

Olsztyn, dnia 28 listopada 2016

dr hab. inż. Anna Iwaniak, prof. UWM
Katedra Biochemii Żywności
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
ul. Pl. Cieszyński 1
10-726 Olsztyn
e-mail: ami@uwm.edu.pl
tel./fax.: 89 523 37 22

Recenzja pracy doktorskiej

p.t.: „*Powstawanie i charakterystyka związków smakowo-zapachowych sera ementalskiego produkowanego w Polsce*” wykonanej przez mgr inż. Agnieszkę Pluta-Kubicę w Katedrze Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie pod kierunkiem prof. dr hab. Jacka Domagały
(promotor pomocniczy: dr inż. Marek Sady)

Podstawa prawna: pismo Pani Dziekan Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie dr hab. inż. Agnieszki Filipiak-Florkiewicz, prof. UR (DTŻ 520-28-342/216) z dnia 09 listopada 2016 roku, w którym zwraca się do mnie z prośbą o wykonanie recenzji.

Sery są znane człowiekowi od ponad 8000 lat, a modyfikacje procesu technologicznego w obrębie jego składników przyczyniły się do powstania wielu gatunków tego produktu. Istotną rolę w procesie produkowania serów podpuszczkowych są mikroorganizmy mające znaczenie w kształtowaniu właściwości sensorycznych różnych gatunków sera. Odpowiednia temperatura dojrzewania decyduje o tempie proteolizy, składzie mikroflory oraz jakości i teksturze sera. Podczas dojrzewania serów zachodzi wiele przemian biochemicznych, czego następstwem jest powstawanie związków smakowo-zapachowych determinujących sensoryczną jakość serów, a specyficzny profil smakowo-zapachowy sera pozwala na odróżnienie poszczególnych gatunków tego produktu.

Identyfikacja związków lotnych należy do coraz częściej spotykanych metod określania swoistego wzorca smakowo-zapachowego sera, które można także stosować do

m.in. badania jego autentyczności, kontroli procesów jego wytwarzania, czy monitorowania dynamiki procesów psucia.

Badania na świecie koncentrują się na utworzeniu standardowego narzędzia bazującego na profilu związków smakowo-zapachowych do określania autentyczności oraz pochodzenia produktów żywnościowych, w tym serów dojrzewających. Podjęta przez Doktorantkę tematyka badawcza jest zatem w pełni uzasadniona i ma duże znaczenie praktyczne.

Praca doktorska mgr inż. Agnieszki Pluta-Kubicy to 171 stron komputeropisu. Jest starannie ilustrowana, zawiera 4 fotografie, 34 rysunki oraz 26 tabel. Analiza zagadnień oraz problemu, jakim jest poświęcona dysertacja oparta jest na 131 pozycjach odpowiednio dobranego tematycznie piśmiennictwa. Blisko 85% cytowanych prac to publikacje anglojęzyczne, a znaczna większość z nich to artykuły z ostatnich 10 lat. Dysertację kończy streszczenie, które w przejrzysty sposób opisuje analizowaną problematykę. Moim zdaniem streszczenie to powinno poprzedzać wstęp do pracy. Taki układ ułatwiłby czytelnikowi wprowadzenie w zagadnienie, któremu poświęcona jest rozprawa. Zaletą pracy jest wykaz skrótów i oznaczeń, co znacznie jej ułatwia czytanie.

Praca jest poprzedzona wstępem przybliżającym wprowadzenie w wątki będące przedmiotem dysertacji. We wstępie pojawia się sformułowanie „skoniugowany kwas linolowy” (anglicyzm). W języku polskim kwas ten nazwiemy sprzężonym kwasem linolowym, aczkolwiek przyznaję, że w publikacjach polskojęzycznych funkcjonuje taka forma zapisu nazwy tego kwasu. Rozdział „Przegląd literatury” to przegląd aktualnego stanu wiedzy na temat zagadnień opisanych w pracy. Obejmuje on m.in. charakterystykę sera ementalskiego, przemiany zachodzące podczas jego produkcji oraz opis związków smakowo-zapachowych charakteryzujących ementalery. Ten rozdział mógłby być w przyszłości wykorzystany do opublikowania w formie pracy przeglądowej. W przeglądzie literatury pojawiają się nazwy enzymów m.in. dekarboksylaza, katepsyna D, plazmina, chymozyna itd. Przy ich wymienianiu dobrze byłoby dodać powszechnie stosowane numery EC.

W rozdziale „Uzasadnienie tematu oraz cel pracy” Doktorantka dokonała podziału stawianych hipotez niejako na dwie części: pierwsza zakładała, że na podstawie analizy profilu smakowo-zapachowego można odróżnić szwajcarskie i francuskie sery ementalskie od ementalera produkowanego w Polsce, zaś druga była hipotezą praktyczną, będącą próbą odpowiedzi na pytanie, który etap procesu technologicznego sera polskiej produkcji wpływa na jego charakterystykę smakowo-zapachową. Pierwsza hipoteza – weryfikowana za pomocą trzech zadań badawczych, decydowała o sukcesie dalszej pracy, czego dowodem miałyby być

opracowanie zaleceń dla praktyki przemysłowej dotyczących poprawy wyróżników sensorycznych (smaku i zapachu) ementalera polskiego pochodzenia.

