



**Politechnika Łódzka**

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Łódź, 28.06.2022r.

Dr hab. inż. Agnieszka Nowak, prof. PŁ

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ w Łodzi

### **Recenzja**

pracy doktorskiej **mgr inż. Małgorzaty Pasternak**

pt. „Wykorzystanie mięsa wołowego bydła ras rodzimych do produkcji surowych

kielbas dojrzewających typu salami”

wykonanej na Wydziale Technologii Żywności

Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

pod kierunkiem dr hab. Eweliny Węsierskiej

Współcześni konsumenci mięsa oczekują produktu nie tylko bezpiecznego, zawierającego składniki funkcjonalne i bioaktywne, ale również dostarczającego pożądanych wrażeń sensorycznych. Produkcja wyrobów mięsnych surowo dojrzewających pozwala na uzyskanie odpowiedniej trwałości produktów, ograniczając przy tym utratę pożądanych składników odżywczych. Produkty surowo dojrzewające są bogatym źródłem pełnowartościowego białka o korzystnym składzie aminokwasowym, a także wielu związków bioaktywnych, takich jak bioaktywne peptydy, aminokwasy egzogenne czy sprzężony kwas linolowy (CLA). Produkcja wędlin surowych polega na umiejętnym kierowaniu przemianami biochemicznymi i mikrobiologicznymi, a także procesami fizycznymi, które zachodzą w surowcu mięsnym i tłuszczowym zarówno w trakcie produkcji wędliny (dojrzewanie produkcyjne), jak i w okresie jej przechowywania (dojrzewanie poprodukcyjne). Bardzo ważnym aspektem jest również właściwy dobór surowca mięsnego, gwarantujący odpowiednią jakość wyrobu

końcowego ale jednocześnie zaspakajającego oczekiwania konsumentów. Popularne staje się wykorzystanie surowców pozyskiwanych od zwierząt ras rodzimych, co wiązane jest z dziedzictwem kulturowym i wspieraniem lokalnych producentów. W Polsce rasy rodzime bydła reprezentowane są przez polską czerwoną, białogrzbiętą, polską czarno-białą i polską czerwono-białą. Mięso pozyskiwane od krów tych ras charakteryzuje się atrakcyjną barwą i smakiem jak również o uniwersalną przydatnością technologiczną w tym do produkcji podsuszanych wędlin trwałych o długim okresie dojrzewania. W związku z powyższym podjęcie przez Doktorantkę badań mających na celu ocenę procesu dojrzewania surowych kielbas dojrzewających typu salami, wyprodukowanych z mięsa dwóch ras rodzimych krów: polskiej czerwonej (PC) i białogrzbiety (BG), fermentowanych spontanicznie z dodatkiem czosnku białego oraz czarnego, z zachowaniem tradycyjnych metod wytwórczych, jest jak najbardziej uzasadnione. Ważny jest również aspekt aplikacyjny prowadzonych badań. Produkcja salami jako wyrobu wysokiej jakości, produkowanego tradycyjnie z regionalnych surowców mięsnych i tłuszczowych jest ważna dla regionalnego wytwórcy (Zakład Masarski „Janex”) oraz dla władz samorządowych w promocji regionu.

Recenzowana praca obejmuje 160 stron maszynopisu. Całość poprzedzona została streszczeniem w języku polskim i angielskim i podzielona jest na rozdziały: Wstęp, Przegląd literatury, Cel pracy, Materiały i metody badań, Wyniki i dyskusja, Podsumowanie, Wnioski, Literatura. W tekście pracy znajdują się 34 tabele i 15 rycin wzbogacających początkowe rozdziały (Wstęp, Materiały i metody) jak również stanowiących udokumentowanie uzyskanych wyników badań. W pracy cytowanych jest 269 pozycji literaturowych, w tym tylko około 10% z ostatnich pięciu lat. Prezentacja wyników, a także dyskusja są przedstawione w sposób prosty i logiczny. Pod względem formalnym rozprawa spełnia wszystkie stawiane wymogi merytoryczne – ma charakter eksperymentalny i zawiera komplet wymaganych rozdziałów ułożonych w sekwencji typowej dla prac o charakterze doświadczalnym.

