

prof. dr hab. inż. Grażyna Lewandowicz

Poznań 03.11.2015

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

ul. Wojska Polskiego 48

60-627 Poznań

## Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Greta Adamczyk

pt.: „**Reoniestabilne właściwości kleików skrobi ziemniaczanej i możliwości ich stabilizacji nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi**”

wykonanej pod kierunkiem promotora **prof. dr hab. inż. Marka Sikory**

oraz **dr inż. Magdaleny Krystyjan** promotora pomocniczego

### Ocena trafności tematu i celu rozprawy

Skrobia, materiał zapasowy roślin, jest podstawowym źródłem energii w diecie człowieka. Jest spożywana po obróbce fizycznej umożliwiającej jej trawienie, najczęściej w postaci chleba, kasz, makaronów czy ziemniaków. Skrobia jest również substratem do wytwarzania produktów hydrolizy, takich jak np. glukoza czy syropy, mających szerokie zastosowanie w produkcji wyrobów cukierniczych. Jednak rola skrobi w technologii żywności daleko wykracza poza opisane wyżej zastosowanie. Współczesnej technologii żywności nie sposób sobie bowiem wyobrazić bez właściwego kształtowania cech sensorycznych (w tym teksturowych) gotowych produktów. Prawo żywnościowe umożliwia stosowanie szerokiej gamy środków zagęszczających i teksturotwórczych, jednak ze względów ekonomicznych jak i żywieniowych największą rolę odgrywa wśród nich skrobia. Właściwości funkcjonalne tego polisacharydu zależą od jego pochodzenia botanicznego. To zróżnicowanie często nie jest wystarczające, dlatego też przeprowadza się różnego typu modyfikacje skrobi, które w znaczący sposób poszerzają możliwości jej zastosowania. Bardzo często problemy technologiczne powodują niestabilność kleików skrobiowych. Podczas narażenia na siły ścinające, co często ma miejsce w toku procesu technologicznego, następuje zmiana właściwości produktu zagęszczanego skrobią. Jest to też często obserwowane w trakcie

przechowywania. Tradycyjnie tę wadę skrobi próbuje się wyeliminować poprzez estryfikację (głównie acetylację). Niestety, zakres tej metody jest ograniczony i często nawet skrobie modyfikowane w maksymalnym zakresie, rekomendowanym przez władze sanitarne, wykazują pewną niestabilność.

Pani mgr inż. Greta Adamczyk w recenzowanej pracy doktorskiej pt.: „Reoniestabilne właściwości kleików skrobi ziemniaczanej i możliwości ich stabilizacji nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi” podjęła próbę rozwiązania tego problemu w sposób niestandardowy. Zaproponowana metoda polega na utworzeniu odpowiednich mieszanin skrobi z polisacharydami nieskrobiowymi. Co prawda w literaturze opisywano interakcje pomiędzy skrobią a polisacharydami nieskrobiowymi, również w aspekcie ich właściwości reologicznych, jednak stopień skomplikowania problemu związany m.in. bioróżnorodnością tych biopolimerów powoduje, iż tematyka ta jest istotna ze względów poznawczych. Tego typu badania mają również znaczenie praktyczne, co Doktorantka również zauważyła wydzielając w swojej rozprawie eksperymenty, które nazwała badaniami utylitarnymi.

#### Ocena formalna rozprawy

Praca pod względem formalnym stanowi niezwykle obszerne opracowanie liczące ogółem 206 stron maszynopisu. Zawiera ona wszystkie elementy, które z formalnego punktu widzenia powinny wejść w skład rozprawy doktorskiej, w tym: przegląd literatury, sformułowanie celu pracy, opis metod realizacji zadań badawczych, omówienie wyników, ich dyskusję, wnioski, streszczenie oraz spis cytowanej literatury. Ogółem w pracy przedstawiono 71 tabel, 85 rysunków i zacytowano 195 pozycji literatury. Część wyników jest przedstawiona w obydwu postaciach, co uważa się za błąd w redakcji pracy. Niemniej jednak, w przypadku tego szczególnego materiału wynikowego, jest to uzasadnione merytorycznie i ułatwia lekturę pracy. Przykładowo – analiza przebiegu krzywych kleikowania jest łatwiejsza, gdy są one przedstawione w postaci wykresu. Natomiast analiza statystyczna poszczególnych parametrów tego procesu jest możliwa, gdy dysponujemy szczegółowymi danymi liczbowymi, a te najłatwiej zebrać w tabeli.

