

Instytut Technologii i Analizy Żywności
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Arczuk, pt.: „Porównanie ziemniaków o czerwonym, fioletowym i żółtym miąższu w aspekcie zawartości związków bioaktywnych oraz właściwości fizykochemicznych pozyskanych z nich skrobi” wykonanej pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Doroty Gumul, prof. UR oraz promotora pomocniczego dr hab. inż. Magdaleny Krystyjan, prof. UR, w Katedrze Technologii Węglowodanów, na Wydziale Technologii Żywności, Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.

Recenzję, której przedmiotem jest rozprawa doktorska, pt.: „Porównanie ziemniaków o czerwonym, fioletowym i żółtym miąższu w aspekcie zawartości związków bioaktywnych oraz właściwości fizykochemicznych pozyskanych z nich skrobi” wykonałam na zlecenie Koordynatora Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Pana dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. UR na podstawie pisma z dnia 9 czerwca 2020, które informuje mnie, że rada dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie powołała mnie na recenzenta w przewodzie doktorskim mgr inż. Anny Arczuk.

Uzasadnienie podjęcia tematu

Na przestrzeni ostatnich lat rosnącym zainteresowaniem cieszy się możliwość wykorzystania biologicznie aktywnych substancji pochodzenia roślinnego do zapobiegania różnym typom schorzeń, w tym chorobom cywilizacyjnym, oraz ich leczenia. Liczne badania kliniczne i epidemiologiczne dowodzą, że dieta bogata w warzywa i owoce, będące źródłem wielu związków o dobroczynnym wpływie na organizm, w tym związków polifenolowych, przyczynia się do zmniejszenia ryzyka występowania m.in. chorób serca, układu krążenia, otyłości, cukrzycy typu II i nowotworów. Wraz ze wzrostem świadomości społeczeństwa w zakresie zagrożeń związanych z rosnącym zanieczyszczeniem środowiska, życiem w ciągłym stresie, brakiem ruchu, jak również spożywaniem dużych ilości wysoko przetworzonej żywności rośnie zainteresowanie medycyną alternatywną i działaniami profilaktycznymi mającymi na celu poprawę jakości życia.

Biologicznie czynne związki pochodzenia roślinnego są postrzegane nie tylko jako tańsza, ale przede wszystkim bardziej bezpieczna dla zdrowia alternatywa tradycyjnych, syntetycznych farmaceutyków. Szczególnie cennymi komponentami surowców roślinnych są substancje o właściwościach antyoksydacyjnych. Zainteresowanie tymi związkami nasiliło się na początku lat 90 XX wieku, kiedy odkryto, że u podłoża schorzeń takich jak miażdżyca, nowotwory czy katarakta leży stres oksydacyjny spowodowany zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu (RFT) i wolnych rodników.

Związki polifenolowe są największą grupą naturalnych antyoksydantów roślinnych o zróżnicowanej budowie, właściwościach i funkcji. Związki te wykazują szereg działań korzystnych dla zdrowia, m.in. działają antyoksydacyjnie, immunomodulacyjnie, przeciwalergicznie, przeciwnowotworowo i antyaterogennie. Rozwojowi chorób cywilizacyjnych można w dużej mierze zapobiec poprzez właściwe działania profilaktyczne, dlatego też niezwykle istotne jest prowadzenie zdrowego stylu życia, którego nieodłącznym elementem oprócz wysiłku fizycznego jest dieta oparta na produktach pochodzenia roślinnego, bogatych w związki polifenolowe.

