



**UNIwersYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCLAWIU**

KATEDRA ŻYWIENIA CZŁOWIEKA

Wrocław 12.05.2020 r.

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

Recenzja

pracy doktorskiej

pt.: „Wpływ owoców i liści czereśni na wybrane wskaźniki biochemiczne oraz metabolizmu tłuszczów w organizmie szczura Wistar”

wykonanej przez mgr Kingę Dziadek

w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki

Wydziału Technologii Żywności

Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie

Promotor: dr hab. inż. Anety Kopeć, prof. UR

Promotor pomocniczy: dr n. med. Ewa Piątkowska

Ocena wyboru tematu

Aktualna literatura światowa wykazuje, że właściwe odżywianie przyczynia się nie tylko do wydłużenia życia człowieka, ale też do poprawy jego jakości, zaś znaczenie żywieniowe owoców i warzyw jest znacznie większe niż dotychczas sądzono. Biorąc pod uwagę występowanie chorób dietozależnych obecnie uważa się, że owoce i warzywa powinny być podstawą wyżywienia ludności świata. Analizując bazę danych składu chemicznego poszczególnych gatunków owoców i warzyw pod kątem zasobności w określone składniki odżywcze, należy oprócz zawartości bezwzględnej poszczególnych składników rozważyć dostępność poszczególnych gatunków oraz porcje możliwe do spożycia.



Owoce są bogatym źródłem związków polifenolowych, zarówno kwasów fenolowych, jak i flawonoidów. Czereśnia jest jednym z najpopularniejszych owoców wiosenno-letnich gatunków. Czereśnie są spożywane głównie jako świeży owoc i w wielu regionach jako pierwszy świeży owoc sezonu. Owoce czereśni są jednym z najlepszych źródeł łatwo przyswajalnych cukrów (glukozy i fruktozy) i niewielkich ilości sacharozy. Owoce czereśni są bardzo dobrym źródłem związków fenolowych w naszym organizmie, są to między innymi flawonole, kwercetyna, kempferol oraz apigeninę. Wiele związków z tej grupy jest silnymi antyoksydantami, a liczne badania sugerują, że spożywanie pokarmów i napojów bogatych w fitozwiązki może pomagać hamować procesy zapalne, pobudzać układy enzymatyczne i krążenie krwi, czy stymulować układ odpornościowy. Niektóre z fitozwiązków mają potwierdzone działanie antibakteryjne i antywirusowe, a także działanie ochronne na komórki neuronalne.

Z każdym rokiem otyłość staje się coraz większym globalnym problemem. Otyłość to choroba wynikająca z nadmiaru tkanki tłuszczowej w organizmie. Tkanka tłuszczowa jest aktywna metabolicznie. Wydziela hormony, a także i różne aktywne związki działające prozapalnie. Analiza przyczyn takich chorób, jak: choroby nowotworowe, zawały, udary, miażdżyca, wykazuje, że u ich podłoża zawsze jest stan zapalny. Apigenina wpływa na obniżenie akumulacji lipidów, ma działanie lipolityczne, hamuje także wychwyty kwasu palmitynowego; kwercetyna z kolei obniża hipermetylację białek histonowych i różnicowanie się adipocytów. Z tego względu uważam, że podjęte przez Doktorantkę badania są w pełni aktualne i uzasadnione.

Celem przedstawionej do recenzji dysertacji doktorskiej było porównanie składu chemicznego oraz zawartości składników bioaktywnych w owocach, liściach i ogonkach wybranych odmian czereśni. Drugim równoważnym celem pracy była ocena wpływu dodatku do diety wysokotłuszczowej oraz wysokofruktozowej owoców i liści czereśni na wybrane parametry biochemiczne, biomarkery stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego oraz ekspresję mRNA genów związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych u szczurów Wistar.

W celu określenia właściwego celu wyznaczono następujące hipotezy badawcze:



KATEDRA ŻYWIENIA CZŁOWIEKA

1. Owoce, liście i ogonki czereśni mogą stanowić wartościowe źródło składników bioaktywnych, a zawartość tych związków różni się w poszczególnych odmianach i częściach rośliny;
2. Dodatek owoców i liści czereśni do diety wysokotłuszczowej oraz wysokofruktozowej może korzystnie wpływać na metabolizm tłuszczów, w tym na ekspresję genów związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych, oraz wybrane parametry biochemiczne związane ze stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym w organizmach szczurów Wistar.

