobrą orientację Doktorantki w obszarze poruszanych zagadnień. Moja jedyna w tym przypadku uwaga dotyczy sposobu cytowania materiałów źródłowych, który jest niejednorodny w całej pracy. Mianowicie w niektórych przypadkach Doktorantka wymienia nazwiska obu autorów, innym razem podając nazwisko tylko pierwszego autora z dopiskiem i in., mimo, że publikacja ma również tylko dwóch autorów (np. pozycja literaturowa nr 77).

3. Ocena merytoryczna pracy

Zawarty we wstępie obszerny przegląd piśmiennictwa wyczerpująco wprowadza w problematykę badawczą. W tej części pracy Autorka przedstawia ogólną charakterystykę sera ementalskiego, przemiany zachodzące podczas produkcji tego typu serów oraz szczegółowo opisuje związki smakowe i zapachowe zidentyfikowane w serach ementalskich pochodzących z innych krajów. W przedstawionym opisie za cenne uważam odniesienie się Doktorantki do kluczowych związków zapachowych, które wyznaczone za pomocą chromatografii gazowej i olfaktometrii spośród setek występujących związków lotnych posiadają udokumentowany wpływ na kształtowanie aromatu serów ementalskich.

W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Autorka przedstawia cel pracy, który polega na zweryfikowaniu hipotezy badawczej zakładającej możliwość odróżnienia na podstawie analizy związków smakowo-zapachowych sera ementalskiego produkcji polskiej od ementalerów produkowanych w Szwajcarii i Francji. Cel ten realizuje poprzez przeprowadzenie trzech zadań badawczych, mianowicie i) oznaczeniu profilu związków lotnych na wybranych etapach produkcji, ii) wskazaniu podobieństw i różnic w profilu związków lotnych oraz zawartości składników smakowo-zapachowych pomiędzy serem polskim, szwajcarskim i francuskim oraz iii) wskazaniu związków zapachowych charakterystycznych dla ementalera polskiego pochodzenia. Dodatkowo, co uważam za szczególnie cenne, Doktorantka stawia sobie cel praktyczny, którym było określenie wpływu zastosowanych parametrów procesu w poszczególnych etapach produkcji na kształtowanie się aromatu sera ementalskiego produkowanego w polskich wytwórniach, co z pewnością będzie pomocne do przygotowania zaleceń mających na celu ewentualną poprawę tegoż aromatu. Założony w pracy cel badawczy Doktorantka realizuje w oparciu o logicznie zaplanowany cykl doświadczeń na dobrze dobranym i opisanym materiale, obejmującym próbki mleka i sera pobierane na wybranych etapach produkcji Ementalera z Zakopanego oraz trzy rodzaje dojrziałych serów ementalskich pochodzących z Polski, Szwajcarii i Francji. Do osiągnięcia założonego celu pracy wykorzystuje warsztat badawczy, obejmujący klasyczne i nowoczesne techniki analityczne oraz ocenę sensoryczną, a uzyskiwane wyniki poddaje analizie statystycznej umożliwiającej wyznaczenie tendencji wynikających z wpływu poszczególnych czynników jak i interakcji zachodzących pomiędzy określonymi cechami. Dobrze byłoby jednak, gdyby w części metodycznej znalazła się informacja o wykorzystywanych w doświadczeniach odczynnikach i substancjach wzorcowych: ich pochodzenie oraz stopień czystości chemicznej, tak jak to ma miejsce w większości publikacji naukowych. Szkoda też, że Autorka nie przedstawiła schematu doświadczenia – ułatwiłoby ono znacznie czytanie pracy.

Wyniki badań zebrane w 22 tabelach oraz 26 rysunkach zostały interesująco opisane i umiejętnie oraz bardzo obszernie przedyskutowane. Wśród wielu wątków badawczych poruszanych przez Autorkę w zakresie charakterystyki związków smakowo-zapachowych polskiego sera typu ementalskiego, moim zdaniem, na szczególną uwagę zasługuje cykl analiz mających na celu określenie i próbę wyjaśnienia wpływu kolejnych etapów procesu technologicznego na profil związków kształtujących zapach i smak badanego sera. Wynika z niego, że warunki procesu panujące na etapie ciepłej dojrzewalności decydują o wytworzeniu kluczowych związków zapachowych. W dyskusji nad zmianami profilu związków lotnych należy jednak pamiętać, że brak obecności związku w próbce (na chromatogramie) może również wynikać z niedoskonałości (słabej selektywności, niskiej czułości) zastosowanej metody

analitycznej np. identyfikacja furaneolu za pomocą włókna SPME przy stężeniach poniżej 1 mg/kg najczęściej wymaga dodatkowego etapu derywatywacji.

Dodatkowym osiągnięciem naukowym pracy jest także oznaczenie na poszczególnych etapach produkcji zawartości lotnych wolnych kwasów tłuszczowych, wolnych aminokwasów oraz amin biogennych, które odgrywają szczególnie istotną rolę w kształtowaniu zarówno smaku jak i zapachu długo dojrzewających serów twardych, a w przypadku serów typu ementalskiego dodatkowo stosunek kwasu propionowego do octowego jest wyznacznikiem dojrzałości i jakości.

