

Warszawa, dnia 31 sierpnia 2022 r.

Dr hab. inż. Anna Harton
Zakład Dietetyki, Katedra Dietetyki
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej **mgr inż. Joanny Skoczylas**
pt. „**Porównanie składu chemicznego i zawartości związków bioaktywnych młodych roślin
czosnku uprawianych z cebulek powietrznych i ząbków oraz ocena wchłaniania
zawartych w nich związków polifenolowych w modelu *in vitro***”

przygotowanej pod opieką naukową promotor: **prof. dr hab. inż. Anety Kopec** z Wydziału
Technologii Żywności Katedry Żywienia Człowieka i Dietetyki, Uniwersytetu Rolniczego im.
Hugona Kołłątaja w Krakowie.

Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Recenzja została wykonana na podstawie uchwały nr 33/2022 rady dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z dnia 1 czerwca 2022 r. oraz pisma Pana przewodniczącego rady dyscypliny technologia żywności i żywienia dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK z dnia 14 czerwca 2022 r.

Formalna ocena pracy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi monografię po tytule „Porównanie składu chemicznego i zawartości związków bioaktywnych młodych roślin czosnku uprawianych z cebulek powietrznych i ząbków oraz ocena wchłaniania zawartych w nich związków polifenolowych w modelu *in vitro*”, która liczy 162 ponumerowane strony. Na początkowych stronach zamieszczono: indeks skrótów (str. 7-9), streszczenie (str. 11-12) i abstract (str. 13-14). Praca obejmuje takie rozdziały jak: wstęp, przegląd literatury, hipotezy i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, literatura, spis tabel, spis rycin oraz aneks. W aneksie zamieszczono 12 tabel o numerach 24-35.

Merytoryczna ocena pracy

Dysertacja poprzedzona jest krótkim **wstępem**, w którym Autorka w sposób zwięzły i rzeczowy wprowadza czytelnika w tematykę podjętych przez siebie badań. W dalszej kolejności, w tej części pracy, przytoczona jest definicja biodostępności oraz czynników, które ją determinują.

Na koniec wstępu Autorka prezentuje cel pracy, którym było porównanie składu chemicznego i zawartości składników bioaktywnych oraz aktywności antyoksydacyjnej młodych roślin polskich, ozimych odmian czosnku Harnaś i Ornak uprawianych z cebulek powietrznych i ząbków. W prezentowanej pracy podjęto również próbę oceny biodostępności składników prozdrowotnych, obecnych w materiale roślinnym z wykorzystaniem statycznego modelu *in vitro* i modelu komórkowego linii Caco-2.

Kolejną część pracy stanowi **przegląd literatury**, który obejmuje 4 podrozdziały zamieszczone na 23 stronach maszynopisu (str. 17-39). W podrozdziale pierwszym scharakteryzowano czosnek pospolity (*Allium sativum* L), w tym odniesiono się morfologii, biologii, systematyki i zmienności jak również pochodzenia tej rośliny. Wybrane informacje zobrazowano na 4 rycinach prezentujących materiał sadzeniowy i dojrzałą roślinę czosnku (źródło: materiał własny). Na koniec tej części Autorka wskazuje, że w ostatnich latach zwiększyło się zainteresowanie rolników cebulkami powietrznymi jako materiałem sadzeniowym, w porównaniu do ząbków czosnku m.in. z uwagi na fakt większej ich odporności na wirusy. To zainteresowanie skłoniło Autorkę do podjęcia przedmiotowych badań.

