

dr hab. inż. Grażyna Cacak-Pietrzak
Katedra Technologii i Oceny Żywności
Instytut Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2023.01.26

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Łakomy

pt. „**Wpływ ekstraktów zawierających polisacharydy nieskrobiowe na kształtowanie
wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego. Badania modelowe**”

wykonanej w Katedrze Technologii Węglowodanów i Przetwórstwa Zbóż UR
w Krakowie pod kierunkiem naukowym dr hab. inż. Krzysztofa Buksy, prof. URK

Podstawa formalna przygotowania recenzji

Podstawę formalną przygotowania recenzji stanowi uchwała Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie oraz pismo przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK z dnia 24.11.2022 roku.

Uzasadnienie celowości podjęcia tematyki badawczej

Pieczywo bezglutenowe, zaliczane do grupy specjalnego pieczywa dietetycznego, przeznaczone jest dla osób cierpiących na różne dolegliwości chorobowe wynikające z nietolerancji białek glutenowych, a dokładniej jednego z białek o nazwie gliadyna. Spośród tych chorób, najbardziej znaną jest autoimmunologiczna choroba trzewna (celiakia). U chorych na celiakię po spożyciu produktów zawierających gliadyny dochodzi do wydzielania prozapalnych cytokin niszczących nabłonek błony śluzowej jelita cienkiego i do uszkodzenia kosmków jelitowych, co prowadzi do ograniczenia wchłaniania składników odżywczych z pożywienia i chudnięcia organizmu. Symptomami celiakii są także bóle i wzdęcia brzucha, biegunki, a u dzieci niskorosłość. Do pozostałych schorzeń glutenezależnych należą nieceliakalna nadwrażliwość na gluten, choroba Dühringa oraz alergia na gluten. Nietolerancja białek glutenowych stanowi duży problem zdrowotny XXI wieku. Szacuje się, że na celiakię choruje 1% światowej populacji, natomiast na pozostałe choroby glutenezależne nawet do 10% populacji. Podstawowym sposobem leczenia tych schorzeń jest przestrzeganie diety bezglutenowej.

Według Komisji Kodeksu Żywnościowego w produktach bezglutenowych poziom glutenu nie może przekraczać 20 mg/kg produktu (10 mg gliadyny/kg produktu), co wyklucza stosowanie do produkcji pieczywa bezglutenowego powszechnie wykorzystywanych w piekarstwie mąk pszennych i żytnich. Surowcami stosowanymi do produkcji pieczywa bezglutenowego są mąki ze zbóż niezawierających białek glutenowych (kukurydzy, ryżu, sorga, prosa, teffu), z pseudozbóż (gryki, szarłatu, komosy ryżowej) oraz skrobię (np. kukurydziana, ryżowa, ziemniaczana). Ze względu na brak w tych surowcach białek glutenowych proces produkcji pieczywa jest utrudniony, a jakość gotowego produktu gorsza, w porównaniu do pieczywa pszennego, mieszanego czy żytniego. Jednym z podstawowych problemów podczas produkcji pieczywa bezglutenowego jest uzyskanie ciasta o odpowiedniej lepkości, spoistości i sprężystości, bez tych właściwości utrudniona jest mechaniczna obróbka ciasta i niemożliwe jest uzyskanie pieczywa o odpowiedniej objętości i porowatości mięksiszu. Do dodatków technologicznych stosowanych w celu zastąpienia białek glutenowych należą hydrokoloidy, enzymy, preparaty białkowe, emulgatory.

Hydrokoloidy są wysokocząsteczkowymi hydrofilowymi biopolimerami o charakterze polisacharydowym lub białkowym. Związki te cechują się wyjątkowymi właściwościami funkcjonalnymi, przede wszystkim dużą zdolnością do wiązania wody, zagęszczania, żelowania i emulgowania. Jako dodatek recepturowy pieczywa bezglutenowego najczęściej stosowane są hydroksypropylometyloceluloza (HPMC) i ksantan, rzadziej guma guar, agaroz, karagen. W ostatnich latach duże nadzieje pokładane są w zastosowaniu arabinoksylianów, które spośród wszystkich hydrokoloidów wydają się być potencjalnie najbardziej efektywnym substytutem glutenu. Problemem w przemysłowym wykorzystaniu arabinoksylianów jest jednak brak dostępności handlowych preparatów tych związków otrzymanych z surowców bezglutenowych. Z tego względu celowe jest prowadzenie badań mających na celu wskazanie efektywnych źródeł ich pozyskiwania. Takim źródłem mogą być nasiona lnu, chia czy babki płesznik.

