



Poznań, 15.09.2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Przeor

pt.: „Wpływ zabiegów technologicznych na zawartość i właściwości bioaktywnych związków
w preparatach z liści morwy białej”

wykonanej w Katedrze Technologii Żywności Człowieka

Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Ewy Flaczyk

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 dr hab. Bożeny Danyluk, Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 25.08.2017 r.

Ostatnie lata charakteryzują się znaczącym wzrostem świadomości konsumenta, który nie postrzega żywności wyłącznie jako źródło składników odżywczych, lecz także składników o udokumentowanym działaniu fizjologicznym, mających niebagatelny wpływ na utrzymanie homeostazy organizmu. Wyniki wielu badań naukowych dowodzą, że liście morwy białej (*Morus alba* L.) są cennym źródłem związków o wysokiej aktywności biologicznej, co determinuje ich wykorzystanie w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób o podłożu cywilizacyjnym, w tym m.in. cukrzycy. Obecność tych związków kształtuje wysoki potencjał przeciwutleniający surowca roślinnego, wykorzystywanego podczas projektowania żywności funkcjonalnej. Stwierdzono, że główne różnice we właściwościach liści morwy wynikają z różnic odmianowych, gatunkowych, klimatycznych i kultury uprawy, natomiast kluczową rolę w kształtowaniu tych właściwości może mieć stopień przetworzenia liści, będący efektem przemian zachodzących podczas stosowanych zabiegów technologicznych. Powyższe względy skłoniły Doktorantkę do podjęcia badań nad opracowaniem nowej technologii przetwarzania liści morwy białej, bogatych w związki biologicznie aktywne oraz sensorycznie akceptowalne przez konsumenta.

Ocena formalna pracy

Mgr inż. Monika Przeor w swojej dysertacji opisuje wyniki badań nad wykorzystaniem przetworzonych liści morwy białej odmiany Żółwińska Wielkolistna, jako źródła związków biologicznie aktywnych o określonym działaniu prozdrowotnym. Przedmiotem zainteresowania są głównie procesy technologiczne przetwarzania liści morwy białej oraz ich wpływ na zawartość związków aktywnych i właściwości, również po trawieniu *in vitro*.



Oceniana praca liczy 193 strony i składa się z 13 rozdziałów, spośród których rozdział 1 i 2 zawiera wstęp i przegląd literatury, stanowiący zwartą podstawę teoretyczną opartą na prawidłowo dobranej literaturze przedmiotu. Rozdział 3 stanowi cel i zakres badań, natomiast rozdziały 4-6 zawierają model badań, opis znanych i stosowanych przez Doktorantkę metod badania składu podstawowego, związków biologicznie aktywnych, aktywności przeciwutleniającej, symulacji procesu trawienia *in vitro*, analizy sensorycznej oraz statystycznej obróbki uzyskanych wyników. Rozdział 7 stanowi opis otrzymanych wyników, natomiast rozdział 8 ich dyskusję. W rozdziałach 9-10 Doktorantka podsumowała uzyskane wyniki oraz sformułowała 12 obserwacji i 5 wniosków, szeregując je według założonych celów. Rozdział 11-13 stanowi spis piśmiennictwa oraz tabel i rycin. Proporcje poszczególnych elementów pracy są prawidłowe i nie budzą zastrzeżeń formalnych. Piśmiennictwo obejmuje 197 najważniejszych pozycji z obszernej literatury przedmiotu badań, z czego 67 prac opublikowano w ostatnich pięciu latach, a kolejne 139 w dziesięciu. Uzasadniając treść pracy Doktorantka zamieściła 43 tabele i 33 ryciny. Praca jest spójna, ściśle związana z zakresem realizowanej tematyki badawczej i wprowadza w sposób komunikatywny w skomplikowane zagadnienia związane z procesami przetwarzania żywności. Podsumowując stwierdzam, że praca spełnia wymagania formalne stawiane pracom dyplomowym na stopień doktora.