Podrozdział „Bioaktywne składniki czosnku” charakteryzuje czosnek pod kątem wartości odżywczej oraz bioaktywnych związków, których ilość i rodzaj zmienia się w zależności od formy i stopnia przetwarzania surowca. W tej części pracy Autorka dokonuje też opisu związków fenolowych ogółem, podkreślając ich prozdrowotne właściwości. Ta tematyka jest kontynuowana w kolejnym podrozdziale zatytułowanym „Prozdrowotne właściwości czosnku”. Korzystny wpływ czosnku na organizm człowieka opisany został przez Dyplomantkę, w trzech kategoriach - działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne oraz przeciwdrobnoustrojowe - przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. W tych podrozdziałach (1.3.1-1.3.3) Pani mgr inż. Joanna Skoczyła na podstawie przytoczonej dość licznej literatury wykazała, że czosnek ma udowodnione właściwości prozdrowotne jw., i jest naturalnym lekarstwem, którego nie powinno zabraknąć w prawidłowo skomponowanej diecie. Podrozdział 1.3.1 zaczyna się od ogólnych informacji na temat stresu oksydacyjnego oraz roli przeciwutleniaczy w jego prewencji. W dalszej kolejności (str. 24) Autorka przytacza kilkanaście prac naukowych potwierdzających działanie przeciwutleniające czosnku. Zupełnie inaczej tekst zredagowano w przypadku opisu przeciwzapalnych właściwości czosnku (podrozdział 1.3.2), w początkowych jego fragmentach nie przytoczono jednak żadnej literatury. Istotnie braki te zostały uzupełnione nawet z nawiązką w dalszej części rozdziału, tu szczególnie na stronie 26, na której zostały zacytowane eksperymenty prowadzone na zwierzętach oraz badania z udziałem ludzi. W tej części pracy Doktorantka między innymi

opisała badania realizowane u pacjentów dializowanych, którym podawano ekstrakt z czosnku co przyczyniło się do zmniejszenia markerów stanu zapalnego szczególnie IL6 oraz białka ostrej fazy (CRP). W innych badaniach wykazano, że substancje obecne w czosnku zapobiegają stanom zapalnym układu nerwowego dzięki czemu czosnek może znaleźć zastosowanie w prewencji chorób neurodegeneracyjnych takich jak Alzheimer. Dyplomantka wskazała, że choroba ta jest najbardziej rozpowszechniona na świecie wśród osób starszych (tu jednak nie podano referencji).

Dalszy podrozdział (1.3.3) dotyczy działania przeciwdrobnoustrojowego czosnku. W tej części pracy Pani mgr inż. Joanna Skoczylas przytoczyła i starannie opisała wiele badań, których wyniki potwierdziły działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe czosnku. Jak pisze Autorka największą skuteczność produktu wykazano w doświadczeniach, w których użyto ekstraktów metanolowych i etanolowych, a najmniejszą wodnych. Silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe czosnku przypisuje się głównie allicyynie, i jej interakcjom z enzymami zawierającymi tiol.

Kolejne podrozdziały o numeracji 1.3.4-1.3.6 traktują o wpływie czosnku na choroby układu krążenia i jego działaniu antynowotworowym. Tu analogicznie do poprzedniej części dysertacji odniesiono się do licznych badań z udziałem ludzi i eksperymentów na modelach zwierzęcych. Na podstawie przytoczonej literatury Autorka wykazała między innymi, że czosnek pozytywnie wpływa na ciśnienie tętnicze krwi, glikemię jak również stężenie poszczególnych frakcji lipoprotein w surowicy krwi, co jednak uzależnione jest od dawki/iłości spożytego produktu z dietą i powiązane z długością trwania interwencji. W opisach wybranych badań realizowanych u ludzi nie jest jednak jasne (tu zwłaszcza w podrozdziale 1.3.4), czy wykorzystywano suplement diety czy produkt – to ważna praktyczna informacja i warto zadbać, aby była precyzyjnie podana.

W następnym podrozdziale Doktorantka odniosła się do rekomendacji żywieniowych wskazując, że zgodnie z danymi literaturowymi nie została ustalona dawka terapeutyczna czosnku (tu jednak nie znajdujemy odwołania do żadnego źródła). Faktycznie normy żywienia dla populacji Polski znowelizowane przez Ekspertów Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w 2020 roku (Jarosz i wsp., 2020) nie precyzują podaży tego produktu z dietą, podobnie jak nie odnoszą się do podaży innych produktów. Rekomendacje podaży wybranych produktów czy grup produktów istotnie można znaleźć w zaleceniach specjalistycznych odnoszących do wybranych chorób dietozależnych. Takie rekomendacje w prewencji chorób układu krążenia opublikowane przez Polskie Towarzystwo Dietetyki w 2016 roku cytuje także Autorka. Powołując się na nie wskazuje, że zaleca się

spożycie 4 g świeżego czosnku na dobę, co odpowiada 1-2 ząbkom produktu. Dodatkowo Pani magister pisze, że spożycie czosnku nie jest zalecane osobom z alergiami (tego twierdzenia nie poparto niestety żadną literaturą, ani wyjaśnieniem). W dalszej części dysertacji odniesiono się jeszcze do możliwych interakcji omawianego produktu z lekami oraz objawów dyspeptycznych związanych ze spożyciem czosnku u osób z zaburzeniami funkcjonowania przewodu pokarmowego.

