



Lublin, dn. 15 maja 2024 r.

Prof. dr hab. Justyna Batkowska
Zakład Doskonalenia Zwierząt i Drobiarstwa
Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Wojciecha Stanisława 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 oraz dr hab. Krzysztofa Damaziaka prof. SGGW w Katedrze Hodowli Zwierząt Instytutu Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Ocena formalna

Recenzję wykonano na zlecenie dr hab. Marcina Gołębińskiego prof. SGGW, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (pismo z dn. 24 kwietnia 2024 r.), zgodnie z wymogami określonymi w art. 187 ust. 1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023, poz. 742) oraz §9. Regulaminu przeprowadzania postępowań w sprawie nadania stopnia doktora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wprowadzonego uchwałą Nr 89-2022/2023 Senatu SGGW z dnia 26 czerwca 2023 r. Przedstawiona do oceny praca spełnia warunki formalne określone w powyższych aktach prawnych. Otrzymane materiały zostały przygotowane w sposób umożliwiający właściwą i pełną ich ocenę oraz zapoznanie się z istotą rozprawy doktorskiej.

Podstawą do ubiegania się przez mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika o dopuszczenie do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo stanowi pięć prac:

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, doi: 10.1002/jsfa.10928 (IF 4,10; 100 pkt. MNiSW);
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*, 12(12), 1577, doi: 10.3390/ani12121577 (IF 3,00; 100 pkt. MNiSW);
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, doi: 10.3390/app132212230 (IF: 2,70; 100 pkt. MNiSW);

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, doi: 10.2478/aspr-2023-0017 (IF: 1,00; 100 pkt. MNiSW);
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*, 103(2), 103319, doi: 10.1016/j.psj.2023.103319 (IF: 4,40; 140 pkt. MNiSW).

Wszystkie prace opublikowano w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR). Na dzień sporządzenia dokumentacji ich sumaryczny współczynnik wpływu (Impact Factor) wynosił 15,20 (w opracowaniu podano 14,49) przy liczbie 540 pkt MEiN/MNiSW. Oświadczenia współautorów publikacji wskazują na bardzo duże zaangażowanie Doktoranta i Jego wiodący wkład w powstanie wszystkich prac. Brał On udział w opracowaniu (pierwotnej) koncepcji pracy/doświadczenia (prace 1 - 5), przeprowadzeniu analiz (praca 3), administrował powstanie manuskryptu (prace 4, 5), walidował dane (praca 4), partycypował w pisaniu manuskryptu (prace 2 - 5), odpowiadał za proces redakcyjny (praca 3), korektę manuskryptu (praca 1) oraz odpowiadał na recenzję (prace 1, 2, 4, 5). Uwagę zwraca procentowy udział Doktoranta w poszczególnych opracowaniach wynoszący średnio ponad 85% i mimo, że formalnie oświadczenia nie wzbudzają zastrzeżeń, to jednak wydaje się on nieco zawyżony, zwłaszcza w pracach badawczych wymagających chowu ptaków (4, 5).

Problem naukowy i znaczenie badań

We współczesnych, wysokorozwiniętych społeczeństwach odnotowuje się wzrost częstotliwości występowania tzw. chorób cywilizacyjnych, przy jednoczesnym zwiększeniu popytu na żywność wygodną (łatwą i szybką w przygotowaniu), ale o poprawionych właściwościach odżywczych, pozwalających zbilansować dietę i pokryć ewentualne niedobory pokarmowe. W tym kontekście mówi się o żywności funkcjonalnej, wzbogaconej w substancje, których niedobór najczęściej dotyka konsumentów. W przypadku surowców drobiarskich najczęściej przedmiotem modyfikacji na drodze żywieniowej są jaja kurze, wprowadza się do nich mikroelementy, obniża poziom cholesterolu w żółtku czy zwiększa udział nienasyconych kwasów tłuszczowych głównie z grupy n3. Jednak na skutek rozwoju gospodarczego w wielu krajach wciąż rośnie spożycie mięsa i odnotowuje się zwiększony popyt na ten surowiec, ale o poprawionych właściwościach. Tu najczęstszym przedmiotem zmian jest profil kwasów tłuszczowych, zawartość substancji bioaktywnych (cynku, selenu, probiotyków, witaminy E), poziom energii czy ograniczenie zawartości wybranych związków (chlorek sodu, fosforany etc.) w mięsie.