Merytoryczna ocena pracy

Analizując warstwę teoretyczną rozprawy (str. 17-45) – stwierdzam, że stanowi ona dobrą podstawę do uzasadnienia wyboru tematu, dyskusji wyników i wnioskowania. W pierwszym rozdziale przeglądu literatury Autorka podaje podstawowe informacje na temat charakterystyki botanicznej i biochemicznej morwy białej oraz kierunku jej zastosowania w medycynie. Mając na celu opracowanie preparatu roślinnego o możliwie wysokich walorach prozdrowotnych oraz sensorycznych, mgr inż. Monika Przeor w kolejnym rozdziale części teoretycznej pracy zdefiniowała rolę związków bioaktywnych w utrzymaniu homeostazy organizmu. Znaczną część rozdziału zajmuje charakterystyka modeli przewodu pokarmowego stosowanych w badaniach strawności i biodostępności składników odżywczych oraz przemian i metabolizmu polifenoli podczas procesu trawienia. Istotnym uzupełnieniem tej części dysertacji jest wpływ przetwarzania surowców roślinnych na ich aktywność przeciwutleniającą.

Osiągnięcie naukowe mgr inż. Moniki Przeor przedstawione do oceny jako podstawa o ubieganie się o stopień doktora składa się z kilku doświadczeń zgodnych z celami szczegółowymi niniejszej pracy. Głównym celem badań było określenie parametrów zabiegów technologicznych dotyczących przygotowania preparatów z liści morwy białej odmiany Żółwińska Wielkolistna, w tym przede wszystkim



stopnia rozdrobnienia liści, czasu leżakowania i temperatury suszenia oraz ich wpływu na jakość preparatów. W recenzowanej pracy doktorskiej mgr inż. Monika Przeor postawiła pięć hipotez badawczych:

1. Zabiegi rozdrabniania, leżakowania i suszenia liści morwy białej wpływają na zawartość i właściwości związków bioaktywnych;
2. Preparaty liściowe otrzymane w skali półtechnicznej różnią się pod względem zawartości związków odpowiedzialnych za aktywność przeciwutleniającą w porównaniu z preparatami otrzymanymi w skali laboratoryjnej;
3. Liście poddane leżakowaniu przez okres maksymalnie do czterech godzin wykazują zróżnicowaną zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą;
4. Zawartość cukrów prostych i polifenoli na pięciu odcinkach symulowanego przewodu pokarmowego, zależy od rodzaju preparatu (nieleżakowany, leżakowany przez jedną do czterech godzin) oraz etapu trawienia;
5. Trawienie w warunkach *in vitro* zarówno preparatów z liści morwy białej jak i ich naparów zachodzi według zbliżonego mechanizmu i charakteryzuje się zróżnicowanymi wskaźnikami przemiany cukrów i polifenoli.

Weryfikację powyższych hipotez Doktorantka przeprowadziła w oparciu o realizację zadań badawczych obejmujących: wybór stopnia rozdrobnienia, leżakowania i temperatury suszenia liści morwy białej poprzez określenie aktywności przeciwnadkwasotwórczej; analizę sensoryczną preparatów liściowych oraz ich naparów; charakterystykę właściwości przeciwutleniających i zawartości związków bioaktywnych w preparatach liściowych; symulację trawienia preparatów liściowych i ich naparów oraz oznaczenie zawartości wybranych związków bioaktywnych w układzie modelowego przewodu pokarmowego *in vitro*. Można jedynie ubolewać, że znaczące uproszczenie przedstawionego modelu badań (str. 49) nie obrazuje ogromnego zakresu przeprowadzonych analiz. Autorka założyła opracowanie technologii przetwarzania liści morwy o wysokiej zawartości związków biologicznie aktywnych oraz akceptowalnym przez konsumentów profilu sensorycznym, a najważniejsze analizy chemiczne opisuje jako: „charakterystyka”, czy „testy przeciwutleniające”.

