

Prof. dr hab. Beata Szymczyk  
Zakład Fizjologii Żywienia  
Instytut Zootechniki PIB w Krakowie

## RECENZJA

Pracy doktorskiej mgr inż. Sylwii Sobolewskiej pt.: **Antyoksydanty, nienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3 i ich wpływ na profil kwasów tłuszczowych oraz jakość jaj przepiórczych,**

wykonanej w Katedrze Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa,  
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu  
pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza Ordy

Żywieniowe metody modyfikowania żywności pochodzenia zwierzęcego pozwalają na uzyskiwanie produktów o pożądanej jakości, odpowiadających współczesnym zaleceniom żywieniowym i spełniających coraz wyższe oczekiwania konsumentów.

Modyfikacja profilu kwasów tłuszczowych lipidów jaj ma na celu nie tylko zmianę proporcji nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych, ale również optymalizację stosunku wielonienasyconych kwasów z szeregu n-6 do kwasów z szeregu n-3. Wzbogacanie lipidów żółtka w wielonienasycone kwasy tłuszczowe jest możliwe za pośrednictwem różnych olejów roślinnych m. in. oleju rzepakowego, sojowego czy lnianego, stosowanych do natłuszczania mieszanek paszowych dla drobiu. Dzięki temu uzyskuje się produkty o wyższej wartości dietetycznej, mogące korzystnie oddziaływać na organizm człowieka. Na tych przesłankach opiera się produkcja tzw. „żywności funkcjonalnej, mającej za zadanie wpływać na poprawę zdrowia konsumenta oraz zmniejszać ryzyko chorób cywilizacyjnych.

Wzbogacanie lipidów żółtek jaj w wielonienasycone kwasy tłuszczowe wiąże się z ich większą podatnością na utlenianie, zmniejszeniem stabilności oksydacyjnej, czego wynikiem jest powstawanie wolnych rodników i nadtlenków kwasów tłuszczowych. Przeciwdziałać temu może dodatek do paszy syntetycznych lub, co jest bardziej bezpieczne i lepiej akceptowane przez konsumentów, naturalnych antyoksydantów. W ostatnim czasie coraz większe zainteresowanie naukowców budzą wytloki z winogron, produkt uboczny w przemyśle winiarskim, szczególnie zasobny w naturalne antyoksydanty. Wytłoki są nie tylko bogatym źródłem związków polifenolowych, ale również tokoferoli, beta-karotenu, witamin z grupy B oraz rezweratrolu, wykazującego, poza właściwościami antyoksydacyjnymi, działanie antycholesterolowe, antynowotworowe, antygrzybicze oraz przeciwzapalne. Polifenole obecne w wytlókach z winogron, stosowanych jako dodatek do paszy dla drobiu, wykazują nie tylko silne działanie antyoksydacyjne i ochronne dla wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w organizmie, ale stymulują również rozwój korzystnej mikroflory przewodu pokarmowego ptaków.

Głównym założeniem rozprawy doktorskiej Pani mgr Sylwii Sobolewskiej było wzbogacenie jaj przepiórczych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe z szeregu n-3, poprzez dodatek do paszy oleju lnianego lub rzepakowego oraz wytlóków z winogron, jako źródła antyoksydantów tak, aby uzyskane produkty miały nie tylko korzystny profil kwasów tłuszczowych, ale również wysoką stabilność oksydacyjną lipidów, przy zachowaniu

właściwych parametrów jakościowych i dobrej produktywności zwierząt. W tym kontekście podjęty przez Doktorantkę temat doskonale wpisuje się w ważną i aktualną problematykę wzbogacania w substancje aktywne biologicznie i kształtowania wartości prozdrowotnej żywności pochodzenia zwierzęcego, przy zachowaniu jej dobrej jakości.

