



UNIWERSYTET ROLNICZY

im. Hugona Kollątaja w Krakowie

Wydział Technologii Żywności

Katedra Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywnienia

Ul. Balicka 122 30-149 Kraków

Tel.: 12 662 48 25 tel./fax: 12 662 48 25

prof. dr hab. Magdalena Surma

Kraków, 29 grudzień 2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Wiesława Kaszubskiego

pt. „Badanie procesów degradacji i wchłaniania antocyjanów z nowo opracowanych modeli produktów spożywczych w kontekście ich właściwości prozdrowotnych”

zrealizowanej w Zakładzie Chemii i Biodynamiki Żywności
Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Wiesława Wiczkowskiego

wykonanej w ramach programu Doktorat Wdrożeniowy nr DWD/4/43/2020
finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki

Recenzja została wykonana na podstawie pisma Pana Dyrektora Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie prof. dr hab. Mariusza Piskuty z dnia 29.10.2024 r. informującego o powołaniu mnie przez Radę Naukową Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie w dniu 17.10.2024 r. na recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia mgr inż. Wiesławowi Kaszubskiemu.

Recenzję przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej przygotowano zgodnie z obowiązującymi regulacjami prawnymi w tym zakresie – Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2023r poz. 742 ze zm.) i składa się zgodnie z zaleceniami Rady Doskonałości Naukowej z oceny następujących elementów:

- 1) czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie technologia żywności i żywienia;
- 2) czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora;
- 3) czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej;
- 4) oceny końcowej.

Czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie technologia żywności?

Antocyjany to naturalne, rozpuszczalne w wodzie związki z grupy flawonoidów, które nadają roślinom barwę. Głównym ich źródłem w diecie są owoce i warzywa, szczególnie te o ciemnych zabarwieniu. Dużą ich zawartością odznaczają się m.in.: borówki, maliny, czarne porzeczki, czarny bez, jeżyny, aronia, czerwona kapusta, winogrona oraz bakłażany. Do tej pory rozpoznano kilkaset naturalnych i stworzono ponad sto syntetycznych antocyjanów, dzięki licznym modyfikacjom cukrami i grupami acylowymi. Wyróżnić można sześć najpowszechniej występujących antocyjanów naturalnych: cyjanidyna, pelargonidyna, peonidyna, delfinidyna, petunidyna oraz malwidyna. Znajdują one zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz spożywczym. Ich właściwości prozdrowotne obejmują działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, kardioprotekcyjne, neuroprotekcyjne (które może wynikać m.in. z ich zdolności do przekraczania bariery krew-mózg) oraz przeciwnowotworowe. Są ważnym źródłem nowych produktów o działaniu prebiotycznym. Mogą mieć działanie zarówno profilaktyczne, jak i lecznicze, ponieważ pozytywnie działają na poszczególne organy. Jednak efektywność tych korzyści w dużej mierze zależy od ich stabilności, biodostępności oraz metabolizmu w organizmie. Antocyjany są wrażliwe na czynniki środowiskowe, co powoduje ich degradację. Na ich trwałość wpływa pH środowiska, jony metali, enzymy, białka, inne flawonoidy obecne w roztworze, wahania temperatury oraz światło. Mają stosunkowo niską biodostępność (1-2%), co oznacza, że tylko niewielka ilość spożytych związków dostaje się do krwiobiegu w formie niezmienionej. Antocyjany są niestabilne w środowisku przewodu pokarmowego i płynów biologicznych, a ze względu na wielkość cząsteczek i hydrofilową naturę nie są w stanie przenikać w sposób bierny przez bariery komórkowe, aby dotrzeć do narządów organizmu ludzkiego. Również stopień przetworzenia żywności i procesy termiczne mogą wpływać na wskaźnik biodostępności antocyjanów. Wykazano, że chociaż obróbka cieplna zmniejsza stabilność antocyjanów to jednocześnie zwiększa ich wchłanianie przez uwolnienie większych ich ilości z matrycy ścian komórkowych roślin jadalnych, w nie bogatych. W procesach przetwarzania surowców, przechowywania półproduktów i wyrobów gotowych będących źródłem antocyjanów należy odpowiednio dobierać parametry poszczególnych procesów technologicznych aby minimalizować ich straty. Również nie bez znaczenia pozostaje zapewnienie takich warunków przechowywania wytworzonych wyrobów, aby w tym ostatnim procesie zachować jak najwyższą jakość wyrobu gotowego.

