UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I BIOTECHNOLOGII

KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

Lublin, 04.01.2021

dr hab. Michał Świeca prof. uczelni
Katedra Biochemii i Chemii Żywności
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Bartosza Kulczyńskiego
pt. „Ocena przydatności miąższu dyni wzbogaconego w wapń w żywności ukierunkowanej na prewencję zmian osteoporotycznych"
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Gramzy-Michałowskiej

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. nr 65 poz.595 z późn. zm.)

Podstawą opinii jest pismo prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 25-11-2020

Informacje ogólne - uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej

Osteoporoza oraz schorzenia współistniejące stanowią istotny problem we wszystkich społeczeństwach wysokorozwiniętych, nie tylko z uwagi na generowanie wysokich kosztów związanych z terapią i rekonwalescencją, ale przede wszystkim z jej wpływem na pogorszenie jakości codziennego życia wynikającej z ograniczenia samodzielności i niezależności. Jakkolwiek etiologia tego schorzenia jest wieloczynnikowa, liczne dane potwierdzają, że

KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

spośród modyfikowalnych czynników ryzyka, szczególną rolę odgrywają niedobory pokarmowe, a w szczególności niedobór wapnia i witaminy D. W utrzymaniu homeostazy fosforanowo – wapniowej istotną rolę odgrywa podaż kilku czynników pokarmowych, wśród których należy wymienić prebiotyki, witaminę D oraz karotenoidy. Wzajemne relacje tych składników nie tylko regulują absorbcję wapnia i jego wbudowywanie do układu kostnego, ale także poprzez wpływ na funkcjonowanie układów nerwowego i mięśniowego istotnie ograniczają ilość epizodów prowadzących do złamań osteoporotycznych.

W celu zapewnienia efektywności interwencji dietetycznej niezwykle istotnym jest wprowadzenie składnika funkcjonalnego do codziennej diety w formie, która w jak najmniejszym stopniu wpływa na dotychczasowe nawyki żywieniowe i jednocześnie jest atrakcyjna dla konsumenta. Jednym z rozwiązań stosowanych w technologii żywności w celu minimalizowania niedoborów dietetycznych, wynikających z obniżonej zawartości wybranych składników odżywczych i funkcjonalnych lub też ich utraty w procesie technologicznym, jest proces fortyfikacji lub kierunkowe wzbogacanie produktu. W procesie tym, prócz właściwego doboru dodatków, niezwykle istotnym jest także ocena wpływu ich wzajemnych interakcji na efekt końcowy. W mojej ocenie, przedstawione badania wzorcowo wpisują się w ten trend, dokonując kompilacji składników o działaniu anty-osteoporotycznym (polifenole/karotenoidy - wapń - inulina) oraz fortyfikacji pieczywa w uzyskany dodatek funkcjonalny, co powinno zapewnić jego powszechne spożycie, a tym samym intensyfikację zakładanego efektu prewencyjnego.

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska skupia się na ocenie możliwości wykorzystania miąższu dyni fortyfikowanego w wapń jako dodatku funkcjonalnego do produkcji żywności dedykowanej prewencji zmian osteoporotycznych. Z uwagi na powyższe, uważam, że badania podstawowe oraz aplikacyjne wchodzące w skład przedstawionej do oceny dysertacji są niezwykle istotne i stanowią znaczący wkład do nowoczesnej technologii żywności, dietetyki oraz prewencji populacyjnej.

Ocena formalna pracy

Podstawę rozprawy doktorskiej Pana mgr Bartosza Kulczyńskiego pt. „Ocena przydatności miąższu dyni wzbogaconego w wapń w żywności ukierunkowanej na prewencję

KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

zmian osteoporotycznych", stanowi zbiór 6 opracowań, w tym 5 oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2019-2020 w czasopismach indeksowanych w Journal Citation Reports oraz 1-go zgłoszenia patentowego:

1. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A.: The profile of secondary metabolites and other bioactive compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* pumpkin cultivars. Molecules, 2019, 24, 16, 2945.
2. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A.: The profile of carotenoids and other bioactive molecules in various pumpkin fruits (*Cucurbita maxima* Duchesne) cultivars. Molecules, 2019, 24, 18, 3212.
3. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A., Królczyk JB.: Optimization of extraction conditions for the antioxidant potential of different pumpkin varieties (*Cucurbita maxima*). Sustainability, 2020, 12, 4, 1305.
4. Kulczyński B., Sidor A., Gramza-Michałowska A.: Antioxidant potential of phytochemicals in pumpkin varieties belonging to *Cucurbita moschata* and *Cucurbita pepo* species. CyTA - Journal of Food, 2020, 18:1, 472-484.
5. Kulczyński B., Suliburska J., Rybarczyk M., Gramza-Michałowska A.: The effect of osmotic dehydration conditions on the calcium content in plant matrice. Food Chemistry, 2020, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128519.
6. Gramza-Michałowska A., Kulczyński B., Suliburska J.: „Pieczywo i sposób wytwarzania pieczywa" P.432704 z dnia 27.01.2020 r. zgłoszenie patentu na wynalazek do UP RP.

Przestawiony do oceny zbiór opracowań poprzedzony stosownym wstępem stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i w pełni spełnia ono wymagania stawiane dysertacjom doktorskim. Jednocześnie pragnę podkreślić, że ich zakres pokrywa się z poddanym przez Doktoranta tytułem dysertacji.

Całkowita punktacja publikacji wchodzących w skład dysertacji wynosi 510 punktów wg wykazu oceny czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, zaś sumaryczny IF (*impact factor*) – 17.07. Wszystkie publikacje wchodzące w skład dysertacji są pracami wieloautorskimi, w których Pan Kulczyński jest pierwszym autorem oraz

KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

w większości autorem korespondencyjnym. Udział Kandydata w ich powstawaniu (zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów) jest kluczowy i został jasno określony procentowo. Ranga czasopism, w których prace zostały opublikowane oraz Jego dotychczasowy dorobek naukowy nie pozostawiają wątpliwości, co do wysokiego poziomu naukowego i warsztatowego Kandydata.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje 3 główne rozdziały poprzedzone streszczeniami w języku polskim i angielskim, wykazem prac wchodzących w skład dysertacji oraz podsumowaniem dotychczasowego dorobku naukowego Aplikanta. Kolejno w dysertacji znajdują się oświadczania współtwórców publikacji naukowych określające ich udział w badaniach oraz pełne wersje manuskryptów. Hipotezy badań i cel poszczególnych zadań badawczych zostały jasno zdefiniowane i co istotne w każdej części opisu wyników znajduje się bezpośrednie odniesienie do nich. W dysertacji brak Spisu treści, który niewątpliwie ułatwiłby „nawigację" i szybkie odnalezienie wybranych fragmentów pracy. Należy również zwrócić uwagę, że nie została zachowana konsekwencja w przedstawianiu kolejnych prac wchodzących w skład dysertacji (inna kolejność w wykazie na stronach 11-12 vs kolejność pełnych wersji manuskryptów).

W tej części recenzji czuję się w obowiązku podkreślić bardzo wysoki dotychczasowy dorobek Aplikanta, na który składa się 64 publikacje naukowe, z których 20 zostało opublikowane w czasopismach indeksowanych na liście JCR. Sumaryczny dorobek Pana Bartosza Kulczyńskiego kształtuje się następująco: IF= 58,43, liczba cytowań wg Scopus= 237, Index Hirscha= 8 i potwierdza, iż jest On młodym naukowcem o już znaczących osiągnięciach. Jako recenzent jestem pod dużym wrażeniem dorobku Pana Bartosza, będąc jednocześnie przekonanym, że należy On do wybijających się młodych naukowców zajmujących się problematyką technologii żywności i żywienia.