Podjęcie przez mgr inż. Annę Łakomy badań mających na celu wyizolowanie polisacharydów nieskrobiowych z nasion lnu, chia i babki płesznik, ich kompleksową charakterystykę fizyko-chemiczną oraz ocenę wpływu dodatku tych substancji na kształtowanie wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego, uważam za w pełni uzasadnione. Podjęty przez Doktorantkę temat badawczy jest nowatorski, bardzo aktualny i ważny społecznie.

Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest pracą o charakterze eksperymentalnym. W jej strukturze wyodrębniono sześć następujących rozdziałów: Część teoretyczna, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki i dyskusja, Wnioski, Bibliografia. Praca zawiera również: Wykaz stosowanych skrótów, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wykaz tabel i rysunków oraz Aneks. Praca obejmuje łącznie 212 stron druku, w tym 15 tabel (13 tabel w rozdziale Wyniki i dyskusja, 2 tabele w Aneksie) oraz 23 rysunki (9 rysunków w rozdziale Część teoretyczna, 14 rysunków w rozdziale Wyniki i dyskusja). Układ pracy jest typowy dla prac o charakterze eksperymentalnym. Proporcje pomiędzy poszczególnymi rozdziałami są prawidłowe. Najobszerniejszą częścią pracy (76 stron, 36% objętości pracy) jest rozdział Wyniki i dyskusja. Podział poszczególnych rozdziałów na podrozdziały sprawia, że układ pracy jest przejrzysty i czytelny.

Doktorantka wykorzystała w pracy bardzo bogaty zbiór literatury, liczący aż 416 pozycji, z lat 1935-2022. Dobór literatury jest trafny, wszystkie publikacje są ściśle związane z tematyką pracy. Na podkreślenie zasługuje fakt, że 379 (91%) zamieszczonych w rozdziale Bibliografia pozycji literaturowych stanowią prace opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, a 179 z nich (43%) to publikacje z ostatnich 10 lat.

Do strony formalnej pracy mam tylko jedną drobną uwagę dotyczącą niezgodności w numeracji rozdziałów Wnioski oraz Bibliografia (zamieniona została numeracja tych rozdziałów).

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Tytuł rozprawy doktorskiej „Wpływ ekstraktów zawierających polisacharydy nieskrobiowe na kształtowanie wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego. Badania modelowe” jest zgodny z jej treścią.

Streszczenie, przygotowane w języku polskim i angielskim, zawiera cel pracy i zakres przeprowadzonych badań oraz syntezę najważniejszych wyników wraz z wnioskami.

Pierwszy rozdział pracy, zatytułowany **Część teoretyczna**, został podzielony na osiem podrozdziałów. W pierwszym podrozdziale została przedstawiona klasyfikacja polisacharydów nieskrobiowych. W następnych czterech podrozdziałach Autorka zawarła kompleksową charakterystykę nasion lnu, chia i babki płesznik jako źródła polisacharydów nieskrobiowych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje obszerne zestawienie, przygotowane na podstawie danych z 42 publikacji (Tabela 1), dotyczące właściwości substancji śluzowych pozyskanych w wyniku ekstrakcji wodą z nasion lnu, chia i babki płesznik. Na podstawie analizy tych danych Doktorantka wykazała, że mimo dużej liczby przeprowadzonych badań, informacje na temat wydajności i składu chemicznego wodnych ekstraktów otrzymanych z nasion ww. roślin nie są kompletne, co uniemożliwia ich porównywanie między sobą. W dwóch następnych podrozdziałach Autorka nakreśliła problem nietolerancji glutenu, omówiła choroby, w których konieczne jest przestrzeganie diety bezglutenowej, przedstawiła technologie oraz surowce stosowane do produkcji pieczywa bezglutenowego. Doktorantka omówiła problemy technologiczne jakie mają miejsce podczas przygotowywania ciasta z surowców bezglutenowych oraz dodatki technologiczne stosowane w celu uzyskania produktu o atrakcyjnym dla konsumentów wyglądzie, wysokiej wartości odżywczej i walorach smakowo-zapachowych oraz dłuższej trwałości. W ostatnim podrozdziale zostały podane informacje na temat modelowego wypieku pieczywa jako narzędzia do oceny interakcji pomiędzy składnikami ciasta na różnych etapach procesu technologicznego. Treści zawarte w rozdziale Część teoretyczna, jak też dobór literatury naukowej świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu mgr inż. Anny Łakomy do realizacji części doświadczalnej pracy.