W rozdziale 1, autorka syntetycznie wprowadza w tematykę badań, przedstawiając jednocześnie genezę ich podjęcia. Rozdział 2 to 47 stronicowy przegląd literatury. Autorka przedstawiła charakterystykę wybranych ras bydła rodzimego (podrozdział 2.1) uwzględniając również statystyki spożycia mięsa wołowego w Polsce. W podrozdziale tym przedstawiony został również skład chemiczny mięsa wołowego jak też omówiono czynniki kształtujące jego jakość. Do podrozdziału 2.1 mam kilka drobnych uwag. Tabela 4 (str. 16) nie zawiera jednostek. Brakuje mi tabelarycznego

porównania zawartości składników mineralnych oraz witamin w mięsie zwierząt rzeźnych. Omawiając przemiany poubojowe autorka dość często używa sformułowania mikroflora. W chwili obecnej zalecane jest aby mówić o mikrobiocie, a w wielu miejscach dysertacji właściwe byłoby po prostu użycie sformułowania „mikroorganizmy”. Uwaga ta dotyczy także dalszych części pracy. Omawiając wartość dietetyczną wołowiny (str. 24) doktorantka zamieściła informację, że zawartość tłuszczu w mięsie wołowym nie przekracza 5%, co nie jest spójne z tabelą 4. Kolejny podrozdział (2.2) to syntetyczna charakterystyka salami. Pani mgr inż. Małgorzata Pasternak opisała technologię produkcji tej wędliny, jak również omówiła czynniki kształtujące jej jakość uwzględniając wady produktu gotowego. Nieco nieczytelny jest dla mnie schemat przedstawiony na rysunku 3. Na jego podstawie można wyciągnąć błędny wniosek, że homofermentacja prowadzi jedynie do kwasu pirogronowego, a drobnoustroje heterofermentatywne metabolizują powstający w tym procesie pirogronian. Opisując bakterie fermentacji mlekowej warto również zwrócić uwagę na obowiązującą od 2020 roku nową nomenklaturę obejmującą reklasyfikację wielu gatunków do nowych jednostek taksonomicznych. I tak np. *Lactobacillus plantarum* to obecnie *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* to *Latilactobacillus sakei* a *Lactobacillus curvatus* to *Latilactobacillus curvatus*. Obecnie dozwolone jest co prawda stosowanie poprzednich nazw gatunkowych jednak przygotowując publikacje z przeprowadzonych badań warto już posługiwać się nową nomenklaturą. Opisując dojrzewanie (str 45, 46) doktorantka najprawdopodobniej omyłkowo zamieniła pojęcia dojrzewania długoterminowego i krótkoterminowego. Zamieszczony na stronie 55 rysunek jest nieczytelny. Trudno przeanalizować skład przedstawionych na zdjęciach kielbas salami i chorizo.

Przedstawiony na stronie 56 cel pracy jest jasno sformułowany i koreluje z dalszą częścią rozprawy. Rozdział ten zawiera również skrótowo przedstawiony zakres badań, niestety ani w części metodycznej ani w opisie uzyskanych wyników nie znalazłam informacji na temat wspomnianej tutaj analizy w kierunku paciorkowców mlekowych.

W kolejnym rozdziale Doktorantka opisała materiały i metody stosowane podczas pracy doświadczalnej. Stosowane w pracy metody zostały w większości przypadków poprawnie opisane, co stwarza warunki do powtórzenia badań i pomiarów. Mocną stroną prowadzonych badań był ich szeroki zakres, pozwalający na szczegółowe scharakteryzowanie otrzymanych wędlin. Zastosowane techniki i metody pomiarowe wymagały dobrego merytorycznego oraz analitycznego przygotowania Doktorantki.

Metodyka pracy obejmuje zarówno oznaczenia rutynowe, wynikające z ogólnie przyjętych procedur, jak i nowoczesne metody analityczne, np. GC-MS, HPLC. Do tej części mam kilka szczegółowych uwag/pytań.

