

Lublin 27.01.2022

prof. dr hab. Waldemar Gustaw

Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego i Gastronomii

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Pauliny Adamczyk
pt. „Ocena właściwości prebiotycznych hydrolizatu
(1→3)- α -D-glukanów wyizolowanych z owocników żółciaka
siarkowego (*Laetiporus sulphureus*)”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej UMCS Lublin pod kierunkiem dr hab. Adriana Wiater prof. UMCS. Promotorem pomocniczym jest dr hab. Marta Kinga Lemieszek.

Grzyby cenione są przez konsumentów, głównie za ich charakterystyczny smak i aromat jaki nadają potrawom. Szacuje się, że na Ziemi występuje do 3,8 mln grzybów ale tylko ok. 3 tys. opisano jako gatunki jadalne. Od dawna grzyby wykorzystywane były w medycynie ludowej, a pozytywny wpływ spożywania niektórych gatunków grzybów na organizm człowieka został potwierdzony w czasach współczesnych. Grzyby, pomimo ich powszechnego występowania, nie są wykorzystywane powszechnie jak źródło nowych związków bioaktywnych. Jednymi z głównych składników chemicznych grzybów są polisacharydy a w szczególności glukany. Wśród nich znajdują się również związki o działaniu prebiotycznym, stymulujące wzrost bakterii bytujących w przewodzie pokarmowym człowieka. Poszukiwania nowych źródeł prebiotyków są przedmiotem badań naukowych w wielu cenionych ośrodkach naukowych. Tematyka podjęta przez Panią Paulinę Adamczyk w ocenianej pracy doktorskiej bardzo dobrze wpisuje się w ten aktualny nurt badań.

Przedstawiona do oceny rozprawa naukowa została napisana w języku polskim i ma typowy układ dla dysertacji doktorskich. Praca obejmuje 188 stron i składa się z streszczenia w języku polskim i angielskim, 7 rozdziałów, spisu rycin, spisu tabel, oraz życiorysu naukowego Doktorantki. Tytuł rozprawy został sformułowany poprawnie i dobrze odpowiada treści pracy.

W pierwszym rozdziale liczącym 28 stron, zatytułowanym Wstęp, (według recenzenta nazwa „przegląd literatury” byłaby bardziej adekwatna), Autorka zawarła podstawowe informacje o grzybach i szczegółowo opisała żółciaka siarkowego oraz grzybowe glukany. W drugiej części rozdziału Doktorantka skoncentrowała się na mikroflorze przewodu pokarmowego, probiotykach i prebiotykach, oraz bardzo skrótowo opisała symbiotyki.

Rozdział przygotowano w oparciu o liczne pozycje literatury, w zdecydowanej większości opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Rozdział ten jest dobrym wprowadzeniem w tematykę podjętą w części doświadczalnej pracy doktorskiej. Chciałbym jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia, których nie ustrzegła się Autorka:

- brak w spisie literatury pozycji Jelsma i wsp. 1978, cytowanej w tym rozdziale,
- owoce, warzywa jak również mleko to surowce w przemyśle spożywczym a nie produkty spożywcze,
- podrozdział pt. „Synbiotyki” w mojej opinii jest zbyt krótki i nie opisuje w pełni obecnej wiedzy na temat tych związków.

Następny rozdział pt. „Cel pracy” zdaniem recenzenta powinien być uzupełniony o hipotezę badawczą, która powinna nakreślić główny cel pracy doktorskiej oraz wyznaczyć cele szczegółowe. Pomimo tego braku, cel główny jak i cele szczegółowe zostały poprawnie sformułowane.

Rozdział Materiały i Metody został napisany starannie, z uwzględnieniem wszystkich szczegółów pozwalających na zrozumienie i powtórzenie prowadzonych eksperymentów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka wykorzystwała w trakcie wykonywania pracy doktorskiej szerokie spektrum nowoczesnych metod badawczych. Uzyskane wyniki Autorka poddała analizie statystycznej. Chciałbym zwrócić uwagę Doktorantce, że w charakterystyce materiału biologicznego nie zastosowała aktualnej nomenklatury taksonomicznej bakterii fermentacji mlekowej. Proszę również o doprecyzowanie jak postępowano z zebranymi owocnikami żółciaka siarkowego przed ich liofilizacją?

