UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

KATEDRA TECHNOLOGII FERMENTACJI I ZBÓŻ

Dr hab. Anna Czubaszek, prof. uczelni Wrocław, 6.06.2020 r.

Recenzja pracy doktorskiej
Mgr inż. Marty Skrajda-Brdak
pt. Związek między profilem składników bioaktywnych a potencjałem antyoksydacyjnym ziarna w zależności od gatunku pszenicy i wybranych metod uprawy
wykonanej pod kierunkiem:
promotora - dr hab. inż. Iwony Konopki, prof. UWM
i promotora pomocniczego – dr hab. inż. Małgorzaty Tańskiej, prof. UWM
w Katedrze Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych,
Wydziału Nauki o Żywności, Uniwersytetu Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie

1. Celowość podjęcia problemu naukowego

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Marty Skrajda-Brdak pt. „Związek między profilem składników bioaktywnych a potencjałem antyoksydacyjnym ziarna w zależności od gatunku pszenicy i wybranych metod uprawy" stanowi cykl sześciu publikacji, który jest kompleksową analizą wpływu gatunku i odmiany pszenicy oraz warunków jej uprawy na akumulację w ziarnie małocząsteczkowych związków biologicznie czynnych takich jak związki fenolowe, alkilorezorcynole, sterole, tokole i karotenoidy. Określono również jak proces fermentacji ciasta wpływa na zawartość kwasów fenolowych i potencjał przeciwutleniający pieczywa pszennego w procesie trawienia *in vitro*.

Związki bioaktywne występujące w surowcach roślinnych w ostatnich czasach są obiektem badań prowadzonych przez wielu naukowców w laboratoriach całego świata. Przyczyną zainteresowania jest fakt, że związki te wprowadzane z dietą do organizmu człowieka mają na niego korzystny wpływ, działają prozdrowotnie i przeciwdziałają wielu chorobom cywilizacyjnym. Udowodniono, że niewielkie ilości takich związków znajdują się w produktach zbożowych, które w piramidzie zdrowego żywienia opracowanej przez Instytut Żywności i Żywienia są zalecane do częstego spożywania. Wszystko to wskazuje, że nawet jeśli zawartość związków bioaktywnych w produktach zbożowych jest niewielka to przy dużym ich spożyciu

mogą być znaczącym źródłem cennych składników w codziennej diecie. Zaznaczyć należy, że wśród produktów zbożowych duży udział mają produkty pszenne.

Ciekawym zagadnieniem poruszanym w rozprawie doktorskiej jest również analiza pszenic dawnych takich jak pszenica orkisz, perska, okrągłoziarnowa i samopsza. W ostatnim czasie obserwuje się powrót do wykorzystania pszenic pradawnych jako surowca w przemyśle spożywczym ze względu na ich korzystniejszy skład chemiczny i wartość odżywczą w porównaniu z pszenicami współczesnymi.

Mimo, że w dostępnej literaturze wiele jest informacji na temat występowania związków biologicznie czynnych w pszenicy, na co wskazuje obszerny przegląd literatury dokonany przez Doktorantkę, wiele jest jeszcze wątpliwości i z tego względu badania dotyczące wpływu różnych czynników w tym właściwości genetycznych i warunków środowiskowych na gromadzenie się związków biologicznie czynnych w ziarnie zbóż, w tym pszenicy są bardzo cenne. W nurt takich badań wpisują się w pełni uzasadnione i bardzo cenne badania podjęte przez mgr inż. Martę Skrajda-Brdak.

2. Formalna ocena pracy

Rozprawa doktorska obejmuje 41 stron i zawiera: wstęp stanowiący przegląd literatury dotyczącej stanu wiedzy na podjęty temat badawczy, który w pełni uzasadnia podjęcie badań, cel pracy, opis materiału badawczego i metod analitycznych, wykaz publikacji wchodzących w zakres rozprawy, syntetyczne omówienie rezultatów badań przedstawionych w cyklu publikacji, wnioski i podsumowanie oraz spis literatury. Do rozprawy załączono kserokopie publikacji oraz skany oświadczeń Kandydatki i współautorów o ich wkładzie w powstanie poszczególnych prac. Spis literatury cytowanej w pracy obejmuje 82 pozycje, przy czym 76% (62 pozycje) stanowią prace pochodzące z ostatnich 10 lat. Prawie wszystkie prace to artykuły z czasopism o zasięgu międzynarodowym. Publikacje, na które powołała się Autorka ściśle wiążą się z tematyką poruszaną w pracy. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę, że pozycja 60-ta to odniesienie do oficjalnej strony internetowej Unii Europejskiej zawierającej informacje dotyczące poważnych i przewlekłych chorób. Po przejrzeniu strony znajdującej się pod podanym linkiem odnoszę wrażenie, że jest ona często aktualizowana i ulega zmianom, wypadałoby zatem podać datę dostępu czego Kandydatka nie zrobiła.

