



WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSCI I ŻYWIENIU

Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej

dr hab. Joanna Kobus-Cisowska, Prof. UPP

Poznań, 23 sierpnia 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Autor: mgr inż. Urszula Trych

Tytuł: „Wpływ wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw”

Rozprawa doktorska wykonana w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waclawa Dąbrowskiego – Państwowym Instytucie Badawczym w Warszawie

Promotor:

dr hab. inż. Krystian Marszałek, prof. IBPRS-PIB; Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waclawa Dąbrowskiego - Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Promotor pomocniczy:

dr inż. Magdalena Buniowska-Olejnik; Katedra Technologii Mleczarstwa Instytut Technologii Żywności i Żywienia Uniwersytet Rzeszowski

Recenzję wykonano na podstawie pisma prof. dr hab. Zbigniewa J. Dolatowskiego, Przewodniczącego Komisji Doktorskiej Rady Naukowej IBPRS-PIB z dnia 10.08.2023 r., zgodnie z Uchwałą Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Profesora Waclawa Dąbrowskiego z dnia 11.12.2019 roku.

1. Dobór i znaczenie tematu

Odpowiednio dobrana metoda utrwalania produktu spożywczego ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu psuciu się mikrobiologicznemu żywności. Procesy utrwalania produktów mają też znaczenie dla zachowania składników odżywczych i ich przemian. Na szczególną uwagę zasługują w tym zakresie technologie z zastosowaniem wysokich ciśnień. Techniki wysokociśnieniowej obróbki żywności, takie jak: technika wysokich ciśnień hydrostatycznych (HHP) oraz technika z ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym (SCCD) cieszą się zainteresowaniem przemysłu ze względu na wysoką jakość produktów otrzymywanych z ich wykorzystaniem, przy jednoczesnym zachowaniu bezpieczeństwa i przedłużonej przydatności do spożycia. Doniesienia naukowe wskazują, że techniki te mogą istotnie wpływać na biodostępność niektórych składników żywności. W literaturze przedmiotu dostępne są doniesienia wskazujące, że obróbka wysokociśnieniowa żywności może mieć pozytywny wpływ na biodostępność lipofilowych substancji bioaktywnych takich, jak np. karotenoidy. Istnieje jednak niewielka ilość doniesień literaturowych na temat biodostępności hydrofilowych substancji o właściwościach przeciwutleniających, takich jak antocyjany, betalainy czy witamina C.

W tej tematyce badawczej mieści się przedstawiona do oceny praca doktorska mgr inż. Urszuli Trych, której najważniejszym celem było zbadanie możliwości zastosowania wysokich ciśnień hydrostatycznych i ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym dla poprawy biodostępności wybranych



antyoksydantów obecnych w owocach i warzywach, z wykorzystaniem modelowego przewodu pokarmowego *in vitro*.

2. Ocena formalna rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Urszuli Trych oparta jest o cykl czterech spójnie tematycznie publikacji o wspólnym tytule „Wpływ wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw”. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

Publikacja 1: Trych, U., Buniowska, M., Skąpska, S., Zhu, Z., Bi, J., Liu, X., Barba, F. J. & Marszałek, K. (2020). Impact of HPP on the bioaccessibility/bioavailability of nutrients and bioactive compounds as a key factor in the development of food processing. In Present and Future of High Pressure Processing (pp. 87-109). Elsevier, IF2020 = 0, MNiSW / MEiN2021 = 20

Publikacja 2: Trych, U., Buniowska, M., Skąpska, S., Starzonek, S., & Marszałek, K. (2020). The Bioaccessibility of Antioxidants in Black Currant Puree after High Hydrostatic Pressure Treatment. *Molecules*, 25(15), 3544, IF2020 = 4.411, MNiSW / MEiN2021 = 140

Publikacja 3: Trych, U., Buniowska, M., Skąpska, S., Kapusta, I., & Marszałek, K. (2022). Bioaccessibility of Antioxidants in Blackcurrant Juice after Treatment Using Supercritical Carbon Dioxide. *Molecules*, 27(3), 1036, IF2022 = 4.927, MNiSW / MEiN2021 = 140

