

Dr hab. inż. Mariusz Florek

Profesor UP w Lublinie

*Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

Ocena

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Choroszy
pt. „Analiza wybranych surowcowych i procesowych uwarunkowań
zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych
w wędlinach wędzonych metodą tradycyjną”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Krzysztofa Tereszkiwicza prof. PRZ
na Wydziale Zarządzania Politechniki Rzeszowskiej**

Wędzenie żywności to jedna z najstarszych metod jej konserwacji. Polega na wysyceniu składnikami dymu wędzarniczego surowców żywnościowych (mięsa, ryb, serów, owoców). Jest jednym z podstawowych procesów technologicznych w produkcji wędlin. Synergiczne działanie dymu, temperatury i innych substancji chemicznych nadaje specyficzny, pożądaný zapach i smak wędzonemu produktowi. Dym wędzarniczy to mieszanina gazowych, ciekłych i stałych substancji; składa się z kilkuset składników, zarówno korzystnie wpływających na jakość produktu, obojętnych dla zdrowia człowieka, jak również związków budzących wątpliwości pod względem zdrowotnym.

Środki spożywcze nie mogą być wprowadzane do obrotu w przypadku przekroczenia najwyższych dopuszczalnych poziomów dla zanieczyszczeń określonych w ich jadalnych częściach. Wśród zanieczyszczeń chemicznych środowiska i żywności szczególne zainteresowanie i uzasadnione obawy budzą wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Stanowią one liczną grupę związków organicznych charakteryzujących się obecnością wielu sprzężonych pierścieni aromatycznych w cząsteczce. Związki te, zwłaszcza zawierające 5 lub więcej pierścieni, mają działanie genotoksyczne i karcinogenne. Skażenie żywności WWA może być spowodowane zanieczyszczeniem środowiska i ich migracją do żywności z powietrza, gleby i wody lub wynikiem obróbki termicznej żywności, np. wędzeniem, grillowaniem, smażeniem i suszeniem. Szczególnie wysokie stężenia WWA są obecne w produktach przygotowywanych nad otwartym ogniem (grill), natomiast ich poziom w żywności przetworzonej (wędzonej, smażonej) zależy głównie od warunków i metod jej obróbki.

Benzo(a)piren jest związkiem chemicznym z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), stosowanym jako marker obecności i działania rakotwórczych WWA w żywności. Z uwagi jednak na fakt, iż benzo(a)piren nie jest wystarczającym pojedynczym markerem wskazującym na obecność WWA, jako wiarygodny

indykator, EFSA przyjął układ czterech specyficznych związków chemicznych z tej grupy (benzo[a]piren, benzo[a]antracen, benzo[b]fluoranten i chryzen). System 4 WWA zapewnia ponadto kontrolę ogólnej ilości WWA w produktach, w których benzo(a)piren nie jest wykrywalny, a obecne są inne związki z tej grupy.

Najwyższe dopuszczalne poziomy zawartości WWA muszą być bezpieczne i najniższe, jakie można rozsądnie osiągnąć (zasada ALARA – ang. As Low As Reasonably Achievable) z zastosowaniem wszystkich dobrych praktyk produkcyjnych. W niektórych państwach członkowskich UE, w przypadku mięsa i produktów mięsnych wędzonych tradycyjnie, osiągnięcie takich poziomów WWA wiązałoby się z koniecznością zmiany praktyk wędzarniczych, a tym samym spowodowałyby znaczną modyfikację właściwości organoleptycznych żywności. Nieuniknioną konsekwencją tego byłoby zapewne wyeliminowanie tego rodzaju produktów wędzonych tradycyjnie z rynku, co wiązałoby się z kolei z zamknięciem wielu małych i średnich przedsiębiorstw. Biorąc pod uwagę taką okoliczność Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 grudnia 2014 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów mięsnych wędzonych w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów zanieczyszczeń wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) (Dz. U. poz. 1845 z 2014 r.) – na podstawie Rozporządzenia Komisji (UE) Nr 1327/2014 z dnia 12 grudnia 2014 r. – zezwalało do dnia 31 sierpnia 2017 r. na produkcję i wprowadzanie na rynek (ale wyłącznie na terytorium Polski), krajowych produktów mięsnych wędzonych tradycyjnie, w których najwyższy dopuszczalny poziom zanieczyszczenia dla benzo(a)pirenu nie jest wyższy niż 5 µg/kg, zaś sumy WWA (suma benzo(a)pirenu, benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu i chryzenu) wynosi nie więcej niż 30 µg/kg. Taka derogacja odnosiła się tylko produktów, które zostały wcześniej zgłoszone do właściwego powiatowego lekarza weterynarii. Warto nadmienić, że Rozporządzenie to jest nadal obowiązujące, albowiem zostało utrzymane w mocy Rozporządzeniem MRiRW z 22 maja 2017 r. (Dz. U. poz. 1046 z 2017 r.).