Treści zamieszczone w podrozdziałach 1.1-1.3 odnoszące się do charakterystyki, bioaktywnych składników i prozdrowotnych właściwości czosnku dowodzą, że Pan mgr inż. Joanna Skoczylas bardzo dobrze zna produkt, który stanowi podstawę Jej pracy naukowej – został on wybranych świadomie po przeanalizowaniu bogatej tematycznej literatury krajowej i zagranicznej.

Kolejne 8 stron maszynopisu odnosi się do modelu trawienia *in vitro* i biodostępności składników bioaktywnych – polifenoli zawartych w czosnku. W tej części pracy w oparciu o literaturę opisano podjętą tematykę oraz mnogie czynniki, które wpływają na biodostępność polifenoli. Po dokonaniu przeglądu wskazano, że uwarunkowana jest ona m.in. budową związku, interakcją z innymi składnikami czy też matrycą pokarmową oraz zawartością danego związku w pożywieniu. W dalszej części (podrozdział 1.4.2) Autorka omówiła modele przewodu pokarmowego *in vitro*, wskazując, że ich różnorodność sprawia problemy z interpretacją i porównaniem wyników badań bowiem dostępne metody badawcze różnią się czasem trwania procesu trawienia, zastosowanym pH czy też różnymi etapami trawienia. W badaniach wykorzystuje się modele statyczne i dynamiczne oraz, że każdy z nich ma swoje zalety i wady, czyli ograniczenia w interpretacji wyników. Najczęściej wykorzystuje się jednak modele statyczne, które mają głównie zastosowanie do badań trawienia produktów prostych, składu pokarmu oraz biodostępności składników odżywczych. Jak wskazuje Doktorantka jako część modelu trawienia *in vitro* wykorzystuje się także modele hodowli komórkowych. Najstarszy taki model został opracowany na linii komórkowej Caco-2 w 1998 roku i stał się tanią i szybką metodą określania biodostępności składników pokarmowych. W dalszej części podrozdziału szczegółowo opisano ten model wraz z zobrazowaniem schematu specjalnego naczynka hodowlanego, co przedstawia rycina 4 zamieszczona na str. 37. Ostatnie fragmenty przeglądu Autorka poświęciła charakterystyce innych linii komórek nabłonkowych wykorzystywanych w badaniu transportu transabłonkowego m.in. takich jak: linia HT-29 wykorzystywana do oceny wchłaniania składników odżywczych czy leków; linia komórkowa nabłonka psich nerek (MSCK) do badania transportu leków; linia 2/4/A1 wyizolowana z jelita płodu szczura, która imituje najlepszą przepuszczalność jelita człowieka czy też linia IEC-18

wykorzystywana głównie do transportu pasywnego substancji hydrofilnych. Ten podrozdział wprowadza czytelnika w meritum metodyczne pracy oraz dowodzi, że Autorka z łatwością porusza się w podjętej tematyce.

W dalszej kolejności na stronie 41 dysertacji w rozdziale pt. „**Hipotezy i cel pracy**” zaprezentowane zostały 4 hipotezy badawcze i główny cel badań (cel badań przedstawiono też we wstępie na str. 15-16). Dodatkowo na kolejnej stronie spisano 5 celów cząstkowych, które wyznaczono na podstawie celu głównego.