Publikacja 4: Trych, U., Buniowska-Olejniak, M., & Marszałek, K. (2022). Bioaccessibility of Betalains in Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Juice under Different High-Pressure Techniques. *Molecules*, 27(20), 7093. IF2022 = 4.927, MNiSW / MEiN2021 = 140

Pierwsza publikacja stanowi rozdział monografii wydanej przez wydawnictwo Elsevier i nie posiada współczynnika wpływu IF, natomiast pozostałe prace, tj. prace wynikowe, zostały opublikowane w czasopiśmie *Molecules* wydawnictwa MDPI, co potwierdza ich naukowej jakości. Należy podkreślić, że cykl Publikacji w pracy doktorskiej jest wynikiem realizacji projektu pt. „Badanie wpływu wysokiego ciśnienia na bioprzyswajalność hydrofilowych antyoksydantów przetworów z owoców i warzyw” sfinansowanego z subwencji przyznanej przez MRiRW (projekt nr 134-01- ZO) w okresie od 10.2019 do 12.2022.

UWAGA 1: W treści publikacji (na końcu) nie podano, że prace zrealizowano w ramach wymienionego projektu.

Sumaryczny Impact Factor publikacji wchodzących w monotematyczny cykl publikacji wynosi IF= 14.265. Zgodnie z listą czasopism punktowanych opublikowaną przez MNiSW / MEiN2021 powyższe publikacje posiadają sumarycznie 440 punktów, co potwierdza wysokiej jakości i wartości naukowej prac. Wszystkie publikacje wchodzące w cykl ocenianej pracy są współautorskie, a w treści oświadczeń wskazano znaczący udział Doktorantki w powstaniu niniejszych prac (lecz nie podano udziału procentowego). Doktorantka we wszystkich pracach jest pierwszym autorem i odpowiedzialna była m.in. za współtworzenie koncepcji pracy, koordynowanie badań, wykonanie doświadczeń,



przygotowanie treści manuskryptów, interpretację i wizualizację wyników wraz z opracowaniem statystycznym, współredakcję tekstu w procesie recenzji. Wskazane publikacje stanowią załącznik pracy doktorskiej.

Całość pracy składa się z 193 stronicowego opracowania. Część pierwsza o objętości 64 stron stanowi część opisową wyników zamieszczonych w cyklu publikacji. Część ta została podzielona na rozdziały: wstęp, hipotezę badawczą, cel i zakres pracy, materiał i metody badawcze, omówienie i dyskusję wyników, obserwacje i spostrzeżenia, wnioski oraz bibliografię. Część druga pracy (129 stron) zawiera wydruk cyklu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia autorów publikacji. Ostatnia część to zestawienie dorobku naukowego. Mgr inż. Urszula Trych jest współautorką łącznie 12 publikacji, 9 doniesień naukowych, z czego 4 prezentowała ustnie na konferencjach naukowych. Realizowała 5 zadań badawczych w ramach środków Instytutu (tzw. tematy statutowe), w tym była kierownikiem jednego z nich. Ponadto, była wykonawcą w 2 projektach B+R.