W kolejnej części pracy Doktorantka charakteryzuje materiał badany oraz procesy, którym zostały poddane liście morwy białej w skali laboratoryjnej i półtechnicznej. Umieszczenie w tym rozdziale metodyki dotyczącej symulowanego procesu trawienia uważam za nieodpowiednie, gdyż dalsza część opisu tego procesu znajduje się w kolejnym rozdziale pracy (str. 71). Ponadto spis wykorzystanych odczynników nie stanowi materiału badanego, jak to zaprezentowano w pracy (str. 59-61). W dalszej



części pracy Autorka prezentuje wykaz zastosowanych metod analitycznych, obejmujących analizę składu chemicznego materiału badanego i jego aktywności przeciwutleniającej, symulowany proces trawienia *in vitro*, ocenę sensoryczną preparatów liści i ich naparów oraz analizę statystyczną uzyskanych wyników. Niestety Doktorantka nie ustrzegła się uogólnień i błędów podczas opisu metodycznego. Przedstawiony na str. 65: opis metodyki oznaczania zawartości węglowodanów jest przedstawiony w formie zbyt dużego uogólnienia. W rozdziale 6.19. pt. „Ocena sensoryczna naparów z liści morwy białej” (str. 74) nie opisano struktury płci oceniających, podczas gdy w opisie stopnia pożądalności wybranych cech naparów z preparatów liściowych (str. 125) ujęto interpretację danych uwzględniając płeć osób oceniających.

Podsumowując tę część pracy: wymienione metody badań zostały w mojej opinii dobrane prawidłowo i pozwoliły Autorce na realizację zamierzeń przedstawionych w pracy.

Obszerny fragment dysertacji stanowi prezentacja wyników badań (str. 76-140) i ich dyskusja (str. 141-169), harmonizujące z omówionym wyżej przeglądem literatury tematu i umożliwiające weryfikację postawionych hipotez. W pierwszym etapie badań Doktorantka scharakteryzowała skład podstawowy badanych liści morwy białej. W kolejnym etapie pracy liście zostały poddane szczegółowo zaprojektowanym procesom przetwarzania w skali laboratoryjnej oraz scharakteryzowane pod kątem aktywności przeciwutleniającej i zawartości związków bioaktywnych. Zróżnicowanie warunków leżakowania i rozdrobnienia liści oraz temperatury suszenia pozwoliło na uzyskanie szerszego spojrzenia na zmiany aktywności przeciwutleniającej, będącej m.in. konsekwencją interakcji związków fenolowych z matrycą roślinną. Należy ponadto podkreślić, że w świetle dostępnych danych literaturowych taka modyfikacja procesu stanowi zupełną nowość w badaniach nad liśćmi morwy białej. W wyniku tych badań dokonano wyboru najbardziej pożądanego warunków przetwarzania liści, które zastosowano w skali półtechnicznej. Stwierdzono, że najkorzystniejsze rozdrobnienie liści morwy to nazwane w pracy „grube” rozdrobnienie (do wielkości 5-7cm x 1-2cm), temperatura suszenia to 60°C, a jako czynnik różnicujący próby zastosowano czas leżakowania liści. Otrzymane preparaty liści morwy poddano analizom obejmującym podstawowy skład chemiczny, skład aminokwasów, profil kwasów tłuszczowych i związków fenolowych, zawartość alkaloidu DNJ, kwasu askorbinowego, składników mineralnych, błonnika pokarmowego i chlorofilu. Materiał badany scharakteryzowano także przy zastosowaniu analizy sensorycznej. Oznaczono ponadto aktywność przeciwutleniającą za pomocą standardowych testów (TEAC, DPPH, FRAP, chelatowanie żelaza i ogólna zawartość związków redukujących). Cennym, lecz jednocześnie dyskusyjnym elementem pracy są wyniki analizy statystycznej zaprezentowanej w tabeli 14. W jakim celu przeprowadzono i przedstawiono identyczne



wyniki aż 6 testów statystycznych obejmujących te same zależności? Podobna uwaga dotyczy tabeli 37 i 42. Wyjaśnienia wymaga także tabela 32, w której Doktorantka przedstawia zależność pomiędzy wskaźnikami uzyskanymi dla preparatów liściowych otrzymanych w skali laboratoryjnej i półtechnicznej. Powstaje zatem pytanie, czy analiza obejmowała analogiczne grubości liści morwy? Jak opisano na schemacie (str.49) liście przetwarzane w skali laboratoryjnej obejmowały trzy stopnie rozdrobnienia liści, a tylko jeden z nich zastosowano w skali półtechnicznej, podobnie różnice obejmują zastosowane warianty temperatury suszenia. W opinii Recenzenta tabela 13 powinna być umieszczona w załączniku, ze względu na fakt przedstawienia tych samych danych w postaci wykresów (rycina 16.1, 16.2 i 17). Na rycinach 16.1 i 16.2 przedstawiono dane w postaci wykresów liniowych sugerujących zależność stopnia rozdrobnienia liści od temperatury suszenia liści nieleżakowanych, tymczasem dane powinny być przedstawione w formie wykresu punktowego. Podobna uwaga dotyczy ryciny 17. Także tabela 33 powinna znaleźć się w załączniku, gdyż wyniki powtórnie zaprezentowano na rycinie 25.

