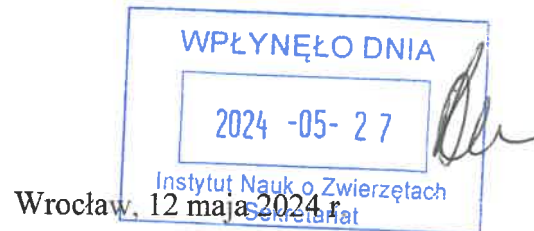


Prof. dr hab. Ewa Łukaszewicz
Zakład Hodowli Drobiu
Instytut Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu



Recenzja rozprawy doktorskiej

Pana mgr. inż. Wojciecha Wójcika pt.: „Wpływ suplementacji β -alaniną i wyciągiem z czosnku w paszy na ograniczenie poziomu amin biogennych w mięśniach szkieletowych kurcząt brojlerów”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Moniki Łukasiewicz-Mierzejewskiej, prof. SGGW – promotora pracy oraz dr. hab. Krzysztofa Damaziaka, prof. SGGW – promotora pomocniczego

w Katedrze Hodowli Zwierząt Instytutu Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Podstawą opiniowanej rozprawy doktorskiej jest pięć, spójnych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2021-2024, w renomowanych, wysoko punktowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych posiadających wskaźnik oddziaływania (IF), określonych przez Doktoranta wspólnym tytułem: „Wpływ suplementacji β -alaniną i wyciągiem z czosnku w paszy na ograniczenie poziomu amin biogennych w mięśniach szkieletowych kurcząt brojlerów”, są to:

1. **Wójcik W.**, Łukasiewicz M., Puppel K. 2021. Biogenic amines: formation, action and toxicity – a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101, 7, 2634-2640 (100 pkt. MNiSW, IF 3,638),
2. **Wójcik W.**, Łukasiewicz-Mierzejewska M., Damaziak K., Bień D. 2022. Biogenic Amines in Poultry Meat and Poultry Products: Formation, Appearance and Methods of Reduction. *Animals* 2022, 12, 1577 (100 pkt. MNiSW, IF 2,752),
3. **Wójcik W.**, Damaziak K., Łukasiewicz-Mierzejewska M., Świder O., Niemiec J., Wójcicki M., Roszko M., Gozdowski D., Riedel J., Marzec A. 2023. Correlation between Biogenic Amines and Their Precursors in Stored Chicken Meat. *Applied Sciences* 13, 22), 12230 (100 pkt. MNiSW, IF 2,700),

4. **Wójcik W.**, Damaziak K., Łukasiewicz-Mierzejewska M., Świder O., Niemiec J., Wójcicki M., Roszko M., Gozdowski D. 2023. Dietary supplementation broilers with β -alanine and garlic extract improves production results and muscle oxidative status. *Animal Science Papers and Reports* 41, 4, 359-376 (100 pkt. MNiSW, IF 1,000),

5. **Wójcik W.**, Świder O., Łukasiewicz-Mierzejewska M., Damaziak K., Riedel J., Marzec A., Wójcicki M., Roszko M., Niemiec J. 2024. Content of amino acids and biogenic amines in stored meat as a result of a broiler diet supplemented with β -alanine and garlic extract. *Poultry Science*, 103319 (140 pkt. MNiSW, IF 4,400).

Impact Factor prac uwzględnionych w dysertacji doktorskiej (według Journal Citation Reports i zgodnie z rokiem publikacji) waha się od 1,000 do 4,400 i wynosi łącznie **14,49**, a łączna punktacja według wykazu czasopism punktowanych, określonego przez Ministra Edukacji i Nauki (wcześniej Ministra Nauki i Szkolnictwa wyższego) wynosi **540 pkt.**

Publikacje stanowiące rozprawę doktorską są 3-9 autorskie, w każdej z nich Doktorant jest pierwszym autorem i (za wyjątkiem pierwszej pracy w której autorem korespondencyjnym jest promotorka) autorem korespondencyjnym. Oświadczenia Współautorów o zakresie udziału merytorycznego oraz podanymi przez NICH procentowymi udziałami w powstaniu poszczególnych publikacji dobitnie i jednoznacznie świadczą o dominującej roli Doktoranta w ich tworzeniu i opracowaniu, określonej na poziomie 79-91%.