Przeprowadzone w ostatnich latach badania wchłaniania antocyjanów z ogólnodostępnej żywności i napojów przy użyciu modeli komórkowych (*in vitro*) i eksperymentów z udziałem ludzi (*in vivo*) mimo, iż znacznie zróżnicowane wskazują, że są one szybko wchłaniane i eliminowane, osiągając niskie maksymalne stężenie we krwi i moczu. Ponadto, niektóre badania ich biodostępności wykazują, że bardzo niewielki ich odsetek jest wchłaniany do krwi w stanie nienaruszonym. Trudno jednoznacznie określić wszystkie kierunki i zakresy metabolizmu oraz biotransformacji antocyjanów przez mikroflorę jelitową. Pomimo dużego zróżnicowania wyników dostępnych w literaturze będących konsekwencją wpływu różnych czynników (tj. źródło antocyjanów, matryca pokarmowa czy model *in vivo* lub *in vitro*) można wnioskować, że antocyjany ulegają intensywnym przemianom w wyniku aktywności mikroorganizmów a natywne antocyjany oraz ich metabolity mają pozytywny wpływ na mikrobiotę, a jego wielkość może zależeć od czynników genetycznych, fizjologicznych i patogennych. Dlatego metabolizm antocyjanów przez mikroflorę jelitową i związane z nim zróżnicowanie międzyosobnicze stanowią aspekty wymagające dalszego zgłębiania.

Jak słusznie zauważył Doktorant uwzględniając mnogość istniejącej literatury w obszarze badań nad przemianami antocyjanów w procesach trawienia, wchłaniania, metabolizmu i wydalania, wyciągnięcie jednoznacznych wniosków jest trudne szczególnie gdy bierzemy pod uwagę zmienność

osobniczą. Badania strukturalne antocyjanów, ich źródła pochodzenia, rodzaj matrycy pokarmowej, formy ich przyjmowania, obecność związków o podobnym szlaku metabolicznym lub mogących wpływać na ich wchłanianie i metabolizm oraz zmienność osobnicza bardzo różnicują otrzymywane wyniki i z pewnością wymaga dalszych rozszerzonych badań z jednoczesnym multidyscyplinarnym podejściem do tego zagadnienia.

Dlatego też należy podkreślić, że tematyka badań podjęta przez Doktoranta ma szczególne znaczenie badawcze i stanowi cenne źródło danych, które mogą służyć poszerzeniu wiedzy w tym zakresie. Autor znalazł istotne pole badawcze, które skrupulatnie wypełnił przeprowadzonymi badaniami, co świadczy o Jego dobrej orientacji w tematyce przedmiotu i dobrym przygotowaniu merytorycznym.

Podsumowując: podjęcie tematyki badania procesów degradacji i wchłaniania antocyjanów z nowo opracowanych modeli produktów spożywczych w kontekście ich właściwości prozdrowotnych w pracy doktorskiej mgr inż. Wiesława Kaszubskiego uważam za ważne, trafne i aktualne oraz uzasadnione ze względów poznawczych i aplikacyjnych. Przedstawiona do recenzji rozprawa plasuje się w nurcie bieżących zagadnień badawczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora?

Recenzowana rozprawa doktorska Pana mgr inż. Wiesława Kaszubskiego pt. „Badanie procesów degradacji i wchłaniania antocyjanów z nowo opracowanych modeli produktów spożywczych w kontekście ich właściwości prozdrowotnych”, wykonana w ramach programu Doktorat Wdrożeniowy nr DWD/4/43/2020 finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki, przygotowana jest w sposób klasyczny, nie odbiegający pod względem formalnym od schematu przyjętego w rozprawach doktorskich. Liczy łącznie 273 stron druku, w tym 68 tabele i 64 rysunki, ilustrujące rezultaty przeprowadzonych przez Doktoranta badań. Autor pracy wykorzystał 447 pozycji literaturowych, przedstawiających zagadnienia związane z tematyką prowadzonych badań, z czego prawie 45% zostało opublikowane w ostatniej dekadzie, co pozwoliło Mu na wnikliwe dokonanie przeglądu literatury przedmiotu oraz analizę i dyskusję uzyskanych wyników. Oceniana rozprawa ma układ typowy dla prac o charakterze eksperymentalnym, obejmujący: spis treści – 4 strony, streszczenie – 3 strony, wstęp – 2 strony, przegląd piśmiennictwa z wydzielonymi 9 podrozdziałami – 44 strony, cel pracy – 1 strona, materiał – 3 strony, metody badań z wydzielonymi 13 podrozdziałami – 19 stron, wyniki badań i ich dyskusję z wydzielonymi 8 podrozdziałami – 127 stron (co przeszło moje najśmielsze oczekiwania), podsumowanie i wnioski – 2 strony, literaturę – 42 strony oraz wykaz tabel (który nie jest wykazem a raczej „suplementem”) – 25 stron. Na końcu zamieszczono 3-stronicowe streszczenie w języku angielskim. Uważam, że ogólnie przyjęto poprawny układ pracy ale nie zachowano właściwych proporcji między częścią teoretyczną i eksperymentalną, ponieważ ta ostatnia jest zbyt obszerna. Niemniej jednak dysertacja robi dobre wrażenie na Czytelniku.