Jednym z surowców roślinnych coraz częściej rekomendowanym jako istotne źródło związków bioaktywnych, uwzględniając jednocześnie częstość jego spożycia, jest ziemniak. Szczególnie jego odmiany o kolorowym miąższu, tj. czerwone i fioletowe, które uważane są za trzecie źródło polifenoli w diecie człowieka, po jabłkach i owocach cytrusowych. Ziemniaki są ponadto jedną z czterech głównych upraw na świecie obok kukurydzy, pszenicy i ryżu. Większość odmian konsumpcyjnych i przemysłowych to odmiany o białym, kremowym lub żółtym zabarwieniu. Jednakże, średnio od ponad 10 lat, coraz częściej przedmiotem badań stają się ziemniaki o miąższu czerwonym, niebieskim bądź fioletowym, będące źródłem między innymi antocyjanów, związków polifenolowych o potwierdzonej aktywności prozdrowotnej i przeciwutleniającej. Ziemniaki są dobrym źródłem łatwostrawnych węglowodanów, które stanowią około 80 % suchej masy, a także pełnowartościowego białka (6-10 % suchej masy), co zwiększa ich znaczenie jako ważnego składnika w codziennej diecie człowieka. Do związków prozdrowotnych w ziemniakach o tradycyjnym zabarwieniu miąższu zalicza się kwasy fenolowe, kwas askorbinowy, karotenoidy, tokoferol a także selen, a w ziemniakach o kolorowym miąższu również antocyjany, związki barwne o wysokim potencjale przeciwutleniającym. Takie odmiany mogą stanowić potencjalny surowiec do produkcji żywności o podwyższonej zawartości związków bioaktywnych, tym bardziej, że ciągle poszukuje się nowych źródeł związków bioaktywnych, które mogłyby być spożywane zarówno bezpośrednio lub stanowić jeden ze składników produktów spożywczych o właściwościach

funkcjonalnych. Szczególnie jest to istotne, gdy uważa się, że dieta bogata w przeciwutleniacze wiąże się z rzadszym występowaniem chorób cywilizacyjnych, w tym miażdżycy serca, niektórych nowotworów, zwyrodnienia plamki żółtej, a także nasilenia zaćmy.

Ziemniak jest również jednym z bogatszych źródeł materiału zapasowego, jakim jest skrobia. Jednakże w przypadku ziemniaków o czerwonym i fioletowym miąższu, badania skupiają się głównie wokół związków polifenolowych w nich zawartych, a praktycznie brak jest doniesień naukowych skupiających się na badaniu właściwości fizykochemicznych i strukturalnych skrobi izolowanej z takich odmian ziemniaków. Pierwsze doniesienia, które pojawiły się w 2018 i 2019 roku, dotyczyły badań skrobi izolowanej z ziemniaków kolorowych, ale słodkich, tj. batatów, należących do rodziny powojowatych, czyli zupełnie innej niż kolorowe ziemniaki uprawowe – rodzina psiankowate. Skrobia w postaci naturalnej, jak również w postaci licznych modyfikatów wykorzystywana jest jako cenny surowiec w wielu gałęziach przemysłu spożywczego i nie tylko. Między innymi również jako skrobia oporna RS może stanowić składnik naszej diety, pełniący rolę błonnika pokarmowego, który obok związków polifenolowych, potencjalnie wpływa na poprawne funkcjonowanie naszego organizmu.

Właściwości skrobi decydują o jej zastosowaniu w produktach żywnościowych. W zależności od końcowego zastosowania, jedną lub więcej tych właściwości, które mogą zostać uznane za niepożądane lub niewystarczające, można poprawić stosując modyfikacje skrobi, przy czym właściwości skrobi macierzystych mają znaczący wpływ na właściwości skrobi modyfikowanych.

Skrobia z ziemniaków o kolorowym miąższu, aby mogła stać się alternatywą dla skrobi z ziemniaków o jasnym miąższu, w naszej strefie klimatycznej, powinna zostać poddana szczegółowym badaniom, wyniki których pozwolą na wskazanie różnic i pomogą w określeniu sposobu i parametrów jej modyfikacji, aby uzyskać równie dobry surowiec, jak skrobia z ziemniaków o jasnym miąższu, do wielu formułacji spożywczych, pozwalający na poprawę nie tylko ich walorów organoleptycznych, ale również i zdrowotnych.

Reasumując, uważam że podjęte przez Autorkę ocenianej dysertacji kierunki badań, dotyczące między innymi szczegółowej charakterystyki ilościowej i jakościowej związków bioaktywnych w ziemniakach uprawowych o kolorowym miąższu oraz szeroko ujętej charakterystyki właściwości fizykochemicznych skrobi izolowanej z tych ziemniaków, z uwzględnieniem aspektu ich zmienności, w zależności od roku uprawy, uważam za całkowicie uzasadnione. Uzyskane przez Nią rezultaty badań przyczynią się do istotnej intensyfikacji i popularyzacji wiedzy w zakresie objętym tematem dysertacji.

