

Łódź, dn. 2.12.2024 r.

Prof. dr hab. inż. Grażyna Budryn
Instytut Technologii i Analizy Żywności
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

Recenzja pracy doktorskiej mgr Katarzyny Niedźwiadek,
wykonanej w Katedrze Biochemii i Chemii Żywności
na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie,
której Promotorem jest dr hab. inż. Dariusz Kowalczyk, prof. uczelni,
pt: „Otrzymywanie i charakterystyka aktywnych folii polisacharydowo-żelatynowych
wzbogaconych w związki przeciwutleniające”,
wykonana na podstawie Uchwały Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dn. 9.10. 2024 r.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie cyklu 6 Publikacji,
których dokładne dane bibliograficzne i ich numeracja przedstawione są w dysertacji,
zaopatrzonych dodatkowo omówieniem Publikacji przedstawionym na 82 stronach,
które obejmuje Wstęp, Hipotezę i cel badań, opis Materiałów i metod, Omówienie wyników
i dyskusję, Wnioski oraz Bibliografię.

Wprowadzenie do tematyki badawczej

Opakowania do żywności odgrywają fundamentalną rolę we współczesnym przemyśle spożywczym jako główny czynnik zachowania wysokiej jakości żywności od produkcji do konsumpcji. Wraz z rozwojem przemysłu spożywczego rośnie również zapotrzebowanie na materiały opakowaniowe. Od wielu lat w celach opakowaniowych produkowane i wykorzystywane są konwencjonalne tworzywa sztuczne, które umożliwiły zupełnie nowe podejście do przechowywania produktów spożywczych i zrewolucjonizowały ich logistykę, co spowodowało jednak w relatywnie krótkim czasie poważne problemy ekologiczne we wszystkich typach środowisk.

Biorąc pod uwagę obecny nacisk na zrównoważony rozwój, konieczne jest prowadzenie badań nad biopolimerami jako przyjaznymi dla środowiska materiałami do otrzymywania opakowań. W większości przypadków pozostają one bezpieczne dla różnych ekosystemów nawet po wprowadzeniu do nich antyoksydantów, związków ograniczających wzrost drobnoustrojów i innych substancji przedłużających trwałość żywności. Tworzywa biodegradowalne mają wiele zalet, jednak nie są wolne od ograniczeń, wśród których najważniejsze to wysoka hydrofilowość, przepuszczalność gazów oraz podatność na uszkodzenia mechaniczne. Powoduje to, że w masie około 500 mln ton tworzyw sztucznych produkowanych rocznie na świecie, tworzywa biodegradowalne stanowią niespełna 1%. Dlatego każde kolejne badanie dotyczące folii biodegradowalnych powinno przybliżać społeczeństwo do bardziej masowego wykorzystania biotworzyw, w szczególności do pakowania żywności. Prace badawcze powinny dotyczyć w pierwszej kolejności żywności szybko psującej się, która ma relatywnie krótki okres przechowywania, a zatem przyczynia się w bardzo znaczącym stopniu do generowania odpadów opakowaniowych.

Biorąc pod uwagę powyższe, ogólny cel pracy doktorskiej, obejmujący porównanie właściwości i kinetyki uwalniania substancji aktywnych z różnych wzbogaconych folii polisacharydowo-żelatynowych oraz określenie zależności pomiędzy strukturą materiału, właściwościami, a oczekiwaną funkcją, uważam za zgodny z aktualnymi potrzebami w zakresie poszerzenia wiedzy, która może przełożyć się na wartościowe rozwiązania aplikacyjne.