Rozdział 3 zatytułowany „**Materiał i metody**” obejmuje aż 17 stron maszynopisu (str. 43-59). W podrozdziale „**Materiał**” Autorka zamieściła opis materiału roślinnego (3.1.1) oraz linii komórkowych (3.1.2). Materiał roślinny stanowiły całe młode rośliny czosnku (część podziemna, łodygi i liście) uprawiane z cebulek powietrznych oraz z ząbków czosnku odmian ozimych Harnaś i Ornak. Młode rośliny czosnku zobrazowano na rycinie 5, w której skład wchodzi w sumie 6 rycin (źródło: własne). Autorka dodatkowo wskazała, że po uzyskaniu pełnej dojrzałości zbiorczej, czyli w sumie po 3 tygodniach wykopano cebule i także poddano analizom (wyniki zamieszczono w aneksie pracy - Tabele 24-35, str. 157-162). Materiał roślinny do badania pochodził z poletka doświadczalnego Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, a analizy przeprowadzono w laboratorium na Wydziale Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego. Ząbki czosnku przeznaczone do sadzenia zakupiono w sklepie „Polan” w Krakowie, a cebulki powietrzne pozyskano od hodowców czosnku z Małopolski. W dalszej kolejności materiał roślinny, w zależności od rodzaju był odpowiednio wysadzony. Rośliny do badań zbierane były przez 3 lata (2018-2020) w trzech terminach: maj, czerwiec, lipiec; w celu badania materiał został poddany odpowiednim procedurom dokładnie opisanym w pracy. Do badań użyto ludzkie linie komórkowe Caco-2 – ludzki gruczolak okrężnicy wyizolowany z pierwotnego guza okrężnicy od 72-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej. Komórki zakupiono z American Type Culture Collection (ATCC, Manassasm, VA, USA).

Podrozdział 3.2 to „**Metody**”. Ta część pracy zaczyna się od przedstawienia etapów badania w postaci 3 schematów zaprezentowanych na rycinach 6-8 (str. 45-47). Etapy badań w ujęciu ogólnym prezentuje rycina 6, a szczegółowym odpowiednio dla etapu I – badania chemiczne w zależności od terminu zbioru (rycina 7, str. 46) i dla etapu II – badania na liniach komórkowych, trawienie i wchłanianie (rycina 8, str. 47). W kolejnych licznych podrozdziałach (3.2.1-3.2.17) zawartych w metodyce na stronach 47-59 Autorka bardzo starannie i szczegółowo opisuje poszczególne oznaczenia: zawartości suchej masy, podstawowego składu chemicznego oraz błonnika (3.2.1); wybranych składników mineralnych (3.2.2),

zawartości witaminy C metodą Thillmansa (3.2.3); przygotowanie ekstraktów metanolowych (3.2.4); ogólnej zawartości polifenoli (3.2.5); aktywności antyoksydacyjnej metodą ABTS, DPPH i FRAP (3.2.6); wybranych związków polifenolowych metodą HPLC (3.2.7); ekstrakcję kwasów tłuszczowych (3.2.8); wybranych związków siarki (3.2.9) oraz trawienie *in vitro* (3.2.10); hodowle komórkowe (3.2.11); badanie transportu transabłonkowego z wykorzystaniem linii komórkowych Caco-2 (3.2.12); warunki hodowli linii komórkowych (3.2.13); oznaczenie żywotności komórek (3.2.14) jak również poszczególne analizy: żywotności komórek przy użyciu testu MTS (3.2.15); cytotoksyczności (3.2.16) i ekspresji genów (3.2.17). W tym miejscu warto pokreślić dużą staranność, dokładność i rzeczowość opisów wraz z powołaniem na liczne materiały źródłowe, przytoczeniem wykorzystywanych do obliczeń wzorów jak również schematu prezentującego naczynko hodowlane do wysiania komórek Caco-2 (rycina 9, str. 54). Tak opisana metodyka nie budzi wątpliwości, że Pani mgr inż. Joanna Skoczyła starannie zaplanowała, a następnie precyzyjnie zrealizowała swoje badanie będące przedmiotem rozprawy doktorskiej. To pokazuje także bardzo dobrą znajomość warsztatu pracy naukowej. Z drugiej strony tak obszerny i szczegółowy opis pozwala czytelnikowi zrozumieć przebieg całego zaplanowanego doświadczenia i zapoznać się z procedurami wybranych metod badawczych. Na ostatniej stronie metodyki (str. 59) Autorka uzupełnia całość opisem analizy statystycznej wyników badań (podrozdział 3.2.18). W tym miejscu krótko, a jednocześnie w zwięzły sposób wskazuje na wykorzystanie zróżnicowanych metod i testów statystycznych, które zostały odpowiednio dobrane do rodzaju analizowanych danych. W analizach wykorzystano oprogramowanie Statistica w wersji 13 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) oraz program Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

