Lublin, dnia 24.08.2021 r.

dr hab. inż. Aldona Sobota prof. uczelni
Zakład Inżynierii i Technologii Zbóż
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego i Gastronomii
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Barbary Różańskiej pt. „Badania nad możliwością regulacji poziomu potencjalnie szkodliwych produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym”

wykonanej w Katedrze Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego
na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem Promotora prof. UPP dr hab. Sylwii Mildner-Szkudlarz

Podstawa prawna opracowania recenzji

Recenzja rozprawy doktorskiej została opracowana na podstawie Uchwały Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 22 kwietnia 2021 roku, zgodnie z którą zostałam powołana na Recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Barbary Różańskiej pt. „Badania nad możliwością regulacji poziomu potencjalnie szkodliwych produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym”.

Uzasadnienie podjęcia tematu

W czasie długotrwałego przechowywania oraz termicznego przetwarzania żywności zachodzi szereg reakcji chemicznych, w wyniku których powstają związki chemiczne kształtujące smak, barwę, zapach i teksturę produktów spożywczych. Wśród nich wymienić należy końcowe produkty reakcji Maillarda. Ich powstawanie inicjują reakcje kondensacji zachodzące pomiędzy grupą aminową aminokwasów, peptydów i białek a grupą karbonylową cukrów redukujących. Końcowe produkty glikacji białek wykazują działanie mutagenne i kancerogenne, a w świetle ostatnich badań odgrywają kluczową rolę w etiopatogenezie

cukrzycy typu 2, chorób sercowo-naczyniowych, reumatoidalnego zapalenia stawów oraz chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera i Parkinsona.

Jednym z głównych źródeł produktów reakcji Maillarda w diecie człowieka są produkty zbożowe, a wśród nich pieczywo. Przebieg reakcji Maillarda i powstawanie końcowych produktów tej reakcji w pieczywie zależy od wielu czynników, wśród których należy wymienić czas i temperaturę obróbki cieplnej kęsów ciasta, aktywność wodną, pH środowiska, specyfikę i skład chemiczny surowców, w tym obecność substratów reakcji kondensacji i związków, które mogą inhibować przebieg reakcji. O ile mechanizm powstawania i zawartość produktów glikacji białek w tradycyjnym pieczywie pszennym, mieszanym i żytnim zostały dość dobrze poznane to wiedza na temat powstawania produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym jest ciągle niedostateczna. Mając na uwadze rosnące w ostatnich latach zainteresowanie konsumentów tą gamą wyrobów zbożowych podjęcie badań nad możliwością regulacji poziomu produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym i wskazanie czynników, które mogą determinować przebieg tej reakcji wydaje się celowe i w pełni uzasadnione. Należy podkreślić, że surowce wykorzystywane do produkcji pieczywa bezglutenowego w porównaniu do tradycyjnych mąk chlebowych cechują się odmiennym składem chemicznym, który na ogół warunkuje ich niższą wartość odżywczą i technologiczną. Zawierają mniej białka, błonnika pokarmowego, związków biologicznie aktywnych, minerałów i witamin. Dlatego badania nad wprowadzeniem do receptur pieczywa bezglutenowego składników, które nie tylko będą gwarantem bezpieczeństwa zdrowotnego produktów, lecz także podniosą wartość żywieniową pieczywa i jego jakość sensoryczną mają bardzo dużą wartość naukową i potencjał aplikacyjny.

Ocena formalnej strony pracy

Rozprawa doktorska mgr inż. Marii Barbary Różańskiej jest opracowaniem zwartym, ma formę maszynopisu i obejmuje 165 stron. Układ pracy jest typowy dla rozpraw naukowych i obejmuje 14 rozdziałów głównych, w których Autorka zawarła 23 rysunki i 6 tabel. Dodatkowe 9 tabel dołączono do pracy w postaci załączników. Tytuł pracy oraz tytuły poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów są rzeczowe i dobrze odzwierciedlają podjęty w nich zakres tematyczny. Wyniki, zebrane w tabelach, przedstawione są w sposób bardzo czytelny i przejrzysty. Rysunki, na których zaprezentowano wybrane wyniki badań są dobrze opracowane i zawierają niezbędne informacje. Na podstawie uzyskanych rezultatów badań Autorka sformułowała 8 trafnych wniosków. W pracy zawarto streszczenie w języku polskim

i angielskim oraz wykazy: ilustracji, tabel i załączników. Literatura przedmiotu pracy obejmuje 285 pozycji, z których prawie połowa (44%) to pozycje opublikowane w ostatnich dziesięciu latach. Należy podkreślić, że zdecydowaną większość literatury źródłowej (98%) stanowią prace w języku angielskim. Pod względem edytorskim praca została przygotowana wzorowo.

