

Prof. dr hab. Zenon Zduńczyk
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN
ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr inż. ANNY MAGADELENY TUŚNIO p.t. **"Stan funkcjonalny przewodu pokarmowego prosiąt i kurcząt żywionych mieszankami z udziałem białka i włókna ziemniaczanego"** wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Stefanii Smulikowskiej w Instytucie Fizjologii Żywienia Zwierząt *im. Jana Kielanowskiego* Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie

Możliwości szerszego wykorzystania odpadów przemysłu skrobiowego na cele paszowe budzi zainteresowanie za dwóch powodów: (1) wymogi ochrony środowiska wymuszają wprowadzanie tzw. „technologii bezodpadowych” w przetwórstwie spożywczym i przemyśle, zwiększające ilości produktów ubocznych do gospodarczego (w tym paszowego) wykorzystania oraz (2) w ostatnim dwudziestoleciu zaszło szereg zmian w sytuacji paszowej i zasadach żywienia zwierząt w Europie (m. in. wycofanie mączek pochodzenia zwierzęcego i antybiotyków paszowych oraz narastająca niechęć wobec genetycznie modyfikowanej soi), skłaniających do poszukiwań alternatywnych dla soi pasz wysokobiałkowych, korzystnie wpływających na rozwój i funkcjonowanie przewodu pokarmowego zwierząt. Te dwa względy, syntetycznie przedstawione we wstępie ocenianej pracy, trafnie uzasadniają zainteresowanie Promotorki i Doktorantki dwoma produktami ubocznymi przemysłu skrobiowego; koncentratem białka ziemniaka (KBZ) oraz preparatem włókna ziemniaczanego (PWZ). Ze względu na obecność w tych produktach wtórnych metabolitów o potencjalnie przeciwożywnym, a w dużych stężeniach nawet o toksycznym oddziaływaniu, tj. glikoalkaloidów i inhibitorów proteaz, ocena przydatności paszowej wymienionych produktów ubocznych przetwórstwa ziemniaków wymaga kompleksowych badań fizjologicznych. Zakres i walory poznawcze takich badań są odpowiednie do przedstawienia pracy na stopień naukowy. Ważnym aspektem ocenianej pracy jest potencjalny, pożądany i/lub niepożądany, wpływ odżywczych i nieodżywczych (przeciwożywnych) składników produktów ziemniaczanych na rozwój i funkcjonowanie przewodu pokarmowego zwierząt o wysokich wymaganiach pokarmowych i dużej wrażliwości na skład diety, jakimi są prosięta i kurczęta.

Ocena formalna rozprawy

Część merytoryczna rozprawa liczy 110 stron wydruku komputerowego, podzielonego na rozdziały i podrozdziały, w tym 25 stron obejmujących wstęp, zdefiniowanie hipotez badawczych i przegląd piśmiennictwa, 14 stron opisu materiału badawczego i zastosowanych metod badawczych, 17 stron prezentacji wyników badań własnych, 28 stron omówienia wyników i konfrontacji z danymi piśmiennictwa, 3 strony podsumowania wyników i wniosków z badań, 4 strony ze streszczeniem polsko- i anglojęzycznym oraz 10 stron z wykazem 148 pozycji cytowanego piśmiennictwa. Z powyższego zestawiania wynika, że zasadniczą część opracowania stanowi opis warunków przeprowadzenia badań własnych doktorantki oraz opis i interpretacja uzyskanych wyników. Ocena rozprawy spełnia formalne wymogi stawiane pełnej rozprawie naukowej, w której zdefiniowano hipotezy badawcze, opisano sposób ich weryfikacji oraz przedstawiono wyniki badań własnych w konfrontacji z danymi piśmiennictwa z właściwego obszaru wiedzy.

Ocena szczegółowa rozprawy

W nawiązaniu do omówionego już wstępu, w rozdziale *hipoteza badawcza i cel naukowy pracy*, jako cel przeprowadzonych badań Doktoranta wskazuje weryfikację następujących hipotez badawczych:

1. Skarmianie koncentratu białka ziemniaczanego wpływa na stan funkcjonalny przewodu pokarmowego prosiąt i kurcząt brojlerów.
2. Dodatek włókna ziemniaczanego do mieszanki wpływa na procesy trawienne i stan funkcjonalny przewodu pokarmowego prosiąt.
3. Glikoalkaloidy solaninowe i inhibitory tripsyny, obecne w koncentracie białka ziemniaczanego, zakłócają funkcje przewodu pokarmowego kurcząt.