Pomimo iż skany artykułów ujętych jako rozprawa doktorska zostały w całości zamieszczone w pracy, Doktorant w bardzo staranny i dokładny sposób, na 43 stronach A4, opisał zagadnienia poruszone w tychże publikacjach w formie „klasycznej” rozprawy doktorskiej zawierającej: Streszczenie; Summary; Wstęp (poprzedzony wykazem stosowanych skrótów i wprowadzający czytelnika w podstawowe zagadnienia związane z tematyką dysertacji doktorskiej); Hipotezę badawczą, cel pracy oraz zakres badań; Metodykę badań (z rozbiem na dwa doświadczenia i dokładnym opisem zastosowanych metod analitycznych); Omówienie głównych wyników prac eksperymentalnych (poziom amin biogennych i aminokwasów w mięśniach piersiowych i nóg kurcząt brojlerów, wpływ dodatku różnych poziomów ekstraktu z czosnku i β -alaniny na wskaźniki produkcyjne oraz szeroko rozumianą jakość mięśni piersiowych i nóg przechowywanych w warunkach chłodniczych do 10 dni po uboju); Podsumowanie; Wnioski (proponowałabym połączyć te rozdziały, bowiem np. stwierdzenie „Zaobserwowano wyższy poziom białka i karnozyny w mięśniach piersiowych i nóg w grupach żywionych jednocześnie dietą z oboma dodatkami niż w przypadku zastosowania suplementacji pojedynczego dodatku. Wzbogacenie mięsa w zawartość

karnozyny może być ważne dla konsumentów interesujących się żywnością funkcjonalną, a mięśniom wzbogaconym w biologicznie aktywne dipeptydy można przypisać ten status” - jest bardziej wnioskiem, natomiast stwierdzenie: „Poziom BA wzrastał wraz z czasem przechowywania mięśni piersiowych i mięśni nóg” - jest podsumowaniem/stwierdzeniem, a nie wnioskiem); Zalecenia praktyczne (uważam je za niezwykle cenne); Bibliografię (obejmującą 68 pozycji, w przeważającej liczbie anglojęzycznych); Skany publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz Oświadczenia wszystkich współautorów.

Tematyka podjętych badań jest bardzo aktualna, a jej realizacja została przeprowadzona na wysokim poziomie naukowym i merytorycznym, o czym świadczy ranga czasopism, w których opublikowano wyniki tych badań. Niezmiennie od wielu lat Polska jest europejskim liderem w produkcji mięsa drobiowego (głównie kurcząt i indyków), stąd dbałość o jego wysoką jakość i renomę jest priorytetowa. Z drugiej strony, z uwagi na walory zdrowotne i kulinarne (jak również cenę), na całym świecie wzrasta konsumpcja mięsa drobiowego, a równocześnie konsumenci coraz większą uwagę zwracają na bezpieczeństwo spożywanych produktów, zarówno pochodzenia zwierzęcego jak i roślinnego. Z powyższych względów wszelkie próby zmierzające do zwiększenia opłacalności i efektywności produkcji, w omawianej pracy - kurcząt brojlerów, przy zachowaniu wysokiej jakości i zdolności przechowalniczej surowca są niezmiernie istotne.

Biorąc pod uwagę zmniejszającą się wartość kulinarną (czy wręcz pojawiającą się szkodliwość) mięsa kurcząt brojlerów spowodowaną wydłużającym się okresem jego przechowywania Doktorant postawił sobie za cel dogłębne poznanie, początkowo teoretycznie, procesów zachodzących podczas przechowywania, a następnie podjęcie próby ograniczenia niekorzystnych zmian spowodowanych przechowywaniem, poprzez zastosowanie przeciwutleniaczy - ekstraktu z czosnku lub/i beata-alaniny.

Badania eksperymentalne zostały poprzedzone dwiema publikacjami przeglądowymi, w pierwszej z nich (Biogenic amines: formation, action and toxicity – a review; *Journal of the Science of Food and Agriculture*) szczegółowo scharakteryzowano wybrane aminy biogenne, omówiono ich podział, mechanizm działania i ich toksyczność, a także podano bezpieczny poziom amin w żywności. W drugiej pracy (Biogenic Amines in Poultry Meat and Poultry Products: Formation, Appearance and Methods of Reduction; *Animals*) autorzy skupili się na powstawaniu amin biogennych w mięsie i produktach drobiarskich oraz sposobach ich redukcji. Obie prace świadczą o szerokiej wiedzy oraz doskonałym, teoretycznym przygotowaniu Doktoranta do podjętej tematyki badawczej. W konsekwencji pozwoliło to prawidłowe

zaplanowanie i konsekwentną realizację zadań badawczych, których wyniki zaprezentowano w trzech dalszych publikacjach.