Literatura przedmiotowa w przypadku produktów mięsnych wędzonych tradycyjnie za najważniejsze czynniki determinujące zawartość WWA uważa metodę wędzenia, rodzaj drewna i temperaturę procesu. Należy jednak podkreślić, że wędzenie tradycyjne jest procesem bardzo złożonym, w którym kluczową rolę odgrywa kombinacja wszystkich parametrów wędzenia. Autorka rozprawy doktorskiej podjęła się zatem oceny wpływu takich czynników, jak: zawartość tłuszczu w produktach, warunki atmosferyczne panujące na zewnątrz komory wędzarniczej oraz jej czystość, na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wyrobach wędzonych tradycyjnie. Przeprowadzone przez Autorkę badania uważam za celowe i interesujące, a uzyskane wyniki przedstawiają dużą wartość poznawczą i użyteczną.

Ocena układu pracy i jej merytorycznej treści

Przedłożona do oceny praca składa się z 144 stron tekstu i została podzielona na 9 części. Dysertacja rozpoczyna się przedmową, która wprowadza czytelnika w genezę i problematykę pracy oraz zarysowuje jej strukturę. W pracy zamieszczono również wykaz skrótów i symboli, streszczenie w języku angielskim oraz aneks zawierający 7 załączników z wynikami analiz statystycznych. Opracowanie jest przejrzyste, a kolejność rozdziałów prawidłowa. Podsumowanie stanowi 2 stronicowy rozdział „Wnioski” zawierający 6 uogólnień będących rekapitulacją uzyskanych rezultatów. Wyniki badań, inne materiały poglądowe i informacyjne zamieszczono w 33 tabelach, na 26 wykresach, 6 fotografiach i 5 rysunkach. Bibliografia obejmuje 243 pozycje literaturowe, z których ponad 40% (99) to prace opublikowane po roku 2007, a blisko 60% (145) to oryginalne opracowania naukowe w języku angielskim. Tak szeroki zakres piśmiennictwa umożliwił Autorce skonfrontować wyniki badań własnych z aktualnym stanem wiedzy z tego zakresu. Język pracy jest poprawny, a sformułowania zrozumiałe. Treści tworzą logiczny i uporządkowany ciąg informacji i faktów, które służą argumentowaniu tez stawianych przez Autorkę.

Dokonany przez panią mgr inż. K. Choroszy przegląd literatury (str. 10-38) jest rozwinięciem wątków poruszonych we wstępie pracy. Autorka w wystarczającym zakresie, w rzeczowy sposób przedstawiła proces wędzenia jako metodę utrwalenia żywności; scharakteryzowała wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne oraz opisała surowcowe i procesowe uwarunkowania ich zawartości w mięsie i jego przetworach. Na podkreślenie zasługuje cytowanie oryginalnych prac źródłowych, w dominującej mierze anglojęzycznych. W mojej opinii w tej części opracowania (str. 29) zabrakło odniesienia, co do możliwości uzyskania odstępstw od najwyższych dopuszczalnych poziomów zanieczyszczenia dla benzo(a)pirenu i sumy benzo(a)pirenu, benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu i chryzenu) dla krajowych produktów mięsnych wędzonych tradycyjnie z powołaniem się na stosowne akty krajowe i wspólnotowe.

Autorka w ostatnim fragmencie wspominając o nowych rozwiązaniach w zakresie poprawy bezpieczeństwa zdrowotnego podaje przykład środków aromatyzujących dymu wędzarniczego, powołując się przy tym na pozycje z roku 2003 i 2010. **Czy Autorce znane są nowsze lub inne rozwiązania ograniczające występowanie niepożądanych substancji w produktach wędzonych?**

Podsumowując stwierdzam, że przegląd piśmiennictwa jest zgodny z tematem pracy, wskazuje na dość dokładne przeanalizowanie piśmiennictwa z zakresu wędzenia i zagadnień związanych z bezpieczeństwem żywności, świadczy o rzetelnym przygotowaniu Pani mgr inż. Karoliny Choroszy do działalności naukowej.

Część eksperymentalna

Autorka po przeanalizowaniu aktualnego stanu wiedzy sformułowała cel główny badań i 3 cele szczegółowe, przedstawiła założone 3 hipotezy badawcze i 6 zakresów badań.

