

Prof. dr hab. Ryszard Amarowicz

Zakład Chemicznych i Fizycznych Właściwości Żywności

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie

***Recenzja rozprawy doktorskiej Pana magistra Łukasza Sęczyka pt.
„Interakcje związków fenolowych ze składnikami matrycy jako czynnik
determinujący jakość żywności fortyfikowanej”.***

***Praca wykonana została w Katedrze Biochemii i Chemii Żywności Wydziału Nauk o
Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
pod kierunkiem dr hab. Urszuli Gawlik-Dziki, prof. nadzw. UP.
Promotorem pomocniczym był dr hab. Michał Świeca.***

Zagadnienie związków fenolowych jako naturalnych przeciwutleniaczy ma charakter interdyscyplinarny. W ostatnich latach obserwujemy znaczący wzrost zainteresowania tą tematyką wśród badaczy pracujących w obszarze nauki o żywności. Poznanie mechanizmów utleniania ważnych składników odżywczych, zbadanie możliwości zapobiegania tym procesom poprzez zastosowanie syntetycznych i naturalnych przeciwutleniaczy oraz opracowywanie metod analizowania aktywności przeciwutleniającej biologicznie aktywnych składników żywności jest aktualnym wyzwaniem dla technologów i chemików żywności. Szczególnie istotne, ale i trudno do badania, są interakcje związków fenolowych z matrycą żywności oraz wynikające z tego konsekwencje. Z dużą satysfakcją mogę stwierdzić, że oceniana praca wpisuje się właśnie w ten nurt badań, a uzyskane wyniki są cenne tak z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia.

Przedstawiona od oceny praca doktorska mgr. Łukasza Sęczyka składa się z części opisowej oraz z pracy przeglądowej w języku polskim i pięciu prac oryginalnych w języku angielskim:

1. **Sęczyk Ł.** Znaczenie interakcji związków fenolowych ze składnikami matrycy w aspekcie fortyfikacji żywności. W : „Dokonania Naukowe Młodych Naukowców”, Redakcja naukowa Mundryk K., wyd. Traicon S.C., str. 228-251.
2. Świeca M., **Sęczyk Ł.**, Gawlik-Dziki U., Sziki D. (2014). Bread enriched with quinoa leaves – The influence of protein-phenolic interactions on the nutritional and antioxidant quality. *Food Chemistry*, **162**, 54-62.
3. **Sęczyk Ł.**, Świeca M., Gawlik-Dziki U., Luty M., Czyż J. (2016). Effect of fortification with parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) leaves on the nutraceutical and nutritional quality of wheat pasta. *Food Chemistry*, **190**, 419-428.
4. **Sęczyk Ł.**, Świeca M., Gawlik-Dziki U., Luty M., Czyż J. (2016). Effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) flour on the antioxidant potential, nutritional quality, and sensory characteristics of fortified durum wheat pasta. *Food Chemistry*, **195**, 637-642.
5. **Sęczyk Ł.**, Świeca M., Gawlik-Dziki U. (2015). Nutritional and health-promoting properties of bean paste fortified with onion skin in the light of phenolic-food matrix interactions. *Food & Function*, **6**, 3560-3566.
6. **Sęczyk Ł.**, Świeca M., Gawlik-Dziki U. Soymilk enriched with green coffee phenolics – Antioxidant and nutritional properties in the light of phenolics-food matrix interactions. *Food Chemistry*, **223**, 1-7.

Uwagi odnoszące się do części opisowej

Część opisowa jest typowa dla tego rodzaju opracowania i zawiera następujące części:

- Wprowadzenie
- Hipotezy badawcze i cel pracy
- Przedmiot badań i metodyka badawcza
- Opis wyników i osiągnięć badawczych
- Posumowanie i wnioski
- Literatura
- Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

- Streszczenie
- Streszczenie w języku angielskim

We *Wprowadzeniu* Doktorant przedstawia podstawowe informacje dotyczące fortyfikacji żywności, roli stresu oksydacyjnego w etiologii chorób cywilizacyjnych, interakcji składników bioaktywnych z matrycą żywności i konsekwencjami tego zjawiska.

Wychodząc z treści zawartych we *Wprowadzeniu* Doktorant formułuje bardzo poprawnie hipotezy badawcze. Nie budzi wątpliwości również lista celów szczegółowych podjętych przez niego badań. W tym miejscu pragnę podkreślić zarówno poznawczy jaki i praktyczny charakter badań podjętych przez Doktoranta.