Drobnym mankamentem jest trochę gorsza czytelność dwóch wykresów ładunkowych przedstawionych na rysunkach 19. i 20. (str. 95) oraz brak odwołania w tekście pracy do jednej pozycji literatury (Thornalley, P.J. (2003)), wymienionej w wykazie literatury w poz. 243.

Ocena merytoryczna pracy

Doktorantka opracowując część literaturową rozprawy doktorskiej umiejętnie wprowadza czytelnika w tematykę podjętą w dysertacji. W tej części pracy Autorka przedstawia mechanizm reakcji Maillarda oraz dokładnie omawia czynniki, które wpływają na przebieg reakcji. Zwraca uwagę na żywieniowe oraz zdrowotne konsekwencje wynikające ze spożycia produktów żywnościowych, które zawierają końcowe produkty glikacji białek. Charakteryzuje markery reakcji Maillarda w tym furozynę, będącą produktem wczesnej fazy reakcji oraz N-ε-karboksymetylolizynę (CML), stanowiącą produkt końcowy reakcji. Omawia metody oznaczania zawartości związków powstałych w wyniku reakcji Maillarda oraz sposoby ograniczenia powstawania tych związków w żywności. W kolejnym rozdziale dysertacji Doktorantka jasno określa cel pracy, trafnie formułuje hipotezy badawcze i przedstawia trzy główne zadania badawcze, których celem było zweryfikowanie postawionych hipotez. Część doświadczalna pracy zawiera dokładny opis materiałów wykorzystanych w badaniach, schemat przeprowadzonych doświadczeń, a także opis zastosowanych metod analitycznych. Warto podkreślić, że Doktorantka wykorzystuje w swoich badaniach zróżnicowane metody badawcze i nowoczesne techniki analityczne w tym ultra-wysokosprawną chromatografię cieczową, chromatografię gazową oraz skaningową kalorymetrię różnicową. Dowodzi to, że Pani magister posiada duże umiejętności analityczne i ma dobrze opanowany warsztat badawczy, niezbędny do prowadzenia badań w obszarze związanym z technologią żywności i żywienia. Metody analizy statystycznej wyników również nie budzą żadnych zastrzeżeń. Autorka przeprowadziła analizę wariancji ANOVA z wykorzystaniem testu Tukey'a przy poziomie istotności $p<0,05$, zbadała również korelacje pomiędzy analizowanymi zmiennymi. Dokonała analizy głównych składowych PCA oraz opracowała wykresy ładunkowe, obrazujące wpływ poszczególnych zmiennych na powstawanie produktów reakcji Maillarda w skórce i miękiszu pieczywa.

Wyniki badań i dyskusja to najbardziej obszerny rozdział dysertacji. Autorka w kolejnych trzech podrozdziałach przeanalizowała wpływ głównych składników przewidzianych recepturą ciasta bezglutenowego (rodzaju mąki, oleju i substancji słodzącej) na powstawanie produktów reakcji Maillarda.

