

Poznań, dn. 20.07.2023

dr hab. inż. Joanna Le Thanh-Blicharz, prof. IBPRS-PIB
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego - Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych
ul. Starołęcka 40
61-361 Poznań

Recenzja

Rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Meisel pt.:

**„Otrzymywanie skrobi odpornej poprzez prażenie skrobi ziemniaczanej z produktami jej
hydrolizy”**

wykonanej pod kierunkiem **dr hab. inż. Małgorzaty Kapelko-Żeberskiej, prof. uczelni** oraz
dr inż. Radosława Spychaja

Recenzja została przygotowana na podstawie pisma Przewodniczącej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, prof. dr hab. Agnieszki Kity, z dnia 17. maja 2023 roku. oraz przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Meisel.

1. Ocena trafności wyboru tematu i celu rozprawy doktorskiej

Wzrost zachorowań na choroby cywilizacyjne powoduje zwiększone zainteresowanie tzw. żywnością funkcjonalną wykazującą pozytywny wpływ fizjologiczny na organizm człowieka oraz aktywność prozdrowotną. Wśród tego typu wyrobów szczególne miejsce zajmują produkty o działaniu prebiotycznym. Substancje te nie są trawione przez enzymy amylolityczne przewodu pokarmowego człowieka, natomiast stanowią źródło węglowodanów

dla mikroflory jelitowej. W wyniku zachodzących tam procesów fermentacyjnych tworzą się krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe uczestniczące w formowaniu nabłonka jelitowego i wykazujące udowodnione działanie antykancerogenne. Do najpowszechniej znanych produktów tego typu należą fruktooligosacharydy, transgalaktooligosacharydy oraz skrobia oporna na działanie enzymów amylolitycznych. Aż do początku lat 90. ubiegłego stulecia fizjologiczną rolę skrobi wiązano jedynie z dostarczaniem energii. Jednakowoż okazało się, że skrobia zawarta w wielu produktach spożywczych nie ulega pełnemu trawieniu przez enzymy amylolityczne, co w znacznym stopniu implikuje jej wartość żywieniową. Znaczenie skrobi odpornej w żywieniu człowieka zostało powszechnie uznane w międzynarodowym środowisku naukowym i zaowocowało realizacją w ramach V Programu Ramowego Unii Europejskiej - wieloletniego programu badawczego dotyczącego tej tematyki. W ramach tego programu zdefiniowano *Resistant Starch* jako: „Suma skrobi i produktów jej rozpadu, które nie są wchłaniane w jelicie cienkim zdrowego człowieka”. Zdefiniowanie skrobi odpornej w kategoriach fizjologicznych było konieczne ze względu na fakt iż niemożliwe jest jej zdefiniowanie w kategoriach chemicznych.

Zastosowanie skrobi w przemyśle wynika również z jej podatności na modyfikację i w konsekwencji możliwości zmiany lepkości kleików skrobiowych, ich tekstury, zdolności wiązania wody, tworzenia żeli oraz formowania folii. Dzięki swoim właściwościom, naturalnemu pochodzeniu i braku toksycznego wpływu na organizm ludzki, skrobia wykazuje wysoki potencjał aplikacyjny w przemyśle spożywczym.

Przedstawiona do oceny praca dotyczy pozyskiwania i oceny fizykochemicznej nowej skrobi odpornej i wpisuje się w aktualny kierunek badań naukowych nad skrobią, oraz w szerszym pojęciu nauk o żywności i żywieniu.