W dalszej kolejności w rozdziale 4 pracy doktorskiej pt. „**Wyniki**” obejmującym strony od 61 do 96 Pani mgr inż. Joanna Skoczyła dokonała syntetycznej prezentacji wszystkich pozyskanych wyników. Ta część pracy została bardzo szczegółowo i starannie opisana, w tym wyniki zaprezentowane w postaci 22 przedmiotowych tabel (tabele 2-23) i 8 tematycznych rycin (ryciny 10-17). Pierwsze fragmenty rozdziału „Wyniki” prezentują dane adekwatne do tytułów poszczególnych rozdziałów, a mianowicie: skład chemiczny młodych roślin czosnku uprawianych z cebulek powietrznych oraz otrzymanych z wysadzania ząbków (odpowiednio 4.1 i 4.2); zawartość wybranych składników mineralnych i metali ciężkich w młodych roślinach czosnku odmian Harnaś i Ornak uprawianych z cebulek powietrznych (odpowiednio 4.3 i 4.4) oraz otrzymanych z wysadzania ząbków (odpowiednio 4.5 i 4.6). Na kolejnych stronach maszynopisu zaprezentowano dane odnoszące się do zawartości witaminy C, polifenoli ogółem i aktywności antyoksydacyjnej młodych roślin czosnku uprawianych z cebulek powietrznych

oraz otrzymanych z wysadzania ząbków (odpowiednio 4.7 i 4.8) oraz zawartości flawonoidów i kwasów fenolowych w badanym materiale obu odmian (Harnaś i Ornak) dla młodych roślin uprawianych z cebulek powietrznych i dla wysadzanych ząbków (podrozdziały 4.9-4.12). Kolejną część prezentacji wyników to „Porównanie sumy zawartości analizowanych flawonoidów i kwasów fenolowych w materiale roślinnym” (4.13, str. 74-76). W tym miejscu Autorka zaprezentowała wyniki z wykorzystaniem rycin. Odpowiednio na rycinach 10 i 11 zestawione zostały dane stanowiące sumę flawonoidów i kwasów fenolowych w młodych roślinach czosnku odmian Harnaś i Ornak otrzymanych z wysiania cebulek powietrznych i ząbków. Istotnie statystycznie różniące zostały opisane w tekście jednak nie zaznaczone rycinach. Faktycznie na rycinach znajdujemy kody literowe, co jednak nie zostało tu wyjaśnione. W tym miejscu można się jedynie domyślać, że kody te są (w jakimś stopniu) kompatybilne z kodami zamieszczonymi w poprzedzających je przedmiotowych tabelach. Kolejne podrozdziały, a mianowicie 4.14 i 4.15 to prezentacja profilu wybranych kwasów tłuszczowych w badanym materiale, a 4.16 odnosi się do ilościowej analizy pochodnych allicyny. Następnie Autorka prezentuje część pracy pt. „Wybór materiału roślinnego do kolejnych etapów badań”, co zostało wykonane na podstawie porównania zawartości siarki i jej wybranych związków, polifenoli ogółem, sumy wybranych flawonoidów i kwasów fenolowych oraz aktywności antyoksydacyjnej mierzonej metodami ABTS, DPPH i FRAP. Dane te prezentują tabele 17 i 18 (str. 81-82).

Kolejne podrozdziały traktują odpowiednio o: zawartości wybranych związków polifenolowych w materiale roślinnym poddanym procesowi trawienia metodą *in vitro* (str. 83-86) oraz w pożywce po traktowaniu linii Caco-2, trawionych metodą *in vitro* ekstraktami z czosnku (str. 86-89). Natomiast na stronach 90-96 zaprezentowano dane takie jak: wpływ ekstraktów z roślin czosnku na żywotność i cytotoksyczność komórek nowotworowych linii Caco-2, w trzech punktach czasowych oraz ekspresję genów. Dane z tych podrozdziałów zostały opisane, oraz dodatkowo zaprezentowane na rycinach 13-17, i w tabeli 23 pt. „Porównanie ekspresji wybranych genów”.