W przedstawionym do oceny autoreferacie nieco zabrakło mi graficznego lub tabelarycznego przedstawienia najważniejszych wyników, nie mniej jednak informacje te zostały przedstawione w cyklu publikacji. Rozumiem, że Doktorantka chciała przedstawić wyniki badań w autoreferacie w sposób jak najbardziej zwięzły. Praca napisana została poprawnym językiem naukowym i zawiera niewiele błędów stylistycznych i interpunkcyjnych.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Surowce roślinne zawierają niewątpliwie wtórne metabolity o znaczeniu żywieniowym. Z punktu widzenia zdrowia, ważne jest, aby zapewniać w diecie odpowiednią podaż tych składników, gdyż zawarte w nich związki aktywne po pierwsze umożliwiają i wspomagają prawidłowe funkcjonowanie organizmu, a po drugie mogą hamować reakcje utleniania i opóźniać procesy starzenia, przez co wspomagają profilaktykę. Dostarczanie składników o właściwościach przeciwutleniających z żywnością nie jest jednak jednoznaczne z tym, że zostaną one w pełni wykorzystane przez organizm. Dlatego kluczowe jest zdobycie wiedzy na temat biodostępności tych składników. Pani mgr inż. Urszula Trych we wstępie pracy dokonała w tym zakresie dojrzałej kwerendy literatury, wprowadzając tym samym w podjętą tematykę badań. Doktorantka wskazała przedmiot badań w pracy tj. skupiła się na dwóch surowcach na czarnej porzeczce i na zawartych w niej witaminie C oraz antocyjanach oraz na burakach ćwikłowych i zawartych w nich betalainach. Wybór ten jak najbardziej jest zasadny, aczkolwiek na tym etapie pojawia się pierwsze pytanie:

PYTANIE 1: Dlaczego do badań wybrano porzeczkę czarną i buraka? Porzeczka czarna jest wartościowym owocem, jej spożycie bezpośrednie jest stosunkowo niewielkie. Najczęściej produkuje się z niej nektar porzeczkowy lub stanowi składnik innych produktów lub napojów. Burak ma szerokie zastosowanie – jest warzywem, z którego pozyskuje się sok i dalej przetwarza sok lub przetwarza się całe warzywo. Zgadzam się, że surowce te mają potencjał przeciwutleniający i funkcjonalny. Czy wybór tych dwóch surowców był uzasadniony wcześniejszymi badaniami lub pracami realizowanymi w Instytucie?

Najważniejsze wnioski wynikające z krytycznej analizy literatury przedmiotu opracowanej przez Doktorantkę wskazują, że czarne porzeczki zaliczane mogą być z powodzeniem do tzw. „superowoców” ze względu na wysoki potencjał przeciwutleniający, wynikający głównie z wysokiej zawartości witaminy C i antocyjanów. Z drugiej strony Doktorantka wskazała, że antocyjanów dostarczanych drogą pokarmową jest stosunkowo niewiele, a ich maksymalne stężenie w osoczu kształtuje się na poziomie kilkudziesięciu nM. Tutaj Doktorantka zwróciła uwagę, że badania często nie



uwzględniają wszystkich pochodnych antocyjanów, które mogły powstać w szlaku metabolicznym. Wchłanianie antocyjanów w przewodzie pokarmowym może spowalniać związanie ich z wielkocząsteczkowymi składnikami tkanki roślinnej, takimi jak celuloza, pektyna czy błonnik, a według aktualnych doniesień antocyjany mogą być wchłaniane w różny sposób na różnych odcinkach przewodu pokarmowego, rozpoczynając od jamy ustnej aż po jelito grube. Pomimo jednak ogólnie niskiej biodostępności antocyjanów, posiadają one pozytywny wpływ na organizm. Może to wynikać z biologicznej aktywności metabolitów antocyjanów wytwarzanych w organizmie, a także z ich potencjalnego synergistycznego oddziaływania z innymi związkami. Tu pojawia się drugie pytanie.

PYTANIE 2. Czy w związku z małym spożyciem antocyjanów w diecie, literatura wskazuje ilość owocu/ przetworu/ soku, który należy spożyć, aby uzyskać efekt prozdrowotny wynikający ze spożycia antocyjanów. Czy są rekomendacje odnośnie ilości antocyjanów których spożycie może mieć korzystny wpływ na zdrowie? Czy są rekomendacje EFSA w tym zakresie?

W dalszej części Doktorantka wskazała, że wiodącą grupą związków fenolowych w burakach ćwikłowych są betalainy, których zawartość waha się, w zależności od odmiany i warunków uprawy. Betalainy były również w stanie hamować proliferację komórek nowotworowych: raka szyjki macicy i raka pęcherza moczowego *in vitro*.