Praca doktorska przedstawiona do recenzji jest opracowaniem przygotowanym na podstawie 6 publikacji. Cztery z nich opublikowano w czasopismach z listy JCR takich jak: Quality Assurance and Safety of Crops & Food (IF=0,735; $MNSiW_{2016}$=20; $MNSiW_{2019}$=40) – 1 artykuł, Journal of Cereal Science (IF=2,452; $MNSiW_{2016}$=35; $MNSiW_{2019}$=140) – 2 artykuły, European Food Research and Technology (IF=2,056; $MNSiW_{2016}$=25; $MNSiW_{2019}$=70) – 1 artykuł. Dwa pozostałe artykuły były opublikowane w czasopismach z listy MNiSW: Journal of Education, Health and Sport (IF=0; $MNSiW_{2016}$=7; $MNSiW_{2019}$=5) i Polish Journal of Natural Sciences (IF=0; $MNSiW_{2016}$=14; $MNSiW_{2019}$=20). Sumaryczny IF wszystkich prac wynosi 7,698, a liczba punktów MNiSW wynosi w zależności od roku opublikowania listy 136 (2016) lub 415 (2019). Wszystkie prace są pracami zespołowymi (zespoły liczą od 2 do 6 osób). Należy podkreślić, że Kandydatka w każdej z nich jest pierwszym i zarazem korespondencyjnym autorem, a jej udział w powstawaniu prac zaliczonych do cyklu, na podstawie którego opracowano rozprawę doktorską, wynosił od 50 do 90%. Doktorantka uczestniczyła w opracowaniu koncepcji badań, zbieraniu literatury, doborze metod analitycznych, wykonaniu analiz w laboratorium i obliczeń statystycznych koniecznych do opracowania uzyskanych wyników oraz w przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji prac. Wyniki opublikowane w pracach P4, P5 i P6 uzyskano podczas realizacji projektu PRELUDIUM 11 o numerze 2016/N/NZ9/01325, którego Kandydatka była kierownikiem. Z całą odpowiedzialnością mogę zatem stwierdzić, że indywidualny wkład mgr inż. Marty Skrajda-Brdak w powstanie pracy był znaczący.

Uzyskanie finansowania w projekcie PRELUDIUM 11 oraz opublikowanie uzyskanych wyników w czasopismach o międzynarodowym zasięgu i wysokich wskaźnikach scjentometrycznych świadczą o wysokim poziomie naukowym, bardzo dobrym zaplanowaniu i realizacji badań podjętych przez mgr inż. Martę Skrajda-Brdak.

3. Merytoryczna ocena rozprawy

Tytuł rozprawy doktorskiej „Związek między profilem składników bioaktywnych a potencjałem antyoksydacyjnym ziarna w zależności od gatunku pszenicy i wybranych metod uprawy" ściśle odpowiada tematyce badań opisanych w cyklu prac. Streszczenie syntetycznie i wyczerpująco przedstawia genezę, cel i zakres podjętych badań oraz najważniejsze uzyskane wyniki. Wstęp stanowi przegląd bardzo dobrze dobranej literatury dotyczącej właściwości ziarna

różnych gatunków pszenic, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości i właściwości małocząsteczkowych, biologicznie aktywnych, fitozwiązków takich jak: związki fenolowe (kwasy fenolowe, alkilorezorcynole), sterole, tokole i karotenoidy oraz potencjału oksydoredukcyjnego, który tworzony jest przez te związki. Wyjaśniono w nim również dlaczego w ostatnich czasach wzrosło zainteresowanie pradawnymi zbożami, w tym pszenicami takimi jak orkisz, płaskurka czy samopsza. Doktorantka w tej części rozprawy poruszyła także zagadnienia wpływu sposobu uprawy na kształtowanie ilości i jakości biologicznie aktywnych związków w ziarnie pszenicy. Dokonany przegląd literatury wskazuje na duży wpływ zmienności genetycznej jak i środowiskowej na gromadzenie w ziarnie związków biologicznie czynnych oraz na istnienie możliwości zwiększania prozdrowotnych właściwości produktów pszennych poprzez dobór odpowiednich genotypów tego zboża oraz warunków jego uprawy.