W pierwszym doświadczeniu (którego wyniki opublikowano w *Applied Sciences* „Correlation between Biogenic Amines and Their Precursors in Stored Chicken Meat”), analizowano tworzenie się amin biogennych i ich aminokwasów prekursorowych w mięsie nóg i piersi kurcząt linii Ross 308, odchowywanych do 42 dnia życia, żywionych paszą bazującą na pszenicy, poekstrakcyjnej śrucie sojowej i kukurydzy, przechowywanym w warunkach chłodniczych (temp. ok 2°C) przez 1, 3, 5, 7 i 10 dni. W zhomogenizowanych próbkach, po przyjętym okresie przechowywania badano między innymi: poziom amin biogennych (HIS-BA, PUT-BA, CAD-BA, TYR-BA, PHE-BA, TRP-BA, AGM-BA, SPM-BA, SPD-BA, index BAI, poziom prekursorów wybranych aminokwasów (Arg, Lys, His, Tyr, Phe, Trp, Orn) oraz sumę prekursorów amin wchodzących w skład indeksu amin biogennych (BAI). Wprawdzie analiza wskaźników produkcyjnych nie była przedmiotem tego doświadczenia uważam że tego typu dane pozwalają na ogólną ocenę efektywności odchowu i należałoby je podawać. Dlaczego tego nie uwzględniono? Mogę zrozumieć, że nie podano liczby odchowywanych kurcząt bowiem może to nie mieć wpływu na jakość mięsa (choć też nie zupełnie, warunki chowu są bardzo istotne). Wskaźniki odchowu określono szczegółowo w drugim doświadczeniu, stąd tym większe zdziwienie dlatego też nie w pierwszym? Zaskoczeniem było dla mnie podanie zawartości białka i tłuszczu w analizowanych mięśniach, nie w wynikach badań tylko w „Materials and Methods”.

Zgodnie z przyjętą hipotezą (a także wynikami badań innych autorów) wykazano wzrost poziomu amin biogennych (AB) w mięśniach piersiowych i nóg wraz z wydłużającym się okresem przechowywania, a jednocześnie istotne różnice ($P < 0,001$) w poziomie większości AB w zależności od rodzaju mięśni. Należy podkreślić, że autorzy określili również korelacje pomiędzy poziomem AB a ich prekursorowymi aminokwasami, co potwierdza opisany przez innych badaczy niekorzystny wpływ wysokiej zawartości tłuszczu w mięsie na proces utleniania i wzrost poziomu AB.

Znając „mechanizmy” tworzenia AB i wiedząc o ich szkodliwym wpływie na jakość mięsa kurcząt, Doktorant postawił sobie za cel podjęcie próby ograniczenia niekorzystnych skutków przechowywania mięsa poprzez zastosowanie w żywieniu kurcząt brojlerów ekstraktu z czosnku i β -alaninę. Wyniki drugiego eksperymentu opublikowano w *Animal Science Papers and Reports* „Dietary supplementation broilers with β -alanine and garlic extract improves production results and muscle oxidative status” oraz w *Poultry Science* “Content of amino acids

and biogenic amines in stored meat as a result of a broiler diet supplemented with β -alanine and garlic extract”.

Materiał doświadczalny stanowiły jednodniowe kogutki linii Ross 308 podzielone na siedem grup (proszę nie pisać „several”, każda w sześciu powtórzeniach; 25 ptaków w każdym), odchowywanych do 35 dnia życia. Nie wiem czy zwrócił na to uwagę recenzent pracy opublikowanej w *Animal Science Papers and Reports*, ale w rozdziale „Material and methods” napisano: „The nutrient composition of the basic experimental diets for different growing phases is presented in Table 1”, tymczasem w tabeli tej jest „Ingredients and chemical composition of the basal laying quails diet” Analizowano poziom 0,5 i 2,0 procentowy udział ekstraktu z czosnku lub/i β -alaniny oraz obydwie preparaty równocześnie z różnym udziałem. Co stanowiło kryterium przyjętych poziomów badanych substancji? W pierwszej publikacji szczegółowo określono wpływ zastosowanych dodatków paszowych na wskaźniki odchowu kurcząt brojlerów: masa ciała (w 0, 16, 28 i 35 dniu życia), przyrosty masy ciała (BWG), spożycie paszy (FI), wykorzystanie paszy (FCR), śmiertelność. Po 24 godzinnym schłodzeniu tuszki podano dysekcji, na podstawie której oceniano: wydajność rzeźną (z uwzględnieniem podrobów), masę mięśni nóg i piersi, a następnie, po uprzednim zhomogenizowaniu próbek, pH i skład chemiczny mięsa (zawartość białka, tłuszczu, kolagenu i wody). Nie wiem jakie znaczenie ma wyraz „oviposition” w zdaniu: „The resulting carcasses were then subjected to the oviposition cooling method for 24 h at a temperature of 4°C”(str. 363). W 1, 3, 5, 7 i 10 dniu przechowywania w temp. ok. 2°C określono poziom bioaktywnych peptydów (karnozyny, anseryny, tauryny, Q10) oraz status antyoksydacyjny (poziom MDA). W tytule Table 4 występuje samo “breast meat” podczas gdy zaprezentowane są również wyniki mięśni nóg, a w Table 5 jako „Parameters” podano tylko „Legs” a są również „meat”.