W rozdziale drugim, zatytułowanym **Cel pracy**, w oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Doktorantka określiła cel pracy i zakres prowadzonych badań. Jako cel badań wskazała określenie wpływu polisacharydów nieskrobiowych (stosowanych w formie ekstraktów substancji śluzowych uzyskanych z nasion lnu, chia i babki płesznik) na kształtowanie wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego. Realizacja tego celu miała zweryfikować dwie hipotezy badawcze, z których pierwsza zakładała, że dodatek ekstraktów z nasion lnu, chia i babki płesznik wpłynie korzystnie na właściwości strukturalne i jakość pieczywa bezglutenowego wypieczonego z ciasta przygotowanego metodą bezpośrednią oraz z udziałem zakwasu. W drugiej z hipotez przyjęto założenie, że dodatek ww. ekstraktów opóźni procesy związane ze starzeniem się pieczywa. Weryfikację hipotez realizowano poprzez przeprowadzenie bardzo szerokiego, złożonego aż z dziesięciu etapów, zakresu badań. Do tej części pracy mam jedną uwagę. Uważam, że należy bardziej doprecyzować hipotezę pierwszą, wskazując na jakie aspekty jakości pieczywa wpłynie korzystnie dodatek ekstraktów z nasion lnu, chia i babki płesznik. Jakość pieczywa jest bowiem pojęciem złożonym, na które składa się jego wartość odżywcza (ogólny skład chemiczny), smakowitość (uwarunkowana głównie składem i jakością surowców), zdrowotność (brak zagrożeń dla zdrowia konsumenta), atrakcyjność (kształt, barwa), trwałość (zapewniająca przechowywanie bez zmian jakości) oraz świeżość (utożsamiana z zapachem i smakiem).

W rozdziale trzecim, zatytułowanym **Materiał i metody**, Doktorantka wymieniła stosowane w badaniach surowce oraz wskazała ich pochodzenie. W dalszej części tego rozdziału zostały opisane zastosowane w pracy metody badań. Metodyka badań obejmowała analizę podstawowego składu chemicznego nasion lnu, chia i babki płesznik, przygotowanie wodnych ekstraktów substancji śluzowych z nasion ww. roślin i ich szczegółową ocenę fizykochemiczną, ustalenie optymalnego składu i przygotowanie modelowej mieszanki mąki bezglutenowej, wypiek modelowych chlebów bezglutenowych z ciasta przygotowanego metodą bezpośrednią (jednofazową) i metodą na zakwasie oraz ocenę właściwości uzyskanego pieczywa. Ta ostatnia część pracy zasługuje na szczególną uwagę ze względu na to, że Doktorantka jako pierwsza przeprowadziła modelowy wypiek chleba bezglutenowego w celu wykazania roli polisacharydów nieskrobiowych. Należy również podkreślić, że do wykonania większości analiz zostały wykorzystane nowoczesne techniki analityczne, w tym wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC). Wszystkie oznaczenia zostały wyczerpująco opisane w sposób pozwalający na ich odtworzenie, mam jedynie uwagę odnośnie

braku w spisie literatury norm (AACC, AOAC, ICC, PN-ISO), na które Autorka powołuje się w tym rozdziale pracy.

Do statystycznego opracowania uzyskanych wyników zastosowano oprogramowanie MS Excel oraz StatSoft Statistica. Analiza statystyczna obejmowała obliczenie wartości średnich i odchyłeń standardowych, wyznaczenie współczynników korelacji oraz przeprowadzenie jednoczynnikowej analizy wariancji. W zamieszczonym w metodyce opisie zabrakło informacji jaki test był zastosowany do oceny istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi, błędny jest także zapis poziomu istotności współczynników korelacji (przy p umieszczono znak równości, zamiast znaku mniejszości).