PYTANIE 3: Nasuwa się pytanie, o dane które wskazują o ilości buraka lub przetworu z buraka, który należałoby spożyć, aby uzyskać efekt prozdrowotny. Czy kwerenda licznej literatury pozwala Doktorantce na wysunięcie takich wniosków?

Obróbka żywności jest jednym z czynników wpływających na biodostępność składników aktywnych. Istnieją doniesienia naukowe, że zastosowanie technik wysokociśnieniowych, takich jak HHP i SCCD, może nie tylko wpływać na wyższą stabilność związków korzystnych dla zdrowia, ale i zwiększać ich biodostępność, poza udowodnionym już w wielu pracach wpływem na wydłużenie terminu przydatności do spożycia. W mojej opinii innowacyjność recenzowanych badań Doktorantka realizowała w obszarach badawczych (cele szczegółowe), które dobrze rozwinęły cel ogólny w kontekście zaproponowanej hipotezy badawczej. Weryfikacji poddano hipotezę badawczą zakładającą, że zastosowanie HHP i SCCD do utrwalania soku/ puree z czarnych porzeczek oraz soku z buraków ćwikłowych zwiększa biodostępność hydrofilowych związków przeciwutleniających. Hipoteza ta weryfikowana była przy pomocy hipotez szczegółowych formułowanych na poszczególnych etapach badań które Doktorantka określiła jako:

H1. Zastosowanie HHP wpływa na zwiększenie biodostępności witaminy C i antocyjanów w puree z czarnej porzeczki.

H2. Zastosowanie SCCD wpływa na zwiększenie biodostępności witaminy C i antocyjanów w soku z czarnej porzeczki.

H3. Zastosowanie HHP wpływa na zwiększenie biodostępności betalain w soku z buraka ćwikłowego.

H4. Zastosowanie SCCD wpływa na zwiększenie biodostępności betalain w soku z buraka ćwikłowego.

H5 Obróbka wysokociśnieniowa technikami HHP i SCCD wpływa na zwiększenie potencjału przeciwutleniającego produktów z czarnej porzeczki i buraka ćwikłowego po trawieniu.

Od strony metodycznej praca obejmuje wielowątkowe, kompleksowe badania skoncentrowane na wpływie technik wysokociśnieniowych (HHP i SCCD) na biodostępność hydrofilowych związków przeciwutleniających w soku/ puree z czarnych porzeczek oraz soku z buraków ćwikłowych, co było mierzone metodami *in vitro* (po trawieniu w symulowanych warunkach). Kandydatka wskazała, że badania *in vitro* są cenne we wstępnej ocenie biodostępności, gdyż pozwalają



zrozumieć pewne mechanizmy kierujące procesami trawienia i wchłaniania składników bioaktywnych oraz ich potencjalne działanie w organizmie. Analiza biodostępności składników bioaktywnych jest niezbędna do oceny ich faktycznego wykorzystania przez organizm. Ponadto poprawa biodostępności poprzez zastosowanie innowacyjnych technik utrwalania żywności pozwala na zaprojektowanie żywności funkcjonalnej zapewniającej większe korzyści prozdrowotne.

UWAGA 2: Metody dostępności biologicznej obejmują badania w modelach *in vitro* i *in vivo*. Z czego modele *in vitro* z reguły poprzedzają badania *in vivo*, i mogą posłużyć do przewidywania rzeczywistej biodostępności. Dlatego symulowane modele trawienia uwzględniają wykorzystanie błon stałych, tak jak ma to miejsce w niniejszej pracy, co może pomóc określić wpływ pH, enzymów trawiennych na zawartość i właściwości badanych substancji. W badaniach takich bada się przenikanie lub proces przenikania, co sugeruję chociażby z tego względu, że w pracy nie uwzględniono wpływu drobnoustrojów na proces trawienia, np. stosując zaszczepki lub konsorcja szczepów charakterystycznych dla ludzkiego układu pokarmowego. Dlatego w pracy powinna pojawić się dyskusja i wyjaśnienie pojęć dotyczących metod oceniających przenikanie i biodostępność.