### Merytoryczna ocena rozprawy

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy głównie właściwości reologicznych skrobi ziemniaczanej zwykłej i woskowej w różnorodnych układach z dwoma polisacharydami nieskrobiowymi - gumą guarową i gumą ksantanową. Część literaturowa szczegółowo wprowadza w tę tematykę. Zdefiniowano w niej pojęcie tiksotropii, omówiono metody jej pomiaru, jak również właściwości reologiczne skrobi różnego pochodzenia botanicznego ze szczególnym naciskiem na wykazywane przez nie zjawisko tiksotropii. W pracy, w mniejszym zakresie, poruszane są też bardzo ciekawe zagadnienia wielkości masy cząsteczkowej skrobi oraz mikrostruktury kleików skrobiowych w odniesieniu do sposobu przygotowania kleików. Niestety, w przeglądzie literatury pominięto te zagadnienia.

Doktorantka osiągnęła założony cel pracy. Formułując go posłużyła się niewłaściwie określeniem „skrobia ziemniaczana naturalna” pragnąc w ten sposób odróżnić dobrze znaną odmianę zawierającą zarówno amylozę jak i amylopektynę od wprowadzonej niedawno na rynek odmiany woskowej zawierającej wyłącznie amylopektynę. Zręczniejsze byłoby użycie określenia skrobia ziemniaczana normalna (od angielskiego „normal starch”). Określenie skrobia „naturalna” pojawiło się bowiem w polskim piśmiennictwie dotyczącym skrobi wskutek aktywności niektórych językoznawców starających się wyeliminować pojęcie skrobi natywnej, taktując je jako kalkę angielskiego określenia „native starch”. Sformułowanie skrobia ziemniaczana naturalna zostało też kilkakrotnie powtórzono dalej w tekście pracy. Niefortunne określenie skrobi normalnej Doktorantka zastosowała również przy opisie pomiarów reometrycznych, tym razem nazywając ją skrobią natywną. Skrobia natywna (angielskie „starch in its native form”) oznacza skrobię w postaci, w jakiej występuje w roślinie i w jakiej jest oferowana w handlu po standardowym procesie krochmalniczym. Określenie to powtarza się następnie w podpisie pod rys. 15 oraz kilkakrotnie w dyskusji wyników. W tym ostatnim przypadku, ze względu na odniesienie do literatury, można mieć wątpliwości w jakim sensie zostało użyte.

Zastosowana metodyka badań jest oparta na odpowiednich rekomendacjach literaturowych. Jest ona również bardzo szczegółowo opisana, w sposób nie budzących najmniejszych wątpliwości przy próbie powtórzenia eksperymentu. Część analiz podstawowych, takich jak np. oznaczanie zawartości suchej substancji, fosforu czy tłuszczu, wykonywanych zgodnie z powszechnie przyjętymi standardami, nie musiałyby być

opisywana tak szczegółowo, gdyż wystarczyłoby powołanie się na obowiązującą normę. Natomiast w odniesieniu do mniej typowych analiz, takich jak np. oznaczanie rozkładu mas cząsteczkowych skrobi czy też zawartości amylozy i amylopektyny, które mogą być wykonane różnymi metodami, szczegółowość ich opisu należy uznać za zaletę opracowania.

Zakres badań reologicznych opisanych w pracy jest ogromny i obejmuje:

1. Badanie przebiegu kleikowania 3% zawiesin skrobi ziemniaczanej (normalnej i woskowej) czystych oraz z dodatkiem gumy guarowej lub alternatywnie ksantanowej w trzech różnych stężeniach: 0,010%; 0,075% i 0,150%;
2. Rotacyjne badania reologiczne kleików skrobi ziemniaczanej (normalnej i woskowej) w czterech różnych stężeniach (2, 3 4 i 5%) przygotowywanych w trzech temperaturach: 80, 95 i 121°C:
  - a. w cyklu wzrastającej i mającej szybkości ścinania - opis matematyczny obejmował aproksymacje do modelu reologicznego Herschela –Bulkleya oraz wyznaczenie pola powierzchni pętli histerezy;
  - b. przy stałej szybkości ścinania w celu wyznaczenia lepkości pozornej
3. Rotacyjne badania reologiczne według schematu opisanego w punkcie 2 dla mieszanin skrobi z gumą guarową lub ksantanową dodawanej w ilości 0,010; 0,075 lub 0,150%. Dla tych układów obliczono dodatkowo wartość SOST (Stopnia Odbudowy Struktury Tiksotropowej);
4. Zaklasyfikowane przez Doktorantkę jako utylitarne - rotacyjne badania reologiczne (wykonane wg podobnego schematu jak w punktach 2 i 3) kleików skrobi ziemniaczanych w kombinacjach z gumami guarową i ksantanową w stężeniach do 0,80%. Badania przedstawione w tej części pracy różnią się od poprzednio opisanych, tym, że nie obejmują we wszystkich wariantach wszystkich możliwych kombinacji temperatur i stężeń poszczególnych składników mieszanin. Ponadto zastosowany zakres stężeń polisacharydów nieskrobiowych jest znacznie wyższy.

Dyskusja wyników reologicznych jest niezwykle szczegółowa i odnosi się do najnowszego piśmiennictwa w tej dziedzinie. Doktorantka używała niestety często sformułowania, że dany parametr był wyższy lub niższy, jednak że różnice te nie były istotne statystycznie. Jest to błąd. Jeśli nie stwierdzamy różnicy istotnej statystycznie nie możemy twierdzić, że ona faktycznie występuje. Jeśli spodziewamy się, że taka różnica występuje i chcemy to

udowodnić, powinniśmy zwiększyć liczbę powtórzeń – wykazanie różnic statystycznie istotnych może się okazać wtedy możliwe.

Wysoko oceniając cały przeprowadzony w ramach pracy doktorskiej eksperyment oraz jego wnikliwą interpretację chciałabym poruszyć pewne problemy natury problemowej. Związane są one z niezwykle trudnym problemem oznaczania masy cząsteczkowej skrobi [Gilbert i in.: Characterizing the size and molecular weight distribution of starch: Why it is important and why it is hard. Cereal Foods World 2010, 55, 139–143]:

- Na rys. 13 można zauważyć przesunięcie pików amylopektyny skrobi ziemniaczanej w kierunku niższych mas cząsteczkowych w związku ze zwiększeniem intensywności obróbki termicznej skrobi. W przypadku skrobi woskowej (rys.14) będącej w istocie samą amylopektyną tendencja jest odwrotna. Dlaczego?
  - Czy można to przypisywać retrogradacji, skoro wiadomo, że proces ten jest w przypadku amylopektyny niezwykle wolny ?
- Czy postulując występowanie hydrolizy podczas kleikowania w temperaturach 95°C i 121°C można zaniedbać hydrolizę katalizowaną przez 1M NaOH w temperaturze 40°C w czasie nie krótszym niż 48 godzin?
- Wiadomo, że w wyniku kleikowania skrobi w wodzie (nawet z zastosowaniem procesu sterylizacji) niemożliwe jest uzyskanie molekularnego rozproszenia makrocząsteczek skrobiowych. Potwierdziły to również badania mikroskopowe przedstawione w pracy (tabela 3). Czy przyczyną uzyskanych wyników może być wytrącanie się makrocząsteczek skrobiowych po dodaniu HCl w celu zobojętnienia wodorotlenku sodu, który był użyty w procesie rozpuszczania skrobi?
  - W konsekwencji, czy przesunięcie pików amylozy i amylopektyny skrobi normalnej w kierunku niższych mas cząsteczkowych można tłumaczyć zmniejszeniem objętości unieruchomionej makrocząsteczki w roztworze, co ilościowo można opisać przez zmniejszenie promienia bezwładności (ang. „radius of gyration”) oraz promienia hydrodynamicznego (hydrodynamic radius)?
  - Czy różnice w zachowaniu skrobi woskowej i amylopektyny skrobi normalnej można wyjaśnić postulując, iż molekularne rozproszenie podczas kleikowania w temp. 95 i 121°C jest lepsze w przypadku skrobi normalnej? Teza ta

znajduje częściowe potwierdzenie w wynikach badań mikroskopowych (tabela 3) wskazujących na obecność bardzo dużych aglomeratów o średnicy powyżej 450  $\mu\text{m}$  w kleikach skrobi woskowej przygotowanych w temp. 95 i 121°C.