Zakres analiz znajdujący się w rozdziale „Materiał i metody” jest poprzedzony opisami planu doświadczenia, materiału badawczego oraz bardzo staranną ilustracją schematu produkcji ementalera. Opisy metod analitycznych zastosowanych w pracy są przejrzyste i świadczą o znakomitym przygotowaniu analitycznym Doktorantki do prowadzenia tego typu badań. Metody chromatograficzne przedstawione przez Autorkę w rozdziale „Materiał i metody” zawierają przykładowe rysunki chromatogramów rozdzielanych związków chemicznych. Są one przeważnie zatytułowane „Przykładowy chromatogram rozdziału ... itd.” (rysunki 4-7). Jest to tytuł niefortunny, słowo „chromatogram” oznacza bowiem „efekt analizy chromatograficznej”, czyli w tym wypadku rozdziału. W związku z tym, dla wskazanych rysunków sugerowałabym tytuły: „Przykładowy rozdział chromatograficzny...”, czy „Przykładowy chromatogram związków...”.

Metody analizy sensorycznej zastosowane przez Doktorantkę do przeprowadzenia oceny sensorycznej zostały dobrane właściwie i opisane zrozumiale. Pragnę zaznaczyć, że jestem pełna uznania dla zastosowania szerokiego wachlarza metod analizy sensorycznej serów oraz trudu włożonego przez Doktorantkę w omówienie uzyskanych wyników. Niemniej mam drobne uwagi dotyczące badań sensorycznych serów. Np. przy opisie metody QDA zabrakło informacji nt. czasu (okresu) trwania oceny, jak również ilości serii testów różnicowych. Tabela 2 zawierała określenia brzegowe pogrupowane według wzrastającej intensywności danego wyróżnika. Idąc takim tokiem rozumowania określenia brzegowe znajdujące się w wierszu trzecim (dotyczącym regularności kształtu oczek) powinny zostać zamienione miejscami.

Dobór metod statystycznych jest właściwy i dowodzi opanowania przez Doktorantkę warsztatu analizy statystycznej. Na szczególną uwagę zasługuje zastosowanie analizy chemometrycznej w postaci nieparametrycznego testu PCA (tj. analizy składowych głównych).

„Wyniki i dyskusja” to najobszerniejszy rozdział rozprawy doktorskiej. Rezultaty omówiono w przejrzysty sposób, a podział na podrozdziały znacznie ułatwił śledzenie wyników analiz uzyskanych w poszczególnych etapach pracy. Doceniam trud wniesionej pracy, dociekliwość i konsekwencję Doktorantki w badaniach poświęconych identyfikacji związków lotnych, kwasów tłuszczowych, wolnych aminokwasów, amin biogennych w: mleku, ziarnie serowym, ementalerze podczas dojrzewania oraz serach z Zakopanego, francuskim i szwajcarskim. Muszę jednak zwrócić uwagę na niekonsekwencję Doktorantki w

kwestii nazewnictwa związków chemicznych oraz posługiwania się aktualną nomenklaturą. Dotyczy to związków chemicznych, dla których nie stosuje się nazw zwyczajowych. Jako przykład wymienię podanie przez Doktorantkę nazwy związku np. 1-okten-3-ol (nazewnictwo poprawne), ale 2-heptanol (zamiast heptan-2-ol), czy 3-metylo-2-butenol (zamiast 3-metylo-2-buten-2-ol) (strona 111 pracy). W związku z tym sugerowałabym zweryfikowanie tekstu pracy oraz tabel zawierających nazwy związków wywierających wpływ na walory smakowo-zapachowe sera i uaktualnienie nazewnictwa według obowiązujących zasad.

Jak już wspomniałam, na szczególną uwagę zasługuje analiza chemometryczna, tj. PCA wykonana przez Autorkę pracy w celu wykazania różnic między analizowanymi ementalerami. Analiza ta chociaż „technicznie” łatwa do przeprowadzenia, może – poprzez zastosowanie nieprecyzyjnych pojęć – prowadzić do mylenia jej z analizą czynnikową (FA, ang. Factor Analysis), która nie jest metodą w pełni tożsamą z PCA, chociaż uzyskiwane wyniki są bardzo zbliżone. Zalecałabym Autorce pracy używanie pojęcia „składowa główna” zamiast zamiennie „zmienna czynnikowa”/”czynnik” (strony 134, 138, 139, 141, 142). Idea metody PCA jest redukcja zmiennych rzeczywistych do składowych głównych (inaczej liniowych kombinacji zmiennych wejściowych) i objaśnienie zmienności. W przypadku FA poszukujemy czynników pozwalających na wyjaśnienie korelacji między zmiennymi. Różnice między analizą składowych głównych a analizą czynnikową dość trafnie opisuje sentencja: *„zmiennie tworzą składowe, zaś czynniki budują zmiennie”* [Kim, 2008. Common factor analysis versus principal component analysis: choice for symptom cluster research. *Asian Nursing Research*, 2, 17-24]. Moje krótkie wyjaśnienie różnic między PCA oraz FA ma na celu zwrócenie uwagi Doktorantki na problem, zwłaszcza podczas redagowania publikacji z tego zakresu tematycznego i w niczym nie umniejsza wartości oraz interpretacji wyników uzyskanych na podstawie przeprowadzenia ww. analizy chemometrycznej. Badanie to zdecydowanie ułatwiło Autorce odróżnienie ementalera polskiego, szwajcarskiego oraz francuskiego biorąc pod uwagę ich profile związków lotnych, zawartość związków smakowo-zapachowych i ocenę sensoryczną.