Wartość merytoryczna rozprawy

Przegląd literatury zaprezentowany w omówieniu publikacji obejmuje najnowsze doniesienia literaturowe, również z 2024 roku, zatem został uzupełniony po opublikowaniu w 2023 r ostatniego artykułu z przedstawionego do recenzji cyklu. Doktorantka opisuje między innymi mechanizmy wiązania, a następnie uwalniania składników bioaktywnych z różnych matryc polisacharydowo-żelatynowych. Praca obejmuje przygotowanie wodnych i wodno-etanolowych roztworów żelatyny i wybranych polisacharydów wraz z hydrofobowymi antyoksydantami i otrzymanie z nich folii hydrożelowych. Zgodnie z przyjętą hipotezą badawczą Doktorantka postawiła sobie za zadanie wykazanie, że dobór rodzaju i proporcji składników folii umożliwi otrzymanie aktywnej powłoki do pakowania żywności o pożądanym właściwościach użytkowych.

Opiniowany cykl badań Doktorantka, wraz ze współautorami, rozpoczęła w 2019 roku od publikacji, w której przeprowadziła badania dotyczące jadalnych folii wykonanych z mieszanin żelatyny i wybranych polisacharydów, w różnych proporcjach, z dodatkiem glicerolu jako plastyfikatora. Doktorantka zastosowała różne polisacharydy, takie jak guma arabska, metyloceluloza, oktenylobursztynian skrobiowy oraz rozpuszczalne w wodzie polisacharydy sojowe. Szczegółowo opisała i porównała właściwości mechaniczne folii oraz ich przepuszczalność pary wodnej przy różnych proporcjach żelatyny z polisacharydami, co pozwoliło na uzyskanie kompleksowego obrazu wpływu różnych polisacharydów. Doktorantka wykorzystała do formowania folii metodę wylewania rozpuszczalnika, która jest metodą laboratoryjną i nie ma przełożenia na warunki przemysłowe, stąd badania mają charakter wyłącznie modelowy. Doktorantka wraz z zespołem badawczym potwierdziła metodą cryo-SEM słabą mieszalność żelatyny i metylocelulozy. Wykorzystując tę technikę oraz elektroforetyczne rozpraszanie światła Pani mgr Niedźwiadek wraz ze współautorami wykazała występowanie oddziaływań w kriożelach żelatynowo-polisacharydowych i zaproponowała ich elektrostatyczny charakter, ze względu na odmienny potencjał dzeta stosowanych hydrokoloidów. Silniejsze oddziaływania zapewniały lepsze mieszanie i uzyskanie bardziej jednorodnych żeli. Jak wykazała również Doktorantka, skrobia ulegała częściowej retrogradacji, niemniej w metodach przemysłowych jest uplastyczniana podczas ekstruzji, co praktycznie zapobiega takim zmianom. Obecność żelatyny powodowała większą krystaliczność i większe upakowanie tworzonej sieci, co przekładało się na zmniejszenie przepuszczalności pary wodnej. Hydrokoloidy wiązały parę wodną i pęczniały. Żelatyna wiązała wodę w największym stopniu i może mieć w pewnym zakresie funkcję jej pochłaniacza w różnych systemach opakowaniowych. Badanie umożliwiło wybór najbardziej korzystnych proporcji żelatyny do polisacharydów do dalszych badań dotyczących wzbogacania folii w przeciwutleniacze. Publikacja wnosi nowe informacje na temat interakcji między żelatyną a różnymi polisacharydami, co może być cenne dla dalszego rozwoju jadalnych folii o ulepszonych właściwościach mechanicznych i barierowych.