Tak zdefiniowane hipotezy badawcze nawiązują do tytułu pracy, chociaż zakres realizowanych badań jest szerszy, niż analiza funkcjonowania przewodu pokarmowego prosiąt i kurcząt.

Na rozdział *przegląd literatury* składa się omówienie kilku zagadnień:

- zdefiniowanie pojęcia stan funkcjonalny przewodu pokarmowego zwierząt, z usytuowaniem tego zagadnienia w specyfice budowy morfologicznej i funkcjonowaniu wybranych fragmentów przewodu pokarmowego prosiąt i kurcząt (jelita cienkiego i jelita grubego), kluczowych dla wykorzystania i oddziaływania składników produktów

ubocznych z ziemniaków;

- omówienie czynników (składników diety), wpływających na rozwój i funkcjonowanie przewodu pokarmowego zwierząt, w tym związków azotowych (białka, peptydów i aminokwasów) oraz włókna pokarmowego i produktów fermentacji mikrobiologicznej;

- charakterystyka składu chemicznego produktów ubocznych z ziemniaków, ze szczególnym uwzględnieniem substancji przeciwożywczych.

Tak zestawiony przegląd piśmiennictwa jest ściśle podporządkowany uzasadnieniu celu i zakresu pracy oraz wyborowi właściwych metod weryfikacji przyjętych założeń. Autorka skorzystała z wielu źródeł; przede wszystkim z artykułów renomowanych czasopismach anglojęzycznych, tematycznych opracowań publikowanych w europejskich i amerykańskich ośrodkach naukowych (np. *Wageningen Academic Publishers*), rozpraw doktorskich przygotowanych w rodzimej placówce naukowej oraz zagranicznych, z którymi ta placówka współpracuje, prac przeglądowych (m. in. publikowanych w *Post. Nauk Rol.*), intron internetowych, jak również krajowych norm i podręczników żywienia zwierząt. Niektóre fragmenty tej części pracy mają charakter podręcznikowy, np. charakterystyka budowy morfologicznej i funkcjonowania przewodu pokarmowego świni i kury, niemniej dobrze one uzupełniają zestawienie wyników badań, publikowanych w renomowanych czasopismach ostatnim dziesięcioleciu lub nieco wcześniej. Z tego względu przedstawiony przegląd piśmiennictwa oceniam jako kompetentny, odpowiedni do potrzeb wybranego kierunku badań.

W rozdziale *material i metody* Autorka wyczerpująco informuje o zakresie przeprowadzonych badań, w tym:

(1) Ocenie strawności jelitowej aminokwasów, przeprowadzonym na 12 wieprzkach z założoną kaniulą prostą za ujściem biodrowo-ślepo-okrężniczym jelita cienkiego. Dwukrotnie, w układzie przemiennym, grupy 4 prosiąt otrzymywały 3 diety z kazeiną i celulozą lub też z kazeiną i koncentratem białka ziemniaczanego (1:1), odpowiednio w zestawie z celulozą lub preparatem włókna ziemniaczanego. Porównywane komponenty wchodziły w skład odpowiednio skomponowanych diet półsyntetycznych, spełniających potrzeby pokarmowe prosiąt i zawierające niski poziom glikoalkaloidów (83,6 mg/kg) oraz inhibitorów trypsyny (ok. 0,5 mg/g). Treść jelit kolekcjonowano prze 3 dni, poprzedzone okresem 7 dni podawania danej diety.

(2) Trzytygodniowym doświadczeniu bilansowo-wzrostowym, przeprowadzonym na 24 wieprzkach o masie początkowej 15 kg, zestawionych w 4 grupy po 6 sztuk i zakończonym ubojem wieprzków w celu oceny parametrów rozwoju i funkcjonowania przewodu pokarmowego. Koncentrat białka ziemniaka (17,5%), w zestawie z celulozą lub preparatem włókna ziemniaczanego stosowano jako zamiennik kazeiny, a mieszanki zawierały nieco więcej glikoalkaloidów (118,5 mg/kg) oraz inhibitorów trypsyny (ok. 0,7 mg/g).