Po przeczytaniu rozdziału „Wyniki i dyskusja” mam również uwagi ogólne. Moim zdaniem tytuł tabeli 22 powinien brzmieć „Wyniki oceny sensorycznej uzyskane za pomocą metody profilowania konwencjonalnego serów...etc.” zamiast „Wyniki oceny organoleptycznej...”. Natomiast Tabele 16-24 z wyrażonymi liczbowo wynikami pomiarów analitycznych powinny posiadać objaśnienie liczb poprzedzonych znakami „±” (czy

Doktorantka miała na myśli wartości odchyłeń standardowych, czy inne parametry statystyczne?”).

Rozdział zatytułowany „Wnioski” upoważniają mnie do stwierdzenia, że cel pracy został przez Doktorantkę osiągnięty. W oparciu o postawione hipotezy badawcze powstało 10 wniosków oraz 2 wnioski praktyczne. Należy podkreślić fakt, że wnioski praktyczne to zalecenia dla producentów ementalera w Polsce odnośnie optymalizacji okresu dojrzewania do trzech miesięcy ze względu na osiągnięcie właściwych proporcji kwasu propionowego do octowego oraz braku uzasadnienia do prowadzenia dojrzewania sera do 6 miesięcy z powodów mających wpływ na cechy sensoryczne (pozytywne i negatywne). Dlatego stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca pogłębia wiedzę na temat charakterystyki sensorycznej sera ementalerskiego produkcji polskiej - łączy osiągnięcia biochemii, analityki chemicznej, chemometrii (analiza składowych głównych) i chemoinformatyki (wykorzystanie bazy danych widm masowych) z praktycznym ich wykorzystaniem w przetwórstwie mleka oraz serowarstwie.

Uwagi ogólne, jakie mam odnośnie całej pracy dotyczą występujących nielicznych błędów edytorskich. Zauważyłam dwa sposoby zapisu nazwy sera ementalerskiego („ementaler” i „Ementaler”), błędy w zapisie sformułowania nazwiska Pearson (w pracy również: Paerson), czy Baryłko-Pikielna (w pracy: Bryłko-Pikielna) oraz kilka błędów składni.

Reasumując, pracę przeczytałam z przyjemnością. Doceniam jej staranność oraz walory estetyczne, zaś uwagi zawarte w mojej recenzji mają charakter komentarzy oraz sugestii związanych z ewentualnym wykorzystaniem zgromadzonego materiału do późniejszych publikacji. Na podstawie dysertacji wyrażam pogląd, że Doktorantka jest osobą przygotowaną do prowadzenia badań, dysponuje wieloaspektową wiedzą w obszarze przedstawianego zagadnienia oraz umie w jasny sposób prezentować wyniki swoich obserwacji i formułować wnioski. Ponadto Autorka wykazała się umiejętnością analitycznego podejścia do swoich wyników w odniesieniu do prac innych autorów.

Wysoki poziom naukowy pracy doktorskiej Pani mgr inż. Agnieszki Pluta-Kubicy stał się impulsem zachęcającym mnie do zadania Jej następujących pytań:

Podczas procesów proteolitycznych zachodzących w serach powstają peptydy. Co można powiedzieć o ich aktywności biologicznej oraz kształtowaniu wrażeń smakowych? W jaki sposób czas dojrzewania serów wpływa na bioaktywność peptydów?

Jakie są Pani zdaniem perspektywy zastosowania wyników Pani badań w tzw. food-pairing?

Ocena kwalifikacyjna i wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. inż. Agnieszki Pluta-Kubicy pt.: „*Powstawanie i charakterystyka związków smakowo-zapachowych sera ementalskiego produkowanego w Polsce*” spełnia wymogi zawarte w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003, Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora.

Z powyższych powodów zwracam się do Pani Dziekan oraz Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie z wnioskiem o **dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Pluta-Kubicy do dalszych etapów przewodu doktorskiego celem nadania Jej stopnia doktora nauk rolniczych oraz proponuję wyróżnienie pracy.**

Anna Iwaniak