Szczególnie, tak jak wykazano w pracy, kiedy brak jest doniesień dotyczących badań skrobi pozyskiwanej z ziemniaków o kolorowym miąższu. Natomiast charakterystyka związków polifenolowych ziemniaków o kolorowym miąższu prowadzona była w odniesieniu głównie do ich zmienności w procesach przetwórczych tego surowca roślinnego, tj. otrzymywania z nich produktów spożywczych typu na przykład suszów, czy frytek.

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do oceny dysertacja mgr inż. Anny Arczuk przygotowana jest w sposób klasyczny, nie odbiegający pod względem formalnym od schematu przyjętego w rozprawach doktorskich. Liczy łącznie 142 strony druku, w tym 25 tabel i 31 rysunków, ilustrujących rezultaty przeprowadzonych przez Doktorantkę badań. Ponadto Autorka pracy wykorzystowała 246 pozycji literaturowych (choć w wykazie mamy ich 248, z czego dwie z nich powtórzone zostały dwa razy, a mianowicie poz. 169 i 226). Należy podkreślić, że pozwoliło jej to na wnikliwe dokonanie przeglądu literatury przedmiotu oraz bardzo wnikliwą analizę i dyskusję uzyskanych wyników. Oceniana rozprawa ma układ typowy dla prac o charakterze eksperymentalnym, obejmujący: spis treści – 2 strony, wstęp - 1 strona, przegląd literatury przedmiotu z wydzielonymi 10 podrozdziałami - 21 stron, cel i założenia pracy – 1 strona, materiał i metody badań – 11 stron, wyniki badań i dyskusję – 78 stron, wnioski – 3 strony, wykaz bibliografii – 13 stron, spis rysunków – 2 strony, spis tabel – 2 strony, streszczenie w języku angielskim - 2 strony. Uważam, że ogólnie przyjęto poprawny układ pracy i zachowano właściwe proporcje między częścią teoretyczną i eksperymentalną, dzięki temu dysertacja sprawia dobre wrażenie na jej czytelniku.

Ocena merytoryczna pracy

Pracę rozpoczyna niespełna jednostronicowy „**Wstęp**”, w którym Autorka wskazuje na dwa główne kierunki swoich badań, głównie na charakterystykę związków polifenolowych w miąższu kolorowych ziemniaków oraz izolowanych z nich skrobi. Zamieszczone w tym miejscu treści w pełni uzasadniają celowość przeprowadzonych badań. Można powiedzieć, że wskazują na swojego rodzaju genezę realizowanych założeń ocenianej dysertacji.

Kolejny rozdział, jaki popelniła w swojej pracy mgr inż. Anna Arczuk to „**Przegląd literatury**”. Podzieliła go na 10 podrozdziałów, ważnych z uwagi na kierunki podjętych przez Doktorantkę badań.

Na początku charakteryzuje w sposób przejrzysty skład chemiczny bulwy ziemniaka, skupiając się głównie na obszernej charakterystyce związków bioaktywnych zawartych w ziemniaku, zarówno tych z grupy kwasów fenolowych, jak również z grupy flawonoidów, za naciskiem na antocyjany. Następnie dużo miejsca Doktorantka poświęciła zagadnieniom, opisując je szczegółowo i wyczerpująco, związanym z pozytywnym wpływem związków polifenolowych, tym kwasu chlorogenowego i flawonoidów, na zdrowie człowieka, szczególnie w aspekcie zapobiegania chorobom cywilizacyjnym. Poświęciła też sporo miejsca różnorodności metod analitycznych pozwalających na ocenę potencjału antyoksydacyjnego badanego materiału. Zdobyte informacje miały swoje odzwierciedlenie w części eksperymentalnej, gdzie Autorka pracy stosuje szeroki wachlarz metod badawczych pozwalających na określenie szerokiego spektrum właściwości przeciwutleniających badanego materiału, tj. miąższu kolorowych ziemniaków.