(3) Pięciotygodniowe doświadczenie wzrostowe, przeprowadzone na 4 grupach po 24 kurcząt, w którym KBZ, w ilości 5, 10 i 15% standardowych mieszanek, zastosowano jako zamiennik poekstrakcyjnej śruty sojowej. W przypadku mieszanki grower najwyższa zawartość KBZ całkowicie eliminowała poekstrakcyjną śrutę sojową, a zawartość glikoalkaloidów nie przekraczała poziomu zastosowanego wcześniej w mieszankach dla prosiąt (101,5 mg/kg).

(4) Trzytygodniowe doświadczenie na 5 grupach po 14 kurcząt, na których określono strawność w całym przewodzie pokarmowym oraz strawność jelitową (z użyciem metody poubojowej) białka diet z jednakową zawartością KBZ (10%), jednakże ze zróżnicowaną zawartością glikoalkaloidów (od ok. 87 do 318,5 mg/kg).

Wszystkie doświadczenia zaprojektowano profesjonalnie, wykorzystując wieloletnie doświadczenia placówki w tego typu technikach badawczych, np. określeniu strawności jelitowej aminokwasów z użyciem przetokowanych wieprzków lub metody poubojowej u drobiu. Odpowiednio do tego zastosowano wiarygodne metody analiz składu chemicznego pasz (w tym składu aminokwasowego białka, zawartości glikoalkaloidów i aktywności antytrypsynowej), analizy składu i właściwości treści jelit (w tym lepkości treści i zawartości tlenu chromu), badania morfologii błony śluzowej jelita cienkiego oraz oznaczenia wybranych wskaźników biochemicznych krwi. Z tego względu, wyniki prezentowanych badań spełniają warunek wiarygodności i dostarczają nowych informacji w podjętej tematyce badawczej.

Do najważniejszych efektów ocenianej pracy, właściwie przedstawionych w rozdziale *wyniki* i skonfrontowanych z danymi piśmiennictwa w rozdziale *dyskusja*, należy:

- udokumentowanie różnic w składzie chemicznym produkowanych w Polsce koncentratów białka ziemniaka, w stosunku do tego typu produktów, scharakteryzowanych w tabelach INRA i Degussa oraz pracy Refstie i Tiekstra (2003). Z prezentowanych wyników generalnie wynika, że są dwie przyczyny takich różnic, nieco odmienna technologia

skutkująca różnicą w zawartości białka i skrobi oraz odmienna (w tym niższa) jakość użytego surowca, skutkująca bardzo dużym zróżnicowaniem w zawartości glikoalkaloidów solaninowych;

- wykazanie, że różnice w składzie podstawowym KBZ nie mają wpływu na skład aminokwasowy białka i rodzimy produkt jest analogiczny do opisanego w pracach innych autorów. W stosunku do innych białek roślinnych, KBZ cechuje większa zawartość lizyny i treoniny, aczkolwiek poziom tych aminokwasów jest niższy w zestawieniu z kazeiną. Z punktu widzenia celu prezentowanej pracy ważną informacją był mniejszy udział argininy w białku, ograniczający jego wartość biologiczną w żywieniu kurcząt oraz niższy udział glutaminy, aminokwasu o ważnej funkcji w rozwoju i funkcjonowaniu nabłonka jelit;

- potwierdzenie, że proces pozyskiwania białka ziemniaczanego skutecznie redukuje bardzo wysoką aktywność antytrypsynową surowca do poziomu toastowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej lub nasion grochu (ok. 5 mg/g białka ogólnego);

- wykazanie, że relatywnie niska pozorna strawność jelitowa białka ziemniaka (77%) wynika z faktu, iż to białko (w tym poszczególne aminokwasy) jest odporne na trawienie w jelicie cienkim młodych świń, przy czym w małym stopniu jest to związane z aktywnością inhibitorów trypsyny. W przypadku kurcząt, zróżnicowanie aktywności antytrypsynowej diet w zakresie 0,09-0,41 mg/g nie miało wpływu na strawność pozorną białka ziemniaka do końca jelita cienkiego i w całym przewodzie pokarmowym;

- stwierdzenie, że zastosowanie 17,5% niskoalkaloidowego KBZ, jako jedyne go komponentu uzupełniającego białka zbóż w mieszance paszowej, nie obniżało spożycia paszy i przyrostów masy ciała prosiąt, aczkolwiek wywoływało szereg zmian w organizmie, np. powiększenie masy trzustki, wątroby i jelita biodrowego oraz zmiany w morfologii błony śluzowej jelita, zależne jednakże od fizykochemicznych właściwości włókna diety;