Materiał i metody badań. W tej części rozprawy na 11 stronach scharakteryzowano materiał doświadczalny, opisano metody analityczne, przedstawiono metodykę pomiarów parametrów mikroklimatu i czystości komory wędzarniczej oraz podano założenia analizy statystycznej. Materiał badawczy stanowił asortyment 6 wędlin z różnych grup technologicznych (wędzonek i kielbas). Szkoda, że Autorka nie zamieściła składu surowcowego poszczególnych wędlin, a zwłaszcza udziału surowca tłuszczowego, jak również nie przeprowadziła analiz chemicznych surowców podstawowych. Jak sama wskazuje na str. 102 skład surowcowy jest jednym z istotnych czynników warunkujących i różnicujących obecność WWA w wędlinach. Takie informacje z pewnością uzupełniłyby dyskusję wyników własnych np. w kontekście porównania z produktami drobiowymi.

Zasadnicze analizy obejmowały oznaczenie w wędlinach zawartości wody, tłuszczu ogólnego, białka (azotu), soli kuchennej i 15 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Autorka w opisie metody podaje ogólną liczbę wędlin objętych badaniami i liczbę powtórzeń w zakresie oceny składu chemicznego. Brakuje takich informacji odnośnie oznaczeń WWA. Sugeruję zatem uzupełnić ten rozdział o schemat układu doświadczenia z podaniem liczby prób i powtórzeń w poszczególnych analizach. Na podkreślenie zasługuje szczegółowy opis analizy statystycznej wyników oraz wykorzystanie technik eksploracji wielowymiarowych danych (analizy dyskryminacyjnej i skupień oraz analizy głównych składowych). W mojej opinii opis metody PCA na str. 51 powinien zostać uzupełniony o informacje podane na stronach 64-65 odnoszące się do kryteriów wyodrębnienia liczby czynników (% wyjaśnienia całkowitej wariancji, wartość własna).

Po lekturze tej części pracy proszę Autorkę o komentarz do następujących kwestii metodycznych.

- 1) Czy badaniami objęto produkty tradycyjne i wędzone tradycyjnie ujęte na krajowej liście prowadzonej przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, dla których można było zastosować odstępstwo od dopuszczalnych poziomów zanieczyszczenia dla benzo(a)pirenu i sumy 4 WWA zgodnie z prawodawstwem unijnym i krajowym.
- 2) Czy monitorowano parametry np. temperaturę wewnątrz komory wędzarniczej
- 3) Jaki rodzaj opakowania stosowano w przypadku prób pobieranych w zakładzie produkcyjnym? Czy podejmowano działania mające na celu minimalizowanie ryzyka zanieczyszczenia.
- 4) Czy dokładność naważenia wynosiła 0,0001 g (0,1 mg)?

- 5) Jakkolwiek w państwach członkowskich UE dopuszcza się różne metody oznaczania zawartości zanieczyszczeń w żywności, to zaleca się jednak stosować w laboratoriach zwalidowane metody analityczne dla danej matrycy, przy spełnieniu określonych kryteriów wyboru. Warto zatem uzupełnić metodykę oznaczenia profilu WWA o wartości dla odzysku, LOD i LOQ. Wiązać się to może z weryfikacją przedstawionych danych ze względu na cyfry znaczące.
- 6) Jakie kryterium przyjęto dzieląc materiał badawczy na 2 grupy ze względu na udział tłuszczu tzn. do 10% i >20%
- 7) Czy nie po prostu zrezygnowano z uwzględnienia temperatury w analizie wieloczynnikowej, z uwagi na ewentualne interakcje z wilgotnością względną lub z ciśnieniem atmosferycznym?

Rozdział Wyniki badań obejmuje 43 strony i swą strukturą odpowiada celom i hipotezom badawczym. Autorka w 30 tabelach i na 26 wykresach przedstawiła wyniki oznaczeń chemicznych tj. udziału wody, tłuszczu, białka i soli kuchennej oraz zawartości oznaczonych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w ocenianych wędlinach, uwzględniając dla WWA wpływ: 2 poziomów udziału tłuszczu, przyjętych zakresów ciśnienia atmosferycznego i wilgotności względnej powietrza w otoczeniu komory wędzarniczej oraz kryterium jej czystości. W dalszej części przedstawiono wyniki analiz wielowymiarowych. Szkoda, że Autorka prezentując wyniki analizy PCA nie przedstawiła wizualizacji zmiennych na wykresie uwzględniającym położenie wektorów ładunków względem dwóch pierwszych składowych głównych.