Ocena merytoryczna pracy

We Wprowadzeniu Autor przedstawia podstawowe tło badań, dokonując szczegółowej charakterystyki surowca, potencjalnej bioaktywności jego głównych składników. Kolejno odnosi się do etiologii i znaczenia społecznego osteoporozy wskazując jednocześnie na rolę wybranych składników odżywczych w jej prewencji i leczeniu tego schorzenia. W ostatnim

podrozdziale odnosi się bezpośrednio do suszenia osmotycznego jako procesu, który może być efektywnie wykorzystany do wydłużenia trwałości żywności oraz jej fortyfikacji. W rozdziale tym wyjaśnienia lub korekty wymagają następujące sformułowania:

Str. 21. Autor mylnie klasyfikuje glutation jako enzym,

Str. 21. Sugerowałbym użycie zwrotu „obniżenie peroksydacji lipidów" zamiast „zmniejszenie stężenia dialdehydu malonowego" – co prawda właściwość tę zwykle wyrażamy jako ekwiwalent aldehydu malonowego jednak produkty tej reakcji są zwykle bardziej zróżnicowane,

Str. 28 i inne miejsca w opracowaniu. Zwykle podczas prezentacji wyników przedstawia się określoną ilość poziomów (liczbę cyfr znaczących). Podawanie zbyt szczegółowych danych, w szczególności, gdy została dokonana obróbka statystyczna, utrudnia ich odczytanie i interpretację.

Niezwykle ciekawym zagadnieniem jest pozytywny wpływ spożycia inuliny na absorbcję wapnia. Czy znane są mechanizmy tego zjawiska?

Sformułowane w Rozdziale II hipotezy badawcze, cele pracy oraz sposoby ich realizacji zostały jasno określone i w pełni potwierdzają zarówno poznawczy jak i praktyczny charakter badań. Przedmiot badań i metodyka badawcza zostały przedstawione w sposób skrótowy, co w sytuacji gdy szczegółowe informacje znajdują się w manuskryptach jest w pełni zrozumiałe. Założenia badań oraz ich harmonogram dobrze oddaje schemat przedstawiony na stronie 35. Autor w oparciu o analizy porównawcze potencjału przeciwutleniającego oraz profilu związków bioaktywnych wybranych odmian dyni wytypował te, których charakterystyka predysponowała do procesu fortyfikacji. Kolejno opracował warunki procesu odwadniania osmotycznego i związanej z nim fortyfikacji w wapń. Finalnie, ocenie zostaje poddana możliwość inkorporacji dodatku funkcjonalnego do pieczywa.

Opis wyników i ich dyskusja są napisane poprawnie. Doktorant skrótowo przedstawia główne wyniki badań, podsumowuje je i wyciąga wnioski. Treści zawarte w tej części zostały trafnie podzielone na 5 głównych części weryfikujących założone hipotezy badawcze.
W oparciu o wyniki zaprezentowane w 2 pracach opublikowanych w Sustainability (2020), CyTA - Journal of Food (2020) wykazano, że aktywność przeciwutleniająca jest ściśle determinowana rodzajem surowca (gatunkiem i odmianą dyni) oraz zastosowanymi

warunkami ekstrakcji. Co istotne, wszystkie badane surowce pochodziły z jednego gospodarstwa oraz były pozyskane w jednym czasie, co pozwoliło wykluczyć wpływ warunków atmosferycznych i zabiegów agrotechnicznych na jakość surowca. Wykazano, że w większości przypadków, ekstrakty metanolowo-wodne charakteryzowały się wyższym potencjałem przeciwutleniającym, przy jednocześnie niższej zawartości polifenoli ogółem. W przypadku tych opracowań, należy podkreślić, że potencjał przeciwutleniający został określony w oparciu o wyniki uzyskane dla testów o różnym mechanizmie działania. Kolejne 2 prace dokonują dalszej charakterystyki surowca skupiając się na analizie ilościowo –jakościowej frakcji potencjalnie bioaktywnej. Największe ilości związków bioaktywnych, w tym karotenoidów, fenoli i tokoferoli oznaczono w materiale odmiany Melonowa Żółta oraz odmianach Schishigatani, Casperita, Bambino. W przypadku oceny tej części pracy niezwykle istotnym jest jednoczesna analiza wszystkich manuskryptów, gdyż charakterystyki składu i potencjalnej bioaktywności nie zostały skompilowane w jednym opracowaniu. Taki sposób przedstawienia rezultatów badań, może sugerować, że to frakcja polifenolowa determinuje poziom bioaktywności. Zastosowana analiza statystyczna wskazuje, że finalny efekt w przypadku badanych ekstraktów jest raczej wypadkową aktywności poszczególnych składników mieszaniny. Wyniki zawarte we wspomnianej części opracowania pozytywnie weryfikują 3 pierwsze hipotezy badawcze.