Hipotezy badawcze zweryfikowano realizując następujące cele badawcze:

1. Porównanie składu chemicznego oraz zawartości składników bioaktywnych w owocach, liściach i ogonkach wybranych odmian czereśni.
2. Ocena wpływu dodatku do diety wysokotłuszczowej oraz wysokofruktozowej owoców i liści czereśni na wybrane parametry biochemiczne, biomarkery stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego oraz ekspresję mRNA genów związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych w organizmach szczurów Wistar.

Z tego względu uważam, że podjęte przez Doktorantkę badania, charakteryzowane w ocenianej dysertacji naukowej wydają się istotnym faktem i zachęcają do poszerzania badań. Temat podjęty w pracy uważam za niezwykle istotny, ponieważ obejmuje on zagadnienia żywności o cechach funkcjonalnych

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

Ocena strony formalnej pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór czterech oryginalnych prac twórczych, wszystkie zostały wydrukowane w czasopismach znajdujących się na liście JCR. Sumaryczny Impact Factor publikacji (zgodnie z rokiem publikacji) wchodzących w skład cyklu wg bazy Journal Citation Report wynosi 11,46; a liczba punktów wg wytycznych MNiSW = 370 (według komunikatu MNiSW z dnia 31 lipca 2019 roku). We wszystkich pracach



stanowiących osiągnięcie naukowe Doktorantka jest pierwszym autorem, przy deklarowanym udziale własnym 35 - 40%. Do dokumentacji dołączono stosowne oświadczenie współautorów. Wszystkie publikacje ukazały się w latach 2018-2019. Prace mgr Kingi Dziadek zostały opublikowane w takich czasopismach, jak: *European Food Research and Technology*, *Journal of Functional Foods*, *Nutrients*. Wszystkie to czasopisma bardzo cenione o uznanej międzynarodowej renomie.

W opracowaniu podsumowującym osiągnięcia mgr Kingi Dziadek omawiane są w podanej poniżej kolejności:

1. Dziadek K., Kopec A., Czaplicki S.: The petioles and leaves of sweet cherry (*Prunus avium* L.) as a potential source of natural bioactive compounds. *European Food Research and Technology* volume 244, pages 1415–1426 (2018) (IF 2019= 2,056; punkty MNiSW: 70);
2. Dziadek K., Kopec A., Tobaszewska M.: Potential of sweet cherry (*Prunus avium* L.) by-products: bioactive compounds and antioxidant activity of leaves and petioles. *European Food Research and Technology* volume 245, pages 763–772 (2019) (IF 2019= 2,056; punkty MNiSW: 70);
3. Dziadek K., Kopec A., Piatkowska E.: Intake of fruit and leaves of sweet cherry beneficially affects lipid metabolism, oxidative stress and inflammation in Wistar rats fed with high fat-cholesterol diet. *Journal of Functional Foods* Volume 57, June 2019, Pages 31-39. doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.044 (IF 2019= 3,197; punkty MNiSW: 100);
4. Dziadek K., Kopec A., Piatkowska E., Leszczyńska T.: High-Fructose Diet-Induced Metabolic Disorders Were Counteracted by the Intake of Fruit and Leaves of Sweet Cherry in Wistar Rats. *Nutrients* 2019, 11(11), 2638; doi.org/10.3390/nu11112638 (IF 2019= 4,171; punkty MNiSW: 140);

Uważam, że opracowanie stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w danej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i w pełni spełnia ono wymagania stawiane dysertacjom doktorskim. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje 6 głównych rozdziałów poprzedzonych spisem stosowanych skrótów, wprowadzeniem oraz

4



spisem treści. Praca kończy się przedstawieniem perspektyw badawczych, spisem bibliografii oraz oświadczeniami współautorów.

Ocena merytoryczna pracy

Sformułowane hipotezy badawcze oraz cele pracy oraz sposoby ich realizacji zostały jasno określone. Jak już nadmieniono we wcześniejszej części recenzji, podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Kingi Dziadek stanowi zbiór 4 spójnych tematycznie opracowań opisujących skład i korzystne właściwości nie tylko powszechnie spożywanych owoców, ale również liści i ogonków czereśni. W pierwszym opracowaniu scharakteryzowano skład chemiczny, w tym zawartość makroskładników, w poszczególnych częściach czereśni. Dodatkowo w badanym materiale roślinnym oznaczono wybrane kwasy tłuszczowe: palmitynowy, stearynowy, oleinowy, linolowy, oraz γ -linolenowy. Dodatkowo w liściach i ogonkach stwierdzono obecność kwasu EPA oraz behenowego. W owocach dominującym kwasem był kwas oleinowy, w liściach γ -linolenowy, a w ogonkach – palmitynowy. W pierwszej publikacji oznaczono także zawartość witaminy C i karotenoidów. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że owoce, w porównaniu do pozostałych części czereśni, charakteryzowały się najniższą zawartością związków polifenolowych. Wyjątek stanowiły antocyjany, których zawartość oznaczono wyłącznie w owocach. W drugim opracowaniu opisano metody oraz wyniki oznaczenia wybranych związków polifenolowych. W owocach, liściach i ogonkach oznaczono: kwas kawowy, chlorogenowy, p -kumarowy oraz myricetynę. Dodatkowo w liściach stwierdzono obecność kwasu ferulowego. Dominującym kwasem fenolowym w badanych częściach czereśni był kwas chlorogenowy. Pierwsza i druga publikacja stanowiły I etap badań. Na podstawie uzyskanych wyników dokonano charakterystyki, w tym składników bioaktywnych i aktywności antyoksydacyjnej, materiału roślinnego, tj. owoców, liści i ogonków czereśni różnych odmian.

