

prof. dr hab. Anna Czech
Katedra Biochemii i Toksykologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

RECENZJA

pracy doktorskiej pt. " **Zależność między pobraniem kwasów tłuszczowych omega-3 a ich zawartością w wybranych tkankach świń genetycznie zróżnicowanych odtuszczeniem**", wykonanej przez Panią mgr **Monikę Małgorzatę Sobol** w Zakładzie Przemiany Białka i Energii Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie.

Ocena osiągnięcia

Osiągnięciem, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień doktora jest jednolity cykl trzech prac naukowych opublikowanych w latach 2013 (jedna praca) i w 2015 (dwie prace).

1. **Sobol Monika**, Skiba Grzegorz, Raj Stanisława. 2015. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on its deposition in the body of growing-finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 208, 107-118. (pkt. MNiSW=40, IF=1,997)
2. **Wojtasik* Monika**, Raj Stanisława, Skiba Grzegorz, Weremko Dagmara. 2013. Wyniki produkcyjne oraz zawartość kwasów tłuszczowych wybranych tkanek świń rasy wielkiej białej polskiej i mieszańców żywionych paszą wzbogaconą w kwasy tłuszczowe omega-3. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 9, nr 3, 77-85. (pkt. MNiSW=7)

*nazwisko panieńskie Moniki Sobol

3. **Sobol Monika**, Krawczyńska Agata, Skiba Grzegorz, Raj Stanisława, Weremko Dagmara, Herman Andrzej Przemysław. 2015. The effect of breed and feeding level on carcass composition, fatty acid profile and expression of genes encoding enzymes involved in fat metabolism in two muscles of pigs fed a diet enriched in n-3 fatty acids. A preliminary study. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 24, 31-40. (pkt. MNiSW=20, IF=0,543)

Dwie z ww prac opublikowano w wydawnictwach znajdujących się w części A wykazu czasopism naukowych Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z grudnia 2015 r, natomiast jedną opublikowano w wydawnictwie znajdującym się w części B. Sumaryczna liczba punktów wg Listy czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego za publikacje wchodzące w skład rozprawy wyniosła łącznie



67 pkt. Natomiast IF – Impact Factor (Współczynnik Wpływu) według Journal Citation Reports (Thomson Reuters) zgodnie z rokiem publikacji równał się 2,54. We wszystkich pracach, będących podstawą ocenianej dysertacji, Doktorantka jest pierwszym współautorem, a zgodnie z deklaracjami pozostałych współautorów, wkład własny mgr Moniki M. Sobol w opracowanie tych publikacji stanowi średnio 65% odpowiednio: 60, 80 i 55 % w poszczególnych pracach. Daje to Doktorantce 43,55 punktów MNiSzW i IF = 1,651. Należy podkreślić, że w omawianych oryginalnych pracach twórczych Doktorantka ma wiodący i pierwszoplanowy udział w realizacji badań. W przypadku pozostałych Autorów ich udział skupił się jedynie na bieżącej kontroli uzyskiwanych wyników, pomocy w analizie statystycznej czy konsultacji merytorycznej. Uważam to za w pełni uzasadnione. Świadczy to o złożoności i kompleksowości realizowanych badań, jak również o kompetencjach (umiejętność pracy w zespole, organizacja ciągłości prac procesu badawczego) samej Doktorantki.

Przedstawione do oceny publikacje (które składają się na osiągnięcie naukowe), jak wspomniano ukazały się w czasopismach recenzowanych, dlatego też można założyć, że były one poddane wnikliwej recenzji i w poprawionej formie opublikowane, w związku z tym ograniczę się do omówienia tej części pracy, w której Doktorantka zaprezentowała w formie dysertacji podsumowanie osiągnięcia naukowego.

