



Wrocław 16. 03. 2020 r.

dr hab. inż. Monika Bronkowska, prof. nadzw. UP
Katedra Żywienia Człowieka
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

**Recenzja pracy doktorskiej
pt.: „Ocena przydatności technologicznej i weryfikacja potencjalnych właściwości
przeciwmiążdżycowych jaj o zmodyfikowanym profilu kwasów tłuszczowych”**

wykonanej przez mgr Maję Dymińską – Czyż

w Katedrze Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywienia

Wydziału Technologii Żywności

Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

pod kierunkiem:

promotor: dr hab. inż. Agnieszka Filipiak – Florkiewicz, prof. UR

promotor pomocniczy: dr hab. inż. Magdalena Franczyk - Żarów

Ocena wyboru tematu

W związku z intensywnym rozwojem badań dotyczących produkcji żywności o cechach funkcjonalnych oraz rosnącym zainteresowaniem konsumentów tym rodzajem żywności (ze względu na jej właściwości prozdrowotne) celowe wydaje się poszukiwanie nowych składników czy produktów mogących spełnić oczekiwania nabywców. Jaja o odpowiednio zmodyfikowanym składzie chemicznym można uznać za klasyczny przykład produktu funkcjonalnego. Wzbogacanie treści jaja polega na zwiększeniu (poprzez stosowanie odpowiedniego żywienia niosek), zawartości np. wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (głównie z rodziny n-3), witamin (A, D, E, K) bądź mikroelementów (Sn, J).

Powszechnie obserwuje się występujące niezakaźne choroby przewlekłe. Głównymi przyczynami problemów zdrowotnych są złe nawyki żywieniowe, nieprawidłowy styl życia oraz zbyt mała aktywność fizyczna. Wiele osób skarży się na towarzyszący im na co dzień, stres oraz



przemęczenie, przez co nie zwracają uwagi na sposób odżywiania, sięgając m.in. po różnego rodzaju używki.

Choroby dietozależne stanowią także poważny problem ekonomiczny i społeczny. Aktualne dane zdrowotne wskazują, że ok. 1/3 wszystkich zgonów to skutek niewłaściwej diety. Obserwuje się w związku z tym coraz większe zainteresowanie społeczeństwa tematyką zdrowego odżywiania. Rynek żywności funkcjonalnej stale się rozwija, będąc jednocześnie jednym z najbardziej innowacyjnych segmentów gospodarki. Producenci próbując sprostać oczekiwaniom konsumentów starają się wprowadzać coraz to nowsze produkty podążające za nasilającym się trendem prozdrowotnym.

Coraz częściej Polacy deklarują, że planując swoją dietę najważniejsza jest dla nich dbałość o zdrowie. Na przestrzeni lat wzrosła również świadomość społeczeństwa, dla którego nie jest już najważniejsze posiadanie i dostęp do żywności, ale również jej jakość, funkcjonalność oraz to, aby była różnorodna i atrakcyjna. Z tych właśnie powodów rozwój przemysłu spożywczego uwarunkowany jest z jednej strony przez producentów usiłujących opracowywać nowe produkty i technologie spełniające oczekiwania konsumentów, a z drugiej strony przez społeczeństwo, które stale ma coraz wyższe wymagania dotyczące jakości produktów.

Żywność funkcjonalna może występować w postaci konwencjonalnej oraz modyfikowanej technologicznie. W postaci konwencjonalnej otrzymywana jest za pomocą ogólnie stosowanych metod, wykorzystując surowce, które pochodzą ze specjalnych hodowli lub upraw. Muszą one być prowadzone w odpowiednich warunkach, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie założonych celów technologicznych. Są to m.in. indywidualnie dobrane środowisko upraw lub specjalne mieszanki pasz dla hodowlanych zwierząt. Surowce przeznaczone na taką produkcję mogą również być pozyskiwane z wyselekcjonowanych odmian i ras (modyfikowanych biotechnologicznie oraz genetycznie).