2. Ogólna charakterystyka i ocena formalna pracy

Układ rozprawy doktorskiej jest zasadniczo typowy dla prac o charakterze doświadczalnym. Dysertacja jest klasycznym opracowaniem przedstawionym w postaci maszynopisu, liczącym 132 strony. Praca zawiera wszystkie elementy, które z formalnego punktu widzenia powinny wejść w skład rozprawy doktorskiej, w tym: streszczenie w języku polskim (1 strona), streszczenie w języku angielskim (1 strona), spis treści (1 strona), przegląd stanu wiedzy/wstęp teoretyczny (22 strony), sformułowanie założeń i celu pracy (1 strona),

opis metod realizacji zadań badawczych (14 stron), omówienie wyników oraz ich dyskusję (33 strony), a także wnioski (2 strony). Na koniec (41 stron) przedstawiono wyniki w postaci tabel (4) i rysunków (88). W aneksie (liczącym 5 stron) zamieszczono spis tabel i rysunków. Stosowane skróty nie zostały zawarte w osobnym spisie, jednakże zostały wyjaśnione podczas narracji. Praca zawiera obszerny spis literatury (90 pozycji z czego 53 zostało opublikowanych po 2013 roku). Atutem recenzowanej pracy doktorskiej jest umieszczenie w części metodycznej pracy schematów opisujących sposób postępowania podczas wykonywania zaplanowanych eksperymentów. Taki sposób przedstawienia metodyki znacznie ułatwia zrozumienie opisywanych w dalszym etapie eksperymentów. Jednak Doktorantka nie ustrzegła się pewnych błędów technicznych w opracowaniu. Mam na myśli niestaranne zapisy równań matematycznych czy też pojawiające się literówki. Przede wszystkim, jednak lapidarność tytułów tabel oraz podpisów pod rysunkami powoduje, że są one trudno zrozumiałe. Dotyczy to również symboli umieszczanych na wykresach – czytelnik musi domyślać się ich znaczenia. Zasadą redagowania prac naukowych jest takie zatytułowanie tabeli i podpisanie wykresu aby były one zrozumiałe bez konieczności sięgania do tekstu manuskryptu. Pewnym drobnym uchybieniem, jest też prezentowanie wyników na wykresach w tej samej skali. Porównywanie wyników jest w takiej sytuacji łatwiejsze, jednakże błędem jest niewykorzystanie całej powierzchni wykresów. Wyniki na rysunkach (59-66; 69,70; 77,78) można by inaczej pogrupować co pozwoliłoby na uniknięcie tego błędu bez uszczerbku dla czytelności przekazu naukowego.

Zabiegiem technicznym (zapewne zastosowanym przez Doktorantkę celowo), który niezwykle utrudnia lekturę pracy jest oddzielenie rysunków i tabel od tekstu rozdziału *Omówienie i dyskusja wyników*. Taki sposób prezentacji wyników i ich dyskusji jest o tyle zaskakujący, że nie jest powszechnie stosowany w publikacjach naukowych. W literaturze naukowej spotyka się prezentowane osobno wyniki i dopiero w kolejnym rozdziale ich dyskusję. Jednak wyniki te są skrótowo komentowane w toku narracji rozdziału *Wyniki*. Dyskusji z wynikami innych autorów poświęcony jest rozdział *Dyskusja*. Bardzo często stosuje się również połączoną prezentację wyników i dyskusji. W obu standardach organizacji manuskryptów umieszcza się rysunki i tabele prezentujące wyniki w bezpośrednim sąsiedztwie tekstu je komentującego. Zastosowany w pracy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Meisel sposób organizacji materiału nie może być uznany za błąd, jednak w mojej opinii niezwykle utrudnia lekturę dysertacji.

3. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy koresponduje z wyznaczonym celem i treścią rozprawy.

Wstęp stanowi dobre wprowadzenie w zakres planowanych badań, nakreślając w zarysie genezę pracy oraz zakres dokonanego przeglądu literatury.

Przegląd literatury oparty o aktualne i ważne publikacje stanowi dobry asumpt do zaplanowanych badań, nakreślając w zarysie najważniejsze kwestie związane z tematem pracy.