Przedmiot badań i metodyka badawcza przedstawiona jest w sposób skrótowy. Zważywszy jednak na to, że dokładny opis metodyczny znajduje się w publikacjach, nie odnoszę się do tego krytycznie.

Część opracowania odnosząca się do opisu wyników i osiągnięć badawczych jest napisana bardzo poprawnie. Doktoranta w odpowiedni sposób potrafi w skróconej formie przedstawić wyniki Swoich badań, które zostały opublikowane w czasopismach naukowych. W doskonały sposób dyskutuje wyniki w odniesieniu do aktualnej literatury przedmiotu. Trafnie dokonuje podziału treści zawartych w publikacjach 1-6 w następujące paragrafy:

- Przedstawienie dotychczasowego stanu wiedzy i potencjalnego znaczenia oddziaływań związków fenolowych ze składnikami matrycy żywieniowej.
- Ustalenie wpływu fortyfikacji na zawartość związków fenolowych i potencjał przeciwtleniający wybranych produktów wzbogacanych oraz ocena wpływu oddziaływania związków fenolowych ze składnikami matrycy żywności na efektywność fortyfikacji.
- Określenie oddziaływania związków fenolowych ze składnikami matrycy żywności na strawność białka i skrobi.

W rozdziale 5 Doktorant formułuje 6 *Wniosków* wypływających z uzyskanych wyników. Nie budzą one wątpliwości recenzenta. Podsumowują przeprowadzone badania i

kładą odpowiednie akcenty na znaczenie poznawcze i użytkowe wyników. Mogę również uznać, że wnioski są adekwatne do celów pracy zawartych na str. 9.

Spis *Literatury* obejmuje 28 pozycji anglojęzycznych. Dobór publikacji jest odpowiedni. Zdaniem recenzenta obejmuje wszystkie podstawowe publikacje odnoszące się do tematyki niniejszej pracy doktorskiej. Pełne i obszerne piśmiennictwo zawarte jest w publikacjach Doktoranta.

W części opisowej Doktorant nie ustrzegł się pewnych błędów merytorycznych i językowych:

- Str. 4 – Termin „przedwczesna śmiertelność” nie jest odpowiedni.
- Str. 5 – Związki fenolowe wpływają na ekspresję genów odpowiedzialnych za syntezę enzymów – nie są odpowiedzialne za „aktywację enzymów”.
- Str. 6 – Trudno uznać choroby nowotworowe za schorzenia.
- Str. 7 – Styl zdania „Obecnie większość badań pochodzi z analizy ...” budzi wątpliwości.
- Str. 7 i inne miejsca – Pomiedzy molekułami mamy do czynienia z „oddziaływaniami hydrofobowymi” a nie z „wiązaniami hydrofobowymi”.
- Str. 8 – W nauce o żywieniu używany jest termin „wartość odżywcza”, a nie „potencjał odżywczy”.
- Str. 9 – Powinno być „pasta fasolowa”.
- Str. 9 – Termin „wizualizacja kompleksów białko-fenol” nie jest precyzyjny.
- Str. 13 – Celowym wydaje się podanie wzorów opisujących EV_C i EV_C – tak, jak to uczyniono w publikacjach.
- Str. 13 – Termin „wartość eksperymentalna (EV)” nie został zdefiniowany.
- Str. 16 – Powinno być „... to wyłącznie ...”.
- Str. 19 – W SE-HPLC zwiększenie pola powierzchni pików warto by poprzeć zmianą widma UV-DAD.
- Str. 19 – Zamiast pisać o „zwiększonej intensywności wybarwienia frakcji skorelowanej z białkami ...” należało raczej napisać po prostu o „pojawieniu się prążków odpowiadających masom molekularnym...”.
- Literatura – Łacińskie nazwy roślin powinny być pisane kursywą. Sposób podawania

stron publikacji powinien być jednolity. Tytuły publikacji powinny być podawane w jednolity sposób (pisane z małej litery).

Uwagi odnoszące się do publikacji

Odnosząc się do cyklu publikacji na wstępie pragnę stwierdzić, że ich zakres pokrywa się z podanym przez Doktoranta tytułem Jego pracy. Pragnę również zwrócić uwagę, że Pan Łukasz Sęczyk opublikował Swe prace w bardzo renomowanych czasopismach naukowych – ich Impact Factor wynosi 4,053 (Food Chemistry) i 2,686 (Food & Function). Sumaryczny IF jest imponujący – 18,894 (194 pkt. MBiSzW). Prace były już cytowane: 29 cytowań wg Web of Science i 41 wg Scopus.