W tej części pracy stosunkowo dużo miejsca poświęcono również skrobi, co wynikało z jednego z celów pracy, jakim była charakterystyka właściwości fizykochemicznych skrobi izolowanej z miąższu kolorowych ziemniaków, w porównaniu do skrobi z ziemniaków o jasnym miąższu. Autorka dysertacji szeroko opisała główne cechy skrobi kształtujące jej właściwości, tj. jej budowę, ziarnistość, składniki niewęglowodanowe towarzyszące ziarenkom skrobi ziemniaczanej. Nie bez znaczenia dla prowadzącej badania była również potrzeba znajomości takich właściwości skrobi, jak jej podatność na pęcznienie, kleikowanie i retrogradację, które determinują kierunki jej potencjalnych zastosowań oraz możliwości modyfikacji. Stosunkowo szeroko Doktorantka przedstawiła również znaczenie właściwości reologicznych kleików skrobiowych dla ich zastosowań w różnych gałęziach przemysłu, nie tylko spożywczego, ale również tekstylnego, papiernictwie, czy farmacji.

Akapit, którym Autorka pracy kończy przegląd literatury, wyraźnie wskazuje na genezę tematu dysertacji i jednocześnie świadczy o jej dobrym przygotowaniu merytorycznym do realizacji wyznaczonych celów pracy.

W mojej opinii przegląd w przewadze zagranicznego i krajowego piśmiennictwa oceniam jako odpowiedni. Został oparty o aktualne (głównie z okresu ostatnich 10 lat) i ważne publikacje, z uwzględnieniem najnowszych osiągnięć w zakresie prowadzonych badań, pozwalających jednocześnie na prawidłowe sformułowanie celu pracy i właściwe przedyskutowanie otrzymanych wyników z doniesieniami literatury.

Zakres przeglądu jest w pełni merytorycznie uzasadniony i dobrze wprowadza czytelnika w problematykę badawczą rozprawy, świadcząc jednocześnie o dużym doświadczeniu i umiejętnościach w korzystaniu przez Doktorantkę z dostępnych źródeł literaturowych.

Następną częścią pracy jest rozdział „**Cel pracy**”, będący konsekwencją przedstawionych wcześniej badań literaturowych. Przedstawione dwa główne cele pracy, wskazujące jednocześnie na zakres ocenianej dysertacji, sformułowano zgodnie z tematem rozprawy.

Jednakże uważam, że lepszym rozwiązaniem byłoby sformułowanie głównych celów i wskazanie do nich zakresu badań.

Ogólnie stwierdzam, że zaproponowany w tym miejscu zakres prac w pełni pozwolił na realizację założonego przez Doktorantkę celu pracy.

W tym miejscu chciałabym zapytać Autorkę dysertacji co odróżnia przeprowadzone przez nią eksperymenty, co stanowi element ich nowości, wiedząc, że w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, prowadzi się również zakrojone na szeroką skalę badania z udziałem ziemniaków o kolorowym mięszu?

Kolejny rozdział ocenianej dysertacji to „**Materiał i metodyka badań**”, w którym Autorka charakteryzuje zarówno materiał badawczy, tj. 8 odmian ziemniaków, w tym 4 o mięszu jasnym i 4 o mięszu kolorowym, zebrane w dwóch kolejnych latach uprawy (2016 i 2017 r.), szczegółowo opisuje procedurę otrzymywania skrobi z badanych odmian ziemniaka. Prezentuje również metody analityczne zastosowane zarówno do charakterystyki ilościowej i jakościowej składników bioaktywnych badanych ziemniaków oraz pozostałych składników odżywczych, w tym między innymi zawartość białka, węglowodanów całkowitych, skrobi, tłuszczu, popiołu i poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego. Aktywność antyrodnikowa otrzymanych ekstraktów etanolowych oznaczana była przy wykorzystaniu syntetycznego rodnika DPPH oraz ABTS, natomiast aktywność antyoksydacyjna metodą FOMO i FRAP. Równie szerokie spektrum metod analitycznych zastosowano do charakterystyki właściwości fizykochemicznych skrobi izolowanych zarówno z ziemniaków o jasnym, jak i o kolorowym mięszu.

