

dr hab. inż. Katarzyna Dereń, prof. UR
Kolegium Nauk Medycznych
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 29.01.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Brzegowy

**„WPŁYW PRODUKTU SOJOWEGO WZBOGAZONEGO WE FRUKTANY NA
PARAMETRY GOSPODARKI WAPNIOWEJ I LIPIDOWEJ W ORGANIZMACH SZCZURÓW
DOŚWIADCZALNYCH”**

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Kingi Topolskiej, prof. URK w Katedrze Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywnienia, Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Recenzja została wykonana na podstawie uchwały nr 91/2022 Rady Dyscypliny technologia żywności i żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z dnia 9 listopada 2022 r. oraz pisma Pana Przewodniczącego rady dyscypliny technologia żywności i żywienia dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK z dnia 29 listopada 2022.

Formalna ocena pracy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na temat „Wpływu produktu sojowego wzbogaconego we fruktany na parametry gospodarki wapniowej i lipidowej w organizmach szczurów doświadczalnych” liczy 206 ponumerowanych stron. Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla prac o charakterze doświadczalnym. Poszczególne rozdziały pracy są logicznie ułożone i stanowią kompleksową całość. Pierwsze rozdziały zawierają wstęp i przegląd literatury - część teoretyczna, stanowiąca 15% ogółu pracy, części doświadczalna stanowi 54%. W pracy zacytowano 407 publikacji naukowych.

Na początkowych stronach zamieszczono: indeks skrótów (str. 9-10), streszczenie (str. 11-12) i summary (str. 13-14). Praca obejmuje takie rozdziały jak: wstęp, przegląd literatury, cel

pracy i hipotezy badawcze, materiał i metody, wyniki, dyskusja, podsumowanie, wnioski, bibliografie, spis tabel i rysunków. Od strony formalnej praca nie budzi zastrzeżeń.

Merytoryczna ocena pracy

Tytuł pracy koresponduje z wyznaczonym celem i treścią rozprawy.

Dysertacja poprzedzona jest krótkim **wstępem**, w którym Autorka w sposób zwięzły i rzeczowy wprowadza czytelnika w tematykę podjętych przez siebie badań. Zwraca uwagę na występowanie osteoporozy głównie u kobiet po menopauzie. Rozważa zastosowanie fitoestrogenów obecnych m.in. w nasionach soi jako alternatywę hormonalnej terapii zastępczej. Na koniec wstępu Autorka podkreśla celowość wytworzenia produktu sojowego z udziałem fruktanów, który byłby akceptowalny pod względem organoleptycznym i posiadał potencjalne działanie prozdrowotne, zweryfikowane w badaniach *in vivo*.

Kolejną część pracy stanowi **przeгляд literatury**, który obejmuje 11 podrozdziałów zamieszczonych na 30 stronach maszynopisu (str. 16-46). W podrozdziale pierwszym, drugim i trzecim Doktorantka charakteryzuje soję pod względem uprawy, odmian, składu chemicznego, jej aspektów zdrowotnych, a także przedstawia ofertę rynkową w zakresie produktów sojowych. Wybrane informacje zabrano w 3 tabelach i na 2 rysunkach. Na koniec tej części Autorka wskazuje, że wzrasta popularność produktów sojowych w Polsce, co wynikać może między innymi z trendów żywieniowych takich jak wykluczenie mięsa z diety. W kolejnych podrozdziałach Doktorantka charakteryzuje źródła wapnia w diecie, zapotrzebowanie na ten składnik, a także skutki jego nadmiaru i niedoboru. Podkreśla, że większa część populacji Polski nie realizuje dziennego zapotrzebowania na wapń. Wskazuje, że niedobór wapnia to problem globalny, a niedostateczne jego spożycie może doprowadzić m.in. do zaburzeń wzrostu dzieci, krzywicy, osteomalacji czy utraty masy kostnej. W dalszej części tego rozdziału scharakteryzowano osteoporozę, czynniki ryzyka, a także rolę diety w profilaktyce tej choroby. Autorka przytacza kilkanaście prac naukowych potwierdzających, że fitoestrogeny, a zwłaszcza izoflawony sojowe, mogą odgrywać istotną rolę w prewencji różnych problemów zdrowotnych w tym osteoporozy i wywierać korzystny wpływ na metabolizm witaminy D. Na podkreślenie zasługuje fakty, że Doktorantka odniosła się również do badań, które poddają pod wątpliwość fakt korzystnego działania izoflawonów na kondycje kości, lub że takiego działania w stopniu znaczącym nie zaobserwowano, a także do badań, których wyniki zaprzeczają pozytywnemu efektowi

działania izoflawonów. Słusznie zauważono, iż wobec obaw dotyczących ewentualnych konsekwencji zdrowotnych istnieje potrzeba dalszych, wieloaspektowych badań dotyczących fitoestrogenów.