Praca #1 (artykuł przeglądowy) otwiera cykl publikacji. Jest to bardzo trafny wybór ponieważ Doktorant przedstawia właściwości związków fenolowych pochodzenia biologicznego oraz charakteryzuje i omawia znaczenie interakcji związków fenolowych z poszczególnymi komponentami matrycy żywności – białkami, węglowodanami i lipidami. Czyni to w aspekcie fortyfikacji żywności.

Praca zawiera tabelę dotyczącą klasyfikacji i występowania wybranych związków fenolowych oraz 5 rycin. Przedstawiają one czynniki warunkujące bioaktywność żywności fortyfikowanej, struktury chemiczne wybranych związków fenolowych, oksydację związków fenolowych na przykładzie ugrupowania katecholowego, mechanizm formowania wiązań kowalencyjnych między związkami fenolowymi a grupami aminowymi białek oraz kompleksowanie cząsteczek białka przy udziale wiązań hydrofobowych i wodorowych na przykładzie katechin (tytuły wzięte *in extenso* z pracy #1).

Prace #2-#6 dotyczą fortyfikacji chleba pszennego liśćmi komosy ryżowej, makaronu liśćmi pietruszki i mączką z karobu, pasty fasolowej ekstraktem z łuski cebuli zwyczajnej oraz mleka sojowego ekstraktem z zielonej kawy. W pracach tych analizowano zawartość związków fenolowych, oceniano potencjał antyoksydacyjny (metody ABTS, FRAP, hamowanie oksydacji kwasu linolenowego, zdolność do chelatowania Fe^{2+}), wyznaczano rzeczywistą i przewidywaną zawartość związków fenolowych, ich rzeczywisty i przewidywany potencjał przeciwutleniający, określano strawność białka i skrobi w warunkach *in vitro*, analizowano produkty hydrolizy białka stosując SDS-PAGE i SE-HPLC, analizowano kompleksy białko-związek fenolowy. Z przytoczonych danych wynika bardzo

szeroki zakres przeprowadzonych badań. Wyniki uzyskano stosując nowoczesne metody instrumentalne. Wyciągnięte wnioski zostały poparte odpowiednią analizą statystyczną.

Uwagi krytyczne odnoszące się do publikacji #1:

- Str. 342 – „Procyjanidyny” i „proantocjanidyny” to nie są synonimy.
- Str. 241 – Raczej „ich synteza w roślinach...”.
- Str. 241 i ryc. 2 – Należało wymienić również taniny.
- W przyrodzie secoizolaricirezinol (SECO) występuje jako glukozyd (SDG). I struktura takiego związku powinna być przedstawiona na Ryc. 2 w publikacji #1.
- Wzory odnoszące się do kwasów hydroksybemzoesowych, hydroksycynamonowych, flawonów, flawanonów, izoflawonów, flawonowi i antocyjanidyny mają nieczytelną strukturę reszt R.
- W podpisie ryc. 5 powinno być termin „przy udziale oddziaływań hydrofobowych i wiązań wodorowych...” zamiast „wiązań hydrofobowych ...”.
- Str. 244 – RTF i RNS to skróty polskiej i angielskiej nazwy. Należało to raczej ujednolicić.
- Str. 245 – Oddziaływania hydrofobowe i siły Van der Waalsa nie powinny być nazywane „wiązaniami”.
- Str. 246 – Na rysunku jest przedstawiona tanina (dimer) a nie katechina.
- Str. 246 - Szkoda, że Doktorant nie opisał tu dokładniej precypitacji białek przez taniny.
- Str. 250 – Powinno być „kationorodnika ABTS i rodnika DPPH”.
- Str. 253 – Powinno być „absorpcji” zamiast „adsorpcji”.
- Str. 253 – Powinno być „triacylgliceroli”.
- Str. 253 – Powinno być „bogato tłuszczowej”.

Uwagi dotyczące publikacji #2-#6:

W renomowanych czasopismach obowiązuje bardzo rygorystyczny sposób recenzowania prac. Z tego faktu wynika moja ocena o braku błędów merytorycznych prac #2 - #6. Gdybym jednak recenzował prace to proponowałbym następujące poprawki:

- Zawartość skrobi i białka i wartość BV należało podać bez wartości po przecinku.