Przedstawiona do oceny praca jest napisana starannie, strona graficzna i edytorska nie budzą zastrzeżeń. Układ redakcyjny pracy jest klasyczny, zgodny z zasadami przyjętymi dla tego typu opracowań, z podziałem na odpowiednie rozdziały i podrozdziały. Praca obejmuje łącznie 170 stron znormalizowanego wydruku komputerowego, w tym 43 tabele (32 w rozdziale Wyniki), 3 ryciny i 294 pozycje piśmiennictwa. Włączenie tabel do tekstu uważam za właściwe, dające duży komfort czytającemu. Szkoda tylko, że tabele nie są ponumerowane kolejno od 1-43, wzorem numeracji rycin. Dodatkowe ułatwienie stanowi natomiast wykaz skrótów używanych w tekście, zamieszczony na początku dysertacji.

**Tytuł pracy** znajduje odbicie w przeprowadzonych badaniach, celu i treści pracy, choć jest nieco ogólnikowy. Tytuł w brzmieniu „*Wpływ antyoksydantów i nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3 w paszy na profil kwasów tłuszczowych oraz jakość jaj przepiórczych*” bardziej precyzyjnie określałby podjętą problematykę badawczą.

**Streszczenie** jest dobrze przygotowane i stanowi wartościową część przedstawionej do oceny pracy. Uzupełnienia wymagałoby jedynie wskazanie najlepszej kombinacji zabiegów żywieniowych, pozwalającej na uzyskanie jaj przepiórczych o optymalnym profilu kwasów tłuszczowych w żółtkach, wysokiej stabilności oksydacyjnej, przy zachowaniu dobrych wskaźników produkcyjnych i właściwych cech jakościowych jaj.

**Wstęp** wprowadza czytelnika w tematykę i zakres rozprawy, czyli zagadnienia związane z modyfikowaniem poziomu nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym kwasów z szeregu n-3 w żółtkach jaj, za pośrednictwem dodatku do paszy olejów roślinnych i oleju rybnego oraz wpływu tych zabiegów na cechy jakościowe jaj. Wskazuje również na rolę antyoksydantów w zabezpieczeniu lipidów jaj o zmodyfikowanym profilu kwasów tłuszczowych przed procesami utleniania.

W bardzo obszernym rozdziale „**Przegląd literatury**”, obejmującym 32 strony maszynopisu, a składającym się z 9 podrozdziałów, z dużą znajomością piśmiennictwa zarówno krajowego, jak i zagranicznego oraz imponującą wiedzą Autorka rozwinęła problematykę, zasygnalizowaną we „**Wstępie**”. W pierwszych podrozdziałach na tle dobrze dobranych danych literaturowych Doktorantka przedstawiła dotychczasową wiedzę z zakresu podziału, syntezy i roli kwasów tłuszczowych w organizmie. W tej części rozdziału zabrakło mi sumarycznych wzorów większości omawianych kwasów tłuszczowych obok ich nazw. Dalsza część rozdziału poświęcona została wielonienasyconym kwasom tłuszczowym z szeregu n-3, ich właściwościom prozdrowotnym, możliwościom wzbogacania jaj w te kwasy na drodze żywieniowej oraz współczesnym zaleceniom żywieniowym dotyczącym stosunku kwasów tłuszczowych z szeregu n-6 do n-3 w żywności. Omówione zostały również negatywne skutki zwiększania zawartości w jajach kwasów wielonienasyconych, w postaci wzrostu intensywności utleniania lipidów i spadku stabilności oksydacyjnej. Kolejny podrozdział „Przeglądu literatury” dotyczył roli egzogennych i endogennych antyoksydantów w hamowaniu procesów lipoperoksydacji i przeciwdziałaniu stresowi oksydacyjnemu. W tym zakresie omówiony został również niekorzystny wpływ na organizm syntetycznych antyutleniaczy BHT (E321) i BHA (E320), stosowanych często jako dodatek do paszy dla

zwierząt monogastycznych. Ostatnia część tego podrozdziału zawiera charakterystykę składu wyłoków z winogron, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości związków polifenolowych oraz ich roli w organizmie jako naturalnych przeciwutleniaczy. Nie ulega wątpliwości, że w przygotowanie rozdziału „Przegląd literatury” Doktorantka włożyła wiele wysiłku, co z pewnością zasługuje na docenienie. Wydaje mi się jednak, że rozdział ten wymaga pewnego uporządkowania i usystematyzowania, ponieważ szereg informacji powtarza się w różnych podrozdziałach.