Materiał badany stanowiły czarne porzeczki (*Ribes nigrum* L.) odmiany Tisel, które zostały zamrożone w temp -28°C do momentu rozpoczęcia eksperymentów. W pracy doktorskiej wskazano, że buraki ćwikłowe (*Beta vulgaris* L.) przetworzono na sok NFC, który zamrożono i przechowywano w temp. -20°C do czasu przeprowadzania analiz.

PYTANIE 3: Proszę o doprecyzowanie, dlaczego zamrożono sok z buraka przed obróbką/ utrwalaniem? Metodologia postępowania z burakiem i porzeczką była zupełnie inna – mrożenie owocu a następnie tłoczenie i utrwalanie vs mrożenie soku i utrwalanie soku. Z czego wynikała taka metodologia postępowania? Dlaczego zamrożono owoc porzeczki, a nie wytworzono soku ze świeżego owocu? Czy Doktorantka spodziewa się, że zamrożenie owoców porzeczki przed tłoczeniem mogło wpłynąć na przemiany składników aktywnych lub na wydajność procesu tłoczenia?

PYTANIE 4: w części literaturowej Doktorantka wskazała, że odmiana buraka wpływa na zawartość związków aktywnych. Proszę o doprecyzowanie jaka odmiana buraka była przedmiotem badań opisanych w pracy doktorskiej i publikacji P4, ponieważ nie zawarto takich informacji. Czy zakupione buraki były bezpośrednio pozyskane z uprawy czy przechowywane w przyrodzie. Czy takie procesy mogą mieć wpływ na zawartość składników aktywnych i właściwości produktów z nich wytworzonych?

Materiał badany przetworzono tj. pozyskano puree oraz sok z czarnej porzeczki i sok z buraka ćwikłowego, pasteryzowano w pasteryzatorze wannowym oraz poddano obróbce HHP przy ciśnieniu 200, 400 i 500/600 MPa w czasie 5 min i temperaturze 20°C . Soki z czarnej porzeczki oraz buraka ćwikłowego poddano działaniu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym (SCCD) przy: 10, 30 i 60 MPa, przez 10 min, w temperaturze 45°C . Przygotowane próby poddano trawieniu w przewodzie pokarmowym *in vitro*. Biodostępność wybranych antyoksydantów obliczono na podstawie stosunku ich zawartości we frakcji potencjalnie wchłanianej do krwioobiegu (dializat) do wejściowej zawartości w produkcie przed rozpoczęciem symulacji trawienia i wyrażono w procentach.

UWAGA 3: Kandydatka mogła scharakteryzować podstawowe parametry otrzymanych produktów i wskazać czy proces utrwalania badanymi metodami wpływał na nie czy nie. We wprowadzeniu wskazano, że metody utrwalania wpływają na cechy sensoryczne, ale także na barwę (przemiany barwników), którą można zmierzyć za pomocą prostych urządzeń laboratoryjnych. Podobnie warto było zmierzyć parametry np. barwy produktów przed i w trakcie procesu trawienia. Czy wykonywano zdjęcia prób? Rozumiem, że ze względu na obszerny model badań obejmujący kilka produktów, mogło to być trudne organizacyjnie, a ze względu na obszerny opis badań niemożliwe do zamieszczenia w publikacji.



Mgr inż. Urszula Trych w ramach badań wykonała szerokie spektrum oznaczeń w tym m.in.: oznaczała zawartość witaminy C jako kwasu L-askorbinowego i L-dehydroaskorbinowego w próbkach puree i sokach z czarnej porzeczki, a także oznaczała zawartość antocyjanów. W burkach oznaczała zawartość betalain, a we wszystkich próbach na wszystkich etapach trawienia oznaczała pojemność przeciwutleniającą wobec rodnika ABTS+• i wobec rodnika DPPH•. Uważam, że dobór metod był adekwatny do zaplanowanych prac technologicznych i umożliwił realizację założonego celu.