Zastosowanie wyżej wymienionych technik umożliwia redukcję lub zwiększenie zawartości poszczególnych składników w gotowym produkcie. Żywność funkcjonalna w postaci modyfikowanej technologicznie otrzymywana jest kilkoma sposobami: na drodze wzbogacania produktu w substancje bioaktywne lub ich kompozycje, poprzez eliminację składników



niepożądanych lub zastępowanie ich zamiennikami, poprzez eliminację substancji antyodżywczych lub wprowadzenie synergistycznych w celu zwiększenia biodostępności składników odżywczych. Aby zagwarantować możliwość systematycznego dostarczania organizmowi wystarczających ilości substancji bioaktywnych, ich nośnikami stają się produkty spożywcze, które są często, chętnie i regularnie spożywane. Są to np. przetwory mleczne, zbożowe, napoje owocowe. Najczęściej wskazywanymi składnikami o działaniu prozdrowotnym kolejno wskazuje na: składniki mineralne, witaminy i długłańcuchowe kwasy nienasycone. Ponad połowa respondentów była przekonana o korzystnym oddziaływaniu produktu na zdrowie, jeśli zawiera wyżej wymienione składniki. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe charakteryzują się wielokierunkową aktywnością biologiczną. Zainteresowanie naukowców budzą kwasy zawierające w łańcuchu węglowym układ sprzężonych wiązań podwójnych

W pracy dość szczegółowo poruszono zagadnienia wpływu jaj ich znaczenie na organizm człowieka. Doktorantka w szczególony i bardzo dokładny sposób przedstawiła budowę jaja, znaczenia poszczególnych frakcji dla organizmu człowieka. Autorka przedstawiła także szczegółowo cechy funkcjonalne, a także skład aminokwasowy i pierwiastkowy jaja.

Ciekawym tematem poruszonym przez doktorantem są zagadnienia związane z właściwościami strukturotwórczymi jaj. Autorka zaprezentowała, jakimi ważnymi cechami charakteryzują się jaja. Dodatkowo ważnym jest to, że Autorka omówiła kształtowanie cech funkcjonalnych jaja kurzych. W rozdziale tym Doktorantka przedstawiła metody kształtowania cech funkcjonalnych, przykładem może tu być: wzbogacanie jaj wielonasycone kwasy tłuszczowe, wzbogacanie paszy w ziarna granatu i oleju lnianego.

Celem pracy była ocena przydatności technologicznej wzbogacanych jaj. W celu określenia właściwego celu wyznaczono następujące hipotezy badawcze:



1. W wyniku modyfikacji składu paszy niosek, jaja, zachowują właściwości organoleptyczne i wysoką wartość odżywczą przy jednoczesnej korzystnej zmianie profilu kwasów tłuszczowych
2. Jaj o zmodyfikowanym składzie będą wykorzystywały działanie przeciwmiażdżycowe,
3. Jednoczesna obecność w paszy niosek oleju z nasion granatu i oleju lnianego będzie wpływała korzystnie na ww. właściwości.

Powyższe założenia weryfikowano w dwóch różnych etapach badawczych:

1. W celu zweryfikowania pierwszej hipotezy oznaczono skład chemiczny, w tym profil kwasów tłuszczowych oraz przeprowadzono ocenę wybranych właściwości strukturotwórczych jaj.
2. W celu zweryfikowania drugiej i trzeciej hipotezy przeprowadzono doświadczenie żywieniowe z udziałem zwierząt laboratoryjnych (myszy apoE/LDLr). Właściwości miażdżycowe jaj sprawdzano oceniając następujące parametry:
 - we krwi: stężenie glukozy, profil lipidowy, aktywność enzymów wątrobowych;
 - w tkance tłuszczowej: profil kwasów tłuszczowych;
 - w wątrobie: masę narządu, profil kwasów tłuszczowych;
 - w całej aorcie: powierzchnię zmian miażdżycowych ocenianych metodą „en face”;
 - w początkowym odcinku aorty wstępującej: powierzchnię zmian miażdżycowych ocenianych metodą „cross-section”.

Z tego względu uważam, że podjęte przez Doktorantkę badania, charakteryzowane w ocenianej dysertacji naukowej wydają się istotnym faktem i zachęcają do poszerzania badań pozwalających określić cechy funkcjonalne jaj.

Cel badań, poprzedzony sformulowaniem logicznych celów szczegółowych i hipotez, został w jasny sposób sformułowany i w pełni zrealizowany.