W drugim etapie badań przeprowadzono symulowane trawienie preparatów z liści morwy białej, co pozwoliło na unikalną ocenę preparatów liści morwy w aspekcie biodostępności i aktywności przeciwutleniającej w warunkach zbliżonych do występujących w przewodzie pokarmowym.

W trzecim etapie badań przeprowadzono ocenę sensoryczną naparów sporządzonych z opracowanych preparatów liści morwy białej. Analizowano stopień pożądalności określonych cech naparów: zapachu, barwy, smaku, klarowności i ogólnej pożądalności z wykorzystaniem niestrukturyzowanej skali liniowej, które potwierdzono metodą 9-punktowej skali hedonicznej. Niestety Doktorantka wykazała brak konsekwencji podczas formatowania wykresów prezentujących charakterystykę sensoryczną naparów z preparatów liści morwy białej (rycina 28-30). Przedstawiono dane średnie wraz z odchyleniami standardowymi lub jedynie wyniki średnie. Ponadto interpretacja wyników wskazuje na istotne statystycznie różnice pomiędzy próbami, których istnienia Doktorantka nie stwierdziła.

W czwartym etapie badań Doktorantka przeprowadziła symulowane trawienie naparów z opracowanych preparatów liści morwy białej, co przyczyniło się do uzyskania unikalnych wyników charakteryzujących preparaty liści morwy w aspekcie biodostępności i aktywności przeciwutleniającej w warunkach zbliżonych do występujących w przewodzie pokarmowym. W efekcie prowadzonych badań zaobserwowano, że zabieg leżakowania skutkowało zmiennymi przekształceniami polifenoli. Dla wielu polifenoli, szczególnie tych oznaczonych w największych ilościach, stwierdzono istotne korelacje pomiędzy ich zawartością a czasem leżakowania, jak również etapem procesu trawienia. W toku przeprowadzonych analiz potwierdzono, że preparaty liściowe, jak i ich napary podlegały zbliżonym



przemianom podczas symulowanego procesu trawienia, co potwierdzono dodatnią korelacją pomiędzy zawartością glukozy, arabinozy i flawonoli w próbach na poszczególnych etapach trawienia *in vitro*. Należy podkreślić, iż badania strawności preparatów oraz naparów pochodzących z liści morwy białej nie były dotąd prowadzone, co stanowi element nowości ocenianej dysertacji. Na ogromny stopień trudności zadania badawczego, którego podjęła się Doktorantka, wpływa fakt, że w przewodzie pokarmowym dochodzi do stopniowego uwalniania związków z różnego rodzaju połączeń i poprawy ich dostępności oraz aktywności poprzez przekształcenie do innych związków. Istotne znaczenie w interpretacji wyników ma fakt, że kierunek tych przemian jest trudny do przewidzenia, ze względu na kompleksową budowę matrycy żywności oraz nie do końca poznane mechanizmy warunkujące finalny efekt.

Doktorantka kończy dysertację 12 szczegółowymi obserwacjami oraz trafnymi, jednakże w opinii Recenzenta zbyt ogólnie sformułowanymi 5 wnioskami. Wspomniane wnioski w obecnej postaci nie weryfikują w pełni hipotez badawczych postawionych przez Doktorantkę w rozprawie doktorskiej.