Treści zamieszczone w kolejnych dwóch podziałach (2.19 i 2.10) przedstawiają tłuszcze pokarmowe, ich przemiany w organizmie oraz zaburzenia lipidowe i ich konsekwencje. Ostatnie fragmenty przeglądu Autorka poświęciła charakterystyce żywności funkcjonalnej, której spożywanie może mieć wpływ na poprawę stanu zdrowia oraz zmniejszenie ryzyka rozwoju szeregu chorób przewlekłych niezakaźnych. Doktorantka przedstawia fruktany jako związki o wielu udokumentowanych prozdrowotnych właściwościach w tym ich wpływ na zwiększenie przyswajalności składników mineralnych, a w szczególności wapnia i magnezu. Rozdział przegląd literatury jest bogato poparty cytacjami literaturowymi, co świadczy o opanowaniu wiedzy z tego zakresu i znajomości problematyki przez Doktorantkę. Zostały poruszone bardzo ważne problemy będące podstawą hipotez badawczych.

W kolejnym rozdziale zaprezentowano **cel pracy**, trzy hipotezy badawcze oraz etapy weryfikacji hipotez. Celem pracy było opracowanie receptury i technologii wytwarzania produktu sojowego wzbogaconego we fruktany, akceptowalnego przez konsumentów pod względem organoleptycznym i charakteryzującego się potwierdzonymi w badaniach *in vivo* właściwościami prozdrowotnymi. Cel został przedstawiony precyzyjnie i łączy się w logiczną całość z wcześniejszym przeglądem literatury.

Rozdział **materiał i metody** obejmuje 12 stron maszynopisu, został podzielony na 7 podrozdziałów. Praca została zrealizowana w kilku etapach: opracowanie receptur i technologii wytwarzania produktów sojowych wzbogaconych we fruktany, ich analiza organoleptyczna, analiza składu chemicznego nasion soi oraz wybranych past sojowych. Kolejne etapy obejmowały doświadczenie żywieniowe, analizę materiału biologicznego oraz analizę statystyczną. Należy podkreślić, że zakres pracy był bardzo obszerny. W ocenie recenzentki rozdział ten napisany jest czytelnie co świadczy o dobrej znajomości warsztatu badawczego przez Doktorantkę. Warto podkreślić, że zaplanowanie i realizacja badań wymagała od Doktorantki dużego zaangażowania, dobrej organizacji pracy, ale przede wszystkim opanowania wielu metod badawczych. Należy zaakcentować, że dieta zwierząt została prawidłowo zbilansowana pod kątem zawartości błonnika, który jest jednym ze

składników żywności wpływającym na biodostępność składników mineralnych, o czym wydaje się warto byłoby wspomnieć w treści dysertacji.

Doktorantka opisała dokładnie tylko oznaczenie zawartości daidzeiny i genisteiny w nasionach soi i pastach sojowych, a pozostałych parametrów już nie? Czy Doktorantka korzystała z konkretnego źródła literaturowego do opisu tej metody, czy jest ona opracowana przez Doktorantkę? Brak informacji w ilu powtórzeniach wykonano badania składu chemicznego.

Rozdział 5, **wyniki**, obejmuje 58 stron maszynopisu. Doktorantka dokonała syntetycznej prezentacji wszystkich pozyskanych rezultatów. Wyniki zostały opisane i zaprezentowane w formie 50 rysunków i 6 tabel. Rozdział ten podzielony jest na 4 podrozdziały zgodnie z etapami przeprowadzonych badań i tworzy logiczny ciąg wielowątkowej całości.

Z obowiązku recenzentki wskazuje na pewne aspekty i spostrzeżenia dotyczące tego rozdziału:

- Przedstawienie na rysunkach większości wyników spowodowało, że recenzentka nie poznała konkretnych otrzymanych wartości. Brak wartości uzyskanych wyników, nawet na tych rysunkach gdzie wartości różnią się istotnie statystycznie, w większości przypadkach brak ich także w tekście. Dotyczy to wszystkich rysunków. Dla przykładu strona 79 i rysunek 24. *Zmiana stężenia fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi szczurów, w zależności od poziomu wapnia w diecie*. O ile wartość fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi szczurów w grupie kontrolnej zastała podana w tekście (z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku) to już w grupie doświadczalnej nie, a wartość jej jedynie możemy oszacować na podstawie rysunku. Lub strona 85 rysunek 30 *Zmiany gęstości mineralnej kości udowej zwierząt, w zależności od poziomu wapnia w diecie* gdzie ani na rycinie ani w tekście nie ma podanych konkretnych wartości liczbowych, a różnice w wynikach są istotne statystycznie. Dlatego o ile przedstawienie wyników na rysunkach może wydawać się wizualnie dobre, tak przedstawienie w tabelach w opinii recenzentki jest bardziej czytelne.
- W pierwszym podrozdziale Doktorantka dokonała oceny organoleptycznej napojów oraz past sojowych. Wyniki zostały przedstawione w formie rysunków. Stwierdzono, że „*pasty sojowe charakteryzowały się wyższymi ocenami smaku i zapachu, lepszymi szczególnie przy wyższej zawartości fruktanów. Uwzględniając jednak konsystencję, za*