W tej części z racji funkcji Recenzenta chciałabym tylko przestrzec i uwrażliwić Doktorantkę do ostrożnego używania haseł typu „oznaczenie stężenia glukozy we krwi”, raczej powinno ono brzmieć „oznaczenie stężenia glukozy w surowicy krwi”. W tej części omawianej pracy Recenzent zaznaczył jeszcze kilka niefortunnych określeń, kilku błędów gramatycznych i



stylistycznych. Myślę jednak, że zostaną one usunięte w czasie przygotowywania pracy do druku.

Ocena bibliografii i znajomości tematu na tle piśmiennictwa

Bibliografia pracy obejmuje 258 publikacji naukowych starannie dobranych i wyselekcjonowanych ze zbiorów piśmiennictwa polskiego i światowego, należy zwrócić uwagę iż publikacje anglojęzyczne mają znaczny udział (ok. 80%). Cytowane piśmiennictwo obejmuje aktualne informacje dotyczące opracowywanego przez Doktorantkę tematu. Dodatkowo w pracy wykorzystano i prawidłowo zacytowano materiał z kilku stron internetowych. Uwaga Recenzenta dotyczy potrójnego zacytowania wybranych pozycji literaturowych, oraz dodatkowo kilka z nich nie zostały wykorzystane w tekście dysertacji. (np. poz.256 – cytowana jest jako pozycja z 2001 roku, a w spisie bibliografii jako pozycja z roku 2011 – to należy zweryfikować przed opublikowania pracy).

W części teoretycznej pracy, w oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo, Doktorantka wyczerpująco omówiła m.in. przyczyny powstawania, rozwoju chorób zaliczanych do niezakaźnych chorób nieprzewlekłych, jaki, jest miażdżyca, choroby układu sercowo – naczyniowego, oraz podział nowotworów, procesy apoptozy. Doktorantka przedstawiła także interesujące informacje dotyczące składu i jakości jaj. Bardzo dokładnie omówiła skład chemiczny różnorodnych jaj. W tym miejscu warto jednak podkreślić, że Doktorantka w szczególności i bardzo interesująco, sposób przedstawił skład białka jaj kurzego, które charakteryzuje się łatwą strawnością, ale także całym bogactwem związków występujących w tym powszechnym produkcie.

Doktorantka bardzo dobrze dobrała piśmiennictwo omówiła i scharakteryzowała prozdrowotne właściwości jaj i ich budowę a także ich znaczenie na organizm człowieka. Ten rozdział został przygotowany w bardzo dojrzały sposób. Doktorantka podkreśliła to, co najważniejsze w mechanizmach fizjologicznych człowieka, cenną wartość wnosi charakterystykę składu kwasów tłuszczowych w jajach. Podkreślić należy w tym miejscu, że charakterystyka poszczególnych, prozdrowotnych cech jaj została opisana w kilku podrozdziałach: właściwości przeciwnowotworowe, działanie przeciwcukrzycowe, modulacja



metabolizmu w cukrzycy typu 2, działanie przeciwmiażdżycowe, wpływ CLA na układ odpornościowy, istotnym jest także wpływ kwasów CLA zmniejszenia poziomu tkanki tłuszczowej i metabolizmu lipidów, Podsumowując doktorant przedstawił skuteczne uboczne nadmiernego spożywania CLA.

Ocena strony formalnej pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska zawiera 119 stron tekstu wraz ze spisem piśmiennictwa, tabel, rysunków i aneksami. Dokumentacja wyników obejmuje 24 tabeli oraz 3 ryciny. Tekst pracy został podzielony na 12 części z uwzględnieniem właściwych proporcji treści pomiędzy nimi. Niejasnym jednak dla Recenzenta jest umieszczenie tabeli 1 i 2 jako aneksu pracy. Wydaje mi się, że to wprowadziło chaos w ocenie treści i przyczyniło się do łatwego mylenia treści tabeli. Obszerna dokumentacja wyników została częściowo przedstawiona w tekście pracy. Przy tak dużej liczbie informacji jest to dobre wyjście ułatwiające ich percepcję. Ciekawym atutem pracy jest próba oceny możliwości aplikacyjnych pracy.

Należy podkreślić, że przedstawiona do recenzji praca została przez Doktorantkę napisana starannie, w sposób poprawny i zrozumiały. Doktorantka samodzielnie opracowywała cały materiał biologiczny, który to bardzo dokładnie przygotował do prowadzenia działań badań zasadniczych. Wartym podkreślenia jest wykorzystanie zaawansowanych metod analitycznych w realizacji dysertacji naukowej.