We wstępie opisano bioróżnorodność skrobi, rodzaje jej modyfikacji oraz poświęcono rozdział dotyczący występującym rodzajom skrobi odpornej. Moim zdaniem zabrakło szerszego omówienia przykładów otrzymywania skrobi odpornej, które są publikowane przez gremia naukowe. W związku z tym, że zaproponowany przez Doktorantkę sposób obróbki skrobi przypomina otrzymywanie dekstryn, należałoby poszerzyć stan wiedzy oraz w dalszym etapie pracy, omówienie wyników odnosząc się do struktury i właściwości tychże preparatów. Również przytoczenie szerszej literatury na temat struktury i właściwości skrobi otrzymywanych na drodze retrogradacji przyczyniłoby się do uzyskania lepszej interpretacji uzyskanych wyników.

Cel pracy został przedstawiony precyzyjnie i łączy się w logiczną całość z wcześniejszym przeglądem literatury. Uważam, że zakres pracy jest szeroki i pozytywnie ją wyróżnia na tle innych prac z tego zakresu, a ponadto świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Pewien niedosyt budzi, moim zdaniem, brak sformułowanych w oparciu o literaturę hipotez badawczych, które byłyby dobrym wstępem do wyników badań własnych i pozwoliłyby Doktorantce na wykazanie w tym obszarze jej dojrzałości naukowej, a czytelnikowi umożliwiłyby uzyskanie pełnego obrazu szeroko zakrojonych badań.

Część doświadczalna pracy obejmowała: etapy badania, wykaz stosowanych odczynników, aparatury i sprzętu laboratoryjnego oraz szczegółowy opis stosowanych metod (procedur) badawczych. Na podkreślenie zasługuje konsekwentna realizacja zaplanowanych badań, co wymagało od Doktorantki dużego zaangażowania, dobrej organizacji pracy oraz umiejętności analitycznych. Wybór metod jest prawidłowy, co zasługuje na uznanie. Rozdział ten jest napisany w sposób czytelny. Umieszczone schematy badań ułatwiają zrozumienie

przeprowadzanych procesów jednostkowych w celu otrzymania skrobi modyfikowanych. Na uznanie i pochwałę zasługuje fakt, że w przypadku prażenia skrobi z hydrolizatami zastosowano nawilżanie roztworem, a nie mieszanie proszków, co nierzadko można spotkać w literaturze, a jest błędem. Świadczy, to o dobrym warsztacie Doktorantki i umiejętności doboru właściwych metod. Tym niemniej w odniesieniu do zastosowanej metodyki nasuwają mi się pewne pytania i wątpliwości:

- Przytoczona metodyka wytwarzania skrobi retrogradowanych wykorzystywana jest i była przez Panią Kapelko i współpracowników (2016) jednakże łudząco przypomina metodę zaproponowaną przez Lewandowicz i Soral-Śmietanę dużo wcześniej, bo w 2004 roku (Starch modification by iterated syneresis Carbohydrate Polymers 56(4):403-413). Zupełny brak odniesienia do ww. pracy uniemożliwił merytoryczne pogłębienie własnych wyników przez porównanie z wynikami innych zespołów.
- W opisie procesu prażenia skrobi z glukozą (str. 32) nie podano wydajności procesu. Informacja taka jest bardzo ciekawa i istotna, ze względu na fakt, iż jest to parametr bardzo istotny z punktu widzenia technologii i jej opłacalności.
- Metodyka oznaczania oporności otrzymanych preparatów na trawienie (str. 39) obejmowała wyłącznie działanie amyloglukozydazy. Proszę wyjaśnić dlaczego pominięto alfa amylazę i jak się to ma do symulacji procesu trawienia? W standardowych badaniach skrobi opornych występuje mieszanina amyloglukozydazy z alfa amylazą. Czy pominięcie jednego z enzymów ma merytoryczne uzasadnienie?
- Na stronie 41 opisano oznaczanie krystaliczności preparatów skrobiowych metodą dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego uwzględniając jedynie uwarunkowania aparaturowe. Nie znalazłam informacji dotyczących sposobu przygotowania próby. Czy uwzględniano wilgotność prób? Wiadomo bowiem, że krystaliczność skrobi silnie zależy od jej wilgotności.