Ocena ogólna

Mówiąc o źródłach nienasyconych kwasów tłuszczowych konsumentom na myśli przychodzą produkty pochodzenia roślinnego. Tłuszcz zwierzęcy jest negatywnie postrzegany przez społeczeństwo, jako czynnik hipercholesterolemii, otyłości, chorób układu krążenia, nowotworów oraz krótszego życia. Stąd często ich negatywny stosunek do mięsa i produktów pochodzenia zwierzęcego, zawierających tłuszcz. Jednak istotnym czynnikiem decydującym o wartości żywieniowej tłuszczu pokarmowego jest obecność w jego składzie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), a zwłaszcza linolowego oraz α -linolenowego, które tworzą pulę tzw. niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (EFA, NNKT). Właściwości NNKT poza wymienionymi wyżej kwasami posiadają także związki należące do ich rodzin: kwas arachidonowy, eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) określane jako LCPUFA. O szczególnej roli tych kwasów decyduje fakt, że są one materiałem wyjściowym do biosyntezy eikozanoidów, biorą udział w transporcie i utlenianiu cholesterolu, a także są składnikami lipidów błon komórkowych. Współczesne osiągnięcia nauki pozwalają na modyfikację profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego zwierząt w kierunku pożądanym z punktu widzenia żywieniowego tj dąży się do ograniczenia zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych na rzecz kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych. Tym zagadnieniem zajęła się w swoich badaniach mgr Monika Sobol. Analizowała ona możliwość modyfikowania zawartości kwasów tłuszczowych w tkankach ciała świń poprzez zastosowanie odpowiednio dobranej mieszaniny tłuszczów będących źródłem PUFA n-3 przez okres około 6-7 tygodni przed ubojem, aby uzyskać produkt o składzie kwasów tłuszczowych zalecanym przez WHO.

Autorka również zajęła się analizą wpływu rasy/genotypu na ww wymienione cechy.

Na tym tle przedłożona do oceny dysertacja pt.: **Zależność między pobraniem kwasów tłuszczowych omega-3 a ich zawartością w wybranych tkankach świń genetycznie zróżnicowanych otluszczeniem**, jest w pełni uzasadniona i celowa.

Przedłożona do oceny rozprawa składa się z 82 ponumerowanych stron tekstu. Zawiera ona część opisową (47 stron), która podzielona jest na ogólnie przyjęte rozdziały, łącznie z polskim i angielskim streszczeniem, wykazem skrótów oraz **oświadczeniami**: Promotora i Autora pracy. W części tej zawarto również 90 pozycji literaturowych, które są ściśle związane z prezentowanym zagadnieniem. Druga część to pełne kserokopie publikacji będące podstawą ocenianej rozprawy doktorskiej. W tej części zawarto oświadczenia wszystkich współautorów publikacji, dotyczące udziału w ich realizacji. Praca napisana jest starannie, zwięźle i utrzymana w logicznej sekwencji. Styl sformułowań poprawny, a tekst komunikatywny.

Ocena merytoryczna rozprawy:

Merytorycznym uzasadnieniem podjętych badań, jest opracowany przez Autorkę 33 stronicowy przegląd dotychczasowych wyników badań z tego zakresu. Ten rozdział został opracowany starannie i komunikatywnie ze wskazaniem sugestii, co do dalszych ewentualnie możliwych do podjęcia zadań badawczych. Należy podkreślić, że Autorka dość syntetycznie, a także interesująco przedstawiła przede wszystkim treści dotyczące zagadnień związanych z zawartością kwasów tłuszczowych w tkankach świń w odniesieniu do zaleceń żywienia ludzi. Omówiła również czynniki wpływające na odkładanie tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych w ciele rosnących świń. Do tych czynników zaliczyła rasę, płeć, wiek i masę ciała, oraz żywienie. Wg mojej opinii rozdział 1.4.4. poświęcony źródłom tłuszczu w paszy jest napisany trochę chaotycznie, co oczywiście nie wpływa na ocenę pracy.

Przegląd piśmiennictwa zakończony został postawieniem hipotezy badawczej, w której Autorka jednak nic nie wspomniała na temat „ewentualnego” wpływu genotypu na modyfikację zawartości kwasów tłuszczowych w ciele świń, a był to jeden z ważniejszych czynników doświadczalnych.

Następnie Autorka przedstawiła cele realizacji poszczególnych doświadczeń, które są czytelne, a także prawidłowo odniesione do podjętego zakresu tematycznego i odpowiednio uzasadnione w aspekcie naukowym i aplikacyjnym.

Celem doświadczenia 1 było określenie wpływu żywienia świń mieszankami w których 10% energii metabolicznej zastąpiono mieszaninami tłuszczów, wprowadzającymi podobną ilość SFA, MUFA i LA oraz zróżnicowaną zawartość ALA oraz EPA i DHA. Zastosowany układ miał na celu oszacowanie efektywności odkładania netto ALA oraz EPA + DHA w całym ciele świń, a w konsekwencji pozwolił na opracowanie mieszanki umożliwiającej wyprodukowanie wieprzowiny o składzie kwasów tłuszczowych zgodnym z zaleceniami WHO i oświadczeniami żywnościowymi Unii Europejskiej. Doświadczenie to wykonano na 30 lochach, z których 6 ubito przed rozpoczęciem doświadczenia tzn. przy masie ciała 60 kg, natomiast



pozostałe podzielono na cztery grupy doświadczalne. Zwierzęta z grup doświadczalnych żywiono mieszankami z 10% udziałem mieszaniny tłuszczów, które różniły się rodzajem zastosowanych olejów oraz ich wzajemnym stosunkiem do siebie. W badaniach oznaczano efektywność odkładania netto ALA oraz EPA i DHA w ciele, a także cechy prozdrowotne wieprzowiny.