W kolejnej publikacji Doktorantka koncentruje się na wprowadzeniu palmitynianu askorbylu (1% i 2%) jako przeciwutleniacza do folii utworzonych z mieszanin polisacharydów i żelatyny. Palmitynian askorbylu jest rozpuszczalnym w tłuszczach przeciwutleniaczem. Doktorantka wraz ze współautorami wykazała, że folie z dodatkiem palmitynianu askorbylu posiadały zwiększoną aktywność przeciwutleniającą, co może przedłużyć trwałość zapakowanych produktów spożywczych. Dodatek palmitynianu askorbylu wpływał na mikrostrukturę i właściwości mechaniczne folii oraz ich przepuszczalności pary wodnej, co pokazuje możliwość uzyskiwania unikalnych zmian tych właściwości i może być wykorzystana w dalszych badaniach. Obrazy z mikroskopu świetlnego pokazały wzrost niejednorodności struktury żeli po dodaniu tego przeciwutleniacza. Wprowadzenie palmitynianu askorbylu jako przeciwutleniacza w jadalnych foliach może prowadzić do opracowania nowych materiałów opakowaniowych o lepszych właściwościach ochronnych. Doktorantka stwierdzała różny stopień uwalniania palmitynianu askorbylu z folii z różnymi polisacharydami, jednak nie powtórzyła w tych badaniach metody spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni, choć opisanie dzięki tej technice występujących w żelach oddziaływań mogłoby dodatkowo tłumaczyć różną szybkość uwalniania antyoksydanta. Z kolei różną przepuszczalność pary wodnej wiązała Doktorantka z hydrofobowym charakterem żeli z jednej strony i jednorodnością struktury z drugiej strony.

W publikacji przytoczonej jako trzecia, Doktorantka dodawała syntetyczną astaksantynę, która występuje również jako substancja naturalna, jeden z najsilniejszych przeciwutleniaczy, w postaci 5%-owego preparatu z nośnikami (modyfikowaną skrobią, gumą guar, palmitynianem askorbylu i alfa-tokoferolem) do folii żelatynowej z gumą arabską lub polisacharydami sojowymi, gdzie zastosowała takie same warunki otrzymywania folii jak w publikacji wprowadzającej do cyklu. Folie kontrolne były zatem dokładnie takie, jak niektóre warianty w publikacji pierwszej, ale wyniki analiz, które powtórzyły się w obu publikacjach, różniły się w niewielkim stopniu pomiędzy publikacjami. Nie znalazło się jednak odniesienie do tego, że część wariantów była już wcześniej badana. Badanie metodą spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni ujawniło powstawanie połączeń chemicznych między astaksantyną a oboma badanymi polisacharydami, choć Pani mgr Niedźwiadek nie określiła dokładnie ich charakteru. Doktorantka właściwie dobrała techniki analityczne, głównie metody obrazowe, które uwidoczniły wpływ astaksantyny na strukturę hydrożeli. Technika cryo-SEM pozwoliła Doktorantce wraz ze współautorami na obserwację zwiększonej niejednorodności w sieci żeli, powodowaną obecnością antaksantyny. Pani mgr Niedźwiadek wykazała, że dynamika uwalniania antyoksydanty zmniejszała się wraz ze wzrostem jej stężenia, co tłumaczyła interakcjami nośników występujących w preparacie astaksantyny. Polisacharydy sojowe w folii z żelatyną istotnie wolniej uwalniały antyoksydant, co wskazuje, że mogą być bardziej efektywnym materiałem zapewniającym długotrwałe uwalnianie przeciwutleniacza. Jak wykazała Doktorantka, aktywność antyoksydacyjna była skorelowana z uwalnianiem astaksantyny, a nie tylko z jej stężeniem.

W publikacji czwartej astaksantyna w postaci tego samego preparatu dodawana była do hydrożeli będących połączeniem skrobi modyfikowanej kwasem bursztynowym lub kaboksymetylocelulozy z żelatyną. Proporcje masowe składników zostały przedstawione w sposób niejasny, w diagramie jest to 3,5 do 1,5, natomiast w symbolach mieszanek jest to 75/25, a to zupełnie inne proporcje. Ponadto zawartość astaksantyny w foliach opisano jako zakres 0,0025–0,01 g/g frakcji polimerowej, jednak nie jest jasne, jak zostało to policzone. Doktorantka zaobserwowała, że dodatek astaksantyny do modyfikowanej celulozy, ale tylko w niższym stężeniu, powodował osłabienie powiązań polimerów. Zatem znalezienie właściwości folii, dostosowanych do konkretnych zastosowań, wymaga precyzyjnego doboru proporcji pomiędzy składnikami, ponieważ nawet niewielka zmiana stężenia jednego ze składników przekłada się na inną jednorodność, rozpuszczanie, uwalnianie składników aktywnych i inne cechy istotne z punktu widzenia trwałości folii i prawdopodobnie także jakości zapakowanych produktów. Doktorantka zasugerowała powstawanie koacerwatu w żelu modyfikowanej skrobi z żelatyną, Interesująca byłaby sugestia Doktorantki dotycząca mechanizmu tworzenia oraz budowy tego koacerwatu.