1. W tabeli 10 przedstawiono kryteria jakości kielbasy salami dojrzewające. Tabela ta nie ma żadnego przywołania w tekście pracy. Proszę zatem o informację czy doktorantka oceniała wyroby zgodnie z tymi kryteriami, a jeśli tak to czemu nie wszystkie wyniki np. analiz mikrobiologicznych zostały zaprezentowane w dalszej części pracy.
2. Zgodnie z Tabelą 11 surowcami użytymi do produkcji salami było zarówno mięso wieprzowe jak i wołowe podczas gdy opisując materiał badawczy doktorantka wymieniła wśród surowców jedynie mięso wołowe i tłuszcz wieprzowy? Prosiłabym aby w trakcie publicznej obrony doktorantka zaprezentowała skład surowcowy wytwarzanych przez siebie w ramach badań produktów.
3. O jakiej obróbce termicznej wspomniane jest w tabeli 12 jeśli wytwarzany przez doktorantkę produkt nie był poddawany temu procesowi?
4. Czy podczas oznaczania aminokwasów stosowany był przepływ izokratyczny czy gradientowy i jaki był skład fazy ciekłej.
5. Proszę o doprecyzowanie pkt. 4.2.20, jakie drobnoustroje, zgodnie z jakimi procedurami oznaczano i dlaczego w dalszej części pracy nie zostały zaprezentowane wyniki.

Zasadniczą część pracy stanowi rozdział 5 – Wyniki i dyskusja. Jeszcze raz chciałam podkreślić bardzo szeroki zakres analiz prowadzonych przez mgr inż. Małgorzatę Pasternak. Na początku rozdziału Doktorantka przedstawiła zmiany podstawowego składu chemicznego kielbas salami w trakcie 6 tygodniowego dojrzewania. Nie do końca zgadzam się ze stwierdzeniem „Nie wykazano istotnych różnic w zawartości wody, białka, tłuszczu, popiołu i soli między kielbasami PCB, PCC, BGB i BGC analizowanymi przez 6-tygodni dojrzewania”. Nie wskazują na to oznaczenia literowe w tabeli np. dla woda czy tłuszcz  $T_0$ . Czy należy rozumieć, że wartość energetyczna była szacowana dla produktu po 6 tygodniowym dojrzewaniu? Bardzo wartościową częścią jest analiza postępu proteolizy przedstawiona w dalszej części pracy (skład aminokwasowy, obecność/zawartość wolnych grup aminowych, stężenie amin biogennych). Prosiłabym aby w trakcie obrony doktorantka spróbowała zastanowić się dlaczego zawartość w czwartym tygodniu proliny oraz w drugim tygodniu argininy w salami BGB spadła,

w jakich procesach aminokwasy te mogły być wykorzystane. Moją ciekawość wzbudziła również niska początkowa zawartość metioniny w kiełbasie BGC. Interesująca jest również analiza w kierunku oznaczenia zawartości amin biogennych. Z zawodowego doświadczenia wiem, że ten aspekt przemian w produkcji żywności fermentowanej jest często pomijany. Czy doktorantka mogłaby wytłumaczyć dlaczego analizując zawartość tyraminy na początku procesu produkcyjnego pogrupowała produkty w następujący sposób: BGC z PCB oraz PCC z BGB. Doktorantka bardzo dokładnie opisała wpływ oznaczonych amin biogennych na organizm człowieka. Na etapie dyskusji zawartości tych związków w produktach brakuje mi trochę informacji na temat ich powiązania z procesem proteolizy. Podczas wykonywania doświadczeń przeanalizowane zostały również zmiany profilu kwasów tłuszczowych w badanych produktach. W dyskusji doktorantka przedstawiła wpływ tej grupy związków na zdrowie konsumentów. Pani mgr inż. Małgorzata Pasternak przeanalizowała profil lotnych związków zapachowych, które w sposób istotny wpływają na cechy organoleptyczne produktów. Zidentyfikowała 100 substancji przynależnych m. in. do grupy kwasów, aldehydów, ketonów, alkoholi, amin, estrów, terpenów i związków siarki pochodzenia organicznego. Ich obecność na poszczególnych etapach produkcji może wskazywać na postęp procesów hydrolizy tłuszczów i utleniania wolnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, hydrolizy białek i dekarboksylacji wolnych aminokwasów, estryfikacji, katabolizmu wolnych aminokwasów przez mikroorganizmy obecne w produkcie. Nie zawsze natomiast zgadzam się z informacjami zawartymi w tabeli 25. W mojej opinii aldehyd octowy czy alkohol etylowy nie musi być koniecznym produktem metabolizmu drożdży, a kwas octowy powstawać w wyniku fermentacji octowej. Związki te mogą być produktem metabolizmu heterofermentatywnych bakterii fermentacji mlekowej. W tabeli 27 podano angielskie nazwy związków zapachowych. Kolejne etapy badań to między innymi analiza pH, aktywności wody, barwy produktów, tekstury, a także ocena organoleptyczna. Co do analizy barwy proszę o informację pomiędzy jakimi próbkami oznaczano różnicę barwy. Doktorantka przeprowadziła również analizę mikrobiologiczną produktów. Drobną uwagę, to brak log w jednostkach (rys 15, tab 34). Proszę spróbować wytłumaczyć dlaczego początkowe namnożenie drobnoustrojów, szczególnie bakterii, w produkcie było aż tak wysokie. Dziwi również bardzo wysokie namnożenie bakterii po 6 tygodniowym dojrzewaniu (rzędu  $10^9$  jtk/g) zważywszy, że podczas procesu produkcyjnego nie były stosowane szczepionki. Proszę o informację w jaki sposób określano, że wyizolowane podczas badań gronkowce są koagulazoujemne.