- Dla kolumny COSMOSIL 5DIol-20-II należało podać wielkość cząsteczki wypełnienia.
- # 2 str.57 – powinno być „SE-HPLC”:
- #2 str. 59, 60, 61, #3 str. 426 – Tytuł rycin powinien brzmieć „SE-HPLC chromatograms of ...”.
- #2 str. 56 – Wyniki analiz w układzie lipidowym powinny być wyrażone jak „Antioxidant activity %” zamiast „Scavenging %”. Warto było jako pozytywnej kontroli użyć syntetycznego przeciwutleniacza, np. BHA, BHT lub BHTQ.
- #2 str. 56 – Cennym byłoby porównanie wyników z aktywnością chelatującą EDTA.
- # 2 str. 58, Tabela 2 – Podanie jednostek byłoby udogodnieniem dla czytelnika.

Dodatkowo pragnę zauważyć, że w publikacjach znajdują się treści/wyniki, które nie zostały omówione w części opisowej. Dotyczą one np. analizy UPLC/MS związków fenolowych liści pietruszki, analizy sensoryczne makaronu, aktywności antyproliferacyjnej wobec komórek Walker-256.

Oświadczenia współautorów publikacji

Uzupełnieniem publikacji anglojęzycznych są oświadczenia współautorów odnoszące się do ich udziału i roli w przeprowadzonych badaniach i przygotowywaniu pracy do druku. Z dokumentów tych wynika, że wkład indywidualny Pana Łukasz Sęczyka wynosił od 35% (praca #2) do 70% (prace # 3-6). We wszystkich pracach Doktorant brał udział w tworzeniu koncepcji pracy, w wykonaniu części doświadczeń, w analizie wyników oraz w napisaniu manuskryptu. Wszystkie oświadczenia są uwiarygodnione podpisami wszystkich współautorów. Z formalnego punktu widzenia dokumenty te nie budzą żadnych wątpliwości.

Przekazana do oceny *Praca doktorska* zawiera również informację o dotychczasowym całkowitym dorobku naukowym Doktoranta. Wchodzi do niego 11 publikacji w renomowanych czasopismach (*Food Chemistry, Food Research International, BioMed Research International, LWY – Food Science and Technology, Food & Function, Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*) oraz cztery rozdziały w monografiach naukowych. Sumaryczny Impact Factor tych prac wynosi 34,889, 401 pkt. MniSzW. Doktorant ma w dorobku również 6 doniesień na konferencjach międzynarodowych i 13

doniesień na konferencjach krajowych. Prace Doktoranta były cytowane 62 razy wg Web of Science oraz 87 razy wg Scopus. Indeks Hirsha wyznaczony wg Web of Sciences oraz Scopus wynosi 3 i 9. Jako recenzent jestem pod dużym wrażeniem dorobku naukowego Pana Łukasza Sęczyka. Należy On z pewnością do grona wybijających się młodych naukowców zajmujących się w naszym kraju problematyką żywności.

Wniosek końcowy

Reasumując chciałbym stwierdzić, że pomimo zgłoszonych uwag i dostrzeżonych błędów oceniana praca wyróżnia się bardzo wysokim poziomem naukowym, wykonana została przy wykorzystaniu nowoczesnych metod badawczych, a uzyskane wyniki zostały przedstawione, przeanalizowane i zinterpretowane w sposób wnikliwy. Na podkreślenie zasługuje duża wiedza chemiczna i biologiczna oraz umiejętności analityczne Doktoranta.

Wartości merytoryczne pracy doktorskiej Pana magistra Łukasza Sęczyka *pt. „Interakcje związków fenolowych ze składnikami matrycy jako czynnik determinujący jakość żywności fortyfikowanej”* i wynikające z nich cenne możliwości aplikacyjne pozwalają mi na stwierdzenie, że spełnia ona wszystkie wymagania określone w art. 13 ust. Z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Z pełnym przekonaniem przedkładam zatem do Rady Wydziału Nauki o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pana magistra Łukasza Sęczyka do publicznej obrony niniejszej pracy.

Wysoki poziom naukowy ocenianej pracy motywuje mnie do złożenia Wysokiej Radzie wniosku o wyróżnienie Doktoranta w sposób praktykowany na Wydziale Nauki o Żywności i Biotechnologii.



Prof. dr hab. Ryszard Amarowicz