W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Autorka sformułowała w pełni uzasadniony cel i zakres pracy. Jako cel ogólny wskazała kompleksową analizę ilościowo-jakościową małocząsteczkowych składników bioaktywnych w ziarnie krajowych pszenic oraz wytypowanie warunków uprawy sprzyjających akumulacji tych związków. Na tej podstawie sformułowała trzy szczegółowe cele i jeden cel dodatkowy, postawiła hipotezę badawczą, że skład ilościowo-jakościowy oraz potencjał antyoksydacyjny ziarna pszenicy zależą od genotypu i technologii uprawy. O występowaniu takiej zależności donoszą różni autorzy o czym Autorka napisała we wstępie, ale w swoim układzie doświadczalnym zawarła nowe dotychczas nie badane aspekty tego problemu, które przyczynią się do wartościowego rozszerzenia wiedzy w tym zakresie.

W trzecim rozdziale pracy Doktorantka opisała materiał i metody badawcze. W mojej opinii rozdział ten został opracowany bardzo dobrze. Jedno z czym się nie zgadzam to w podrozdziale materiał badawczy w punkcie 2) Doktorantka napisała, że materiałem badawczym było 16 odmian orkiszu, a w rzeczywistości było to 12 odmian, 2 rody i 3 linie. W publikacjach P3 i P4, których dotyczy ten materiał badawczy posłużono się określeniem „spelt genotypes", które jest bardziej uniwersalne i swoim znaczeniem obejmuje odmiany, rody i linie.

Do analizy zawartości wybranych składników ziarna zastosowano nowoczesne techniki analityczne takie jak wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC, chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas GC-MS, spektrofotometria UV/VIS UV2 oraz procedurę trawienia *in vitro* standardową metodą dostosowaną do żywności. Do statystycznego opracowania

uzyskanych wyników zastosowano program *Statistica* i właściwe metody obliczeniowe takie jak jednoczynnikowa analiza wariancji, testy do wyceny wartości średnich (test Duncana i Tukeya). Dla wykazania współzależności pomiędzy cechami różnych genotypów orkiszu wykonano analizę składowych głównych PCA (P3). Przeprowadzona statystyczna analiza wyników daje gwarancję obiektywnej ich interpretacji.

Kolejne rozdziały rozprawy to „Wykaz publikacji" przedstawiający bibliografię publikacji stanowiących pracę doktorską i „Rezultaty badań przedstawione w monotematycznym cyklu publikacji" czyli syntetyczne omówienie wyników stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej.

Pierwsza publikacja cyklu jest artykułem przeglądowym i prezentuje aktualny stan wiedzy w momencie podjęcia badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Doktorantka wraz ze współautorką (promotorem pracy) scharakteryzowały w tej pracy związki bioaktywne występujące w ziarnie pszenicy przedstawiły korzyści wynikające ze spożywania pszenicy i produktów całoziarnowych oraz czynniki wpływające na kumulację tych związków w ziarnie pszenicy.

W drugiej publikacji przedstawiono badania dotyczące wpływu ekstensywnej i wysokonakładowej technologii uprawy na zawartość wolnych związków fenolowych i alkilorezorcynoli w ziarnie 4 ozimych odmian pszenicy zwyczajnej chlebowej, w tym dwóch odmian populacyjnych i dwóch hybrydowych. Autorzy wykazali w niej, że pszenice populacyjne cechowały się większą zawartością wolnych związków fenolowych i alkilorezorcynoli niż pszenice hybrydowe a ekstensywna technologia uprawy korzystniej wpływała na akumulację tych związków niż uprawa wysokonakładowa. Głównym czynnikiem determinującym akumulację badanych związków bioaktywnych były właściwości odmianowe na co wskazuje udział wariancji w zmienności całkowitej wynoszący 32 i 45% (odpowiednio związki fenolowe i alkilorezorcynole). Technologia uprawy wyjaśniała wariancję tylko w około 10%.