Ocena merytoryczna pracy

Celem pracy była ocena przydatności technologicznej wzbogacanych jaj. W celu określenia właściwego celu wyznaczono następujące hipotezy badawcze:

4. W wyniku modyfikacji składu paszy niosek, jaja, zachowują właściwości organoleptyczne i wysoką wartość odżywczą przy jednoczesnej korzystnej zmiany profilu kwasów tłuszczowych
5. Jaj o zmodyfikowanym składzie będą wykorzystywały działanie przeciwmiażdżycowe,
6. Jednoczesna obecność w paszy niosek oleju z nasion granatu i oleju lnianego będzie wpływała korzystnie na ww. właściwości.

Powyższe założenia weryfikowano w dwóch różnych etapach badawczych:



3. W celu zweryfikowania pierwszej hipotezy oznaczono skład chemiczny, w tym profil kwasów tłuszczowych oraz przeprowadzono ocenę wybranych właściwości strukturotwórczych jaj.
4. W celu zweryfikowania drugiej i trzeciej hipotezy przeprowadzono doświadczenie żywieniowe z udziałem zwierząt laboratoryjnych (myszy apoE/LDLr). Właściwości miażdżycowe jaj sprawdzano oceniając następujące parametry:
 - we krwi: stężenie glukozy, profil lipidowy, aktywność enzymów wątrobowych;
 - w tkance tłuszczowej: profil kwasów tłuszczowych;
 - w wątrobie: masę narządu, profil kwasów tłuszczowych;
 - w całej aorcie: powierzchnię zmian miażdżycowych ocenianych metodą „en face”;
 - w początkowym odcinku aorty wstępującej: powierzchnię zmian miażdżycowych ocenianych metodą „cross-section”.

Doktorantka bardzo dokładnie scharakteryzowała skład chemiczny jaj, w tym profil kwasów tłuszczowych. Dodatkowo w celu weryfikacji hipotezy pierwszej oceniła wybrane właściwości strukturotwórcze jaj. W bardzo interesujący sposób zweryfikowano hipotezę drugą i trzecią zaplanowanego doświadczenia. Przeprowadzono tu doświadczenie żywieniowe z udziałem myszy apoE/LDLr. Właściwości przeciwmiażdżycowe jaj sprawdzano oceniając parametry biochemiczne krwi, profil kwasów tłuszczowych tkance tłuszczowej oraz wątrobie. Ta część pracy jest bardzo interesująca, opatrzona odpowiednimi zdjęciami dodatkowo podkreśla cechy funkcjonalne jaj, które badane były przez Doktorantkę.

Dokonano oceny analizy statycznej i otrzymanych wyników. Warto podkreślić, że Doktorantka bardzo dużo pracy poświęcił czasu na nabycie doświadczenia na wykonanie wszystkich analiz, często bardzo czasochłonnych. Dowodzi to dużej dojrzałości i pracowitości Doktorantki. Autorka przeprowadził także dyskusję uzyskanych wyników. Napisana jest ona bardzo przejrzysto, z dobrym odniesieniem do innych autorów. Przedostatnią częścią pracy są najważniejsze wnioski, które pokazują, że Doktorantka umie konkretyzować obszerne i wielokierunkowe wyniki badań. Sformułowane przez Doktorantkę podsumowanie, a następnie wnioski podkreślają konieczność dalszych tego typów badań.



Uważam, że tak obszerne badania i uzyskane wyniki upoważniają w pełni Doktorantkę do wykazania występowania istotnych lub nieistotnych zależności pomiędzy współoddziaływaniem różnych badanych czynników a znaczeniem jaj, i określeniem ich jako żywność o cechach funkcjonalnych.

Otrzymane w niniejszej pracy wyniki stanowią obiecującą podstawę do badań, do stwierdzeń, że Włączenie do całodziennej racji pokarmowej jaj, zwłaszcza tzw. projektowanych, funkcjonalnych o zwiększonej roli prozdrowotnej, jest bardzo korzystne. Mogą to być produkty obniżające ryzyko wystąpienia wielu chorób. Substancje pokarmowe i odżywcze z jaja mogą wzmacniać kondycję i uzupełniać niepełną dietę w wymagane składniki. Doświadczenia prowadzone przez Doktorantkę pozwalają na sformułowanie tezy, że w jajach można stosunkowo łatwo uzupełnić te składniki, których brakuje w odżywianiu całych populacji. Okazuje się bowiem, że zwiększenie zawartości określonych składników w paszy dla drobiu może znacząco zwiększyć ich ilość w jajach.