Omówienie i dyskusja wyników. Z szeregu poruszanych w pracy problemów chciałabym zwrócić szczególną uwagę na wątki, które w moim odczuciu decydują w znacznym stopniu o naukowej wartości dysertacji. W mojej opinii największym osiągnięciem doktorantki jest opracowanie nowego sposobu otrzymywania skrobi o zwiększonej oporności na enzymy amylolytyczne. Doktorantka udowadnia, że prażenie naturalnej skrobi ziemniaczanej oraz retrogradowanej skrobi ziemniaczanej z hydrolizatami lub z glukozą spowodowało wzrost

oporności na działanie enzymów amylolitycznych, co jest nowością naukową oraz obiecującą przesłanką dla producentów skrobi opornych.

Otrzymanie i charakterystyka nowych preparatów skrobiowych jest zadaniem trudnym i godnym podziwu. Umiejętność wykorzystania nowoczesnych technik analizy skrobi również stanowi o dużym zaangażowaniu Pani mgr inż. Marty Meisel w realizację pracy. Doktorantka umiejętnie wykorzystwała nowoczesne metody badawcze do analizy nowopowstałych preparatów skrobiowych. Godnym podkreślenia jest bardzo szeroki zakres badań i ich pracochłonność. Badania były przemyślane i konsekwentnie realizowane, a kolejne etapy wynikały z poprzednich, co było m.in. związane z koniecznością ustalania warunków dalszych analiz. Doktorantka umiejętnie wykorzystwała reometr oscylacyjno-rotacyjny do badań właściwości reologicznych nowych preparatów skrobiowych. Ponadto zakres badań obejmował: charakterystykę termiczną preparatów skrobiowych metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), badanie współczynnika pociemnienia otrzymanych preparatów w przestrzeni CIE $L^*a^*b^*$, oznaczanie wodochłonności i rozpuszczalności preparatów skrobiowych, oznaczanie oporności na amylolizę, badanie struktury molekularnej metodą magnetycznego rezonansu jądrowego 1H NMR, ocenę krystaliczności preparatów skrobiowych techniką dyfrakcji rentgenowskiej. Zagadnieniom struktury molekularnej otrzymanych preparatów skrobiowych Autorka poświęciła niewielki ułamek swojej obszernej pracy, tym niemniej chciałabym podkreślić, że badania NMR zostały wykonane i zinterpretowane prawidłowo. Oparty na nich (czwarty) wniosek o formowaniu się w wyniku przeprowadzonej modyfikacji nowego wiązania hemiacetalowego dowodzącego włączenia glukozy do struktury utworzonego preparatu należy uznać za w pełni uzasadniony. Jednakowoż szkoda, że Doktorantka nie odniosła się tutaj do fundamentalnych prac dotyczących struktury molekularnej dekstryn jak np. *Siljeström M, Björck I. 1989. Transglycosidation reaction following heat treatment of starch – effects on enzymic digestibility. Starch-Starke 41(3):95–100.* Takie odniesienie bardzo podniosłoby wartość merytoryczną pracy i przy dalszej publikacji wyników powinno być uzupełnione.

Podczas lektury pracy doktorskiej mgr inż. Marty Meisel nasunęły mi się również pewne uwagi o charakterze dyskusyjnym i tak:

- W odniesieniu do badań reologicznych na rys. 31,32 (strona 98) widzimy krzywe zagęszczane ścinaniem. Jest to zaskakujący wynik ponieważ zgodnie z aktualnie prezentowanym w literaturze stanem wiedzy kleiki skrobiowe wykazują płynięcie

typowe dla płynów rozrzedzanych ścinaniem. Przepływ płynu zagęszczanego ścinaniem obserwuje się dla bardzo gęstych zawiesin. Proszę o wyjaśnienie tej obserwacji, jako że w podpisie pod rysunkiem nie podano stężeń, przy których analizowano preparaty i interpretacja wyników jest trudna.