Tytuł rozprawy został sformułowany poprawnie i odpowiada przedstawionym w pracy rezultatom badań. Pracę rozpoczyna 3-stronicowe streszczenie, w którym Autor przybliżył cel swoich badań i wyjaśnia zagadnienia związane z podjętą tematyką. Następujący po nim 2-stronicowy wstęp informuje o prozdrowotnych właściwościach związków polifenolowych.

Przegląd literaturowy ma na celu zapoznanie Czytelnika z ogólnie pojętą charakterystyką antocyjanów (budową chemiczną, podziałem, występowaniem, funkcją, biodostępnością, trawieniem i wchłanianiem oraz metabolizmem i degradacją w układzie pokarmowym, wydalaniem; ich

biologicznymi właściwościami i prozdrowotnym oddziaływaniem na organizm człowieka oraz przemianami w procesach technologicznych). Zamieszczone w tym miejscu treści w pełni uzasadniają celowość przeprowadzonych badań. Można powiedzieć, że wskazują na swojego rodzaju genezę realizowanych założeń ocenianej dysertacji.

Doktorant poprawnie sformułował cel pracy, do realizacji którego zaproponował cztery zadania badawcze.

Rozdział „Materiał” zawiera informacje na temat materiału badawczego syntetycznie zebrane w 6 punktach oraz bardzo oszczędne informacje dotyczące stosowanych odczynników. Opisy składów poszczególnych wariantów prototypów produktów przecierowo-sokowych typu smoothie zamieszczone zostały w tabeli, co ułatwiło śledzenie badanych kombinacji.

Rozdział „Metody badań”, z wydzielonymi 13 podrozdziałami, zawiera informacje na temat otrzymywania koncentratów, przecieru oraz prototypów produktów przecierowo-sokowych typu smoothie z badanych owoców i warzyw, ekstrakcji i analizy chromatograficznej antocyjanów, analizy pojemności przeciwutleniającej, doświadczenia *in vivo* z udziałem zwierząt laboratoryjnych oraz analizy statystycznej.

W tym miejscu nasuwa się pytanie do Doktoranta:

1. Czym spowodowana była decyzja o mrożeniu owoców czarnej porzeczki przed jej przetwarzaniem? Byłoby to zrozumiałe w przypadku owoców aronii, które zamraża się w celu usunięcia części „goryczki” dzięki czemu stają się smaczniejsze. Dodatkowo proces zamrażania powodować może straty antocyjanów.
2. Nie udało się również uniknąć kilku kolokwializmów, takich jak: „piec” do kolumn chromatograficznych – określenie potoczne używane ale w chromatografii gazowej, w cieczowej mówimy o termostacie; TOF (z ang. *Time Of Flight*) to analizator czasu przelotu; czy analiza pojemności przeciwutleniającej „na zasadzie wymiatania” rodnika DPPH[•] powinien być kationorodnik ABTS lub ABTS^{•+} i rodnik DPPH lub DPPH[•].

W rozdziale „Wyniki badań i dyskusja wyników” Doktorant przedstawił wyczerpujący opis wyników przeprowadzonych badań, opatrzone licznymi przejrzystymi zaplanowanymi tabelami oraz rysunkami, wraz z krytyczną i naukową dyskusją. Uważam, że Autor pracy poradził sobie bardzo dobrze z dyskusją licznych danych eksperymentalnych. Doktorant nawiązuje do wyników podobnych prac prowadzonych przez innych badaczy, które ukazały się w ciągu ostatnich kilku lat, co świadczy o aktualności podjętej przez Niego tematyki badawczej. Pozwala to jednocześnie na właściwą, merytoryczną i obiektywną ocenę uzyskanych wyników badań własnych. Uważam, że świadczy to o dużej wiedzy Autora i dobrym przygotowaniu do przeprowadzania tego typu analiz oraz umiejętności interpretacji szerokiego zakresu wyników badań.