W te trendy wpisuje się oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika, w której materiałem do badań było mięso drobiowe, bezsprzecznie jeden z najbardziej popularnych rodzajów mięsa z uwagi na niski koszt produkcji, przystępną cenę, dostępność i krótki czas przygotowania, ale także walory żywieniowe i dietetyczne. Podjęto próbę ograniczenia zawartości substancji potencjalnie szkodliwych i niebezpiecznych dla zdrowia konsumentów tj. amin biogennych, na których pochodzenie, właściwości, w tym toksyczność, a także sposoby ograniczania położono nacisk w pracach przeglądowych. Dodatek β -alaniny zwiększył zawartość karnozyny w mięsie obniżając jednocześnie poziom amin. Karnozyna, której naturalnym źródłem jest czerwone mięso, wpływa korzystnie na metabolizm białek oraz wykazuje działanie antyoksydacyjne. Dzięki temu spowalnia ona procesy starzenia organizmu i chroni przed uszkodzeniami wywołanymi stresem oksydacyjnym, zaś w kontekście mięsa może poprawiać jego status oksydacyjny i w ten sposób przyczynia się do wydłużenia czasu jełczenia tłuszczu i reakcji utlenienia w czasie przechowywania, nadając mięsu lepszą trwałość. Doktorant zdecydował o połączeniu β -alaniny z wyciągiem z czosnku, jako źródłem silnych, naturalnych przeciwutleniaczy. Czosnek pospolity (*Alium sativum*), to jedna z najpopularniejszych roślin stosowanych jako źródło naturalnych substancji leczniczych o szerokim spektrum działania. Z uwagi na potencjał antymikrobiologiczny, niejednokrotnie znajduje on zastosowanie w produkcji zwierzęcej jako rodzaj naturalnego antybiotyku. Skuteczność w tym zakresie jest różna, w zależności od rozpatrywanej substancji bioaktywnej, jednak w ujęciu generalnym nie można mu odmówić właściwości antywirusowych, antygrzybiczych, czy przeciw pasożytniczych, ale także działania hepatoprotekcyjnego, przeciwzapalnego, immunostymulującego, przeciwmiażdżycowego, przeciwzakrzepowego i antyoksydacyjnego. Ponadto bioaktywne substancje czosnku przyczyniają się do obniżenia ciśnienia oraz poziomu cukru we krwi.

Tym samym tak oryginalne połączenie (β -alaniny i wyciąg z czosnku) bardzo kompleksowo przyczyniło się do poprawy zarówno statusu zdrowotnego kurcząt, ale także jakości, a przede wszystkim trwałości i właściwości prozdrowotnych pozyskanego mięsa. Na uwagę zasługuje aspekt aplikacyjny badań przeprowadzonych przez Doktoranta, wyrażony w formie praktycznych zaleceń co do składu paszy dla kurcząt, mającej na celu taką ich suplementację, by uzyskać nie tylko opisane efekty produkcyjne, ale również mięso o statusie żywności funkcjonalnej.

Opis i ocena pracy

W związku z tym, że wszystkie prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika zostały opublikowane w renomowanych wydawnictwach naukowych o zasięgu międzynarodowym były one już dogłębnie oceniane zarówno pod względem merytorycznym, jak i językowym. Uzyskanie pozytywnych opinii niezależnych recenzentów, specjalistów z zakresu podjętej tematyki, potwierdza rzetelność prac oraz ich dużą wartość naukową. Stanowią one kompendium wiedzy na temat amin biogennych w mięsie drobiowym, a także opis podjętych badań obejmujących analizę powstawania tych związków w przechowywanym mięsie kurcząt, a także możliwości jego ograniczania poprzez

odpowiednią suplementację ptaków, przy czym wykorzystano innowacyjną kombinację dodatków paszowych tj. β -alaniny i/lub ekstraktu z czosnku. Aby uniknąć powielania pracy recenzentów poszczególnych artykułów, poniższa ocena koncentruje się głównie na tej części dysertacji, która stanowi samodzielny wkład Doktoranta i łączy opisy zrealizowanych przez Niego badań.