Przygotowując pracę do druku proponuję rozważyć następujące uwagi do tego rozdziału:

1. w tab. 4-7 oraz 8-9 warto zaznaczyć literami przy średnich istotne różnice, co umożliwiłoby precyzyjne omówienie wyników własnych, eliminując stosowanie niewiele mówiących sformułowań jak np. „zdecydowanie przewyższało”, czy „znaczne zróżnicowanie”
2. informacja pod tabelami „Źródło: opracowanie własne” jest zbędna
3. tab. 8 i 9 różna liczebność obserwacji/powtórzeń dla różnych wędlin (n=5, n=6, n=7), proszę o komentarz
4. prezentowanie tych samych wyników w tabelach i na wykresach jest w mojej opinii mało profesjonalne, a ponadto nie akceptowalne przez redakcję czasopisma
5. z tab. 5 można wnioskować, że do grupy wędlin o udziale do 10% zakwalifikowano kiełbasę swojską i suchą, a do grupy >20% pozostałe sortymenty, eliminując z analizy produkty zawierające więcej niż 10 i mniej niż 20% tłuszczu. Poddaję pod rozwagę pogłębienie analizy danych w oparciu o znany w towaroznawstwie podział produktów żywnościowych ze względu na zawartość tłuszczu tzn. o niskiej jego zawartości – do 10%, wysokiej – w zakresie 10-25% i bardzo wysokiej – od 25 do 30 (35)%.

W rozdziale „Dyskusja wyników” liczącym 19 stron Autorka skonfrontowała wyniki własne z danymi literaturowymi. Prezentacja tego rozdziału, prowadzona systematycznie dla poszczególnych czynników doświadczalnych, jest merytorycznym porównaniem otrzymanych rezultatów z wynikami autorów krajowych i zagranicznych, częściowo cytowanymi w rozdziale Przegląd piśmiennictwa, potwierdzając znane wcześniej zależności.

W komentarzu do tej części proponuję przenieść do Przeglądu piśmiennictwa, do rozdz. 2 – Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w ... fragment opisu (wraz z rys. 38 i 39) dotyczącego transformacji związków zawierających pierścienie benzenowe (str. 96-98). Lorenzo i in. (2010, 2011) oceniali produkty hiszpańskie, a nie włoskie.

Na dwustronicowe podsumowanie części badawczej składa się 6 wniosków, w których Autorka przytacza najważniejsze stwierdzenia wynikające z przeprowadzonych badań weryfikujących przyjęte hipotezy. W trakcie ich lektury nasunęły mi się następujące spostrzeżenia. Wniosek 2 należałoby sformułować ostrożniej. W pracy oznaczono koncentrację WWA, lecz nie oceniano przemian kinetycznych w systemach pierścieniowych. Jak podaje sama Autorka dane literaturowe są jedynie próbą wyjaśnienia prawdopodobnych i jednych z możliwych przemian związanych z transformacją elektronową WWA podczas wędzenia. Natomiast dostrzeżenie takich zależności i postawienie śmiałej tezy ich eksplikacji, uważam za bardzo dobry prognostyk w przyszłej pracy naukowej pani mgr inż. Karoliny Choroszy. W mojej opinii wniosek 4 wymaga weryfikacji uwzględniającej liczniejsze zakresy zawartości tłuszczu.

Pod względem formalnym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska generalnie nie budzi zastrzeżeń. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na następujące i nieliczne kwestie redakcyjne, które należy rozważyć lub uwzględnić przygotowując pracę do druku.

Geneza pracy

- 3 w. od góry: „bezpieczeństwa spożywania żywności” raczej bezpieczeństwa spożywanej żywności
- 6 w. od góry: „chemofobia” – termin zbyt ogólny, należy uściślić do zagrożeń zdrowotnych żywności

Przegląd piśmiennictwa

- s. 10 w. 5-6 od dołu: interpunkcja
- s. 13 w. 6 od góry: „drewno z drzewa olchowego” – drewno olchowe, z olchy
- s. 13 w. 18 od góry: zamiast „wyróżniamy” należy dodać „proces termicznego rozkładu drewna różnicuje się na”
- s. 15 w. 11-12 od góry: niewłaściwy zakres temperaturowy dla rozkładu ligniny, należy uściślić
- s. 16 w. 5 od dołu: „rekcjach” zamienić na „reakcjach”
- s. 17 w. 7 od góry: powinno być „Obiedziński”
- s. 19 w. 2 od góry: powinno być „Pospiech”
- s. 21 w. 10 od dołu: „Weber 2007” – brakuje tej pozycji w wykazie piśmiennictwa
- s. 29 w. 2 od dołu: rok powinien być umieszczony w []
- s. 37 w. 15-16 od dołu: „w szynce wołowej” jaki to element?
- s. 37 w. 6 i 9 od dołu: powinna być liczba mnoga „przez tych autorów” i „stwierdzili”
- s. 38 w. 2 od góry: „Simon i in. 1969” – brakuje tej pozycji w wykazie piśmiennictwa

Cel, hipotezy i zakres pracy

- s. 39 w. 11-12 od góry i w. 9 od dołu: „warunków meteorologicznych” – proponuję zamienić na „warunków atmosferycznych”
- s. 40 w. 5 od góry: uwaga j.w.