Kolejny rozdział zatytułowany „Wyniki” Doktorantka podzieliła na podrozdziały zgodnie z kolejno stosowanymi metodami badawczymi. W rozdziale tym można wyszczególnić cztery główne bloki badań, obejmujące: zbiór i charakterystykę owocników żółciaka siarkowego jako źródła (1→3)- α -D-glukanów, następnie grupa badań mająca na celu charakterystykę strukturalną nierozpuszczalnych w wodzie polisacharydów wyizolowanych z owocników żółciaka siarkowego, otrzymywanie i charakterystykę hydrolizatu (1→3)- α -D-glukanów oraz ocenę jego właściwości prebiotycznych. W celu porównania składu różnych owocników żółciaka siarkowego, Autorka zebrała 29 prób grzybów, zarówno ze środowiska naturalnego jak i uprawy kontrolowanej. W owocnikach oznaczono zawartość suchej masy oraz polisacharydów rozpuszczalnych w alkaliach, do których zaliczane są grzybowe (1→3)- α -D-glukany. Na podstawie otrzymanych wyników Doktorantka stwierdziła spadek zawartości wody i wzrost zawartości polisacharydów rozpuszczalnych w alkaliach wraz z dojrzewaniem owocników. Skład cukrowy polisacharydu wyizolowanego z żółciaka siarkowego pozyskanego z uprawy kontrolowanej (X1) wyraźnie różnił się od składu polisacharydów otrzymanych z grzybów pozyskanych z środowiska naturalnego, czym można to wytłumaczyć?

W celu określenia struktury wyizolowanych polimerów, a także potwierdzenia skuteczności metody ich izolacji, Doktorantka wykorzystała szerokie spektrum nowoczesnych metod badawczych takich jak: analizę składu cukrowego, analizę metylacyjną, spektroskopię w podczerwieni z transformacją fourierowską (FT-IR), spektroskopię Ramana, wodorowy (^1H) i węglowy (^{13}C) magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) oraz dyfraktometrię rentgenowską (XRD). Na podstawie analizy wyników uzyskanych w badaniach strukturalnych Doktorantka wykazała, że nierozpuszczalne w wodzie polisacharydy, wyizolowane na drodze ekstrakcji alkalicznej z owocników żółciaka siarkowego, to liniowe (1→3)- α -D-glukany o niewielkim stopniu rozgałęzienia. Zastosowane przez Autorkę rozprawy analizy wykazały skuteczność metody izolacji (1→3)- α -D-glukanów, oraz potwierdziły czystość pozyskanego preparatu. W kolejnym etapie rozprawy doktorskiej uzyskano preparaty (1→3)- α -D-glukooligosacharydów stosując kontrolowaną hydrolizę kwasową. Otrzymane hydrolizaty zawierały glukozę oraz (1→3)- α -D-glukooligosacharydy o stopniu polimeryzacji (SP) od 2 do 9.

W kolejnym, moim zdaniem najciekawszym etapie badań określono właściwości prebiotyczne otrzymanych preparatów. W tym celu, preparat (1→3)- α -D-glukooligosacharydów poddano następującym badaniom: oporności na trawienie w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, selektywnej stymulacji wzrostu bakterii probiotycznych,

selektywnej fermentacji przez potencjalnie korzystne bakterie jelitowe, korzystnego wpływu na zdrowie gospodarza oraz stabilności w procesie przetwarzania żywności. Analizując otrzymane przez Doktorantkę wyniki tych badań można stwierdzić, że otrzymane preparaty spełniły wszystkie założone w pracy doktorskiej wymagania stawiane prebiotykom. Dodatkowo, Doktoranta stwierdziła, że hydrolizat (1→3)- α -D-glukanów posiadał niskim potencjał kariogenny i może być wykorzystany jako suplement diety zapobiegający rozwojowi próchnicy zębów. Jest to dodatkowa zaleta otrzymanych preparatów, które mogą stanowić alternatywę dla powszechnie stosowanych obecnie prebiotyków, takich jak inulina czy fruktooligosacharydy.