W publikacji piątej Doktorantka powtórzyła badania dotyczące dodatku do 1% astaksantyny do czterech polisacharydów w badaniach przechowalniczych, przy czym dodatek 1% preparatu astaksantyny jest zapisem mylącym, odnosi się bowiem do stężenia w roztworze. Doktorantka wykazała, że dodatek do folii astaksantyny powodował wzrost aktywności przeciwutleniającej, co może być wykorzystane do przedłużania trwałości zapakowanych produktów spożywczych. Folie w zależności od rodzaju polisacharydu wykazywały różną szybkość zmiany barwy podczas przechowywania, co jest istotne dla zachowania estetyki opakowań.

Ostatnia publikacja dotyczy wzbogacania hydrożeli na bazie żelatyny w kurkuminę. Kurkumina zmniejszała mieszalność hydrofobowej pochodnej celulozy i żelatyny. Podobnie jak w przypadku folii wzbogaconych astaksantyną, uwalnianie kurkuminy w 50% roztworze etanolu w dużym stopniu zależało od rozpuszczalności samego polisacharydu. Kurkumina w zastosowanych stężeniach znacznie poprawiała zdolność przeciwdrobnikową i właściwości barierowe dla ultrafioletu, szczególnie w obszarze UV-A, folii polisacharydowo-żelatynowych. W folii z pochodną celulozy zmniejszyła się przepuszczalność pary wodnej. Jednocześnie Doktorantka wraz ze współautorami nie zaobserwowała zasadniczych zmian w morfologii, właściwościach mechanicznych folii w zależności od obecności i stężenia kurkuminy.

Przedstawiony do zaopiniowania cykl 6 publikacji stanowi prace wieloautorskie, w których wkład Pani mgr Niedźwiadek jest przeważający i obejmuje między innymi udział w opracowaniu koncepcji badań i ich metodologii. Należy podkreślić, że stosowane w pracach metody obejmują bardzo szerokie spektrum technik badawczych stosowanych w inżynierii materiałowej i technologii żywności, Doktorantka

przedstawiła w opiniowanych pracach dyskusję uzyskanych wyników, także tych wykonanych przez współautorów. Wysoką wartość naukową badań potwierdzają dane dotyczące publikacji składających się na dysertację. Artykuły ukazały się w języku angielskim, w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, ich sumaryczny IF zgodnie z rokiem publikacji przekracza 43, a łączna liczba ich cytowań wg bazy Scopus wynosiła 113 w dniu kończącym przygotowanie dysertacji.