W kolejnym etapie badań Doktorantka poprzez powiązanie oznaczeń analitycznych związków smakowych i zapachowych z analizą sensoryczną sera stwierdza, że wydłużenie okresu dojrzewania z 3 do 6 miesięcy pomimo, że częściowo wpływa na profil związków smakowo-zapachowych, nie powoduje jednak istotnej różnicy w ogólnej ocenie sensorycznej, co jest niewątpliwym osiągnięciem praktycznym pracy.

Interesujące są także wyniki badań dotyczące charakterystyki serów ementalskich różnego pochodzenia, gdzie Doktorantka stosując analizę składowych głównych (PCA) wyników oznaczenia substancji smakowo-zapachowych jak i oceny organoleptycznej, wykazała możliwość odróżnienia sera ementalskiego produkcji polskiej od serów produkowanych w Szwajcarii i Francji. W części tej Autorka poświęciła wiele uwagi szlakom metabolicznym oznaczanych związków, niewiele jest jednak informacji analizujących uzyskane wykresy PCA, w opisie których, pomogłoby moim zdaniem, zamieszczenie wszystkich przypadków (prób sera) na wykresie jak również projekcja czynników na składowe główne (po odpowiedniej ich redukcji), tak jak to miało miejsce przy ilościowej analizie opisowej (6.3.8, rys. 15) oraz ocenie organoleptycznej (6.3.9, rys. 18).

Wyniki badań i ich obszerna dyskusja podsumowane są dziesięcioma wnioskami będącymi odpowiedzią na postawione w celu pracy zadania badawcze. W oparciu o te szczegółowe wnioski Autorka formułuje dwa wnioski końcowe o charakterze praktycznym, wskazujące, że wystarczającym ale jednocześnie koniecznym czasem prowadzenia dojrzewania sera ementalskiego produkowanego w Polsce jest okres 3 miesięcy.

4. Uwagi dyskusyjne i wymagające wyjaśnienia:

Praca napisana jest w sposób przejrzysty, dobrym językiem i starannie pod względem edytorskim. Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na pewne zagadnienia, które pominięto, które wymagają rozwinięcia, lub bardziej szczegółowego wyjaśnienia.

- W uzasadnieniu tematu badań (str. 36) Autorka używa sformułowania: „Brakuje natomiast (...) informacji na temat związków kształtujących jego aromat i smak.” Proszę o wyjaśnienie, co miała Pani na myśli łącząc określenie aromat i smak.

- W części metodycznej pominięto pewne szczegóły, które byłyby przydatne do wykorzystania stosowanych metod w innych tego typu analizach. Byłabym wdzięczna, gdyby Doktorantka zechciała uzupełnić te informacje:
 - Ile wynosiła wielkość naważki w przypadku analizy SPME
 - Czy w przypadku analizy SPME/GC/MS desorpcja związków prowadzona była w trybie podziału strumienia czy nie (split czy splitless)?
 - Przez jak długi czas związki były desorbowane z włókna w porcie nastrzykowym i czy prowadzono analizę ślepą włókna (zastosowana stosunkowo niska temp. dozownika sugeruje, że nie wszystkie związki mogły zostać zdesorbowane z włókna (car/pdms/dvb), rekomendowana temperatura desorpcji dla tego włókna to 230-270°C)?
 - Czy próbka była mieszana podczas ekstrakcji na włóknie SPME?
 - Ile wynosiło stężenie standardu wewnętrznego (kwasu krotonowego) po dodaniu do próby podczas oznaczania zawartości lotnych wolnych kwasów tłuszczowych?
 - Czy powierzchnie pików związków lotnych były integrowane dla wszystkich (TIC) czy dla wybranych jonów?
 - W jaki sposób były przygotowane próbki poddane analizie sensorycznej: wielkość (masa) próbki, rodzaj opakowania (szklane, plastikowe), czy próbki były podgrzewane czy w temp pokojowej?
- W jaki sposób można wyjaśnić brak metionalu w serach pochodzących ze Szwajcarii i Francji?
- Myślę, że w tabeli nr 5 znacznie bardziej przydatne byłoby umieszczenie indeksów retencji, zamiast czasów.

5. Podsumowanie

Podsumowując swoją ocenę stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Agnieszki Pluta-Kubicy pt. „Powstawanie i charakterystyka związków smakowo-zapachowych sera ementalskiego produkowanego w Polsce”, łączy aspekty naukowe z praktycznymi stanowiąc istotny wkład w dziedzinę nauk o żywności i żywieniu. Wymienione przeze mnie pytania i uwagi mają charakter dyskusyjny, i w żaden sposób nie umniejszają wartości naukowej i aplikacyjnej pracy. Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Małgorzata Majcher

dr hab. Małgorzata Majcher