W tym miejscu chciałabym podzielić się swoimi uwagami i zapytać Doktoranta:

1. Dlaczego koncentrat z ciemnych winogron znalazł się w prototypach produktów przecierowo-sokowych typu smoothie (pkt. 7.4.) skoro nie był wcześniej wymieniany?

[REDACTED]

3. W moim odczuciu aby zachować logiczną ciągłość numerowania podrozdziałów punkt 8.3 powinien być punktem 8.2.5, itd. a kolejno punkt 8.4 punktem 8.3.

4. Wkradł się niewielki błąd wynikający z kopiowania nazw związków i w punkcie 8.1.2 (str. 78) oraz we wniosku 2 (str. 202) zamiast 3-rutynozydu cyjanidyny pojawił się dwukrotnie 3-glukozyd cyjanidyny oraz błąd w numeracji tabel.
5. Tabele 7 (str. 77) i 13 – powinna być 8 (str. 99) są niepotrzebne ponieważ są powieleniem tabeli 2 (str. 58) podobnie jak tabele 24 – powinna być 9 (str. 118) i 35 – powinna być 10 (str. 139) tabeli 3 (str. 61). Tabela 45 – powinna być 11 (str. 158) jest udoskonaloną tabelą 4 (str. 64) i mogłaby ją zastąpić. Podobnie część danych (udział % antocyjanów) z tabel 54 (str. 246) i 75 (str. 256) jest również przedstawiona na rysunkach 6 (str. 79) i 28 (str. 119).

Całość dysertacji podsumowano siedmioma logicznymi wnioskami.

Piśmiennictwo zamieszone przez Doktoranta w pracy obejmuje 447 anglojęzycznych pozycji literaturowych przedstawiających zagadnienia związane z tematyką prowadzonych badań, z czego prawie 45% zostało opublikowane w ostatniej dekadzie.

Rozprawa doktorska poza nielicznymi błędami stylistycznymi i interpunkcyjnymi, które nie umniejszają jej wartości merytorycznej, została napisana zrozumiałym językiem umożliwiającym śledzenie i analizę przedstawionych wyników.

Podsumowując: stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa wskazuje na umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Pana mgr inż. Wiesława Kaszubskiego i spełnia wymagania formalne stawiane pracom dysertacyjnym na stopień doktora.

Czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej?

Celem podjętych przez Doktoranta badań było scharakteryzowanie procesów degradacji antocyjanów w trakcie procesów technologicznych produkcji koncentratu czarnej porzeczki oraz koncentratu i przecieru fioletowej marchwi, scharakteryzowanie profilu, zawartości i stopnia związania antocyjanów w prototypach produktów przecierowo-sokowych typu smoothie oraz scharakteryzowanie wchłaniania, metabolizmu i wydalania z otrzymanych prototypów w kontekście ich właściwości prozdrowotnych. W celu realizacji zaplanowanych badań Doktorant zaproponował cztery zadania badawcze:

1. Określenie profilu i zawartości antocyjanów w owocach czarnej porzeczki oraz przemian tych barwników w trakcie procesu otrzymywania w skali laboratoryjnej koncentratu czarnej porzeczki. Zoptymalizowanie procesu produkcji koncentratu czarnej porzeczki w zakresie ograniczenia strat antocyjanów. Określenie pojemności przeciwutleniającej ekstraktów z owoców czarnej porzeczki oraz półproduktów i produktów z nich otrzymanych.
2. Określenie profilu i zawartości antocyjanów w korzeniach fioletowej marchwi oraz przemian tych barwników w trakcie procesu otrzymywania w skali laboratoryjnej koncentratu i przecieru fioletowej marchwi. Zoptymalizowanie procesu produkcji koncentratu i przecieru fioletowej marchwi w zakresie ograniczenia strat antocyjanów. Określenie pojemności przeciwutleniającej ekstraktów z korzeni fioletowej marchwi oraz półproduktów i produktów z nich otrzymanych.
3. Określenie profilu, zawartości i stopnia związania antocyjanów oraz pojemności przeciwutleniającej w prototypach produktów przecierowo-sokowych typu smoothie.
4. Określenie profilu i zawartości antocyjanów i ich metabolitów w treści przewodu pokarmowego, osoczu krwi i moczu szczurów po podaniu preparatu prototypów produktów przecierowo-sokowych typu smoothie.