4. Wartość naukowa rozprawy

Doktorantka postawiła sobie za zadanie zbadanie możliwości zastosowania wysokich ciśnień hydrostatycznych i ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym dla poprawy biodostępności wybranych antyoksydantów obecnych w owocach i warzywach, z wykorzystaniem modelowego przewodu pokarmowego *in vitro*. Zakres pracy obejmował: przygotowanie materiału do badań (produkcja puree i soku z czarnej porzeczki oraz soku z buraka ćwikłowego), obróbkę otrzymanych soków/puree (termiczna, wysokim ciśnieniem hydrostatycznym oraz ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym), przeprowadzenie symulacji trawienia w modelu przewodu pokarmowego *in vitro* uzupełnionego dializą, przeprowadzenie oznaczeń zawartości wybranych antyoksydantów hydrofilowych oraz pojemności antyoksydacyjnej, przed trawieniem oraz po na każdym etapie trawienia i dializie, obliczenie biodostępności badanych antyoksydantów, identyfikację metabolitów antocyjanów w modelowym badaniu symulacji trawienia głównego antocyjanu czarnej porzeczki (rutynozydu 3-O-delfinidyny). Doktorantka zakres prac zwizualizowała na diagramach prezentujących nie tylko realizowany zakres prac, ale także graficznie przedstawiła tematykę i zakres prac wskazując na poszczególne publikacje będące przedmiotem pracy, co ułatwiło zrozumienie, analizę i recenzję pracy. W realizacji badań Doktorantka zastosowała szereg klasycznych oraz nowoczesnych i precyzyjnych metod analitycznych, a wszystkie one były adekwatne do tego, aby zweryfikować prawdopodobieństwo przyjętych hipotez.

Pierwszy obszar badań dotyczył wpływu procesów technologicznych na stabilność antyoksydantów. Doktorantka wykazała, że zastosowanie HHP do utrwalania soków z czarnej porzeczki pozwoliło na zachowanie najwyższej zawartości witaminy C oraz antocyjanów w porównaniu do innych stosowanych technik. W przypadku soków z buraka ćwikłowego najkorzystniejsze okazało się ciśnienie 200 MPa w czasie 5 min. Parametry te pozwoliły na zachowanie antyoksydantów na niezmiennym poziomie w stosunku do surowca.

PYTANIE 5: Z czego mógł wynikać tak niski spadek zawartości witaminy w procesie utrwalania?

W sokach z czarnej porzeczki poddanych działaniu SCCD oznaczono wyższe zawartości witaminy C i antocyjanów niż w próbkach soków surowych. W sokach z buraków ćwikłowych zawartość betalain na poziomie surowego soku odnotowano jedynie w sokach utrwalanych przy ciśnieniu 60 MPa przez 10 min. Pozostałe parametry powodowały degradację tych związków.

PYTANIE 6: Z czego mógł wynikać i jakie mechanizmy mogły decydować o wzroście zawartości witaminy C i antocyjanów w próbkach soków poddanych działaniu SCCD w porównaniu do soków surowych.

W kolejnej części Doktorantka oceniła stabilność antyoksydantów podczas trawienia. Wykazała, że dynamika trawienia składników bioaktywnych zależy w dużej mierze od rodzaju matrycy oraz badanego antyoksydantu jak również warunków panujących na poszczególnych etapach modelu trawienia, w szczególności zmiennego pH środowiska. Dla witaminy C i antocyjanów w puree oraz antocyjanów w soku z czarnej porzeczki odnotowano istotny spadek ich zawartości na etapie trawienia