Oceniana rozprawa doktorska zawiera formalne oświadczenia Promotora odnośnie oryginalności pracy i samodzielności Doktoranta w zakresie jej powstania, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, wykaz artykułów wchodzących w skład dysertacji, listę wykorzystanych w pracy skrótów literowych, wstęp (7 stron), hipotezy badawcze poprzedzające cel pracy oraz 2 opisy metodyki badań w podziale na poszczególne doświadczenia. Główne wyniki prac doświadczalnych omówiono na 7 stronach, po których zamieszczono podsumowanie, 7 wniosków oraz zalecenia praktyczne. Zacytowane w dysertacji 68 pozycji piśmiennictwa to w ponad 90%-ach prace anglojęzyczne opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Zostały one dobrane właściwie do podjętego tematu i prawidłowo wykorzystane w tekście pracy. Dysertacja zawiera także kopie pięciu artykułów naukowych, stanowiących cykl publikacji i oświadczenia ich współautorów odnośnie wkładu w powstanie poszczególnych opracowań, a także oświadczenie Autora o wyrażeniu zgody na udostępnienie pracy w bibliotece SGGW. Sumarycznie przesłany do oceny maszynopis liczy 149 stron.

Wstęp jest napisany zrozumiałym i dość precyzyjnym językiem i pokazuje, że Doktorant potrafi sprawnie posługiwać się piśmiennictwem obcojęzycznym oraz konstruować poprawny tekst naukowy, motywując obrany kierunek badań.

Dalsza część pracy doktorskiej koncentruje się głównie na pracach badawczych (3-5), ograniczając nawiązanie do prac przeglądowych (1-2) do 1 zdania na str. 17. Tymczasem opublikowanie dobrego, sądząc po liczbie cytowań, artykułu przeglądowego należy uznać za znaczące osiągnięcie, chociaż można dyskutować, czy zasadnym było włączenie obu prac do dysertacji, zwłaszcza, że Doktorant nie motywuje tego w żaden szczególny sposób. Prace te to staranne opracowania dotyczące amin biogennych, w których w oparciu o relatywnie nowe piśmiennictwo omówiono właściwości tych związków oraz zagrożenie jakie stanowią dla konsumenta. Wskazano także czynniki, od których zależy zawartość amin w żywności, zwłaszcza w mięsie drobiowym. Opisano sposoby monitorowania i oznaczania zawartości amin, a także metody ograniczania ich ilości wskazując jednocześnie na konieczność opracowania nowoczesnych, precyzyjnych i łatwych w aplikacji metod detekcji, ale także popularyzacji wiedzy i zwiększania świadomości konsumentów w zakresie możliwego zanieczyszczenia żywności i właściwości prozdrowotnych mięsa drobiowego.

Omawiając prace o charakterze eksperymentalnym (3-5) postawiono dwie prawidłowe hipotezy badawcze, a na ich podstawie sprecyzowano cel pracy, natomiast zamieszczony pod nim zakres badań można chyba uznać za zbędny, zwłaszcza, że został on w znacznym stopniu powtórzony na początku opisu **Metodyki badań**. Ten rozdział podzielono wg przeprowadzonych doświadczeń, pierwsza część (3.1.) dotyczy badania zmian zawartości amin biogennych w mięsie drobiowym w czasie przechowywania i w zależności od rodzaju

mięsa, zaś w drugiej części (3.2.) oprócz przechowywania uwzględniono także suplementację ptaków β -alaniną i/lub wyciągiem z czosnku. Wydaje się, że graficzne zaprezentowanie układów doświadczalnych zdecydowanie ułatwiło by analizę poszczególnych badań. Metody laboratoryjne przedstawiono bardzo szczegółowo z dokładnym wykazem wykorzystanych reagentów oraz aparatury badawczej.