Celem doświadczenia 2 było określenie wpływu rasy/genotypu na wartość odżywczą i prozdrowotną wieprzowiny na podstawie zawartości kwasów tłuszczowych w mięśniu *Longissimus dorsi* i tłuszczu podskórnym świń żywionych mieszanką opracowaną na podstawie wyników doświadczenia pierwszego. W mieszance tej 9% energii metabolicznej stanowiła mieszanina olejów lnianego, rzepakowego i rybnego wprowadzająca optymalną zawartość PUFA n-3, która umożliwiała uzyskanie w tkankach korzystnych proporcji PUFA/SFA, LA/ALA i PUFA n-6/n-3. Doświadczenie to wykonano na 16 lochach, rasy Wielka Biała Polska (WBP, n=8) oraz mieszańcach σ Duroc \times φ (Wielka Biała Polska \times Duńska Zwistoucha), które żywiono mieszanką, w której 9% energii metabolicznej pochodziło z mieszaniny olejów wprowadzającej ALA, EPA, DPA i DHA.

Celem doświadczenia 3 było określenie wpływu rasy/genotypu oraz poziomu żywienia na zawartość kwasów tłuszczowych (wyrażoną w g/100 g tkanki) oraz ekspresję genów kodujących enzymy biorące udział w przemianie tłuszczu w mięśniu o metabolizmie glikolitycznym (*Longissimus dorsi*) i oksydacyjnym (*Biceps femoris*) u świń żywionych mieszanką użytą w doświadczeniu drugim. Doświadczenie przeprowadzono na 16 loskach rasy Wielka Biała Polska (WBP, n=8) i Linii 990 (L990, n=8), które różniły się otluszczeniem podskórnym. Zwierzęta w obrębie rasy/genotypu, przy 60 kg masy ciała przydzielono do 2 grup (n=4) i żywiono z intensywnością odpowiadającą 95% i 85% pobrania *ad libitum*. Podobnie jak w doświadczeniu 2 po uboju w pobranych tkankach oznaczono zawartość ekstraktu eterowego i profil kwasów tłuszczowych.

W rozdziale 3 Układ badań, Autorka zaprezentowała w formie tabelarycznej układy wszystkich trzech doświadczeń oraz analizy jakie były wykonane. Autorka nie uwzględniła dokładnych metodyk badawczych, co uważam za słuszne, ponieważ są one dokładnie zaprezentowane w poszczególnych artykułach. Metodyka badań w aspekcie przyjętego celu jest w pełni zasadna merytorycznie. Jednak w tym miejscu nasuwa się kilka pytań, na które chciałabym uzyskać odpowiedź:

- czym kierowała się Doktorantka zakładając, że żywienie przez 6-7 tygodni przed ubojem może modyfikować ilość tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych w ciele tuczników.
- dlaczego w doświadczeniu 1 i 3 okres wstępny trwał od 25-60 kg m.c. a zwierzęta były ubijane przy masie ciała 105 kg, natomiast w doświadczeniu 2 okres wstępny trwał od 25-70 kg a ubój był przy masie ciała 110 kg.?
- W doświadczeniu 1 Autorka zastosowała 10% udział mieszaniny tłuszczów w czterech różnych kombinacjach (m.in., olej lniany, olej rzepakowy, olej rybny oraz smalec – w różnych proporcjach) czym kierowano się przy doborze tego rodzaju tłuszczu, dlaczego nie było tam pewnej logiki tzn. wszystkie mieszaniny miały te same źródła tłuszczu ale w różnych proporcjach?, dlaczego nie zastosowano na przykład oleju słonecznikowego czy innych?



- na str. 26 Autorka pisze: „W doświadczeniu pierwszym mieszaniny olejów zawierały dodatek smalcu by wyrównać zawartość SFA w paszach” co nie jest prawdą ponieważ tylko mieszaniny z grupy A i C miały ten dodatek.