Na podkreślenie w tym miejscu zasługuje fakt stosunkowo obszernego zakresu pracy wykonanego przez Doktorantkę. Zamieszczone również w tym rozdziale procedury przygotowania materiału badawczego i sposób wykonywania poszczególnych analiz, są na tyle szczegółowe, że pozwalają na ponowne przeprowadzenie tych eksperymentów przez potencjalne osoby zainteresowane.

Przyjęty zakres badań w ocenianej dysertacji został zrealizowany z zastosowaniem właściwie dobranych metod analitycznych. Należy podkreślić, że oprócz standardowych metod analitycznych Doktorantka do analizy składu jakościowego i ilościowego ekstraktów polifenolowych zastosowała metodę chromatografii UPLC-PDA-MS/MS, do charakterystyki właściwości skrobi między innymi metodę różnicowej kalorymetrii skaningowej DSC, metodę wysokociśnieniowej chromatografii żelowej HPSEC, reometr rotacyjny RheoSress RS 6000, Micro ViscoAmylo-Graf oraz analizator tekstury TA.XT plus.

Wyniki badań zostały opracowane statystycznie, co przejawiało się poprawną ich interpretacją w dalszej części pracy.

Uwagi krytyczne do tego rozdziału:

- brak w części metodycznej rozprawy opisu sposobu rozdrabniania ziemniaków do postaci miazgi

- w jaki sposób rozdrabniano wyizolowaną skrobię i następnie przez sita o jakiej wielkości oczek przesiewano w celu ujednoczenia materiału badawczego

- moim zdaniem należałoby uszczegółwić opis analizy właściwości antyrodnikowych z rodnikiem ABTS – określenie „odpowiednio rozcieńczony ekstrakt”, czy „zadawano ABTS” są mało precyzyjne, nie pozwalające na odtworzenie eksperymentu

- czy oznaczenie średniej masy cząsteczkowej i promieni bezwładności prowadzone było według metody własnej, czy zgodnie z metodą już wcześniej zaprezentowaną w literaturze?

- jakie zastosowano warunki hydrolizy skrobi, w metodzie oznaczania zawartości tłuszczu?

- jak długo przechowywano żele skrobiowe w temp. 6°C do pomiaru ich właściwości teksturalnych?

- może do lepszej interpretacji wyników składu chemicznego badanych odmian ziemniaków warto byłoby przeliczyć zawartość poszczególnych składników, uwzględniając suchą masę badanego materiału?

Rozdział zatytułowany „**Wyniki badań i dyskusja**” Autorka dysertacji podzieliła na dwa główne podrozdziały, w których w formie syntetycznej, ale szczegółowo opisuje skład chemiczny ziemniaków, szeroko pojętą charakterystykę ich związków bioaktywnych i właściwości antyoksydacyjnych oraz skład chemiczny badanych skrobi i ich właściwości fizykochemiczne. Wyniki badań zebrano w postaci logicznie i przejrzysto zaplanowanych licznych wykresów i tabel, co jednocześnie wskazuje i zasługuje na podkreślenie jak szeroki

był zakres wykonanych badań i ich pracochłonność. Uzyskane wyniki mają jednocześnie dużą wartość poznawczą i aplikacyjną.

Uważam, że Doktorantka poradziła sobie bardzo dobrze z dyskusją licznych danych eksperymentalnych. Autorka pracy nawiązuje do wyników podobnych prac prowadzonych przez innych badaczy, które ukazały się w ciągu ostatnich kilku lat, co świadczy o aktualności podjętej przez Nią tematyki badawczej. Pozwala to jednocześnie na właściwą, merytoryczną i obiektywną ocenę uzyskanych wyników badań własnych. Uważam, że świadczy to o Jej dużej wiedzy i dobrym przygotowaniu do przeprowadzania tego typu analiz i umiejętności interpretacji szerokiego zakresu wyników badań.