Dalszą część pracy stanowi **dyskusja wyników**, która obejmuje aż 25 stron maszynopisu, w tym zawiera 4 przedmiotowe ryciny (rycina 18-21, str. 108-109). Dyskusja zaczyna się od wskazania tu cytuję „W niniejszej pracy, po raz pierwszy, kompleksowo przeanalizowano skład chemiczny, zawartość składników mineralnych, witaminy C, związków siarki, aktywność antyoksydacyjną oraz profil polifenolowy w młodych roślinach czosnku uprawianych z cebulek powietrznych i ząbków.” Następnie znajdujemy bardzo ogólne stwierdzenie Autorki, tu cytuję „Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że całe

rośliny, popularnych polskich odmian czosnku, we wczesnym stadium rozwoju są cennym źródłem wielu składników, korzystnie oddziałujących na stan zdrowia człowieka. Mogą być dostępne dla konsumenta na wiosnę, kiedy trudno jest kupić dobrej jakości czosnek do celów konsumpcyjnych.” Tu Pani mgr inż. Joanna Skoczylas podkreśla jednak, że w danych literaturowych brakuje tego typu badań dlatego swoje wyniki porównywała do danych dotyczących ząbków czosnku bądź jego produktów. W dalszej części dyskusji Autorka starannie przedyskutowała swoje wyniki z przytoczeniem licznej przedmiotowej literatury krajowej i zagranicznej. Całość dyskusji została podzielona na 9 tematycznych podrozdziałów co bardzo ułatwia czytelnikowi poruszanie się po prezentowanych zagadnieniach. W pierwszej kolejności tej części dysertacji dyskutowane są wyniki dotyczące składu chemicznego czosnku, wybranych składników mineralnych oraz zanieczyszczeń produktu glinem, niklem i kadmem. Odnosząc się do wartości odżywczej, w tym wybranych składników czosnku Autorka dodatkowo wskazuje w jakim stopniu pokrywają one średnie dzienne zapotrzebowanie osoby dorosłej. Takie porównanie wykonano względem norm żywienia dla populacji Polski (Jarosz i wsp., 2020). Ta część ma bardzo praktyczny aspekt, i może posłużyć do planowania zwyczajowej diety. W opinii recenzenta, aby ta część była bardziej miarodajna, porównywalna i zrozumiała dla odbiorcy warto było posłużyć się jednolitą miarą gramową produktu oraz rodzajem/formą produktu (Autorka używa różnych gramatur mieszczących się w przedziale 10-100g; w ocenach odnosi się zarówno do suszu jak i świeżego produktu).

Następnie, w dalszych fragmentach dyskusji wyników Pani mgr inż. Joanna Skoczylas dyskutuje związki bioaktywne i aktywność antyoksydacyjną czosnku, związki siarki, zawartość związków polifenolowych po trawieniu metodą *in vitro*, oraz wpływ ekstraktów z czosnku na transport transbłonkowy wybranych związków polifenolowych na linii Caco-2. W końcowych punktach dyskusji odniesiono się do zagadnień i wyników takich jak: wybór nietoksycznego zakresu stężeń ekstraktów z czosnku, ocena żywotności komórek nowotworowych na linii Caco-2 oraz ekspresja genów. Taka kolejność poruszanych obszarów tematycznych w dyskusji pozostaje spójna z prezentowanymi w dysertacji wynikami badań.

W każdej części dyskusji, w podsumowaniach rozdziałów dodatkowo omówione zostały różnice między wynikami badań własnych a innymi przytoczonymi przez Autorkę. Jako różnice najczęściej wskazywano wykorzystanie zróżnicowanej metodologii badań, stopień dojrzałości roślin, różne odmiany czosnku, warunki atmosferyczne jego upraw (m.in. dobowe temperatury, nasłonecznienie, opady) czy też odmienne części rośliny, które poddano ocenie.

Całość pracy zakończono rozdziałem 5 pt. „**Wnioski**”. W tej części Autorka umieściła 6 prawidłowo sformułowanych wniosków, w tym wnioski 1-5 bezpośrednio odnoszą się do

postawionych w pracy hipotez badawczych. Przy każdym wniosku Pani mgr inż. Joanna Skoczylas wskazuje, że wszystkie hipotezy zostały potwierdzone. Natomiast w ostatnim z nich (punkt 6) Autorka pisze, tu cytuję „Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że młode rośliny czosnku mogą być wartościowym źródłem substancji prozdrowotnych. Ponadto Doktorantka wskazuje, że „Cennym uzupełnieniem tych badań byłaby dogłębna analiza materiału roślinnego w badaniu *in vitro*.” Podsumowując tę część pracy stwierdzam, że sformułowane wnioski i spostrzeżenia końcowe odpowiadają na postawione w pracy cele (cel główny i cele cząstkowe), a tym samym potwierdzają hipotezy badawcze oraz dowodzą dojrzałości naukowej Autorki.