W publikacjach P3 i P4 analizowano 16 próbek pszenicy orkisz (12 odmian, 2 rody, 2 linie) pod względem zawartości kwasów fenolowych ogółem, wolnych kwasów fenolowych, alkilorezorcynoli (P3), steroli, tokoli i karotenoidów (P4). Niektóre uzyskane wyniki potwierdzały dotychczasową wiedzę (zawartość alkilorezorcynoli), a inne odbiegały od tych przedstawianych przez innych autorów (zawartość kwasów fenolowych). Udział kwasów fenolowych w badanych pszenicach orkisz był ponad dwukrotnie niższy niż podawany przez innych autorów. Potencjał

antyoksydacyjny (P4) oceniono dla frakcji lipofilowej (ekstrakt acetonowy), stanowiło to nowum, gdyż dotychczas przede wszystkim badany był potencjał frakcji hydrofilowej ekstrachowanej 80% metanolem. Doktorantka wraz ze współautorami pracy P4 postanowiła zbadać aktywność związków o potencjale lipofilnym ponieważ ich zawartość w ziarnie zbóż jest stosunkowo wysoka. Na podstawie testów ORAC i DPPH wykazano, że antyoksydanty obecne w ziarnie badanego orkiszu działają głównie poprzez mechanizm przeniesienia atomu wodoru (HAT), a nie przeniesienia pojedynczego elektronu (SET), gdyż wyniki uzyskiwane w teście ORAC były znacznie wyższe niż w teście DPPH. Dodatkowo na podstawie obliczeń współczynnika korelacji Pearsona stwierdzono, że kampesterol i α-tokoferol działały na zasadzie przeniesienia wodoru, a wiolaksantyna, zeaksantyna i tokole ogółem na zasadzie przeniesienia pojedynczego elektronu. Autorka rozprawy w podrozdziale 5.2 omawiając wyniki przedstawione w publikacji P3 i P4 podaje zawartość kwasów fenolowych w próbkach orkiszu jako udziały poszczególnych kwasów w ogólnej ilości kwasów wolnych lub w całkowitej ilości kwasów ogółem, natomiast w publikacji P3, z której te wyniki pochodzą zawartość kwasów fenolowych podana jest w µg/g. Właściwsze, moim zdaniem, było by podanie zawartości danego kwasu w µg/g i dopiero po tej informacji zaznaczyć jaki był jego % udział w ogólnej ilości kwasów. Taki opis byłby czytelniejszy i pozwalałby łączyć wyniki podane w publikacji z ich opisem w podrozdziale 5.2 rozprawy. Na stronie 26 w wersach 7-8 od góry strony Doktorantka omawiając sumę związków bioaktywnych w 16 próbkach orkiszu napisała, że próbki orkiszu były analizowane w publikacji P3 zapominając dodać publikację P4, a przecież ogólna ilość tych związków podana na wykresie 1 i udziały poszczególnych grup związków w ogólnej ich ilości (wykres 2) są wynikiem sumowania zawartości związków opisanych w obu publikacjach.

W publikacji P5 porównywano właściwości pszenic należących do różnych gatunków (zwyczajna, orkisz, durum, samopsza, perska i okrągłoziarnowa). W materiale badawczym analizowano ilościowo i jakościowo zawartość kwasów fenolowych, alkilorezorcynoli, steroli, tokoli i karotenoidów. Wykazano, że pszenica okrągłoziarnowa, perska i samopsza wyróżniają się spośród badanych pszenic pod względem zawartości związków bioaktywnych ogółem. Pszenica okrągłoziarnowa zawierała najwięcej kwasów fenolowych i alkilorezorcynoli, a pszenica perska tokoli. Ponadto tylko w ziarnie pszenicy perskiej największy udział w tokolach ogółem miał α-tokoferol w pozostałych badanych próbkach związkiem występującym w największych ilościach

był β-tokotrienol. W badanych próbkach pszenicy udział poszczególnych grup związków bioaktywnych w ogólnej ich ilości był bardzo zróżnicowany, zwrócono uwagę, że najwięcej było kwasów fenolowych, alkilorezorcynoli i steroli. Tokole i karotenoidy stanowiły bardzo niewielką cześć związków bioaktywnych.

Porównując opis materiału badawczego przedstawiony w rozdziale 5.3 rozprawy doktorskiej i w publikacji P5 zauważyłam pewną rozbieżność, mianowicie na str. 28 Autorka napisała „Materiał badawczy składał się z pszenicy zwyczajnej, orkiszu, durum, samopszy oraz dwóch unikatowych gatunków pszenicy, a mianowicie perskiej (*Triticum carthlicum* Nevski) oraz okrągłoziarnowej (*Triticum sphaerococcum* Percival)". W publikacji P5 natomiast wymienione są „Indian dwarf. wheat (cv. Trispa) and Persian wheat (cv. Persa) (…) bread wheat (cv.Zyta), durum wheat (cv. Komnata), spelt wheat (cv. Swabenkorn) and einkorn wheat (unknown cv.)". Rozumiem, że Autorka chcąc syntetycznie przedstawić materiał badawczy w rozdziale 5.3 pominęła nazwy odmian pszenicy durum, orkisz, lecz zastanawia mnie dlaczego posłużyła się innymi nazwami w opisie pozostałych pszenic. O ile zmiana określenia pszenicy chlebowej na zwyczajną, może być dla czytelnika zrozumiała to zmiana nazwy pszenicy perskiej i okrągłoziarnowej budzi wątpliwości czy rzeczywiście chodzi o te same próbki ziarna.