W ramach pierwszego eksperymentu określiła wpływ rodzaju zastosowanej mąki bezglutenowej na tworzenie furozyny, pośrednich produktów reakcji Maillarda zdolnych do fluorescencji (FIC) oraz N-ε-karboksymetylolizyny (CML) w pieczywie. W tym modelu badawczym Doktorantka wykorzystała mąki z kukurydzy zwyczajnej i purpurowej oraz ryżu białego, brązowego, dzikiego, czerwonego i czarnego. Surowce cechowały się zróżnicowanym profilem związków fenolowych. Uzyskane wyniki badań nie potwierdziły postawionej w pracy hipotezy badawczej mówiącej o tym, że wysoka zawartość związków fenolowych w mące jest czynnikiem ograniczającym powstawanie produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym. Analiza statystyczna wyników wykazała natomiast istotną dodatnią korelację pomiędzy zawartością białka oraz wybranych aminokwasów (kwasu asparaginowego i lizyny) w mące a zawartością końcowych produktów reakcji Maillarda w pieczywie (miękiszu i skórce). Ponadto Doktorantka stwierdziła, że większe stężenie furozyny determinuje wyższy poziom końcowego produktu reakcji Maillarda - N-ε-karboksymetylolizyny (CML). Należałoby jednak zaznaczyć, że odnotowana korelacja dotyczy wyłącznie związków obecnych w skórce pieczywa, nie znajduje jednak potwierdzenia w wynikach badań uzyskanych dla miękiszu. Analizując wyniki zawartości związków fenolowych w mące i pieczywie uwagę zwraca kilku, a nawet kilkudziesięciokrotnie większa zawartość wybranych kwasów fenolowych i flawonoidów w pieczywie z kukurydzy purpurowej w porównaniu z mąką z tego surowca (Tab. Z2, str. 151). W trakcie obrony poproszę, aby Doktorantka wytłumaczyła uzyskane rezultaty badań, biorąc pod uwagę fakt, że aż tak znaczących zmian nie odnotowano w przypadku pozostałych surowców. Z modelu doświadczenia wynika, że przygotowując ciasto z różnych mąk bezglutenowych zastosowano stały dodatek wody (160 g/ 200 g mąki). Mając na uwadze różne właściwości fizykochemiczne surowców np. zróżnicowaną zawartość błonnika pokarmowego w mąkach, uważam że celowe byłoby oznaczenie wodochłonności każdego rodzaju mąki. Umożliwiłoby to przygotowanie ciast cechujących się porównywalną konsystencją. Zróżnicowana zawartość błonnika, który w cieście konkuruje o wodę z białkiem i skrobią, może skutkować różnym stopniem uwodnienia poszczególnych składników mąki, warunkować nie tylko konsystencję ciasta, lecz także aktywność wody, a tym samym determinować przebieg reakcji Maillarda.

W mojej opinii bardzo ciekawą i wartościową częścią pracy są badania wykonane w ramach drugiego zadania badawczego, w których Doktorantka oceniła wpływ rodzaju zastosowanego surowca tłuszczowego na tworzenie produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym. W badaniach wykorzystano oleje tłoczone na zimno z prażonych i nieprażonych nasion owoców jagodowych: czarnej porzeczki, malin, aronii i truskawki oraz nasion rzepaku, jako surowca referencyjnego. Proces prażenia nasion miał poprawić stabilność oksydacyjną olejów zasobnych w jedno (MUFA) i wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA). W ramach eksperymentu Doktorantka określiła liczbę kwasową, liczbę nadtlenkową i liczbę anizydynową oraz zbadała profil kwasów tłuszczowych w olejach z nasion prażonych i nieprażonych. Określiła również zawartość fitosteroli i tokochromanoli w tych surowcach. Wykorzystując metodę różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) dowiodła, że oleje tłoczone z nasion prażonych (z wyjątkiem oleju z nasion truskawek) cechują się większą stabilnością oksydacyjną, a tym samym ich zastosowanie w recepturze ciasta ogranicza powstawanie wybranych produktów reakcji Maillarda (głównie CML w miękiszu pieczywa). Czynnikami ograniczającymi powstawanie N-ε-karboksymetylolizyny były również obecne w olejach roślinnych fitosterole (kampestanol, kampesterol, brassikasterol), związki fenolowe (kwas synapowy, kanolol) oraz jednonienasycone kwasy tłuszczowe (MUFA), których najlepszym źródłem był olej rzepakowy. Co istotne uzyskane rezultaty badań dowodzą, że w porównaniu z tradycyjnym pieczywem pszennym zawartość CML w pieczywie bezglutenowym jest nawet kilkunastokrotnie większa. Doktorantka tłumaczy odnotowane różnice zastosowaniem w recepturze ciasta bezglutenowego tłuszczu i sacharozy (w ilości odpowiednio 10 i 9 g/100 g mąki) oraz odmienną konsystencją ciasta, która warunkowała gorsze parametry jakościowe pieczywa bezglutenowego, w tym gorszą strukturę miękiszu i mniejszą objętość właściwą. Nasuwa się pytanie: czy w ramach badań przeprowadzono ocenę parametrów jakościowych ciasta i pieczywa bezglutenowego? W mojej opinii wyniki takiej oceny mogłyby być pomocne w interpretacji uzyskanych rezultatów badań. Warto byłoby również przeprowadzić ocenę sensoryczną pieczywa, aby stwierdzić czy zastosowane rozwiązania recepturowe pozwalają uzyskać wyroby akceptowalne przez konsumentów. Drobnym mankamentem tej części pracy jest brak wyników analizy wariancji w odniesieniu do zawartości kwasów tłuszczowych w olejach (Tab. 4, str. 74). Brak oznaczeń literowych nie pozwala stwierdzić czy odnotowane różnice w zawartości kwasów tłuszczowych są statystycznie istotne.