Wyniki uzyskane w ocenie dysertacji naukowej okazały się ciekawe i interesujące. Choćby znaczenie lizozymu, konalbuminy i awidyny oraz inhibitorów różnych enzymów i ich szczególnego znaczenia dla antybakteryjnej funkcji białka jaja. Kolejno Doktorantka podkreśliła także, że tłuszcze żółtka wykazują szczególnie wysoką wartość biologiczną, ponieważ mają dobre proporcje nienasyconych kwasów tłuszczowych w stosunku do nasyconych (jak 2 : 1) oraz zawierają dużo cennych fosfolipidów (ok. 30 % sumy lipidów, z czego 70 % to fosfatydylocholina). Do szczególnie wartościowych składników żółtka jaja zalicza się specyficzne kwasy tłuszczowe, lecytynę i cholinę, ksantofile, witaminy, fosfitynę oraz immunoglobuliny. Poprzez dodatkowo wzbogacenie jaj – modyfikując paszę – można uzyskać produkty o jeszcze wyższej wartości odżywczej.

Doktorantka nie uniknęła jednak błędów gramatycznych, stylistycznych, interpunkcyjnych. Mimo tych nielicznych błędów praca jest bardzo estetyczna i dojrzałe przygotowana.

Posumowanie

Biorąc pod uwagę wszystkie elementy ocenianej pracy, a więc przygotowanie badań i opracowanie teoretyczne tematu, przeprowadzenie oceny, wykonanie wielu wymagających analiz. Warto docenić nakład pracy jaki został wykonany przez Doktorantkę w ocenie przydatności technologicznej i weryfikacji potencjalnych właściwości przeciwniażdżycowych jaj o zmodyfikowanym profilu kwasów tłuszczowych. Metody badań wykorzystane w części doświadczalnej są jednym z najnowocześniejszych stosowanych tego rodzaju pracy. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością metod analitycznych, łatwością poruszania się w nich, a także biegłości w prowadzeniu doświadczenia żywieniowego na modelu zwierzęcym. To



zasługuje na duże uznanie. Warto podkreślić to, co Doktorantka dowiodła w swojej dysertacji, że Jaja kurze należą do najbardziej wartościowych produktów żywnościowych i ze względu na swoje multifunkcjonalne właściwości szeroko wykorzystywane są w przemyśle żywnościowym. Z punktu widzenia człowieka jaja to z jednej strony żywność, a z drugiej – źródło tych życiodajnych substancji. Zawarte w jajku białka, lipidy, substancje mineralne, węglowodany, witaminy oraz inne bioaktywne substancje wykorzystywane są do produkcji żywności o właściwościach prozdrowotnych oraz preparatów o znaczeniu medycznym. Te niezwykle cechy zachowują wszystkie kurze jaja znajdujące się na rynku, niezależnie od sposobu ich produkcji.

Wykazane w recenzji uwagi i sugerowane zmiany mają charakter dyskusyjny i nie umniejszają merytorycznego znaczenia wykonanych przez Doktorantkę badań. Uważam, że praca ta wnosi nowe elementy poznawcze, rozszerza wiedzę z dziedziny żywienia człowieka o aspekt poznania, charakterystyki, znaczenia produktu jakim są jaja, ich cech funkcjonalnych w profilaktyce różnych schorzeń określanych jako niezakaźne choroby przewlekłe.

Praca doktorska mgr Mai Dymińskiej – Czyż spełnia wymagania określone w rozumieniu Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. Nr 65, z późniejszymi zmianami z 2005 r. Nr 164, z 2010 r. Nr 96, Nr 182, z 2011 r. Nr 84, z 2014 r., Dz. U. z 2016 r., z 2017 r. poz. 1789) i przepisy wprowadzające Ustawę w 2018 roku do uzyskania stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

W związku z powyższym, zwracam się do Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Mai Dymińskiej – Czyż do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. inż. Monika Bronkowska, prof. UPWr