**Cel pracy** zapoznaje czytelnika z głównymi założeniami podjętych badań. W ramach wykonywanej pracy Doktorantka postawiła sobie za zadanie wykazanie, czy częściowe zastąpienie w paszy dla przepiórek oleju kukurydzianego olejem lnianym lub rzepakowym, jak również włączenie do paszy wyłoków z winogron, bogatych w naturalne antyoksydanty wpłynie na wskaźniki produkcyjne, profil kwasów tłuszczowych i stabilność oksydacyjną lipidów w żółtkach jaj przepiórczych oraz ich cechy jakościowe. Postawienie równoczesne hipotez badawczych zerowej i alternatywnej jest zasadne, choć na podstawie obszernego przeglądu literatury i wyników uzyskanych przez innych autorów można oczekiwać widocznego wpływu czynników doświadczalnych na wiele badanych parametrów.

Rozdział **Material i metody**, obejmujący 11 stron maszynopisu zawiera szczegółowy opis dwóch doświadczeń, które weszły w zakres badań. Pierwsze doświadczenie wykonano na 120 przepiórkach nieśnych w wieku początkowym 5 tygodni, przydzielonych do 4 grup żywieniowych po 30 ptaków (5 powtórzeń po 6 przepiórek). Badano wpływ wprowadzania do mieszanek paszowych 2% oleju lnianego na miejsce oleju kukurydzianego (grupa A3 i A4), stosowanego w grupach A1 i A2 na poziomie 4% oraz wyłoków z winogron dodawanych w ilości 2% do mieszanek w grupach A2 i A4, na wskaźniki produkcyjne, profil kwasów tłuszczowych i stabilność oksydacyjną lipidów w żółtkach jaj przepiórczych oraz cechy jakościowe jaj świeżych i przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 28 dni. Badano również profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość związków polifenolowych w paszy na początku doświadczenia i po upływie 28 dni przechowywania. Doświadczenie II przeprowadzono na 240 przepiórkach nieśnych przydzielonych losowo do 6 grup żywieniowych (5 powtórzeń po 8 ptaków). W tym doświadczeniu mieszanki w grupach B1 i B2 zawierały 5% oleju kukurydzianego, w kolejnych dwóch grupach (B3 i B4) 4% oleju kukurydzianego zastąpiono olejem lnianym, a w grupach B5 i B6 olejem rzepakowym. Dodatkowo mieszanki paszowe w grupach B2, B4 i B6 wzbogacono dodatkiem 4% wyłoków z winogron. Dokumentacja dotycząca materiału zwierzęcego, schematu i warunków wykonania doświadczeń, zastosowanego toku analitycznego wskazuje, że postępowanie badawcze jest poprawne i wystarczające do realizacji poszczególnych etapów badań założonych w celu pracy. Dobór ocenianych wskaźników jest trafny i w pełni uzasadniony. Przyjęte metody i techniki badawcze są nowoczesne, mieszczące się w wysokich standardach badań naukowych. Rozdział ten wymaga jednak niewielkich poprawek i uzupełnień, o niektórych wspominałam poniżej w Uwagach szczegółowych.

Rozdział **Wyniki i Dyskusja** jest bardzo obszerny i obejmuje 79 stron maszynopisu, w tym 32 tabele. Na podstawie lektury tego rozdziału oceniam, że Autorka rozwiązała wytyczony w pracy problem badawczy. W mojej opinii do najbardziej istotnych rezultatów opisanych w rozprawie należą:

- wykazanie, że dodatek do paszy dla przepiórek oleju rzepakowego lub lnianego jest efektywnym sposobem wzbogacania jaj w kwasy tłuszczowe z szeregu n-3, jednak zbyt wysoki poziom oleju lnianego (tu 4%) może pogorszyć parametry oceny sensorycznej jaj.