Wyniki badań Doktorant omówił w podziale na 3 doświadczenia wg kolejności publikacji (prace 3-5). Wydaje się, że zdecydowanie wygodniej dla czytelnika, byłoby jednak zaprezentować wybrane (najważniejsze?) wyniki w formie tabelarycznej lub graficznej, niż ograniczać się wyłącznie do ich opisu tekstowego, mimo, że omówiono je w sposób prawidłowy z wykorzystaniem słownictwa specjalistycznego, właściwego dla dyscypliny naukowej. Doktorant opisał istotne statystycznie różnice wynikające z zastosowania czynników doświadczalnych, zwraca też uwagę na zaobserwowane zależności pomiędzy cechami. Jednak nie zawsze wspomniane w tekście cechy uległy poprawie, jak to miejscami sugeruje opis, czy modyfikacji ze względu na czynniki doświadczalne (np. wydajność rzeźna, oryginalnie $p=0.345$). Oczywiście jest, że Autor próbował uniknąć powtarzania danych już zaprezentowanych w artykułach, ale obecna forma wymaga dość pracochłonnej analizy poszczególnych punktów opisu równoległe z właściwą publikacją, podczas gdy autoreferat w moim odczuciu powinien by informatywny samodzielnie. Same wyniki badań należy uznać za ważne i innowacyjne, *novum* w tym wypadku stanowi oryginalna kombinacja dodatków paszowych: β – alaniny i wyciągu z czosnku. Doktorant wykazał, że miały one pozytywny wpływ zarówno na wyniki produkcyjne kurcząt rzeźnych, ale poprawiły także status oksydacyjny pozyskanego mięsa przyczyniając się do spowolnienia procesu powstawania w nim amin biogennych.

W **podsumowaniu** Doktorant stwierdza, że poziom amin biogennych wzrastał wraz z czasem przechowywania chłodniczego mięsa drobiowego. Dodatkowo jednoczesne zastosowanie obu dodatków paszowych tj. β – alaniny i wyciągu z czosnku w ilości po 0,5% miało wpływ na zahamowanie wzrostu wskaźnika reakcji redox (MDA) oraz ograniczenie ilości amin (indeks BAI) w przechowywanych mięśniach piersiowych kurcząt. Oba te stwierdzenia wskazują na potwierdzenie postawionych uprzednio hipotez badawczych i zrealizowanie celu pracy. Wydaje się, że można by było nie wydzielać osobnego **podsumowania i wniosków** gdyż część stwierdzeń się powtarza, mogą zatem zostać scalone w jedną całość. Za bardzo ważne należy natomiast uznać kończące dysertację praktyczne zalecenia dla producentów pasz i drobiu dotyczące wprowadzenia analizowanych dodatków do paszy komercyjnej, co pozwoliłoby na pozyskiwanie mięsa drobiowego o statusie żywności funkcjonalnej tzn. wzbogaconego w karnozynę oraz o obniżonej zawartości amin biogennych, co zyskuje na ważności z punktu widzenia ochrony zdrowia konsumentów i pokryciu ich zapotrzebowania na żywność o właściwościach prozdrowotnych.

Uważam, że cykl publikacji składający się na pracę doktorską Pana mgr inż. Woiciecha Stanisława Wójcika, stanowi oryginalny wkład w dyscyplinę zootechnika i rybactwo. Wykonanie badań wymagało od Doktoranta dużego zaangażowania i wkładu pracy, współpracy z innymi członkami zespołu badawczego oraz dobrej znajomości technik i metod



laboratoryjnych. Jednak, mimo, że jestem pod bardzo pozytywnym wrażeniem zarówno samych prac stanowiących dysertację, jak i profesjonalizmu głównego Autora, z obowiązku recenzenta proszę o odniesienie się do poniższych uwag:

1. Brakuje informacji odnośnie zastosowanych dodatków tj. β -alaniny i wyciągu z czosnku. W pracach zamieszczono informację, że pochodzą one z zakupu (podano nazwy producentów), ale nie wyjaśniono czy były one w formie płynnej, czy sypkiej? na jakim etapie przygotowywania mieszanek paszowych je dodano, przed, czy po granulacji, a może stosowano pasze sypkie? Czy wyciąg z czosnku był czystym preparatem, czy zawierał np. dodatki konserwujące lub zapobiegające zbrylaniu? Czy próby preparatu czosnkowego, mimo komercyjnego pochodzenia, poddano analizom w kierunku zawartości substancji bioaktywnych?
2. Tytuł **podrozdziału 2** nie odpowiada treści. Wydaje się, że bardziej prawidłowe byłoby jego zapisanie jako „Hipotezy badawcze i cel pracy”, ponieważ hipotezy sformułowano dwie, zaś zakres badań można połączyć z celem pracy, albo potraktować jako cele szczegółowe.
3. Czy na pewno tuszki chłodzono owiewowo przez 24 godziny (**podrozdział 3.1**)? Jak w takim razie zapobiegano obsychaniu skóry?
4. Należy rozważyć, czy prawidłowym jest określenie mięsa drobiowego jako produktu poubojowego (**str. 17**). Chyba poprawniej byłoby określić je jako surowiec, ponieważ formalnie może być poddane wyłącznie chłodzeniu (Rozp. Nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady).
5. W podrozdziale **3.2.1.** błędnie podano, że „obliczono wydajność rzeźną, tj. udział mięśni i podrobów w stosunku do masy tuszki”. Wydajność rzeźna to stosunek masy tuszki do masy ciała zwierzęcia przed ubojem. Podobnie w relacji do masy ciała szacuje się proporcje podrobów jadalnych (serce, wątroba, żołądek mięśniowy), natomiast jako procent tuszki określa się wyłącznie poszczególne elementy czy wyręby (mięśnie piersiowe, uda, podudzia, skrzydła, korpus).
6. Czy oznaczanie kwasowości mięsa (**praca 4**) miało na celu wyłącznie porównanie tego wskaźnika w zależności od zastosowanej suplementacji? Nie podano czasu, jaki upłynął od uboju do przeprowadzenia pomiaru.
7. Analizę statystyczną opisano dwukrotnie, mimo, że tak naprawdę do opracowania danych zastosowano te same metody. W pkt **3.1.3.** błędnie w moim mniemaniu zapisano nazwę testu jako jedno- lub dwukierunkowy, przeprowadzono bowiem jedno- i dwuczynnikową analizę wariacji (z interakcją). Podobnie test Duncan’a jest testem porównań wielokrotnych (testem post-hoc), a nie testem „wielokrotnego zakresu”. Błędne nazewnictwo wynika prawdopodobnie z jego tłumaczenia z opublikowanych już w anglojęzycznej wersji prac. „Range” tu chyba przetłumaczony jako „zakres”, oznaczał raczej rangę bo test Duncana ma właśnie charakter rangowy. W pkt **3.2.4.** zdanie odnośnie zaznaczania statystycznie istotnych różnic powinno brzmieć: „Grupy jednorodne wyznaczono z wykorzystaniem testu porównań wielokrotnych Duncan’a”, z pominięciem informacji o oznaczeniach literowych.



Ponadto w dwóch pracach szacowano współczynniki korelacji pomiędzy analizowanymi cechami, ale w **pracy 5** brakuje informacji na ten temat.

8. W manuskrypcie są niewielkie błędy redakcyjne i interpunkcyjne, prawdopodobnie wynikające częściowo z dosłowności tłumaczenia (np. bioaktywne peptydy → peptydy bioaktywne). Również niektóre rozwiązania graficzne można by znacząco poprawić, np. olbrzymie podtytuły w **rozdziale 4**, zastępując je ujednoliconym oznaczeniem poszczególnych prac (np. P1, P2... etc.).

Podsumowując, powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej wartości ocenianej pracy zatem pozytywnie oceniam cykl prac mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika składający się na Jego rozprawę doktorską pt. „Wpływ suplementacji β -alaniną i wyciągiem z czosnku w paszy na ograniczenie poziomu amin biogennych w mięśniach szkieletowych kurcząt brojlerów”. Uważam, że dysertacja ta pokazuje ogólną, szeroką wiedzę Doktoranta oraz Jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, a także posiada znaczące walory poznawcze i wnosi duży wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do oceny praca doktorska spełnia wymogi wynikające z art. 187 ust. 1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2023, poz. 742) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Ponadto po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr inż. Wojciecha Stanisława Wójcika, biorąc pod uwagę aktualność podjętych zagadnień, a także wysokie walory poznawcze i potencjał aplikacyjny dla praktyki drobiarskiej, wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej.


Prof. dr hab. Justyna Batkowska