którą pasta z najwyższym, to jest 6% udziałem tych związków, otrzymała najniższą notę panelistów, do dalszego etapu badań wybrano pastę z 4% udziałem fruktanów". Proszę o doprecyzowanie dlaczego wybrano pastę z 4%, a nie np. z 2% udziałem fruktanów, skoro Doktorantka w wyżej cytowanym fragmencie powołuje się konkretnie na konsystencję, a z przedstawionych badań oceny konsumenckiej to pasta z 2% udziałem fruktanów uzyskała największą liczbę punktów za konsystencję. Być może jest to niefortunne sformułowanie.

- W dalszej części dysertacji w rozdziale dyskusja Doktorantka wyjaśnia cytując „Podając noty dla napojów oraz past łącznie, najwyższy stopień akceptowalności produktów otrzymały te z 4% dodatkiem fruktanów”. Proszę o wyjaśnienie dlaczego połączono noty panelistów skoro to były dwa różne produkty?
- W opinii recenzentki czytelniej byłoby gdyby wyniki zostały również podane w przeliczeniu na suchą masę (dotyczy soi i produktów sojowych z udziałem fruktanów).
- W opisie tabel 11 i 12 (strona 86) wydaje się zasadne, aby dodać, że zmiany istotne statystycznie opisane i wymienione przez Doktorantkę w tekście dotyczą różnych części badanych kości – w połowie kości dotyczy paramentów TRAB-CNT i TRAB-DEN a TOT-CNT i TOT-DEN dotyczą części dystalnej. Szczególnie, że mierzone w połowie kości parametry TOT-CNT i TOT-DEN nie są istotne statycznie.
- Jakie mogły być zdaniem Doktorantki przyczyny zmniejszenia masy ciała zwierząt w grupie NF, a wzrostu w grupie N i NSF w drugim tygodniu trwania doświadczenia?
- Zaobserwowano istotny wzrost stężenia magnezu w surowicy krwi szczurów w grupie NSF, w stosunku do grup N i NF. Jaka może być tego przyczyna? W tym kontekście czy nie warto było oznaczyć poziom wapnia i magnezu w badanym produkcie sojowym? Szczególnie, że w dalszej części pracy Doktorantka zwraca uwagę, że „obok wapnia, istotnym elementem diety, którego obecność warunkują prawidłową gospodarkę wapniową jest magnez”.

Rozdział 6 stanowi **dyskusja**, która obejmuje 36 stron maszynopisu, podzielony na 5 podrozdziałów. Należy podkreślić, że Doktorantka umiejętnie wyróżniła swoje główne spostrzeżenia i przeanalizowała otrzymane wyniki. A następnie przedyskutowała z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów. W każdej części dyskusji, omówione zostały różnice między wynikami badań własnych a innymi przytoczonymi przez Autorkę.

W podrozdziale 4 – w tytule pojawia się sformułowanie „w organizmie samic szczurów w okres pomenopauzalny”. W kontekście wcześniejszych rozdziałów to sformułowanie dotyczące szczurów samic doświadczalnych pojawia się pierwszy raz. Dopiero w kolejnym piątym podrozdziale, Doktorantka wyjaśnia, że wg Moorthy i in. 2004, wiek 12 miesięcznych samic odpowiada początkowi okresu postmenopauzalnego. W opinii recenzentki dla uporządkowania warto było o tym wspomnieć we wcześniejszych rozdziałach pracy i zachować jedną formę w całej dysertacji albo okresie postmenopauzalny albo pomenopauzalny.

Z racji roli recenzentki czuję się w obowiązku zaznaczyć, że sformułowanie „wiek 12 miesięcznych samic odpowiada początkowi okresu postmenopauzalnego” pochodzi z publikacji Moorthy K, Yadav UC, Mantha AK, Cowsik SM, Sharma D, Basir SF, Baquer NZ. Estradiol and progesterone treatments change the lipid profile in naturally menopausal rats from different age groups. *Biogerontology*. 2004;5(6):411-9. A nie jak Doktorantka zacytowała z Moorthy K, Yadav UC, Siddiqui MR, Sharma D, Basir SF, Baquer NZ. Effect of estradiol and progesterone treatment on carbohydrate metabolizing enzymes in tissues of aging female rats. *Biogerontology*. 2004;5(4):249-59.