W kolejnym – trzecim etapie badań przeanalizowano wpływ rodzaju zastosowanej substancji słodzącej na kinetykę tworzenia produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym. Wykorzystane w badaniach alkohole cukrowe (erytrytol, maltitol i ksylitol), wprowadzono do receptury pieczywa zastępując w 50 i 100 % sacharozę. Próbą kontrolną był wariant pieczywa, w którym substancją słodzącą była sacharoza. W celu zobrazowania kinetyki powstawania produktów reakcji Maillarda badano ich zawartość w pieczywie po upływie 10, 20 i 30 minut od rozpoczęcia wypieku. Można zauważyć, że wraz z upływem czasu pieczenia zawartość furozyny w skórce pieczywa rośnie, co wydaje się oczywiste, natomiast odnotowany poziom tego związku w miękiszu pieczywa maleje. Jak Doktorantka mogłaby wytłumaczyć taką tendencję? Uzyskane rezultaty dowodzą, że zastąpienie sacharozy alkoholami cukrowymi (erytrytolem, maltitolem i ksylitolem) ograniczyło powstawanie furozyny w pieczywie natomiast nie wpłynęło korzystnie na tworzenie pośrednich i końcowych produktów reakcji Maillarda.

Wnioski końcowe

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Marii Barbary Różańskiej jest bardzo dobrym opracowaniem naukowym i stanowi znaczący wkład do wiedzy na temat czynników determinujących powstawanie produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym. Autorka rozprawy wykazała się dużą umiejętnością w planowaniu i realizacji zadań badawczych. W sposób bardzo czytelny przedstawiła uzyskane wyniki badań i przeprowadziła ich wnikliwą dyskusję. Niejednokrotnie podejmowała próbę wytłumaczenia rezultatów badań, które były przeciwstawne do wyników prezentowanych w literaturze, co świadczy o dużej dojrzałości Doktoratki oraz jej dobrym przygotowaniu merytorycznym i warsztatowym. Warty podkreślenia jest również stosunkowo duży dorobek naukowy Pani magister. Obejmuje on 8 oryginalnych prac twórczych, opublikowanych w czasopismach z listy JCR, 4 prace opublikowane w czasopismach spoza listy JCR i 1 rozdział w monografii. Publikacje stanowiące dorobek doktorantki są wieloautorskie. Skład autorski obejmuje od 2 do 10 osób. W 4 pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) czasopism, w których opublikowano prace, jest równy 28,024 (zgodnie z rokiem opublikowania) natomiast sumaryczna liczba punktów publikacyjnych zgodnie z rokiem opublikowania według Komunikatu MEiN z dnia 9 lutego 2021 r. wynosi 815. Liczba cytowań ww. publikacji według Web of Sience wynosi 83 (według Scopus – 91) natomiast Indeks Hirscha jest równy 6 (według Scopus - 7). Są to bardzo dobre wskaźniki bibliometryczne, mając

na uwadze fakt, że prace uwzględnione w ww. bazach opublikowano stosunkowo niedawno, bo w latach 2019-2021. Warto podkreślić, że Doktorantka kierowała projektem badawczym finansowanym przez NCN, w ramach którego zrealizowano badania zaprezentowane w ocenianej pracy.

Mając na uwadze dużą wartość pracy, oraz zakres i oryginalność podjętej problematyki badawczej stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marii Barbary Różańskiej zatytułowana: „Badania nad możliwością regulacji poziomu potencjalnie szkodliwych produktów reakcji Maillarda w pieczywie bezglutenowym" spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, zawarte u ustawie z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882, z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Technologii Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani magister do dalszych etapów przewodu doktorskiego. **Jednocześnie przedkładam wniosek o wyróżnienie opiniowanej rozprawy doktorskiej.**