- stwierdzenie, że dodatek wytloków z winogron do paszy istotnie zwiększa w niej zawartość polifenoli oraz aktywność przeciwutleniającą, również po 30 dniach przechowywania paszy. Ma również istotny wpływ na wzrost poziomu kwasów z szeregu n-3 w lipidach żółtek i poprawę wyników oceny sensorycznej jaj.

**Wyniki** omówiono jasno i w logicznej kolejności. Tabele zostały przygotowane w sposób czytelny i zrozumiały, a oznaczenie istotności różnic z wyliczeń statystycznych przedstawiono prawidłowo. Sugerowałabym jednak zmianę oznaczeń grup w tabelach z A1...A4 i B1...B6 na oznaczenia literowe wskazujące na rodzaj zastosowanego dodatku do paszy np. czy OL + W (olej lniany i wytloki). Stanowiłoby to znaczne ułatwienie dla czytającego w analizowaniu wyników i nie wymagałoby sprawdzania jakich dodatków dane oznaczenie dotyczyło. Informacja o oznaczeniu istotności różnic zamieszona pod tabelami wprowadza czytelnika w błąd - średnie wartości dla grup doświadczalnych i efektów głównych przedstawiono w kolumnach, a nie jak napisano w wierszach – należy to poprawić. W mojej ocenie z korzyścią dla przejrzystości pracy byłoby zrezygnowanie ze szczegółowego podawania wartości poszczególnych parametrów charakteryzujących paszę czy jaja, ponieważ wszystkie wyniki zamieszczone są w tabelach i nie ma konieczności powielania ich w tekście. Podawanie tych danych byłoby zasadne, gdyby odnosiły się do porównania grup doświadczalnych w układzie jednoczynnikowym, która to analiza w badaniach również była wykonywana.

**Dyskusję** wyników przeprowadzono w sposób uporządkowany, zachowując logiczną i merytoryczną ciągłość omawianych problemów. Uzyskane w badaniach własnych rezultaty Autorka w sposób czytelny i interesujący zestawiała z osiągnięciami innych autorów, wykazując przy tym dużą znajomość problematyki i umiejętność wykorzystania literatury naukowej. Nie było to łatwe zadanie, przy tak dużej ilości badanych wskaźników i ich wzajemnych zależności. Moim zdaniem Dyskusja powinna jednak w kilku fragmentach zawierać nieco głębszą interpretację mechanizmów uzyskanych efektów czynników doświadczalnych.

Następny rozdział dysertacji to **Wnioski**, z których w mojej ocenie część to stwierdzenia mające formę właściwych wniosków, które stanowią odpowiedź na postawiony w pracy problem badawczy, niektóre natomiast to powielenie omówienia wyników. Brakuje tu również wniosku podsumowującego o charakterze aplikacyjnym, wskazującego kombinację zabiegów żywieniowych, pozwalającą na uzyskanie jaj przepiórczych o optymalnym profilu kwasów tłuszczowych w lipidach żółtek, bez negatywnego wpływu na wskaźniki produkcyjne i jakość jaj.

Zamieszczony „**Wykaz Piśmiennictwa**” jest bardzo liczny, obejmujący 294 pozycje, w większości anglojęzycznych, z dużym udziałem prac opublikowanych w ostatnich 10 latach. Sposób cytowania prac w tekście nie budzi zastrzeżeń. Jedyne na co mogę zwrócić uwagę to dwie drobne pomyłki - w pozycji 150 w spisie literatury poprawne nazwisko pierwszego autora – Kaya, w tekście (str. 102) zostało zmienione na Kaia, natomiast rok publikacji pracy w pozycji 73 zmieniono w tekście z 2005 na 205. Bardzo wysoko oceniam fakt, że przy tak liczny piśmiennictwie poza trzema (72, 141 i 277) wszystkie zacytowane

prace zostały uwzględnione w spisie literatury. Piśmiennictwo zostało dobrze wykorzystane, zarówno w części prezentującej aktualny stan wiedzy w zakresie podjętej problematyki, jak i dyskusji wyników własnych.