W drugiej pracy, opublikowanej w *Poultry Science*, Doktorant określił wpływ ekstraktu z czosnku i β -alaniny na zawartość aminokwasów endogennych (metionina, lizyna, histamina, tyrozyna, fenyloalanina, tryptofan, treonina, ornityna, leucyna, izoleucyna, walina arginina), egzogenne (asparagina, kwas asparaginowy, glutamina, kwas glutaminowy, seryna, β -alanina, prolina) oraz 10 amin biogennych w homogenizowanych mięśniach piersiowych i nóg przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 1, 3, 5, 7 i 10 dni.

W efekcie drugiego doświadczenia wykazano korzystny wpływ dodatku ekstraktu czosnku i β -alaniny (już na poziomie 0,5%) na masę ciała kurcząt, wykorzystanie paszy, poziom białka i amin biogennych w mięśniach piersiowych i nóg, a także status oksydacyjny mięsa, co może znaleźć praktyczne zastosowanie w przetwórstwie mięsa drobiowego.

Stwierdzono również, że dodatek samej tylko β -alaniny na poziomie 0,5% zwiększa poziom peptydów takich jak karnozyna i anseryna.

Ważnym osiągnięciem aplikacyjnym jest wykazanie, że zastosowane naturalne antyoksydanty mogą stanowić substytut dla tradycyjnie stosowanych metod zmierzających do obniżenia poziomu amin biogennych, bowiem w mięsie kurcząt żywionych paszami z 0,5% dodatkiem ekstraktu czosnku i β -alaniny i przechowywanym 10 dni, stwierdzono najniższy indeks amin biogennych (BAI).

Zażywszy na fakt, że smakowitość mięsa jest bardzo istotna z kulinarnego punktu widzenia, mam pytanie czy przeprowadzono analizę organoleptyczną mięsa pochodzącego od kurcząt żywionych paszą z 2,0% dodatkiem czosnku?

Pragnę podkreślić, że przy realizacji obydwu doświadczeń, mgr inż. Wojciech Wójcik zastosował i samodzielnie wykonał wiele analiz, z wykorzystaniem najnowocześniejszej aparatury badawczej, takiej jak Food Scan™ Analyzer (analiza chemiczna mięsa), chromatograf cieczowy (aminy biogenne, aminokwasy i bioaktywne peptydy) oraz analizator NanoQuant Infinite M200 PRO (stężenie MDA). Odpowiednie przygotowanie próbek do tychże analiz wymaga nie tylko doskonałej wiedzy i umiejętności, ale również czasu i cierpliwości.

Biorąc powyższe po uwagę, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska mgr. inż. Wojciecha Wójcika pt.: „Wpływ suplementacji β -alaniną i wyciągiem z czosnku w paszy na ograniczenie poziomu amin biogennych w mięśniach szkieletowych kurcząt brojlerów”, spełnia warunki stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora określone w art. 187 ust. 1 i 2 *Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2023, poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo SGGW w Warszawie, o dopuszczenie Pana mgr. inż. Wojciecha Wójcika do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uwzględniając szeroki zakres prowadzonych analiz, które wymagały znacznej wiedzy oraz dużych umiejętności manualnych i zaangażowania Doktoranta, a także wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej, co potwierdzają wysokie wskaźniki naukometryczne czasopism naukowych, w których opublikowane prace stanowiące rozprawę doktorską, wnioskuję do Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo SGGW w Warszawie

o wyróżnienie dysertacji i równocześnie gratuluję opiekunom naukowym zdolnego i pracowitego Doktoranta.

Szkoda, że recenzent pracy doktorskiej nie ocenia również dorobku naukowo-publicacyjnego i organizacyjnego Doktoranta, który w przypadku Pana mgr. inż. Wojciecha Wójcika jest godny podziwu i świadczy o Jego niezwyklej pracowitości i szerokim spektrum zainteresowań naukowych.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lukaszewicz', is positioned on the right side of the page.