W pierwszym etapie realizacji pracy celem badań było określenie zmian zawartości antocyjanów w procesach wytwarzania koncentratu z mrożonych owoców czarnej porzeczki w warunkach laboratoryjnych oraz zaprojektowanie wersji technologicznej jego wytwarzania charakteryzującej się obniżonym poziomem strat antocyjanów na poszczególnych etapach jego wytwarzania oraz w wyrobie końcowym. W mrożonych owocach czarnej porzeczki Autor zidentyfikował sześć antocyjanów (udziały malejące): 3-rutozyd delfinidyny, 3-rutozyd cyjanidyny, 3-glukozyd delfinidyny, 3-glukozyd cyjanidyny aglikony delfinidyny i cyjanidyny. Otrzymane dane były zgodne z danymi literaturowymi ale na uwagę zasługuje fakt, że w odróżnieniu od wcześniejszych badań w niniejszej zidentyfikowano aglikony delfinidyny i cyjanidyny, co Autor tłumaczy sposobem przygotowania owoców w procesie mrożenia oraz długością okresu ich przechowywania w warunkach zamrażalniczych. W tym miejscu chciałabym poprosić Doktoranta o rozwinięcie tego zagadnienia, mam tu na myśli „sposób przygotowania owoców”.

[REDACTED]

Ostatecznie jednak analiza koncentratu czarnej porzeczki

Ponadto otrzymane wyniki wykazały różnice w degradacji pomiędzy formami antocyjanów występującymi w owocach czarnej porzeczki. Glukozydowe formy antocyjanów były na nią bardziej

podatne niż rutozydowe pochodne, co znajduje potwierdzenie w doniesieniach literaturowych sugerujących większą wrażliwość glukozydów na zmiany temperatury i pH środowiska.

W drugim etapie realizacji pracy celem badań było jak poprzednio określenie zmian zawartości antocyjanów w procesach wytwarzania koncentratu i przecieru w warunkach laboratoryjnych oraz zaprojektowanie wersji technologicznej ich wytwarzania charakteryzujących się obniżonym poziomem strat antocyjanów na poszczególnych etapach ich wytwarzania oraz w wyrobie końcowym ale tym razem z korzeni marchwi fioletowej. Autor zidentyfikował sześć związków antocyjanowych, pochodnych cyjanidyny (udziały malejące): 3-ksylozylo-(kumaroilo-glukozylo)-galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-(feruloilo-glukozylo)-galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-glukozylo galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-(sinapoilo-glukozylo)-galaktozyd cyjanidyny oraz aglikon cyjanidyny. Otrzymane wyniki pozostają w zgodzie z doniesieniami literaturowymi. W niniejszych badaniach dominującym związkiem antocyjanowym był 3-ksylozylo-(kumaroilo-glikozylo)-galaktozyd, czego nie potwierdzają inni autorzy ale jak słusznie zauważył Autor skład antocyjanowy i rodzaj związku dominującego uważa się za cechę odmianową.

Następnie, podobnie jak poprzednio opracowano schemat działań i wymagań umożliwiających przeprowadzenie procesu otrzymywania koncentratu fioletowej marchwi. Określono potencjalnie kluczowe etapy decydujące o degradacji antocyjanów w trakcie otrzymywania koncentratu oraz zmiany profilu i zawartości antocyjanów na poszczególnych etapach jego produkcji w trzech opracowanych wariantach technologicznych (MA, MB i MC). Analiza wszystkich zastosowanych wariantów wykazała, że głównym etapem wpływającym na zmniejszenie zawartości antocyjanów był proces przygotowania miazgi (MI). Średnia redukcja antocyjanów w poszczególnych wariantach wyniosła ok. 30%, co stanowiło wartość wyższą niż doniesienia literaturowe i tu moje pytanie do Autora czym to mogło być spowodowane? Skutkiem czego zaprojektowano nowy wariant technologiczny (MD) procesu otrzymywania koncentratu fioletowej marchwi.