**W trakcie lektury pracy nasunęły mi się następujące uwagi szczególne, które z obowiązku recenzenta przedstawiam poniżej:**

- W rozdziale „Materiał i metody” nie znalazłam informacji o czasie trwania obu doświadczeń.
- Proszę o wyjaśnienie z czego wynikała różnica w udziale procentowym olejów w paszy dla przepiórek (odpowiednio 4 i 5%) oraz liczebności powtórzeń (6 i 8) w I i II doświadczeniu?
- Jakie były przyczyny nie uwzględnienia dodatku oleju rzepakowego w doświadczeniu I?
- Wątpliwości budzi oznaczenia pierwszego z efektów głównych w doświadczeniu I (OK, OL). Czynnikiem doświadczalnym jest dodatek 2% oleju lnianego lub jego brak w paszy (podobnie jak w przypadku wytlóków), a nie dodatek oleju kukurydzianego lub lnianego. Olej kukurydziany występuje we wszystkich mieszankach paszowych - w grupach 1 i 2 na poziomie 4%, a w grupach 3-4 na poziomie 2%, więc oznaczenie dwóch pierwszych grup OK nie jest precyzyjne.
- Tabela 4.1.2.3 przedstawiająca skład mieszanek paszowych w doświadczeniu II zawiera błędy – poziomy dodatku olejów nie odpowiadają opisowi grup żywieniowych. W konsekwencji suma składników mieszanek paszowych (poza grupą 1) nie stanowi 100 % tylko odpowiednio 96 w grupie B2 i 101% w pozostałych grupach B3-B6. Należy to skorygować.
- W tabeli 5.2.2.1. podano najwyższą zawartość polifenoli w grupie B6 w czasie T28 (1,97 mgGA/g s.m.) natomiast w opisie wyników stwierdzono, że najwięcej polifenoli zawierała pasza w grupie B4 w czasie T0 (1,50 mgGA/g s.m.)
- Szerszego omówienia wymaga kolekcja jaj do analiz - na jakim etapie trwania doświadczenia jaja były zbierane?
- Używane w tekście pracy stwierdzenie „wpływ dodatku antyoksydantów w postaci wytlóków z winogron” jest nieprecyzyjne – wytloki stanowiły źródło antyoksydantów w paszy, a nie formę antyoksydantu.
- Uzupełnienia wymagają omówienia interakcji pomiędzy czynnikami doświadczalnymi. Trudno interpretować opis interakcji typu: „Interakcja ujemna wystąpiła pomiędzy dodatkiem wytlóków z winogron do paszy, a czasem jej przechowywania”
- Stwierdzenie „ Pasza dla przepiórek nieśnych składała się głównie z kwasów tłuszczowych nienasyconych...” wymaga poprawy – dotyczy tłuszczu zawartego w paszy.
- Pozostałe drobne błędy literowe i stylistyczne zostały zaznaczone w tekście rozprawy.

Powyższe uwagi mają głównie charakter redakcyjno-techniczny i nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji. Oceniana praca Pani mgr inż. Sylwii Sobolewskiej jest wartościowym opracowaniem naukowym, stanowiącym cenne uzupełnienie badań z zakresu podjętej tematyki. Autorka wykazała się dobrą znajomością nowoczesnych technik badawczych, profesjonalnym i przemyślanym podejściem do podjętego problemu oraz rzetelnością w realizacji badań. Uzyskane wyniki są wartościowe i po wprowadzeniu

zasugerowanych przeze mnie poprawek powinny być opublikowane w dobrych czasopismach naukowych.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa Pani mgr inż. Sylwii Sobolewskiej spełnia warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 z 2003 r., poz. 595, z późn. zm.) z dnia 14 marca 2003 roku. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Sylwii Sobolewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 16.11.2018 r.



Prof. dr hab. Beata Szymczyk