W rozdziale **Wyniki i dyskusja** Doktorantka szczegółowo omówiła uzyskane wyniki i przeprowadziła ich dyskusję porównując z wynikami badań prowadzonymi przez innych autorów oraz wyjaśniając uzyskane zależności w oparciu o dane literaturowe. Każdy z pięciu podrozdziałów tej części pracy rozpoczyna się od krótkiego wprowadzenia w omawianą w nich tematykę i wyjaśnienia zasadności wyboru materiału i metod badawczych oraz zakresu badań. W pierwszych dwóch podrozdziałach mgr inż. Anna Łakomy przedstawiła wyniki oceny składu chemicznego nasion lnu, chia i babki płesznik oraz wyniki oceny wydajności, składu chemicznego i właściwości substancji śluzowych wyekstrahowanych wodą z ww. nasion. Na szczególne podkreślenie zasługuje oznaczenie profili cukrowych, określenie zawartości polifenoli i poszczególnych kwasów fenolowych, analiza właściwości molekularnych polisacharydów zawartych w zliofilizowanych ekstraktach, oznaczenie zawartości substancji białkowych oraz kwasów fenolowych wraz z ich dystrybucją w obrębie cząsteczek polisacharydów wchodzących w skład badanych ekstraktów. Są to pierwsze tak kompleksowo przeprowadzone badania dotyczące składu i właściwości substancji śluzowych wyekstrahowanych z nasion lnu, chia i babki płesznik. W trzecim podrozdziale Autorka zamieściła wyniki szczegółowej oceny składu chemicznego i właściwości bazowej mieszanki bezglutenowej zastosowanej do wypieku chleba, złożonej z mąki ryżowej, skrobi kukurydzianej i sacharozy (w proporcjach: 78,4 : 19,6 : 2). W dalszej części tego podrozdziału zostały przedstawione wyniki oceny właściwości modelowych chlebów bezglutenowych wypieczonych z ww. mieszanki z 1% udziałem zliofilizowanych ekstraktów oraz z 10% dodatkiem zmielonych nasion lnu, chia i babki płesznik, uzyskanych z ciasta przygotowanego dwoma metodami (bezpośrednią na drożdżach oraz dwufazową na zakwasie). Na podkreślenie zasługuje bardzo szeroki zakres wykonanych analiz, zdecydowanie wykraczający poza standardową ocenę właściwości fizyko-chemicznych pieczywa, m.in. Doktorantka jako pierwsza oznaczyła zawartość fosforanów mio-inozytolu w mieszankach modelowych i w modelowych chlebach bezglutenowych. Przeprowadzone zostały także próby przechowalnicze mające na celu ocenę wpływu zastosowanych dodatków na wilgotność i twardość miękkiszu oraz zawartość fosforanów mio-inozytolu i ich przemiany w pieczywie bezglutenowym po 1, 2 i 3 dniach przechowywania. Dodatkowo, w pieczywie przygotowanym z ciasta na zakwasie, określono zmiany zawartości głównych związków kształtujących aromat pieczywa: kwasów karboksylowych, cukrów i alkoholi. W czwartym podrozdziale Autorka zamieściła wyniki kolejnego etapu pracy, w którym oceniała właściwości modelowych chlebów bezglutenowych wypieczonych z ciasta przygotowanego metodą bezpośrednią z mieszanek ze zwiększonym o 10% udziałem amylozy. Badania te miały na celu określenie wpływu ekstraktów z nasion lnu, chia i babki płesznik na właściwości chleba, ze szczególnym uwzględnieniem zmian wynikających z procesu starzenia. W piątym podrozdziale Autorka przedstawiła wyniki będące kontynuacją oceny zmian zachodzących podczas starzenia się modelowych chlebów bezglutenowych. Obejmowały one wyniki oceny wpływu ekstraktów z ww. nasion na strawność skrobi, zawartość skrobi odpornej, właściwości molekularne skrobi odpornej tworzącej się w miękkiszu chlebów bezglutenowych podczas przechowywania, lepkość początkową, maksymalną i po ochłodzeniu oraz temperaturę kleikowania zawiesin miękkiszu chleba. Należy

podkreślić, że do tej pory brak było dostępnych danych literaturowych na temat wpływu ekstraktów z nasion lnu, chia i babki płesznik na ww. wyróżniki oceny stopnia starzenia się pieczywa. Ponadto, Doktorantka jako pierwsza z powodzeniem zastosowała analizę amylograficzną do oceny zmian zachodzących w miękiszu chleba bezglutenowego podczas przechowywania.

W odniesieniu do tej części pracy mam następujące uwagi:

- wartości liczbowe dotyczące tego samego parametru w opisie i w tabeli powinny być podawane z taką samą dokładnością (dotyczy danych zawartych w Tabelach 2, 4 i 7),
- różnice pomiędzy wartościami dwóch parametrów, których jednostką są %, powinny być podawane w punktach procentowych (np. porównanie zawartości błonnika ogółem – str. 98, porównanie wydajności ciast – str. 115),
- przy informacji odnośnie poziomu istotności (p) powinien być znak mniejszości a nie znak równości (str. 99, 149),
- metoda bezpośrednia/pośrednia dotyczy sposobu prowadzenia ciasta, a nie metody wypieku.