Analizując ocenę wpływu hydrolizatu (1→3)- α -D-glukanów na podstawowe czynniki etiologiczne próchnicy zębów Doktorantka raz stosowała jako kontrolę supernatant z 1% dodatkiem sacharozy (4.5.2) a w innym doświadczeniu z 2% dodatkiem tego cukru (4.5.3). Czym było to spowodowane?

Rozdział Dyskusja został napisany w sposób wskazujący na dużą wiedzę Doktorantki w zakresie prowadzonych badań. W interesujący sposób interpretuje uzyskane wyniki w świetle dostępnych danych literaturowych. Analiza tego rozdziału pozwala stwierdzić, że dysertacja zawiera wiele wyników o wysokiej wartości naukowej i na bardzo dobrym poziomie merytorycznym.

Pewne zastrzeżenia mam do interpretacji wyników symulacji przechowywania hydrolizatów i wyciągnięcia na ich podstawie opinii, że mogą być wykorzystywane jako dodatek do żywności. Moim zdaniem brakuje badań pokazujących jak będzie zachowywał się ten preparat podczas stosowania typowych w technologii żywności zabiegów technologicznych takich jak gotowanie, pasteryzacja, sterylizacja czy np. pieczenie lub smażenie. Co zresztą stwierdziła Doktorantka w dalszej części dyskusji.

Drobne niedociągnięcia jakie stwierdzono w tym rozdziale:

- używanie określenia cukier podczas opisywania sacharozy,
- używanie potocznych określeń typu: wzmacniacze tekstury czy słodziki,
- brak w spisie literatury następujących pozycji wykorzystanych w rozdziale dyskusja – Borba Gurpilhares i wsp., 2019; Hino i wsp., 2006;
- nieprawidłowe cytowanie dwóch pozycji literatury Wiatr i wsp. 2012, których nie można odróżnić na podstawie takiego zapisu

W końcowej części rozprawy Doktorantka przedstawiła 6 szczegółowych wniosków dotyczących najważniejszych wyników uzyskanych w pracy, uwypuklając one najważniejsze wyniki uzyskane w pracy.

Rozdział Bibliografia to poprawnie przygotowany spis literatury, obejmujący 206 pozycji. W dużej części cytowane prace to artykuły anglojęzyczne z ostatnich lat, bezpośrednio powiązane z tematyką pracy doktorskiej.

Podsumowanie

Oceniając merytorycznie przedłożoną do recenzji pracę doktorską mgr Pauliny Adamczyk stwierdzam, że Autorka wykazała się dobrą znajomością podjętej tematyki badań. W sposób przemyślany zaplanowała i wykonała doświadczenia, wykazując się umiejętnością posługiwania szerokim spektrum aparatury badawczej, uzyskując wartościowe wyniki. Otrzymane przez mgr Paulinę Adamczyk mają zdecydowanie cechy nowości naukowej i potencjalnie mogą być wykorzystane praktycznie. Wymienione w recenzji drobne uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej, a jedynie wskazują niedociągnięcia, które należałoby skorygować w przygotowywaniu pracy do druku. Uważam, że będąca przedmiotem oceny rozprawa Pani mgr Pauliny Adamczyk pt. „Ocena właściwości prebiotycznych hydrolizatu (1→3)- α -D-glukanów wyizolowanych z owocników żółciaka siarkowego (*Laetiporus sulphureus*)”, spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zawarte w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595, z późn. zm.). Dlatego przedkładam do Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Adamczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom recenzowanej rozprawy oraz wartość naukową przeprowadzonych badań, przedkładam wniosek o stosowne wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Adamczyk.


prof. dr hab. Waldemar Gustaw