Na II etap badań składały się dwie kolejne publikacje opisujące doświadczenia w warunkach *in vivo*, w których owoce i liście czereśni stanowiły dodatek do diet eksperymentalnych: wysokotłuszczowej oraz wysokofruktozowej. W publikacji 3 opisano eksperyment na modelu zwierzęcym, w którym zwierzęta karmione były dietą wysokotłuszczową (HFC), w opracowaniu 4 dietą wysokofruktozową (HFr). W każdym z



KATEDRA ŻYWIENIA CZŁOWIEKA

doświadczeń zaplanowano 6 grup badawczych, po 8 szczurów w każdej grupie. W obu doświadczeniach dodatek do diet stanowiły owoce i liście czereśni, w ilości 5% i 10% owoców oraz 1% i 3% liści. Na podstawie uzyskanych w publikacjach 3 i 4 wykazano, że zastosowane dodatki owoców i liści do diet eksperymentalnych nie wpłynęły istotnie na masę ciała zwierząt. Zaobserwowano jednak zmiany wartości parametrów biochemicznych związanych z metabolizmem tłuszczów (w tym ekspresję genów), stresem oksydacyjnym oraz stanem zapalnym.

W rozdziale Podsumowania i wnioski Autorka systematyzuje uzyskane obserwacje oraz stara się przedstawić wnioski końcowe. Przeprowadzone w ramach wykonanej dysertacji doktorskiej badania pozwoliły poznać skład i korzystne właściwości nie tylko powszechnie spożywanych owoców, ale również liści i ogonków czereśni, stanowiących materiał odpadowy. Dodatkowo, na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że opisane odmiany czereśni charakteryzowały się różną zawartością składników bioaktywnych, a także aktywnością antyoksydacyjną. Bardzo interesującym i aplikacyjnym aspektem pracy jest wykorzystanie badań z zakresu nutrigenomiki. Mogą się one przyczynić do wyjaśnienia mechanizmów działania składników zawartych w owocach i liściach na ekspresję genów związanych z metabolizmem tłuszczu – syntezą i β -oksydacją kwasów tłuszczowych. Może to stanowić podstawę do opracowania i zaprojektowania nowych produktów o cechach funkcjonalnych. Może to być jedna z możliwości rozpowszechniania i wdrażania tego typu produktów jako jeden z elementów profilaktyki nadwagi, otyłości, a także chorób układu sercowo – naczyniowego.

Po zapoznaniu się z przeprowadzonymi Doktorantką badaniami podczas obrony dysertacyjnej prosiłabym o udzielenie odpowiedzi co Doktorantka uznaje za swoją kluczową/nowatorską wartość przeprowadzonych przez siebie prac badawczych. Również niezależnie od ogólnie pozytywnej oceny pracy badawczej proszę Doktorantkę o przedstawienie swojego stanowiska do poniższych kwestii podczas obrony publicznej:

1. Jakie znaczenie dla organizmu ma apigenina – jeden z związków występujących w czereśniach.
2. Jakie widzi Pani możliwości wykorzystania owoców oraz pozostałych części czereśni w aspekcie promowania ich jako żywność o cechach funkcjonalnych.



3. W jaki sposób chciałaby Pani aby otrzymane materiały, być może poszerzone o nowe mogły być wykorzystane w inżynierii tkankowej.

Podsumowanie

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 żywieniowej potencjalnych właściwości czereśni, nie tylko owoców, ale także liści i ogonków. Metody badań wykorzystane w część 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.

Praca doktorska mgr Kingi Dziadek 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 Kollątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Kingi Dziadek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kollątaja w Krakowie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pt.: „Wpływ owoców i liści czereśni na wybrane wskaźniki biochemiczne oraz metabolizmu tłuszczów w organizmie szczura Wistar” wykonanej przez mgr Kingę Dziadek.

Dr hab. inż. Monika Bronkowska, prof. UPW