Wyjaśnienia wymaga też twierdzenie ze str. 53 i 54, że cyt. „Ogrzewanie skrobi w temperaturze 121°C powodowało wzrost temperatury kleikowania...”. Doktorantka powołuje się tu na dość trudno dostępną pozycję autorstwa prof. Leszczyńskiego z roku 1988.

#### Ocena formy językowej i technicznej strony opracowania

Praca doktorska Pani mgr inż. Greta Adamczyk została napisana starannie zarówno pod względem językowym jak i graficznym. Należy podkreślić precyzyjny opis tabel i rysunków ułatwiający poruszanie się w gąszczu opisywanych wyników. Błędy literowe są bardzo nieliczne i nie wpływają na czytelność pracy. Również zastosowany sposób kodowania próbek został opracowany właściwie i ułatwia lekturę pracy. W odniesieniu do strony graficznej - jedyny dysonans stanowią rysunki 13 i 14 opisane w języku angielskim.

#### Ocena wartości naukowej i praktycznej rozprawy

Standardowo ocenę właściwości funkcjonalnych środków teksturotwórczych przeprowadza się metodami reologicznymi. Pomimo pozornej łatwości wykonania tego typu analiz zadanie to istotnie komplikuje się w przypadku materiału biologicznego, a zwłaszcza ekstremalnie wysokocząsteczkowego polimeru jakim jest skrobia. Dochodzą tu bowiem dodatkowe problemy związane z zapewnieniem molekularnego rozproszenia tego polisacharydu. Dodatkowe problemy związane są z interakcją pomiędzy skrobią a obecnymi w roztworze substancjami niskocząsteczkowymi lub innymi biopolimerami będącymi naturalnymi składnikami żywności. Wartość naukowa pracy doktorskiej polega głównie na dobrze zaprojektowanym, starannie przeprowadzonym i właściwie zinterpretowanym eksperymencie reologicznym. Z tym zakresem pracy związane jest zresztą aż 7 publikacji mgr inż. Greta Adamczyk. Są to prace zbiorowe (przygotowane przez 3-7 współautorów) opublikowane w czasopismach z listy JCR (w tym 3 w Żywność. Nauka. Technologia. Jakość). Ten fakt dodatkowo potwierdza wartość naukową rozprawy.

Bardzo ciekawe wyniki Autorka uzyskała w tzw. „badaniach użytkowych” podejmując próbę stabilizacji reologicznej kleików skrobiowych. Dotyczy to w szczególności układów z

gumą ksantanową. Zostały tu zastosowane znacznie wyższe stężenia tego polisacharydu niż w głównej części pracy i w konsekwencji zaobserwowano zupełnie inne zjawiska niż w części głównej pracy. Podczas gdy guma ksantanowa zastosowana w niskich stężeniach (do 0,02%) wykazuje efekt antagonistyczny w stosunku do skrobi powodując obniżenie stężenia kleików, w stężeniach wyższych (od 0,04%) wykazuje efekt synergistyczny zwiększając lepkość. Jest to zjawisko, które na pewno nie jest łatwe do wytłumaczenia, ale które może mieć ogromne znaczenie użytkowe. Zapewne jest to kierunek badań, który warto by było rozwijać w przyszłości, który nie tylko ma znaczenie praktyczne ale również, a może przede wszystkim poznawcze.

Ogromne znaczenie użytkowe ma natomiast zdolność zagęszczająca badanych mieszanin polisacharydów. Doktorantka dysponując ogromnym materiałem wynikowym pominęła ten parametr. Planując ewentualne wdrożenie należy położyć większy nacisk na właśnie ten aspekt badań.

#### Uwaga końcowa

Reasumując, wysoka wartość naukowa pracy, obejmująca trafny wybór tematyki, jasne sprecyzowanie celu, umiejętne dobranie odpowiednich badań i technik eksperymentalnych, a także jej ogromne znaczenie praktyczne pozwala mi na stwierdzenie, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Greta Adamczyk pt.: „Reoniestabilne właściwości kleików skrobi ziemniaczanej i możliwości ich stabilizacji nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi” spełnia wymagania zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm. Dz. U. z 2014 r. poz. 1852, z 2015 r. poz. 249). Proszę zatem Wysoką Radę Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Greta Adamczyk do jej publicznej obrony.