Na koniec opisu doświadczenia 1 Autorka napisała, że „Na podstawie wyników tego doświadczenia opracowano skład mieszanki,którą zastosowano w doświadczeniu drugim i trzecim”. Co nie jest zgodne z prezentowaną metodyką doświadczenia 2 i 3. W doświadczeniu 2 i 3 zastosowano bowiem 9% udział mieszaniny tłuszczów, natomiast w doświadczeniu 1 10% (dlaczego?), poza tym w doświadczeniu 2 i 3 zastosowano mieszaniny tłuszczów w skład, których wchodził 2% oleju lnianego, 0,5% oleju rzepakowego oraz 0,5 % oleju rybiego – nie ma takiej mieszaniny tłuszczów w doświadczeniu 1- stąd moje pytanie na jakiej podstawie Autorka taką mieszankę ułożyła?

Bardzo ważnymi rozdziałami każdej pracy naukowej, w tym dysertacji doktorskiej jest rozdział Wyniki i Dyskusja, które Autorka zawarła w Rozdziale 4 Omówienie głównych wyników badań. Do tej części pracy nie mam żadnych zastrzeżeń. Autorka szczegółowo i rzeczowo opisała najważniejsze wyniki uzyskanych badań przeprowadzając jednocześnie analizę własnych wyników i porównując je z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów.

Zgromadzone wyniki badań, omówione na tle dokonań innych autorów pozwoliły mgr Monice M. Sobol na sformułowanie obszernego podsumowania składającego się z aż 9 punktów, które dają obraz przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników oraz wnoszą nowe i istotne informacje do aktualnego stanu wiedzy. Prosiłabym jednak o wyjaśnienie, co Autorka miała na myśli przy formułowaniu punktu 3, który mówi, że „wykazano dodatnią zależność między zawartością kwasów tłuszczowych wyrażoną w g/100 g tkanki a zawartością tłuszczu w badanej tkance” – w tym punkcie może powinny znaleźć się informacje dla jakich kwasów istnieje korelacja i jaka korelacja (dodatnia ? a może ujemna?) pomiędzy ilością tłuszczu w tkance a zawartością poszczególnych kwasów tłuszczowych.

W zakończeniu pracy Doktorantka precyzuje uzyskane efekty w formie wniosku, który mówi, że modyfikowanie zawartości kwasów tłuszczowych w tkankach ciała świń poprzez żywienie zwierząt paszą wzbogaconą w mieszaninę olejów (lnianego, rzepakowego i rybnego) przez okres około 6-7 tygodni przed ubojem umożliwia wyprodukowanie wieprzowiny o właściwościach prozdrowotnych zgodnych z zaleceniami WHO. Stwierdza również, że efekt ten łatwiej jest uzyskać u świń o większym przetłuszczeniu śródmięśniowym niezależnie od ogólnego otłuszczenia tuszy oraz że ekspresja genów (SCD, FABP4 i PPARG) kodujących enzymy biorące udział w metabolizmie tłuszczu w większym stopniu zależy od typu metabolizmu badanego mięśnia i czynników genetycznych niż od czynników żywieniowych. Wniosek ten wnosi do nauki elementy poznawcze oraz w przypadku aktualnie użytkowego typu świń jest niezwykle ważny i pomocny w aspekcie działań wykonywanych w toku technologii produkcji tuczników i z pewnością może być wykorzystany w praktyce hodowlanej.



Podsumowanie

Pomimo, kilku uwag uważam, że mgr Monika M. Sobol przy realizacji tej pracy uwidoczniła swoje predyspozycje badawcze, wykorzystując gruntowne przygotowanie i pasję dotyczącą badań analitycznych. Treść pracy napisana jest starannie, zwięźle i utrzymana w logicznej sekwencji. Na podkreślenie zasługuje trafność sformułowania założeń i celu badań, rzeczowe i staranne wykonanie z dużym nakładem pracy wielu pomiarów i analiz chemicznych. Cykl przedstawionych publikacji stanowi cenne opracowanie naukowe o dużych walorach poznawczych. Praca cechuje się aktualnością i aplikacyjnością podjętej problematyki badawczej.

Reasumując wyrażam opinię, że przedłożona przez mgr Monikę M. Sobol rozprawa, z uwagi na wartości poznawcze uzyskanych w badaniach wyników, ujęcie metodyczne i właściwy dobór metod analitycznych oraz oparcie wysuniętych wniosków na materiale eksperymentalnym, odpowiada warunkom określonym dla rozpraw doktorskich w artykule 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.: Dz.U. z 2005 r. nr 164, poz. 1365 oraz Dz.U. z 2011 r. nr 84 poz. 455).

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Moniki M. Sobol do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry Biochemii i Toksykologii

Prof. dr hab. Anna Czech