Podsumowując opinię na temat badań przeprowadzonych przez mgr inż. Monikę Przeor stwierdzam, że stanowią one ważny element przyczyniający się do rozwoju nauk o żywności, szczególnie zagadnień związanych z wpływem procesów technologicznych na właściwości surowca roślinnego o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym. Doktorantka wykazała się umiejętnością planowania i realizacji badań oraz interpretacji zagadnień natury badawczej, co pozwoliło na szczegółową analizę potencjału przeciwutleniającego oraz zawartości składników biologicznie aktywnych w opracowanych preparatach roślinnych. Cennym elementem dysertacji jest opracowanie innowacyjnej metody przetwarzania liści morwy białej, pozwalającej na moderowanie składu i właściwości finalnego produktu spożywczego. Zastosowanie szeregu metod oceny potencjału przeciwutleniającego oraz symulowanego procesu trawienia preparatów liściowych i ich naparów oraz interpretacja otrzymanych wyników potwierdza także wysoki profesjonalizm warsztatu analitycznego Doktorantki. Biorąc natomiast pod uwagę aktualne trendy żywieniowe, wskazujące na wzrost popularności żywności o ukierunkowanym działaniu prozdrowotnym stwierdzam, że tematyka badań podjęta przez mgr inż. Monikę Przeor jest celowa, zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i praktycznego.

Podsumowując, osiągnięciem Doktorantki jest podjęcie badań wskazujących nowy, wciąż niepoznany aspekt wpływu zabiegów technologicznych na skład i aktywność przeciwutleniającą liści morwy białej. Niezwykle cennym jest opracowanie innowacyjnej technologii przetwórstwa liści morwy, którą poddano rozdrabnianiu, leżakowaniu i suszeniu w odpowiednio zaprojektowanych warunkach



WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU
Katedra Technologii Żywności Człowieka

środowiska, determinujących ich potencjalne działanie prozdrowotne, szczególnie w profilaktyce i leczeniu cukrzycy.

W swojej ocenie dysertacji chciałabym zwrócić uwagę na kilka niejasności, które powstały na skutek studiowania pracy i prosiłabym Doktorantkę o odniesienie się do poniższych kwestii:

1. Czy w opinii Doktorantki obniżenie poziomu związków aktywnych, będące wynikiem prowadzonych procesów przetwórczych może wpłynąć pozytywnie na efekt przeciwutleniający próby? Jakże zatem zjawiska mogą mieć miejsce podczas takich procesów?

2. Mając na uwadze szeroki wachlarz właściwości prozdrowotnych liści morwy proszę o sformułowanie zaleceń obejmujących wielkość spożycia naparu z liści morwy białej, celem uzyskania znaczącego efektu terapeutycznego. Czy ze względów bezpieczeństwa dopuszczalne jest np. żucie liści morwy oraz jakie inne formy ich spożycia rekomenduje Doktorantka?

Wniosek końcowy

Mgr inż. Monika Przeor w części literaturowej opisała wyczerpująco stan wiedzy w dziedzinie, której dotyczy doktorat. Uważam, że praca zawiera pierwiastek nowości naukowej, ponieważ przedstawia metody przetwarzania surowca roślinnego, nadające mu nowe właściwości. Doktorantka udowodniła w swojej rozprawie, że jest wszechstronnie przygotowana do pracy naukowej oraz potrafi samodzielnie zrealizować segment preparatywny, analityczny i sensoryczny wraz z analizą statystyczną uzyskanych wyników. Doktorantka wykonała analizy wiarygodnymi metodami z użyciem nowoczesnej aparatury, a Jej osiągnięcie przedstawione do oceny stanowi cenne źródło informacji z żywieniowego punktu widzenia oraz może stanowić podstawę rozwoju kolejnych aspektów badanego zagadnienia, w tym opracowania produktu spożywczego dedykowanego dla diabetyków.

Jednoznacznie stwierdzam, że moja ocena pracy doktorskiej mgr inż. Moniki Przeor zatytułowanej „Wpływ zabiegów technologicznych na zawartość i właściwości bioaktywnych związków w preparatach z liści morwy białej” jest pozytywna w zakresie wymaganych kryteriów oceny. Przedłożona do recenzji dysertacja w pełni odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim. W związku z powyższym, stawiam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie pracy i dopuszczenie Pani mgr inż. Moniki Przeor do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Anna Gramza-Michałowska