Wprowadzone zmiany znacząco wpłynęły na ograniczenie strat antocyjanów na poszczególnych etapach procesu technologicznego. Analiza uzyskanych danych ponownie wykazała, że początkowe etapy w procesie wytwarzania koncentratu z fioletowej marchwi w dużym stopniu determinują poziom strat antocyjanów na późniejszych etapach wytwarzania. Zastosowane modyfikacje umożliwiły ponad dwukrotną redukcję strat antocyjanów w porównaniu do poprzednich wariantów. Wprowadzone modyfikacje wpłynęły również na etap depektynizacji, w którym w przeciwieństwie do poprzednich wariantów, powodujących redukcję antocyjanów o 20%, uzyskano niewielki wzrost poziomu zawartości antocyjanów. Reasumując analiza koncentratu fioletowej marchwi otrzymanego w ramach wariantu MD wykazała ponad dwukrotnie niższy poziom strat antocyjanów w tym produkcie w porównaniu do pozostałych wariantów. Jednocześnie Autor podkreśla, że modyfikacje zastosowane w tym wariantcie nie wpłynęły negatywnie na jakość uzyskanego koncentratu.

Następnie, podobnie jak poprzednio opracowano schemat działań i wymagań umożliwiających przeprowadzenie procesu otrzymywania przecieru z fioletowej marchwi. Określono potencjalnie kluczowe etapy decydujące o degradacji antocyjanów w trakcie otrzymywania przecieru oraz zmiany profilu i zawartości antocyjanów na poszczególnych etapach jego produkcji w czterech opracowanych wariantach technologicznych (P1-P4).

[REDACTED]

Podsumowując, niniejsze badania są pierwszymi potwierdzającymi wpływ modyfikacji technologicznych procesu produkcji koncentratu z czarnej porzeczki i fioletowej marchwi oraz przecieru z fioletowej marchwi na profil i zawartość antocyjanów. Zaprezentowane modyfikacje nie tylko zmniejszyły straty antocyjanów, ale również wprowadziły nową jakość w procesach przetwórstwa i mogą stanowić inspirację dla dalszych badań nad stabilnością antocyjanów w procesach technologicznych. Stanowią także potencjalny punkt wyjścia do rozwoju nowych modyfikacji procesów technologicznych w przemyśle spożywczym, których celem jest minimalizacja degradacji związków bioaktywnych i tym samym poprawa wartości odżywczych produktów końcowych.

W trzecim etapie realizacji pracy określono profil, zawartości i stopień związania antocyjanów oraz pojemność przeciwutleniającą w prototypach produktów przecierowo-sokowych typu smoothie. Te innowacyjne produkty spożywcze powinny być nie tylko bogatym ich źródłem ale również charakteryzować się cechami ograniczającymi ich degradację. Jak zauważył Doktorant mogłyby zawierać również inne substancje bioaktywne – tu chciałabym zapytać jakie? – mogące wspierać ich stabilność, co niewątpliwie wpłynęłoby na zachowanie ich jakości i przełożyłoby się na lepsze właściwości prozdrowotne i dłuższą trwałość produktów. Dodatkowo powinny odznaczać się atrakcyjnymi cechami sensorycznymi, takimi jak smak, zapach i tekstura. I tu moje pytanie, czy była przeprowadzona analiza sensoryczna innowacyjnych produktów spożywczych?

W celu osiągnięcia optymalnych rezultatów oprócz wyboru odpowiednich surowców kluczowym jest zastosowanie zaawansowanych, optymalnych receptur i technologii na różnych etapach produkcji, zarówno półproduktów, jak i wyrobów gotowych. Dlatego surowcami stanowiącymi bazę do tworzenia innowacyjnych produktów spożywczych zostały opisane powyżej czarna porzeczka i fioletowa marchew. Jako półprodukty bogate w antocyjany wykorzystano otrzymane z nich koncentraty i przeciery. Aby dodatkowo poprawić stabilność antocyjanów do produktów wprowadzono związki o potencjale ich wiązania i stabilizowania, [REDACTED]

[REDACTED]

Uzyskane prototypy produktów przecierowo-sokowych typu smoothie, poddano analizie profilu i zawartości antocyjanów oraz ocenie właściwości przeciwutleniających. W analizowanych produktach zidentyfikowano dziewięć antocyjanów, trzy pochodzące z czarnej porzeczki (3-glukozyd delfinidyny, 3-rutynozyd delfinidyny, 3-rutynozyd cyjanidyny), cztery z fioletowej marchwi (3-ksylozylo-glukozylo-galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-(feruloilo-glukozylo)-

galaktozyd cyjanidyny, 3-ksylozylo-(kumaroilo-glukozylo)-galaktozyd cyjanidyny), a dwa z ciemnych winogron (3-glukozyd pelargonidyny oraz 3-glukozyd malwidyny). Wśród zidentyfikowanych antocyjanów dominującym związkiem był 3-ksylozylo-(kumaroilo-glukozylo)-galaktozyd cyjanidyny co średnio stanowiło ponad 60% ogólnej ilości antocyjanów. I tu chciałam zapytać czy obecność wspomnianych antocyjanów w ciemnych winogronach została potwierdzona eksperymentalnie czy wynikała ze studium literatury?