Piśmiennictwo zamieszczone w pracy liczy 272 numerowane pozycje literatury, w tym 71 pozycji (26%) zostało opublikowanych w ciągu ostatnich 5 lat. Spis piśmiennictwa to w większości anglojęzyczne publikacje oryginalne, które dotyczą aktualnego stanu wiedzy z zakresu poruszanej przez Doktorantkę tematyki.

Ocena edytorskiego przygotowania pracy

Praca bardzo starannie przygotowana i napisana prawidłowym językiem. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na pewne drobne uchybienia natury redakcyjnej oraz pewne nieścisłości dostrzeżone w tekście pracy, a mianowicie:

Spis treści

- kolejność rozdziałów i ich numeracja w części wyniki
 - bliźniacze tematyczne rozdziały przemiennie dotyczą młodych roślin czosnku uprawianych z cebulek powietrznych i otrzymanych z wysadzania ząbków, z wyjątkiem 4.3 i 4.4. oraz 4.5 i 4.6. Czy taka kolejność była zamierzona?
 - numeracja podrozdziałów zamieszczonych na stronach 83-96 nie jest prawidłowa (4.1-4.4). Jak wynika z poprzedzających podrozdziałów dla zachowania ciągłości powinno być odpowiednio: 4.18, 4.19, 4.20 i 4.21.

W tym miejscu warto nadmienić, że spis treści dysertacji obejmuje aż 4 strony maszynopisu, w tym bardzo liczne podrozdziały zwłaszcza w części „Metody” (3.2) oraz w rozdziale 4 „Wyniki”. Taka konstrukcja niestety często skutkuje podobnymi uchybieniami.

Wstęp

- we wstępie pracy zabrakło uzasadnienia podjęcia tematu. Faktycznie Autorka wskazuje, że „do tej pory kompleksowo zostały przebadane ząbki czosnku w stadium dojrzałości zbiorczej ... Stąd też przypuszczenie, że młode rośliny czosnku mogą okazać się jeszcze bardziej cennym źródłem tych związków ...” Zamieszczenie pewnych treści, zwłaszcza w końcowych fragmentach podrozdziału 1.1 czy początkowych podrozdziału 1.3. oraz

na stronie 39 może do tego nawiązywać. W mojej ocenie uzasadnienie podjęcia tematu badawczego jest niezwykle istotną kwestią i powinno się przyłożyć do tego należyta staranność wraz z wykazaniem innowacyjności badań własnych już we wstępie pracy. Rekomenduję, aby w przyszłości, przykładowo przy przygotowaniu publikacji naukowej z przedmiotowej pracy zwrócić na ten aspekt szczególną uwagę bowiem recenzenci często chcą zobaczyć tzw. „novelty of the study”.

Przegląd piśmiennictwa

- stwierdzenia w wybranych miejscach dysertacji powinny być poparte odpowiednią liczbą literatury, tu przykładowo str. 21 Autorka pisze „na podstawie licznych badań stwierdzono, że ...” jednak jako źródło literaturowe wskazuje jedynie pojedynczą referencję;
- tytuł podrozdziału 1.3.3 „Działanie przeciwbakteryjne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe” jest dość niefortunny bowiem drobnoustroje to ogólna nazwa organizmów obejmujących zarówno bakterie, grzyby jak i wirusy. Tytuł ten wymaga przeredagowania;
- w wybranych rozdziałach, np. 1.3.4-1.3.5, w których jednocześnie opisywano badania realizowane z udziałem ludzi oraz na modelach zwierzęcych warto było wyraźnie je oddzielić od siebie, tak aby czytelnik nie miał wątpliwości. W tej samej części Autorka powinna dołożyć staranności aby stosować precyzyjną terminologię i opis (np. „ciśnienie tętnicze krwi”, „stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy krwi”);
- w przypadku podawania danych epidemiologicznych odnoszących się występowania różnego rodzaju chorób dietozależnych powinna być konkretna referencja / dane źródłowe (podane w kilku miejscach źródło „WHO 2022” nie jest dla mnie jasne, nie znajduję go w spisie literatury);
- drobny niedosyt budzi fakt braku podsumowania głównych podrozdziałów zawartych w przeglądzie literatury, to porządkuje i znacznie ułatwia zapamiętanie najważniejszych danych naukowych i faktów.