W podsumowaniu natomiast pojawia się sformułowanie cytując „Wybór modelu samic szczura w wieku 12 miesięcy można tłumaczyć faktem iż odpowiada on w znacznym stopniu okresowi premenopauzalnemu u kobiety, na co wskazują dane literaturowe”. Doktorantka nie podała źródła tych danych literaturowych.

Na końcu dyskusji, ani w podsumowaniu nie zamieszczono mocnych i słabych stron zrealizowanych badań, co w opinii recenzentki jest bardzo ważnym aspektem pracy naukowej, warto o tym pamiętać przy publikacji wyników.

Rozdział **wnioski**: otrzymane wyniki pozwoliły na potwierdzenie I i II hipotezy oraz odrzucenie III. Na podstawie analizy wyników stwierdzono, że pasta sojowa z 4% udziałem fruktanów jest produktem akceptowalnym przez konsumentów co potwierdzało I hipotezę badawczą. Wybrana pasta charakteryzowała się korzystnym składem chemicznym. Uzyskane wyniki po wprowadzeniu do diety niedoborowej w wapń, pasty sojowej wzbogaconej we fruktany, pozwoliło potwierdzić hipotezę II o pozytywnym wpływie badanego produktu na najważniejsze aspekty gospodarki wapniowej, jakim jest stan kości. Podanie natomiast zwierzętom diety zawierającej pastę sojową z udziałem fruktanów,

w warunkach hipotalimentacji wapniowej, nie wpłynęło istotnie statystycznie na profil lipidowy surowicy krwi, jak również na inne parametry związane z funkcjonowaniem wątroby. Dlatego odrzucono hipotezę III o korzystnym wpływie produktu sojowego na organizm zwierzęcy w kontekście gospodarki lipidowej. Podsumowując tę część pracy stwierdzam, że sformułowane wnioski i spostrzeżenia końcowe odpowiadają na postawiony w pracy cel i hipotezy badawcze.

Piśmiennictwo zamieszczone w pracy liczy 407 numerowane pozycje literatury, w tym prawie połowa pozycji (46%) 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 recenzentki muszę zwrócić uwagę na pewne uchybienia natury redakcyjnej oraz pewne nieścisłości dostrzeżone w tekście pracy, a mianowicie:

- Doktorantka użyła skrótu TCH w stosunku do cholesterolu całkowitego, gdzie powszechnie w literaturze naukowej stosuje się TC.
- Streszczenie zdecydowanie byłoby bardziej czytelne gdy zostało podzielone na sekcje, oraz zawierało konkretne liczbowe wyniki. Streszczenie nie obejmuje też jasno sformułowanego wniosku.
- W przypadku opracowań naukowych trafniejszy wydaje się *abstract* niż *summary*.
- Strona 16 w nazwie łacińskiej *Glycine max* (L.) Merrill, L od Linneusz piszemy bez kursywy.
- Niektórym informacjom brak odnośników do źródła literaturowego np. strona 16 cytuje "Ze względu na szczególną wrażliwość soi na suszę [Rusmana i in. 2022], soję zaleca uprawić się na glebach żyznych". Lub strona 17: "Charakteryzuje się ona dobrą tolerancją na zimno [Zimmer i in. 2016], a także zdolnością do regeneracji po uszkodzeniach. Gdzie źródło literaturowe podane jest w środku zdania, a nie ma go na końcu.
- W tabeli 8 warto podać gramaturę.
- Strona 54 w zdaniu ".....zgodnie z [Kunachowicz i in. 2019]." w nawiasie powinien być tylko rok.

- W podrozdziale drugim przedstawiono skład chemiczny soi i wytworzonych past sojowych, wyniki zaprezentowano w dwóch tabelach (Tabela 9 i 10). W opisie tabeli brak wyraźnego zaznaczenia, że wyniki podane są wraz z odchyleniem standardowy, brak również legendy co oznaczają litery przy wartościach liczbowych, jak to miało miejsce w przypadku rysunków.
- Strona 126, drugi akapit, zbędny nawias „[autor roku albo proponuję usunąć]”
- Strona 137 trzeci akapit: „szczura w wieku 12 nie stwierdzono...” należy dodać *miesiący*.
- Spis literatury powinien zostać ujednolicony (m.in. od względu obecności doi, usunąć pokreślenia czy uzupełnić numery rozdziałów).

Przedstawione uwagi krytyczne nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy, jej wartości merytorycznej i nie mają wpływu na jej pozytywną ocenę. Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest tematycznie spójna i stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marii Brzegowy stanowi oryginalne opracowanie naukowe i spełnia wszystkie wymagania zawarte w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) oraz Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668, 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. Marii Brzegowy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Deren