Dodatkowo, przeprowadzone analizy wykazały, że antocyjany acylowane stanowiły ok. 70% całkowitej zawartości, podczas gdy nieacylowane jedynie 30%. Przeprowadzone analizy wykazały, że zastosowane podczas wytwarzania prototypów smoothie procesy technologiczne w istotnym zakresie obniżały zawartość antocyjanów w porównaniu do sumy wartości wniesionych przez poszczególne składowe receptur. [REDACTED]

[REDACTED] Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że różnice w zawartości antocyjanów w badanych prototypach zależą nie tylko od rodzaju zastosowanych procesów technologicznych ale także od rodzaju substancji towarzyszących. Należy również zwrócić uwagę na fakt, iż antocyjany acylowane wprowadzone do prototypów wraz z koncentratem i przecierem fioletowej marchwi wykazywały większą stabilność niż te dostarczone wraz z koncentratem czarnych porzeczek, co jest zgodne z doniesieniami literaturowymi. Jak słusznie zauważył Autor, warto również podkreślić, że wszystkie przebadane prototypy produktów przecierowo-sokowych były bogate w różne formy antocyjanów, co czyni je interesującym źródłem tych związków w codziennej diecie. Ponadto, obecność acylowanych oraz nieacylowanych ich form może pozytywnie wpływać na właściwości prozdrowotne tych produktów ale również może być innowacyjne w kontekście długoterminowego przechowywania i zachowania jakości. I tu pojawia się kolejne pytanie, czy były prowadzone badania przechowalnicze?

Analizowane ekstrakty z owoców czarnej porzeczki i korzeni fioletowej marchwi charakteryzowały się dużym potencjałem do wychwytywania wolnych rodników. Spośród przebadanych surowców najwyższą pojemnością przeciwutleniającą opisywaną przez wszystkie zastosowane metody charakteryzowały się ekstrakty z owoców czarnej porzeczki. Ekstrakty wszystkich półproduktów i produktów otrzymanych z owoców czarnej porzeczki i fioletowej marchwi wykazały duży potencjał do „zmiatania wolnych rodników”, a wartości pojemności przeciwutleniającej różniły się znacząco pomiędzy badanymi produktami [REDACTED]

[REDACTED] Otrzymane wyniki wskazują, że różnice w pojemności przeciwutleniającej produktów uzyskanych z owoców czarnej porzeczki i korzeni fioletowej marchwi zależą od rodzaju zastosowanego procesu technologicznego, co potwierdzają również inne doniesienia literaturowe.

Ponadto, przeprowadzono badania *in vitro* oceniające poziom wiązania antocyjanów w czternastu prototypach produktów spożywczych typu smoothie, które wykazały, że zastosowanie różnych środków towarzyszących oraz metod technologicznych miało znaczący wpływ na poziom ich wiązania przez matrycę. [REDACTED]

[REDACTED] Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że zaproponowane i zastosowane składniki i procesy technologiczne posiadają potencjał w zakresie wiązania antocyjanów z matrycą produktów spożywczych co może skutkować

ograniczeniem ich degradacji w trakcie procesów przechowalniczych i po spożyciu w górnych odcinkach przewodu pokarmowego.

Wyniki te sugerują, że wybór odpowiednich technologii przetwarzania oraz dodatków funkcjonalnych może istotnie wpływać na związanie antocyjanów w produktach spożywczych, a tym samym może mieć istotny wpływ na ich potencjalne korzyści prozdrowotne.