- wykazanie, że jedynie niska zawartość KBZ w mieszankach dla kurcząt (5%) nie grozi negatywnymi konsekwencjami fizjologicznymi z powodu podwyższenia lepkości treści pokarmowej i obniżenia spożycia diety, jak również możliwości nadmiernego spożycia glikoalkaloidów solaninowych;

- stwierdzenie, że preparat włókna ziemniaczanego, m. in. zawierającego 48% skrobi ziemniaka i 25% składników oznaczanych jako włókno surowe, nie wykazuje właściwości stymulowania rozwoju i funkcjonowania przewodu pokarmowego prosiąt, a nawet powoduje obniżenie wysokości kosmków i głębokości krypt w nabłonku oraz obniżenie wykorzystania

białka strawionego;

- wykazanie, że zastosowane w dietach prosiąt i kurcząt produkty ziemniaczane wpływają (mogą wpływać) na rozwój i funkcjonowanie przewodu pokarmowego (w tym morfologię błony śluzowej jelita cienkiego), m. in. poprzez zwiększenie lepkości treści jelit, zbyt dużą zawartość glikoalkaloidów solaninowych i inhibitorów trypsyny, specyficzny skład i obniżoną strawność aminokwasów oraz specyficzny skład i właściwości frakcji węglowodanowej wchodzącej w skład preparatu włókna.

Wskazane wyżej, w mojej opinii, najważniejsze wyniki dowodzą wysokiej wartości poznawczej i praktycznej ocenianej pracy, niezależnie od pewnych jej mankamentów. Za takie uważam zbyt ogólnikowe sformułowanie hipotez badawczych, zakładających określone oddziaływanie fizjologiczne użytych produktów przetwórstwa bulw ziemniaka, bez powiązania i uzasadnienia takiego oddziaływania poznanymi dotąd lub zakładanymi właściwościami fizyko-chemicznymi tych produktów. Błędem Autorki opracowania było usytuowanie rozdziału *hipoteza badawcza i cel naukowy pracy* przed rozdziałem *przegląd literatury*, którego treść winna znaleźć odzwierciedlenie w sformułowaniu hipotez. Z tego powodu brakuje ścisłego związku między treścią hipotez i wniosków, dwóch kluczowych elementów, które winny być klamrami merytorycznie spinającymi rozprawę naukową. Niezależnie od przyczyn, które o tym zadecydowały szkoda, że w badaniach na młodych świnich zabrakło doświadczenia ze zróżnicowanym poziomem glikoalkaloidów, analogicznego jak w badaniach na kurczętach. Z tego powodu, wniosek dotyczący prosiąt ma swoje ograniczenie do niskoalkaloidowego KBZ i w pracy zabrakło wskazania fizjologicznie bezpiecznego poziomu KBZ, przy braku informacji o zawartości alkaloidów tej paszy. W przypadku kurcząt, wskazany limit zawartości KBZ w mieszance w wielkości 5-6% oznacza, że nawet największa, ze stwierdzonych dotąd zawartości glikoalkaloidów nie powinna mieć negatywnego wpływu na wzrost i zdrowie ptaków. Jest to o tyle ważne, że przeciętny odbiorca KBZ ma niewielkie możliwości kontroli i utrzymania na niskim poziomie glikoalkaloidów i inhibitorów trypsyny, co sugeruje Autorka w pierwszym wniosku, bez wskazania adresata. Taki wniosek należy kierować do producentów KBZ, wskazując jednocześnie dopuszczalną zawartość obu substancji przeciwożywczych paszach dla świń i drobiu. Zagadnienie to powinno uzupełnione w przyszłych pracach Doktorantki i/lub Promotorki.

Ocena końcowa

Przedstawiona do oceny praca mgr inż. ANNY MAGADELENY TUŚNIO p.t. "*Stan funkcjonalny przewodu pokarmowego prosiąt i kurcząt żywionych mieszankami z udziałem białka i włókna ziemniaczanego*" wskazuje ważne cele poznawcze i praktyczne, do których osiągnięcia wybrano właściwe metody badawcze, a uzyskane, wartościowe wyniki zostały poprawnie przedstawione i zinterpretowane. Oceniana praca odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dziennik Ustaw nr 65 pozycja 595 z 2003 r. ze zm. w Dz. U. z 22005 r. nr 164 poz. 1365). Z tego względu wnoszę o dopuszczenie Autorki do dalszych etapów, zmierzających do nadania Jej stopnia naukowego doktora nauk rolniczych.

Olsztyn, 19.05.2010 r.