w jamie ustnej, następnie wzrost mierzonej zawartości na etapie symulacji trawienia w żołądku oraz drastyczną degradację po symulacji trawienia w jelicie cienkim z dializą. W przypadku betacyjanin z soku z buraka ćwikłowego zaobserwowano spadek zawartości po symulacji trawienia na etapie jamie ustnej, stabilizację w żołądku i znaczną degradację po trawieniu w jelicie cienkim. Betaksantyny wykazywały stabilność w warunkach trawienia w jamie ustnej i dużą wrażliwość na etapie żołądka oraz znacznie mniejszą na etapie jelita cienkiego. Doktorantka szczegółowo wyjaśniła wpływ obróbki na stabilność badanych antyoksydantów w czasie trawienia. Zastosowanie HHP zwiększyło stabilność witaminy C oraz antocyjanów. Obróbka HHP przy ciśnieniu 200 MPa korzystnie wpływała na stabilność betalain w soku z buraka ćwikłowego na każdym kolejnym etapie trawienia. Co ciekawe, Doktorantka wykazała, że zastosowanie obróbki SCCD soków z czarnej porzeczki nie wpłynęło na poprawę biodostępności witaminy C, która nie różniła się statystycznie od biodostępności oznaczonej w próbkach pasteryzowanych i wynosiła 25-28%. Doktorantka wykazała, że soki z czarnej porzeczki po obróbce SCCD we wszystkich wariantach ciśnienia charakteryzowały się istotnie wyższą pojemnością przeciwutleniającą niż próbki pasteryzowane i nie różniły się istotnie od surowego soku (ABTS+•) na etapie jelita cienkiego i dializatu (z wyjątkiem SCCD przy ciśnieniu 10 MPa). Natomiast we frakcji dializatu odnotowano trzykrotnie wyższy stosunek pojemności przeciwutleniającej do stężenia antocyjanów w próbkach po utrwalaniu SCCD przy 60 MPa oraz dwukrotnie wyższy w próbkach po utrwalaniu SCCD przy 30 MPa w porównaniu do próbek kontrolnych. W pracy wykazano, że obróbka termiczna w temperaturze 45°C nie miała wpływu na zmianę potencjału antyoksydacyjnego soków, w związku z tym pozytywny wpływ obróbki SCCD Doktorantka przypisała jedynie zastosowaniu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym.

W tym aspekcie stwierdzam, że uszeregowanie uzyskanych przez Doktorantkę wyników badań i ich prezentacja jest logiczna, a materiał faktograficzny przedstawiony w publikacjach został dobrze wyselekcjonowany. Pojawiają się jednak pytania, dotyczące możliwości wykorzystania wyników prac w praktyce.

PYTANIE 7. Czy wyniki badań mogą sugerować termin przydatności do spożycia badanych soków? Czy statystyczne różnice w zawartości antyoksydantów po procesie utrwalania pozwalają wskazać warunki procesu które nie powinny/ lub powinny być stosowane w przemyśle z uwagi na funkcjonalne właściwości produktów (soków)?

PYTANIE 8. Jakie mogą być wady / zalety stosowania obróbki metodami SCCD lub HPP w przypadku utrwalania badanych soków. Jaki wniosek ogólny, przydatny z punktu widzenia Przedsiębiorcy zajmującego się tłoczeniem różnych soków lub produkcją napojów może wynikać z przeprowadzonych badań w pracy.

W mojej opinii jako najbardziej wartościowe osiągnięcia naukowe pracy należy wymienić wyniki potwierdzające że:

1. HHP przy wybranych parametrach ciśnienia wpływa na poprawę biodostępności witaminy C w puree z czarnej porzeczki, jednakże podobnego efektu nie wykazano wobec antocyjanów. Technika ta pozwala na większe zachowanie badanych związków w trakcie trawienia, umożliwiając jednocześnie uzyskanie wyższego potencjalnego stopnia wchłaniania witaminy C i antocyjanów na etapie żołądka.
2. SCCD nie wpłynęło na poprawę biodostępności witaminy C oraz sumy antocyjanów w sokach z czarnej porzeczki. Poprawę biodostępności odnotowano natomiast dla monomerów delfinidyny przy ciśnieniu 10 MPa.
3. HHP przyczynia się do poprawy biodostępności betacyjanin w sokach z buraka ćwikłowego, jednak nie wpływa na biodostępność betaksantyn.
4. Zastosowanie obróbki SCCD może być skutecznym narzędziem do produkcji soków z buraka



ćwikłowego o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych poprzez poprawę biodostępności betacyjanin i betaksantyn oraz do projektowania żywności funkcjonalnej.