Część eksperymentalną pracy kończy rozdział „**Wnioski**”, w którym rezultaty badań zostały sformułowane w postaci 11 najważniejszych według Autorki pracy osiągnięć, świadczących jednocześnie o zrealizowaniu w pełni przyjętych przez Nią dwóch głównych celów pracy. Wnioski w mojej opinii sformułowane są zbyt szczegółowo i dla lepszej ich transparentności należałoby je przeredagować.

Oceniana praca napisana jest komunikatywnym, poprawnym językiem naukowym. Świadczy to o pełnej dojrzałości Doktorantki do prowadzenia badań i pisania rozpraw naukowych. Jak to zwykle bywa, w tekście pojawiło się kilka błędów literowych i nieprecyzyjnych sformułowań, zdążają się niezręczności stylistyczne i skróty myślowe, które mają charakter marginalny i w żaden sposób nie wpływają na całokształt pozytywnego odbioru dysertacji. Pod względem merytorycznym przedstawiona rozprawa doktorska wnosi istotnie nowe aspekty wiedzy z zakresu technologii żywności.

Wymienione wcześniej uwagi i komentarze w żaden sposób nie obniżają wartości naukowej pracy. Tematyka badań jest oryginalna i nowatorska, ważna zarówno z naukowego, jak również aplikacyjnego punktu widzenia. Doktorantka wykorzystuje szerokie spektrum metod analitycznych, co potwierdza Jej dobre przygotowanie do organizacji i prowadzenia prac badawczych.

Elementy nowości recenzowanej pracy:

- przede wszystkim określenie składu chemicznego i właściwości fizykochemicznych skrobi wyizolowanych z ziemniaków o kolorowym miąższu i porównanie ich z właściwościami skrobi z ziemniaków o miąższu jasnym, o których do tej pory praktycznie nie ma doniesień w literaturze przedmiotu;

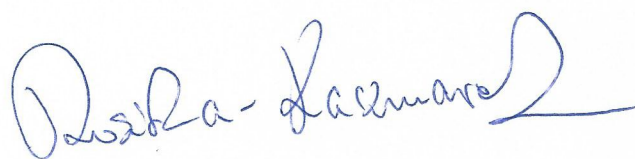
- wykazanie, że odmiennie przebiega proces retrogradacji skrobi z ziemniaków o miąższu kolorowym w porównaniu do skrobi z ziemniaków o miąższu jasnym, w przypadku tych pierwszych, w tym samym czasie, retrogradacja zachodzi znacznie bardziej intensywnie;
- wykazanie, że skrobie z ziemniaków o kolorowym miąższu rozpuszczają się lepiej i chłoną więcej wody w porównaniu do skrobi z ziemniaków o jasnym miąższu;
- określenie w sposób szczegółowy istotnych różnic w składzie ilościowym i jakościowym związków polifenolowych, zarówno w obrębie kwasów fenolowych i antocyjanów w miąższu ziemniaków kolorowych i jasnych;
- wskazanie wśród badanych odmian ziemniaków, tych o najwyższym potencjale antyoksydacyjnym, wynikającym jednocześnie z największej ilości związków polifenolowych, tj. odmiana Magenta Love o czerwonym miąższu i Lord o jasnym miąższu, które mogą stanowić stosunkowo nowy surowiec do otrzymywania żywności o potencjalnych właściwościach prozdrowotnych.

Wniosek końcowy

W mojej opinii przedstawiona do oceny praca doktorska obejmuje obszerne i wartościowe badania, zarówno pod względem naukowym, jak i aplikacyjnym. Tematyka badań jest nowatorska i oryginalna. Doktorantka udowodniła w niej dobre przygotowanie do pracy naukowej.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca mgr inż. Anny Arczuk pt. **„Porównanie ziemniaków o czerwonym, fioletowym i żółtym miąższu w aspekcie zawartości związków bioaktywnych oraz właściwości fizykochemicznych pozyskanych z nich skrobi”** w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku – Dz.U. 2003 nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami – Dz.U. 2014 poz. 1852 oraz Dz.U. 2015 poz. 249).

Wnioskuje więc do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. inż. Justyna Rosicka-Kaczmarek