Doktorantka na podstawie badań opisanych w cyklu publikacji wykazała, że dobór nośnika biopolimerowego jest istotnym krokiem do uzyskania odpowiedniej szybkości uwalniania związku aktywnego z folii hydrożelowych. Dzięki analizie folii metodą spektroskopii furierowskiej w podczerwieni wykazała specyficzne interakcje między żelatyną a różnymi polisacharydami i silniejsze oddziaływanie z modyfikowaną skrobią i polisacharydami sojowymi w porównaniu z celulozą mikrokrystaliczną i gumą arabską, co jest unikalnym wkładem Doktorantki i współautorów w stan wiedzy. Badania wykonane przez Doktorantkę otwierają nowe możliwości w zakresie tworzenia opakowań o specyficznych właściwościach, takich jak kontrolowana przepuszczalność gazów, istotne szczególnie w przechowywaniu produktów oddychających. Wykorzystanie naturalnych polimerów, takich jak żelatyna i polisacharydy, przyczynia się do zmniejszenia zależności od niebiodegradowalnych materiałów opakowaniowych, co jest korzystne dla środowiska, a zagospodarowanie w tym zakresie odpadów z przemysłu spożywczego, np. do produkcji żelatyny, wspiera model gospodarki cyrkularnej. Jadalne folie, takie jak opracowane przez Panią mgr Niedźwiadek, mogą być wykorzystywane jako powłoki ochronne przed mikroorganizmami i czynnikami zewnętrznymi, a spożywane razem z produktem eliminują potrzebę utylizacji opakowań i zmniejszają ilość odpadów. Możliwość wzbogacania jadalnych powłok w przeciwutleniacze może zwiększyć wartość odżywczą i atrakcyjność sensoryczną produktów żywnościowych.

Uwagi krytyczne oraz zagadnienia do wyjaśnienia

Uwagi merytoryczne zostały częściowo zawarte we fragmencie opinii dotyczącej wartości merytorycznej rozprawy.

Inne uwagi, które wymagają wyjaśnienia Doktorantki:

- Skoro praca doktorska wykonana jest w dyscyplinie technologia żywności i żywienia, to który poziom gotowości technologicznej osiągnęła Doktorantka po zakończeniu cyklu badań?
- Folie z palmitynianem askorbylu opisywane w publikacji 5 były niebieskie, a nie żółte, ze względu na ujemną wartość składowej barwy b^* .
- W odniesieniu do modyfikowanej skrobi i jej przemian podczas przechowywania użyto określenia rekrytalizacja. Czy chodziło szerzej o zjawisko retrogradacji?
- W publikacji 3 we fragmencie dotyczącym opisu wyników analizy FTIR pojawiło się sformułowanie „na podstawie widma fluorescencyjnego”. Do której analizy odnosiło się ono?
- Proszę o wyjaśnienie, jaką skalę dla zaznaczenia jednostek czasu wykorzystano na wykresie 4 w publikacji 2, na wykresie 4, 6 i 9 w publikacji 3 (nota bene brak wykresu nr 5 w tej publikacji), na wykresie 4, 5, 7 i S3 w publikacji 4 i podobnie na wykresie 6 ab w publikacji 6,

Poprawność redakcyjna rozprawy

- Brak jest w niektórych fragmentach pracy spacji w danych opisujących różne parametry, np. temperaturę czy czas, między wartością a symbolem jednostki.
- W części stanowiącej Omówienie publikacji brak jest w tekście numerów 150 i 151 w odnośnikach do artykułów.
- W pracy wielokrotnie Doktorantka stosowała niewłaściwe użycie wyższego lub najwyższego stopnia przymiotników, np. najkompletniejsze, wytrzymalsza, najpowolniejsza, zamiast stopniowania opisowego.

- Na rys. 1 i 2 w publikacji 1 nie zaznaczono skali informującej o rozmiarze folii na obrazie mikroskopowym.
- Na wykresie S3 w publikacji 2 brakuje opisu, co jest zaprezentowane po lewej i prawej jego stronie.
- Na końcach linii w wielu miejscach tekstu występują jednoliterowe spójniki lub przyimki, co nie jest zgodne z zasadami poprawnej pisowni w języku polskim.

Ocena końcowa

Stwierdzam, że Doktorantka wykazała się umiejętnościami oryginalnego rozwiązywania problemu naukowego i zrealizowała cel postawiony w pracy. Rozprawa doktorska prezentuje znajomość ogólnej wiedzy Pani mgr Niedźwiadek w dyscyplinie technologia żywności i żywienia i potwierdza umiejętność Doktorantki samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Recenzowana Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Niedźwiadek spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce i wnioskuję do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Niedźwiadek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