5. Wzrost pojemności przeciwutleniającej przy jednoczesnej degradacji składników bioaktywnych podczas trawienia wskazuje na powstawanie metabolitów o wysokiej aktywności np. kwasu protokatechowego z antocyjanów.

6. Wyniki świadczą o możliwości poprawy biodostępności wybranych składników bioaktywnych poprzez zastosowanie innowacyjnych nietermicznych technik przetwórstwa żywności.

Sformułowane przez Doktorantkę wnioski znajdują uzasadnienie w otrzymanych wynikach, które mają bardzo duże znaczenie naukowe, ale także znaczenie przemysłowe. Autorka opracowała kompletny warsztat badawczy, przeprowadziła eksperymenty, starannie je opisała, a wyniki trafnie zinterpretowała, co niewątpliwie było trudnym zadaniem. Efekt wykonanych badań w postaci przedłożonej do recenzji pracy świadczy o dużym wkładzie intelektualnym Autorki, jej doświadczeniu analitycznym i metodycznym, a także chęci pozyskania nowej wiedzy. Autorka w pracy obrała cel, który konweniuje z obecnymi trendami na rynku.

Wymienione powyżej uwagi i sugestie nie obniżają wysokiej wartości merytorycznej pracy, którą oceniam bardzo wysoko i są w większości o charakterze porządkowym, wyjaśniającym lub dyskusyjnym. Wskazanie ich jest niejako obowiązkiem recenzenta i w związku z faktem, że prace stanowiące rozprawę doktorską zostały już opublikowane, mogą stanowić wskazówki w dalszej pracy naukowej i wdrożeniowej.

5. Wniosek końcowy

Przedłożoną do recenzji pracę doktorską mgr inż. Urszuli Trych pn. „Wpływ wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw” oceniam pozytywnie. Tematyka pracy stanowi *novum* w dyscyplinie technologia żywności i żywienia, i wpisuje się w aktualnie istniejący trend badań nad właściwościami funkcjonalnymi żywności. Przedstawione badania zostały starannie zaplanowane i zrealizowane przy użyciu odpowiednio dobranej metodologii oraz aparatury. Zebrane wyniki zostały przedstawione w sposób przejrzysty z wykorzystaniem narzędzi graficznych, przeanalizowane, omówione i zinterpretowane w sposób dokładny i rzeczowy. Widoczny przewód myślowy Autorki w trakcie realizacji pracy stanowią dużą wartość. Uzyskane wyniki dotyczące wpływu wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw mają potencjał aplikacyjny dla przemysłu spożywczego.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pn. „Wpływ wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw” mgr inż. Urszuli Trych spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie art. 13. ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2014 r. poz. 1852). **Dlatego składam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno Spożywczego im. Profesora Wacława Dąbrowskiego o dopuszczenie Pani mgr Urszuli Trych do dalszych etapów przewodu doktorskiego prowadzonego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.**

6. Wniosek o wyróżnienie rozprawy

Biorąc pod uwagę tematykę badań, wpisującą się w trend związany z popularyzacją stosowania nowych technik utrwalania żywności oraz odpowiadający tym trendom kierunek badań naukowych



nad wpływem różnych parametrów na zmiany jakości napojów i musów owocowych i warzywnych, szeroki zakres dobrze zaplanowanych i zrealizowanych badań przez Doktorantkę, analizę statystyczną uzyskanych wyników, ich merytoryczne przedyskutowanie w oparciu o liczne piśmiennictwo, opracowanie końcowych wniosków z badań i ich opublikowanie w renomowanych periodykach **wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno Spożywczego im. Profesora Wacława Dąbrowskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej „Wpływ wysokich ciśnień na biodostępność antyoksydantów owoców i warzyw” Pani mgr Urszuli Trych.**


prof. UPP dr hab. Joanna Kobus Cisowska