W rozdziale **Wnioski**, Doktorantka zawarła 11 wniosków, które znajdują odzwierciedlenie w wynikach przeprowadzonych badań. Odnoszą się one do postawionych hipotez badawczych i świadczą o zrealizowaniu założonego celu pracy. Moim zdaniem zabrakło jeszcze jednego końcowego wniosku odnośnie możliwości praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników badań. Prosiłabym, aby podczas publicznej obrony Doktorantka odpowiedziała na pytanie, czy można jednoznacznie wskazać, które z zastosowanych w badaniach nasion najlepiej sprawdzają się jako surowiec do przemysłowego otrzymywania polisacharydów nieskrobiowych, z przeznaczeniem do produkcji pieczywa bezglutenowego.

Rozdział **Bibliografia** obejmuje 416 pozycji literaturowych. Do tej części pracy mam uwagę dotyczącą braku odwołania w tekście pracy do czterech pozycji literatury zamieszczonych w wykazie (dotyczy pozycji nr 52, 53, 109, 176) oraz braku w wykazie pozycji literatury, na które Autorka powołuje się w tekście pracy: Addoun i in. 2020 (str. 33, 36, 41), Ayerza i Coates 2003 (str. 60), Benaoun i in. 2017 (str. 34, 41), Blanco i in. 2011 (str. 51), Brooker 1996 (str. 71), Cui 2001 (str. 25), Dash 1978 (str. 109), Fang 2000 (str. 61), Fischer i in. 2004 (str. 28, 40), Gilloux i in. 2009 (str. 91), Goesaert i in. 2005 (str. 56), Grimes i in. 2020 (str. 21), Gómez i in. 2007 (str. 46), Katina i in. 2007 (str. 62), Kaushik i in. 2015 (str. 35), Khalloufi i in. 2008, 2009 (str. 41), Kohajdova i Karovicova 2009 (str. 46), Kot 2014 (str. 51), Kumar i in. 2018 (str. 57), MacCulloch i Rashid 2014 (str. 58), Poutanen i in. 2009 (str. 64), Rehman i in. 2006 (str. 49), Ronda i in. 2015 (str. 109), Różański 2009 (str. 92), Saed i in. 2014 (str. 56), Smith i Johansson 2004 (str. 70), Socha i in. 2017 (str. 81), Tomoko i in. 2014 (str. 53), Troszyńska i in. 1992 (str. 63), Weber i in. 1993 (str. 61).

Ocena formy językowej i technicznej strony rozprawy doktorskiej

Edytorskie przygotowanie rozprawy doktorskiej świadczy o dobrym opanowaniu przez Doktorantkę techniki redagowania tekstu naukowego. Opracowanie zostało przygotowane z dużą starannością. Praca jest napisana poprawnym pod względem stylistycznym językiem, z użyciem prawidłowej terminologii. Do drobnych niedociągnięć edytorskich, które z racji obowiązku recenzenta jestem zobligowana wskazać, należą brak pisowni nazw łacińskich kursywą w Wykazie skrótów oraz obecność w tekście pracy tzw. literówek.

Wymienione uwagi nie umniejszają wartości naukowej rozprawy doktorskiej, którą oceniam wysoko, nie mają również wpływu na ogólną pozytywną ocenę pracy.

Wniosek końcowy

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Anny Łakomy pt. „Wpływ ekstraktów zawierających polisacharydy nieskrobiowe na kształtowanie wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego. Badania modelowe” spełnia wymagania formalne i merytoryczne stawiane rozprawom na stopień doktora. Praca cechuje się oryginalnością naukową i w sposób istotny rozszerza wiedzę w obszarze dyscypliny technologia żywności i żywienia odnośnie możliwości wykorzystania polisacharydów nieskrobiowych pochodzących z nasion lnu, chia i babki płesznik jako dodatku funkcjonalnego do pieczywa bezglutenowego. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki, oprócz aspektu poznawczego, mają również wartość aplikacyjną.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Anny Łakomy pt. „Wpływ ekstraktów zawierających polisacharydy nieskrobiowe na kształtowanie wybranych aspektów jakości pieczywa bezglutenowego. Badania modelowe” spełnia ustawowe wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) i na tej podstawie przedkładam Radzie Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Anny Łakomy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny rozprawy, bardzo szeroki zakres badań przeprowadzonych z użyciem nowoczesnych technik analitycznych, staranne pod względem edytorskim i językowym przygotowanie pracy oraz wartościowe wyniki badań, zarówno w aspekcie poznawczym jak i aplikacyjnym, stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Łakomy.

Gracyna Cecak-Melnaś