- W odniesieniu do badań krystaliczności względnej – proszę o doniesienie się od obserwowanej inwersji wartości (tabela 4). Czy mogła być ona spowodowana różną wilgotnością preparatów?
- W odniesieniu do opisu pomiaru barwy - mógłby on być rozszerzony. Zabrakło w tym miejscu opisu warunków pomiaru (obserwator i illuminant) oraz opisu równania dotyczącego ogólnej różnicy barwy. Moim zdaniem, korzystne byłoby zaprezentowanie wszystkich badanych parametrów barwy, a nie tylko ogólnej różnicy barwy. Pozwoliłoby to na stwierdzenie, czy zmiana barwy spowodowana jest tylko pociemnieniem, czy również zmianą odcienia barwy. Niemniej jednak interpretacja wyników i sposób prowadzenia eksperymentu nie budzi zastrzeżeń i świadczy o dużej wiedzy.
- Część krzywych (np. wodochłonność, rozpuszczalność) aproksymowana została do równań kwadratowych. Proszę pokusić się o przedstawienie sensu fizycznego współczynników tychże równań. Interpretacja uzyskanych wyników bardzo na tym zyska.

W rozdziale **Wnioski** Doktorantka przedstawiła 6 wniosków dotyczących najważniejszych osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań. Świadczą one o realizacji wyznaczonego przez Autorkę celu badań. Wnioski sformułowano poprawnie. Wnioskowanie pozwoliło na zebranie wszystkich poruszanych w pracy wątków w logiczną całość i stało się odpowiedzią na postawiony cel pracy.

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowanie

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy otrzymywania nowych preparatów skrobiowych poprzez prażenie w różnych temperaturach naturalnej lub retrogradowanej skrobi ziemniaczanej z dodatkiem hydrolizatu skrobiowego, lub prażenia ww. skrobi z glukozą. Dysertacja obejmuje analizę wpływu formy użytej skrobi ziemniaczanej, rodzaju surowca oraz temperatury prażenia na wybrane właściwości fizykochemiczne otrzymanych preparatów.

Efektom końcowym pracy badawczej są nowe preparaty skrobi odpornej otrzymane w procesach wytwarzania estrów skrobiowych prowadzonych bez udziału odczynników chemicznych.

W mojej opinii największym osiągnięciem doktorantki jest opracowanie nowego sposobu otrzymywania skrobi o zwiększonej oporności na enzymy amylolityczne. Doktorantka udowodniła, że prażenie naturalnej skrobi ziemniaczanej oraz retrogradowanej skrobi ziemniaczanej z dodatkiem hydrolizatu skrobiowego oraz prażenia skrobi z glukozą spowodowało wzrost oporności na działanie enzymów amylolitycznych, co jest nowością naukową oraz obiecującą przesłanką dla producentów skrobi opornych. Wymienione w recenzji usterki nie umniejszają wysokiej merytorycznej oceny przedstawionej pracy. Szeroko zakrojony zakres badań, właściwy dobór stosowanych metod analitycznych oraz wnikliwa interpretacja uzyskanych wyników decydują o wysokim merytorycznym poziomie pracy.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Marty Meisel pt. „**Otrzymywanie skrobi odpornej poprzez prażenie skrobi ziemniaczanej z produktami jej hydrolizy**” zrealizowanej pod kierunkiem **dr hab. inż. Małgorzaty Kapelko-Żeborskiej, prof. uczelni** oraz **dr inż. Radosława Spychaja** w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim w myśl Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.). Doktorantka wykazała się dobrą znajomością tematu, zrealizowała postawione sobie cele badawcze i umiejętnie zinterpretowała uzyskane wyniki, wnosząc nowe dane do nauki o żywności i żywieniu. W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr inż. Marty Meisel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