W kolejnym etapie Aplikant ocenia wpływ warunków odwadniania osmotycznego na poziom absorbcji wapnia. W manuskrypcie opublikowanym w Food Chemistry potwierdzono skuteczność odwadniania osmotycznego do wzbogacania miąższu dyni w wapń, wskazując jednocześnie kluczowe parametry wpływające na efektywność procesu (temperatura, czas trwania, rodzaj i stężenie substancji osmotycznej, formę chemiczną oraz stężenie wapnia). Wskazano, że absorbcji wapnia promuje wykorzystaniem inuliny i ksylitolu jako substancji osmotycznych oraz chlorku wapnia jako formy chemicznej pierwiastka.

Ostatnia część Opisu wyników obejmuje opis wykorzystania dyni wzbogaconej w jony wapnia i inulinę do produkcji pieczywa o podwyższonej zawartości karotenoidów i wapnia. Sporządzone pieczywo zostało pozytywnie, a inkorporacja dodatku funkcjonalnego nie wpływa na smak pieczywa oraz jego właściwości fizyczne. Jednocześnie otrzymane pieczywa, z 10 i 21% dodatkiem wzbogaconej dyni, charakteryzuje istotnie podwyższona zawartość wapnia.

KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

W części tej Doktorant nie ustrzegł się pewnych błędów merytorycznych i językowych:

Str. 37. Pragnę zwrócić uwagę na użycie zwrotu „zmiatanie rodnika" będącego bezpośrednim tłumaczeniem z języka angielskiego. Sugeruję użycie „neutralizacja" lub z odniesienia do mechanizmu reakcji np. redukcja w przypadku rodnika DPPH.

W przestawionej dysertacja niezwykle intersująca jest część aplikacyjna obejmująca recepturę pieczywa funkcjonalnego. Czy na obecnym etapie Doktorant posiada wiedzę lub jest w stanie przewidzieć wpływ dodatku na zawartość składników bioaktywnych (np. karotenoidów) i odżywczych oraz ich biodostępność.

W opisie wpływu warunków ekstrakcji Doktorant kilkukrotnie kolokwialnie używa stwierdzenia, że zastosowanie wybranych warunków "zwiększyło zawartość lub bioaktywność dyni". Pragnę zwrócić uwagę, że parametry te są stałe, a zastosowany układ ekstrakcyjny jedynie wpływa na wydajność izolowania substancji bioaktywnych, co w konsekwencji przekłada się na zmiany oznaczonej bioaktywności.

W renomowanych czasopismach obowiązuje rygorystyczny system recenzowania, stąd też w swojej recenzji nie odnoszę się bezpośrednio do załączonych manuskryptów. Jednocześnie pragnę zauważyć, że w publikacjach wchodzących w skład dysertacji znajdują się treści, które nie zostały omówione w części opisowej. Dotyczą one oceny wybranych parametrów fizycznych surowca (np. zawartość wody, barwa), analiz statystycznych obserwowanych zależności.

Reasumując, Kwalifikant umiejętnie połączył ze sobą zagadnienia z zakresu technologii żywności, chemii analitycznej i towaroznawstwa, a przedstawiona do oceny dysertacja obejmuje wyniki wartościowe pod względem poznawczym i aplikacyjnym. Jednocześnie pragnę podkreślić, że wszystkie uwagi przedstawione w ocenie pracy mają charakter redakcyjny, część z nich dyskusyjny i nie mają one wpływu na pozytywną ocenę merytoryczną pracy.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji dysertacja mgr. Bartosza Kulczyńskiego pt. „Ocena przydatności miąższu dyni wzbogaconego w wapń w żywności ukierunkowanej na prewencję zmian osteoporotycznych" spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w artykule 13

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I BIOTECHNOLOGII
KATEDRA BIOCHEMII I CHEMII ŻYWNOŚCI
UL. SKROMNA 8, 20-704 LUBLIN
TEL./FAX. 81 462 33 24

ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i wnioskuje do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczanie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wysoki poziom naukowy przestawionych badań motywuje mnie do złożenia Wysokiej Radzie wniosku o wyróżnienie ocenianej dysertacji w sposób praktykowany na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

dr hab. Michał Świeca