[REDACTED]

W ostatnim etapie realizacji pracy badania dotyczyły analizy profilu i zawartości antocyjanów i ich metabolitów w treści przewodu pokarmowego, osoczu krwi i moczu szczurów po podaniu do żołądka, jelita cienkiego i jelita ślepego preparatów prototypów produktów przecierowo-sokowych typu smoothie. Wcześniejsze badania sugerują, że antocyjany są wchłaniane i część z nich podlega procesom metabolicznym w ramach szlaków detoksyfikacyjnych, co skutkuje obecnością natywnych i koniugowanych form tych związków w płynach fizjologicznych ludzi i zwierząt. Jak słusznie zauważył Doktorant brak jest jednak pełnych badań na temat przemian antocyjanów na poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego po podaniu produktów żywnościowych, w których badano aktualne stężenie fitozwiązków i ich metabolitów z jednoczesnym uwzględnieniem wpływu procesów technologicznych. Dotychczas nie opublikowano także wyników badań przedstawiających przemiany antocyjanów w organizmach ludzi i zwierząt po ich spożyciu w postaci matryc pokarmowych wykazującej potencjał do ich wiązania. W treści przewodu pokarmowego, osoczu krwi i moczu szczurów, po podaniu badanych prototypów smoothie, oprócz dziewięciu natywnych antocyjanów znaleziono również trzydzieści jeden metabolitów, w tym formy metylowane, glukuronowe i siarczanowe, dowodząc ich wchłaniania z żołądka oraz jelita cienkiego i ślepego.

[REDACTED]

Omawiając wyniki przedstawione w pracy Pan mgr inż. Wiesław Kaszubski wykazał, że przeprowadzone eksperymenty dostarczają nowej i istotnej wiedzy mogącej zapoczątkować nowe podejście do optymalizacji procesów technologicznych w celu zmniejszenia strat antocyjanów oraz poprawy prozdrowotnego potencjału produktów otrzymywanych z czarnej porzeczki i fioletowej marchwi poprzez zwiększenie ich stabilności. Ponadto, mogą pomóc w zrozumieniu przemian jakim po spożyciu w organizmie ludzi i zwierząt podlegają antocyjany (oraz inne fitozwiązki) w odniesieniu do ich właściwości biologicznych oraz potencjalnych, korzystnych funkcji fizjologicznych.

Doktorant wyciągnął właściwe wnioski. Przeprowadzone badania i sformułowane na ich podstawie wnioski kładą odpowiednie akcenty na znaczenie poznawcze i aplikacyjne oraz są adekwatne do celów określonych w pracy. Chciałam jeszcze zapytać jak zdobyta przez Doktoranta, w trakcie realizacji niniejszej pracy widza, przyczyni się do rozwoju firmy?

Uwagi zawarte w niniejszej recenzji w żaden sposób nie wpływają na obniżenie wartości naukowej recenzowanej pracy, stanowiącej wartościowe opracowanie naukowe, świadczące o dobrym przygotowaniu merytorycznym, technologicznym i analitycznym Autora.

Podsumowując rozprawa doktorska Pana mgr inż. Wiesława Kaszubskiego wnosi oryginalny wkład w rozwój wiedzy w dyscyplinie technologia żywności i żywienia dotyczący innowacyjnych produktów spożywczych oraz dowodzi możliwości owocnej współpracy świata nauki z przemysłem.

Ocena końcowa

Podsumowując przedłożoną do recenzji rozprawę doktorską stwierdzam, że Pan mgr inż. Wiesław Kaszubski wykazał się dobrą znajomością tematyki badań. Poprawnie zaplanował i wykonał doświadczenia oraz analizy wykazując się umiejętnością obsługi nowoczesnej aparatury analitycznej i uzyskując dużą liczbę wartościowych wyników.

Pani mgr inż. Wiesław Kaszubski jest współautorem trzech prac opublikowanych w Przemśle Farmaceutycznym i Owocowo-Warzywnym oraz dwóch kolejnych, które są w trakcie recenzji w czasopismach *Journal of Elementology* and *Molecules*. Uczestniczył w 3 projektach B+R firmy TYMBARK-MWS Sp. z o.o. Oddział w Olsztynku. Został 2-krotnie wyróżniony za najlepsze doniesienie naukowe w formie wystąpienia ustnego jako prelegent na krajowych Konferencjach Młodych Badaczy pt. „Bezpieczeństwo i jakość żywności” organizowanych przez Wydział Nauki o Żywności UWM w Olsztynie oraz IRZiBŻ PAN.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Wiesława Kaszubskiego pt. „Badanie procesów degradacji i wchłaniania antocyjanów z nowo opracowanych modeli produktów spożywczych w kontekście ich właściwości prozdrowotnych” jest oryginalnym osiągnięciem naukowym i spełnia wszystkie wymagania stawiane tego typu pracom określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*. Na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana mgr inż. Wiesława Kaszubskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Magdalena Surma