Część eksperymentalna

- s. 42 w. 7 od góry i ostatni od dołu: „samoczynnego wystudzenia” – „samoistne/niewymuszone”
- s. 44 w. 4 od dołu: „Szynka swojska i boczek nadziewane były w siatki...” – „Szynkę swojską i boczek formowano za pomocą siatki ...”
- s. 45 w. 13-14 od góry: uściślenia wymaga opis przygotowania próbek laboratoryjnych, czy były homogenizowane, czy rozdrabniane, ew. podać typ urządzenia
- s. 46 w. 16 od góry: proszę podać współczynnik przeliczeniowy azotu na białko

Wyniki badań

- s. 52 w. 15 od dołu: zamienić „wskaźnika” na „składnika/związku”
- s. 55 w. 4-6 jest to powtórzenie informacji z wcześniejszego akapitu, proponuję usunąć
- s. 60 – wykres 12 mało czytelny
- s. 68 w. 2 od góry: „w wędlinach o otłuszczeniu” raczej „w wędlinach o zawartości/udziale tłuszczu”
- s. 69 w. 3 od góry: „stopień otłuszczenia wędlin” uwaga j.w.
- s. 85 uwaga dotycząca tytułu podrozdziału, proponuję uściślić, że to badanie przeprowadzono na przykładzie kiełbasy wiejskiej; obecny tytuł jest mylący, sugeruje bowiem szerszy materiał badawczy

Dyskusja wyników

- s. 95 w. 12 od góry: pozycja Londoño i in. [2015], w wykazie piśmiennictwa jest Londoño i in. [2013] – podać właściwy rok
- s. 95 w. 1 od dołu: pozycja Ledesma i in. [2015a, b], w wykazie piśmiennictwa jest Ledesma i in. [2015]
- s. 105 w. 4 od góry, s. 106 1 w. od dołu: „otłuszczenie wyrobu”, „wyroby wysoko otłuszczone”
- s. 113 w. 13-14: pozycja Ledesma i in. [2015a, b], w wykazie piśmiennictwa jest Ledesma i in. [2015]

Bibliografia

- w niektórych pozycjach bibliograficznych (np. 70-72) nie wymieniono współautorów (i in.)
- poz. 60 „Grabiński i in. 1989 nie została wymieniona w tekście
- zachować porządek alfabetyczny (poz. 7-8, 48-49, 63-66, 100-102 i 103, 137-138, 174-176, 216-218, 238-239) i jednakową pisownię nazwisk np. Škaliac lub Škaljac; Pohlmann lub Pöhlmann; Rozentale lub Rozentäle

Podsumowując stwierdzam, że Autorka w oparciu o przedmiotową literaturę właściwie zaplanowała badania, oceniła wpływ wybranych czynników na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wyrobach mięsnych wędzonych tradycyjnie i przetestowała hipotezy wynikające z tematu pracy. Uzyskane wyniki przedstawiają wartość poznawczą, porównawczą i utylitarną, jak również pozwalają ukierunkować dalsze prace badawcze z tego zakresu.

Wniosek końcowy

Przedstawione uwagi lub komentarze nie wpływają na pozytywną ocenę przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej. Wskazują natomiast na pewne uchybienia, które należy rozważyć przed ich dalszym opublikowaniem. Uważam, że problem

badawczy został poprawnie umiejscowiony na tle bogatej literatury przedmiotowej, a założony w pracy cel badawczy został przez Autorkę w pełni osiągnięty. Właściwie udokumentowane wyniki są ciekawe zarówno dla technologów mięsa, jak i specjalistów z zakresu bezpieczeństwa żywności i żywienia.

Stwierdzam, że oceniana praca odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595, z późn. zm.; tekst jednolity Dz. U. 2017 Poz. 1789) i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Karoliny Choroszy i dopuszczenie jej do publicznej obrony.

Mariusz Florek

Lublin, dn. 12 grudnia 2017 r.