Myślę, że tytuł podrozdziału „ skład ilościowy i jakościowy mikroflory” nie do końca odzwierciedla zawartość. W mojej opinii bardziej trafna byłaby „jakość mikrobiologiczna salami”. Czy doktorantka w przyszłości planuje przeprowadzenie badań zmierzających do określenia jakie mikroorganizmy zasiedlały produkty na poszczególnych etapach dojrzewania. Myślę, że bardzo cenne mogłyby być badania metagenomowe.

Z dużym zainteresowaniem czytałam rozdział Podsumowanie, w którym w sposób syntetyczny podsumowała uzyskane wyniki badań. Znalazłam tu również wiele informacji o których wcześniej wspominałam że brak mi ich w dyskusji uzyskanych wyników.

Otrzymane wyniki badań pozwoliły Autorce na sformułowanie pięciu ciekawych i istotnych wniosków (rozdział 7). Tu mam tylko jedna uwagę, którą zamieściłam już wcześniej. Skąd wiadomo, że w produktach miała miejsce fermentacja masłowa, alkoholowa oraz octowa (wniosek 4).

Biorąc pod uwagę cel i zakres pracy, stosowane metody, sposób przedstawienia i interpretacji wyników oraz wnioski uważam, że praca pt. „Wykorzystanie mięsa wołowego bydła ras rodzimych do produkcji surowych kielbas dojrzewających typu salami” została wykonana zgodnie z zasadami realizacji pracy naukowej i pod względem merytorycznym nie budzi zastrzeżeń. Praca w wielu aspektach ma charakter nowatorski, dotyczy zagadnienia, cieszącego się dużym zainteresowaniem badaczy ale również o dużym potencjale wdrożeniowym. Napisana jest rzetelnie, poprawnym, językiem, chociaż autorka nie ustrzegła się nielicznych sformułowań z którymi można dyskutować lub są uchybieniami językowymi, przykładowo:

- 22<sup>2</sup> „Kruchość to najważniejsza cecha jakościowa w doustnej ocenie konsumentekiej”
- 22<sup>27</sup> „natężenie smaku wołowiny wzrasta do wieku 18 miesięcy”
- wspomniana już wcześniej mikroflora

### **Podsumowanie**

Recenzowana praca mgr inż. Małgorzaty Pasternak pt. „Wykorzystanie mięsa wołowego bydła ras rodzimych do produkcji surowych kielbas dojrzewających typu salami” stanowi samodzielne rozwiązanie problemu badawczego. Dzięki odpowiednio zaplanowanym badaniom i wykonanym analizom cel pracy został zrealizowany. Zarówno rezultaty doświadczeń, jak i wynikające z nich wnioski są wartościowe, zasługują na upowszechnienie. Mgr inż. Małgorzata Pasternak wykazała się umiejętnością podjęcia zadania badawczego wychodzącego naprzeciw aktualnym zapotrzebowaniom,

przeprowadzenia eksperymentów, dokonania analizy otrzymanych danych liczbowych, przeprowadzenia dyskusji naukowej i merytorycznie poprawnego wnioskowania.

Zgłoszone do pracy uwagi mają charakter dyskusyjny, służą uporządkowaniu pewnych zagadnień i zasygnalizowaniu aspektów wartych rozważenia.

Biorąc pod uwagę wartość naukową pracy i zawarte w niej elementy nowości naukowej, a także zakres wykonanych badań, stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa mgr inż. Małgorzaty Pasternak w pełni spełnia wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2002r wraz z późn. zm. i wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. inż. Agnieszka Nowak, prof. uczelni