Wyniki

- ryciny: 10, 11 i 12 (str. 75, 76 i 86) oraz ryciny 13 i 14 (str. 90-91) – dla zobrazowania podobnych danych użyto różnych skal na osi X, dodatkowo w przypadku rycin 10-12 nie wyjaśniono oznaczeń literowych „a-f”, które widnieją przy słupkach, nie zaznaczono istotnych statystycznie różnic, które opisano w tekście; tabela 23 (str. 96) – nie wyjaśniono skrótu N/A.

Dyskusja

- na końcu dyskusji nie zamieszczono mocnych i słabych stron zrealizowanych badań, co w opinii recenzenta jest bardzo ważnym aspektem każdej pracy naukowej, warto o tym pamiętać szczególnie przy dalszej publikacji wyników.

Wnioski

- wnioski 2, 4 i 5 zawierają słowo „na ogół” – w ocenie recenzenta słowo to nie jest potrzebne, umieszczenie go we wnioskach pozostawia drobną niepewność, iż zaobserwowane fakty nie dotyczyły ogółu, a jedynie wybranych obiektów.

Inne ogólne

- praca napisana bardzo starannie, prawidłowym i merytorycznym językiem; w wybranych miejscach Autorka używa jednak opisu, który nie jest powszechny w pracach naukowych, tu cytuję: „Coraz większe zainteresowanie ... skłoniło nas do przeprowadzenia badań” (str. 19); „badania pilotażowe ... stanowiły moją pracę magisterską” (str. 97).

Uchybienia te oraz nieścisłości nie umniejszają jednak wartości merytorycznej pracy, którą oceniam bardzo dobrze. Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest tematycznie spójna i stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia.

Pytania do Autorki dysertacji

Bardzo proszę o odpowiedź na poniższe pytania, które powstały w trakcie, i po czytaniu przedmiotowej dysertacji:

1. Pytanie dotyczy treści zamieszczonej we wstępie pracy (str. 15). Czy w dostępnej, znanej Pani literaturze znalazła Pani informacje na temat większego zapotrzebowania organizmu człowieka na składniki odżywcze oraz bioaktywne składniki diety w okresie wczesnej wiosny?
2. Pytanie dotyczy hipotezy badawczej nr 1 (str. 41). Proszę o wyjaśnienie jak należy rozumieć użyte przez Panią sformułowanie „bogate źródło składników odżywczych i bioaktywnych o udowodnionym działaniu prozdrowotnym w odniesieniu do badanych odmian czosnku.”
3. W dyskusji odnosi się Pani do praktycznego aspektu związanego z wykorzystaniem czosnku w zwyczajowej, codziennej diecie przytaczając przykłady realizacji norm żywienia wyrażone jako pokrycie średniego zapotrzebowania osoby dorosłej na różne składniki, np. ALA, wapń, potas, błonnik pokarmowy. Bazując na tej wiedzy bardzo proszę o próbę sformułowania ilościowych rekomendacji dotyczących podaży czosnku

z dietą osób dorosłych jako produktu istotnego z punktu widzenia profilaktyki wybranych chorób dietozależnych.

4. Jaki jest aspekt aplikacyjny zrealizowanych przez Panią badań?
5. Planując w przyszłości podobne badania, co zdaniem Pani warto byłoby zmienić/poprawić w stosunku do już zrealizowanych badań?

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa Pani mgr inż. Joanny Skoczylas pt. „Porównanie składu chemicznego i zawartości związków bioaktywnych młodych roślin czosnku uprawianych z cebulek powietrznych i ząbków oraz ocena wchłaniania zawartych w nich związków polifenolowych w modelu *in vitro*” stanowi oryginalne opracowanie naukowe i spełnia wszystkie wymagania zawarte w art. 13 Ustawy 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). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr inż. Joanny Skoczylas do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