Ostatnia praca cyklu (P6) dotyczy oceny wpływu procesów wytwarzania chleba z pszenicy zwyczajnej i orkisz oraz jego trawienia na ilość wolnych kwasów fenolowych i aktywność przeciwutleniającą. Porównywano próbki mąki całoziarnowej, wytwarzanych z niej chlebów „na drożdżach" i „na zakwasie", oraz hydrolizatów uzyskanych po trawieniu tych chlebów *in vitro*. Wykazano, że wolnych kwasów tłuszczowych w chlebach było 2 do 7 razy więcej niż w mące, z której go wypiekano, a w hydrolizatach po trawieniu chleba *in vitro* zawartość tych związków zwiększała się od 3 do 6 razy w stosunku do mąki. Stwierdzono również, że chleby z pszenicy zwyczajnej zawierały więcej tych związków, gdy ciasto spulchniano w drodze fermentacji prowadzonej przez drożdże, a w chlebach orkiszowych korzystniejsze było stosowanie zakwasu. Wyniki tej pracy potwierdziły, że antyoksydanty pszenicy działają przede wszystkim poprzez mechanizm przeniesienia wodoru (HAT). Wykazano w niej również, że potencjał oksydacyjny chleba wytwarzanego „na zakwasie" mierzony testem ORAC jest większy niż chleba „na drożdżach". Uwaga jaką mam do podrozdziału 5.4 to na str. 31 w pierwszym zdaniu trzeciego

akapitu zabrakło określenia w jakim pieczywie było siedmiokrotnie więcej wolnych kwasów fenolowych. W obecnej formie zdanie to nie ma sensu.

W rozdziale Wnioski i podsumowanie Pani mgr inż. Marta Skrajda-Brdak wskazała te elementy przeprowadzonych badań, które zdaniem Autorów publikacji wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień doktora są najważniejsze. Wskazała, że po raz pierwszy analizowano skład fitozwiązków w ziarnie pszenicy perskiej i okrągłoziarnowej. Stwierdziła, że zmienność zawartości kwasów fenolowych i tokoli jest w podobnym stopniu determinowana przez gatunki i odmiany, a na gromadzenie pozostałych badanych związków zmienność gatunkowa miała większy wpływ niż zmienność odmianowa (wewnątrzgatunkowa). Na podstawie przeprowadzonych badań i analizy uzyskanych wyników Autorka wyciągnęła również 10 wniosków w pełni adekwatnych do uzyskanych wyników i podsumowujących poszczególne etapy badań.

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Marty Skrajda-Brdak pt. ***„Związek między profilem składników bioaktywnych a potencjałem antyoksydacyjnym ziarna w zależności od gatunku pszenicy i wybranych metod uprawy”*** spełnia wymagania formalne i merytoryczne stawiane rozprawom na stopień doktora. Od strony metodologicznej praca została wykonana poprawnie, przy wykorzystaniu odpowiednio dobranego materiału i metod badawczych. Charakteryzuje się oryginalnością naukową. Istotnie rozszerza wiedzę na temat zawartości związków biologicznie czynnych i potencjału przeciwutleniającego w ziarnie różnych gatunków pszenicy z wykazaniem zmienności między- i wewnątrzgatunkowej oraz wpływu sposobu uprawy na te właściwości. Wykazano w niej jak zmienia się ilość wolnych kwasów fenolowych podczas wytwarzania chleba oraz jego trawienia *in vitro* w stosunku do surowca, z którego chleb był wypieczony. Sposób realizacji pracy wskazuje, że Doktorantka jest bardzo dobrze przygotowana do prowadzenia badań naukowych, a oceniana rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ust 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz 595, z późn. zm.). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny technologia żywności i żywienia, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Marty Skrajda-

UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

KATEDRA TECHNOLOGII FERMENTACJI I ZBÓŻ

Brdak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto biorąc pod uwagę oryginalność badań przeprowadzonych przez mgr inż. Martę Skrajda-Brdak, znaczący ich wkład w poszerzenie dotychczasowej wiedzy naukowej z zakresu technologii zbóż i wysokie współczynniki scjentometryczne cyklu publikacji stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

Dr hab. Anna Czubaszek, prof. uczelni
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu