

Warszawa, dn. 24.02.2023

Prof. dr hab. Jadwiga Hamułka
Katedra Żywienia Człowieka
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Brzegowy

pt. „Wpływ produktu sojowego wzbogaconego we fruktany na parametry gospodarki wapniowej i lipidowej w organizmach szczurów doświadczalnych”.

wykonanej w Katedrze Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywienia,
na Wydziale Technologii Żywności,

Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

pod kierunkiem naukowym **dr hab. Kingi Topolskiej, prof. URK**

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Podstawą prawną wykonana niniejszej recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, dr hab. inż. Marcina Łukasiewicza, prof. URK (DTŻ 520-72-219/2022, z dnia 29-11-2022) oraz rozprawa doktorska mgr inż. Marii Brzegowy.

Podstawę prawną stanowi Ustawa z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.) oraz Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669).

2. Uzasadnienie wyboru tematu rozprawy doktorskiej

Epidemia niezakaźnych chorób przewlekłych związanych ze stylem życia, w tym nieprawidłowym żywieniem, mniejszą aktywnością fizyczną i rosnącym tempem życia spowodowała poszukiwanie nowych rozwiązań profilaktycznych. Wśród schorzeń, które w znacznym stopniu utrudniają funkcjonowanie, zarówno w sensie fizycznym, jak i społecznym oraz emocjonalnym jest osteoporoza. Choroba ta dotyczy przede wszystkim osób starszych, jednak kobiety w okresie opoło- i pomenapauzalnym należą do grup ryzyka, ze względu na dynamiczny wzrost utraty gęstości kości w pierwszych latach po wygaśnięciu czynności jajników. Jednym z rozwiązań,.....czy.....też strategii...przeciwdziałania tym niekorzystnym zjawiskom jest opracowywanie i wdrażanie innowacyjnych /prozdrowotnych produktów na bazie surowców roślinnych wzbogacanych dodatkowo w związki bioaktywne.

Stąd też, biorąc powyższe pod uwagę, uważam że wybór problemu badawczego recenzowanej rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Brzegowy, dotyczącego opracowania receptury i technologii produktu sojowego wzbogaconego we fruktany, akceptowalnego sensorycznie i ukierunkowanego na działania profilaktyczne dla kobiet w okresie okołomenopauzowanym jest celowy i bardzo aktualny, nie tylko ze względów poznawczych, ale również aplikacyjnych. Ponadto wzrastające zainteresowanie konsumentów nowymi produktami o działaniu prozdrowotnym i jednocześnie rosnąca skala problemów zdrowotnych związanych z występowaniem niezakaźnych chorób przewlekłych na całym świecie, w tym również w Polsce uzasadnia podjęcie ww. badań. A uzyskane w ramach niniejszej rozprawy wyniki stanowią ważne uzupełnienie danych literaturowych oraz możliwości ich zastosowania w praktyce.

3. Ogólna charakterystyka i ocena formalna pracy

Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla prac o charakterze doświadczalnym. Dysertacja jest klasycznym opracowaniem przedstawionym w postaci maszynopisu, liczącym 206 stron, łącznie ze spisem piśmiennictw oraz spisem tabel i rysunków. Składa się z 10 rozdziałów oraz wykazu najważniejszych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim. W pracy znajduje się 14 tabel, w tym 6 tabel dotyczy wyników badań własnych oraz 60 rysunków, w tym 50 z wynikami badań własnych. Poszczególne rozdziały pracy są logicznie ułożone i stanowią kompletną całość. Pierwsza część pracy, teoretyczna zawierająca wstęp i przegląd literatury stanowi 15% ogółu pracy, natomiast część empiryczna, w tym część doświadczalna ze szczegółowo opisaną metodyką badań, opisem uzyskanych wyników, ich dyskusję oraz wnioskami, stanowi ponad 50% całej pracy. W przedstawionej do recenzji dysertacji zacytowano 407 pozycji literaturowych. Proporcje poszczególnych części pracy są adekwatne do charakteru pracy, a uzyskane wyniki zinterpretowano i przedyskutowano prawidłowo. Od strony formalnej praca nie budzi zastrzeżeń.

4. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy zgodny z celem oraz treścią rozprawy.

Wstęp stanowi dobry asumpt do zaplanowanych badań, nakreślając w zarysie najważniejsze kwestie związane z tematem pracy.

Przegląd literatury jest bardzo dobrym wprowadzeniem w problematykę opracowania oraz przeprowadzonych w dalszej części pracy analiz. W rozdziale tym, Doktorantka przejrzysto omówiła tło naukowe podjętych badań, opisując w 11 podrozdziałach następujące zagadnienia dotyczące (1) soi, w tym warunków uprawy, odmian, składu chemicznego oraz oferty rynkowej dostępnych produktów sojowych, (2) wapnia, w tym roli w organizmie, źródeł pokarmowych oraz bilansu i skutków niedoborów i nadmiarów w organizmie, (3) osteoporozy, a zwłaszcza jej klasyfikacji i kryteriów diagnostycznych oraz czynników ryzyka i roli diety w jej profilaktyce, (4) tłuszczu pokarmowych oraz zaburzeń

lipidowych w organizmie, (5) żywności funkcjonalnej ze szczególnym uwzględnieniem fruktanów. Biorąc pod uwagę, iż zaprezentowany przegląd literatury jest wielowątkowych i bardzo rozdrobniony, trudno było dogłębnie przedstawić omawiane zagadnienia (np. rozdział 2.3 czy 2.10 – niepełne 2 strony;). Stąd też, w mojej opinii bez większego uszczerbku dla ogólnej pozytywnej oceny pracy uważam, że niektóre rozdziały mogłyby być pominięte (np. podrozdziały 2.1, 2.4, 2.5, 2.9), a wybrane z nich informacje dołączone do pozostałych podrozdziałów.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiony przegląd literatury, mimo powyższych komentarzy (uwag) - dobrze uzasadnia założenia pracy oraz potrzebę podjęcia niniejszych badań. Do przygotowania tej części pracy Doktorantka wykorzystwała aktualną literaturę, co świadczy o dobrym rozeznaniu literaturowym w tym zakresie.

Cel pracy i hipotezy badawcze: Cel pracy został przedstawiony prawidłowo i łączy się w logiczną całość z wcześniejszym przeglądem literatury, pozwalając na weryfikację postawionych hipotez. Do zrealizowania celu głównego pracy sformułowano trzy hipotezy badawcze:

1. Produkt sojowy wzbogacony we fruktany będzie odznaczał się dobrą jakością organoleptyczną.
2. Wzbogacenie diety zwierząt w produkt sojowy z udziałem fruktanów będzie miało korzystny wpływ na parametry gospodarki wapniowej organizmu, w warunkach hipoalimentacji tego pierwiastka.
3. Wzbogacenie diety zwierząt w produkt sojowy z udziałem fruktanów będzie miało korzystny wpływ na parametry gospodarki lipidowej organizmu.

które zweryfikowano poprzez realizację badań w 2 kolejno następujących po sobie etapach, tj. (1) opracowania receptury i technologii produktów sojowych wzbogacanych we fruktany oraz (2) badania in vivo, z udziałem zwierząt laboratoryjnych, mającego na celu weryfikację działania otrzymanych produktów.

Materiały i metody: Rozdział ten jest napisany w sposób czytelny, bardzo dobrze przedstawiając poszczególne etapy przebiegu realizacji pracy, tj. opracowanie receptury i technologii wytwarzania produktów sojowych oraz ich ocena organoleptyczna i odżywcza (skład chemiczny), jak również opis doświadczenia biologicznego i analiza uzyskanego materiału. Część metodyczna pracy obejmuje dokładny opis procedur, technik i narzędzi badawczych, w tym doświadczenia biologicznego (żywieniowego) oraz pomiarów wykorzystywanych podczas analiz chemicznych zarówno dotyczących produktu sojowego jak i uzyskanego z badań in vivo materiału biologicznego.

Na podkreślenie zasługuje konsekwentna realizacja zaplanowanych badań, co wymagało od Doktorantki dużego zaangażowania, dobrej organizacji pracy zarówno w laboratorium jak i pracy ze zwierzętami oraz umiejętności analitycznych – szeroki zakres analiz. Stąd też nasuwa się pytanie czy Doktorantka sama zrealizowała wszystkie elementy pracy, analizy chemiczne, a zwłaszcza te dotyczące analizy densytometrycznej i tomograficznej kości?

Analizując przedstawioną pracę, z mojego punktu widzenia, dla lepszej przejrzystości przeprowadzonych badań, dobrze byłoby przedstawić schemat badań z podziałem na 2 etapy, co pozwoliłoby na prześledzenie zarówno I etapu i wyboru produktu do etapu II, jak również układu doświadczenia biologicznego. W tej części pracy nie znalazłam informacji o ilościach dodawanych fruktanów – podano na rys. 7 i 8 jedynie dodatek 0-6%, a następnie na stronie 54 podano: „.....oraz zliofilizowane pasty (0 i % fruktanów)...”

Na stronie 49 podano, że użyto opatentowaną mieszaną inuliny oraz fruktooligosacharydów – należałoby tu podać numer patentu i kto był jego Autorem/Autorami?

Reasumując uważam, iż zakres zaplanowanych i wykonanych analiz jest szeroki i przemyślany, co pozwoliło na zrealizowanie zarówno postawionego celu pracy jak i zweryfikowania hipotez badawczych. Wielość i różnorodność zastosowanych metod i procedur badawczych świadczy o bardzo dobrej znajomości warsztatu badawczego oraz dowodzi dobrego przygotowania do prowadzenia badań naukowych.

Rozdział zatytułowany **Wyniki** jest najobszerniejszą częścią pracy liczącą 59 stron maszynopisu. Autorka podzieliła ten rozdział na 4 podrozdziały, związane z oceną organoleptyczną opracowanych napojów i past sojowych, oceną składu chemicznego nasion soi i past sojowych, wpływu hipoalimentacji wapniowej na zmiany parametrów w organizmie szczura, w tym gospodarke wapniową i lipidową oraz zmian badanych parametrów biochemicznych w organizmie szczura w warunkach hipoalimentacji wapniowej po wprowadzeniu do diety wzbogaconej pasty sojowej.

Podrozdziały tej części pracy stanowią logiczną konsekwencję, a ich treści są logiczną konsekwencją zarówno celi pracy jak i postawionych hipotez badawczych. Opis wyników koresponduje odpowiednio z danymi zamieszczonymi na wykresach i w tabelach.

Szczególnością opracowania jest przedstawienie wyników pomiarów tomograficznych kości udowej, co pozwoliło na lepsze zrozumienie (wyjaśnienie) wpływu spożywania pasty sojowej wzbogaconej we fruktany w warunkach hiperalimentacji wapniowej u szczurów.

Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na kilka kwestii:

- 1) Wyniki prezentowane są głównie jak pojedyncze dane na poszczególnych rysunkach, co znacznie wydłuża prezentację wyników i nie pokazuje zależności oraz wpływu czynników. Moim zdaniem można, a nawet trzeba było połączyć niektóre dane np. wspólne przedstawienie danych dla napoju i pasty, czy też przedstawienie wszystkich danych dotyczących gospodarke wapniowej; lipidowej w tabelę z podaniem średnich i odchyłeń standardowych, podobnie jak to zostało zrobione dla danych z pomiarów tomograficznych kości udowej.

- 2) Czy skład chemiczny był oznaczony tylko dla jednego rodzaju produktu tj. pasty z 0% i 4% udziałem fruktanów czy też dla innych rodzajów produktów – nie zostało to dobrze opisane w metodyce.
- 3) Czy liczone codzienne/tygodniowe przyrosty masy ciała zwierząt w badaniu doświadczalnym? Proponowałabym również policzyć współczynnik wydajności wzrostowej diety (FER) i porównać / zestawzić to z innymi analizowanymi parametrami.
- 4) Biorąc pod uwagę wieloaspektowość pracy, przy opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników proponowałabym zastosować analizę wieloczynnikową – pozwoliłoby to na uwzględnienie wszystkich czynników równocześnie.

Dyskusja wyników, jako jeden z ważniejszych rozdziałów dysertacji, polega nie tylko na porównaniu wyników własnych z wynikami innych autorów, ale przede wszystkim na wskazaniu przyczyn stwierdzonych zależności i zaobserwowanych zjawisk. Doktorantka dokonała obszernej i udanej próby interpretacji wyników badań własnych na tle dostępnego i szeroko przeanalizowanego piśmiennictwa zarówno krajowego jak i zagranicznego. Nie było to proste zadanie biorąc pod uwagę złożoność i wielowątkowość pracy oraz fakt, że Autorka chciała przedyskutować każdy element pracy oddzielnie. Efektem tego było przedstawienie dyskusji na 37 stronach maszynopisu, podzielonej na 5 podrozdziałów zgodnych

z zaprezentowanymi wcześniej wynikami badań własnych. Moim zdaniem można było to zrobić zbiorczo ale po zrobieniu analiz wieloczynnikowych.

Wnioski. W pracy Doktorantka przedstawiła 4 wnioski, dotyczące najważniejszych osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań. Świadczą one o realizacji wyznaczonego przez Autorkę celu badań oraz weryfikacji postawionych hipotez, zwłaszcza dotyczącym pozytywnego potwierdzenia hipotezy I odnośnie opracowania produktu – pasty na bazie soi z dodatkiem fruktanów o akceptowalnych przez konsumenta cechach organoleptycznych oraz korzystnym składzie chemicznym, jak również potwierdzeniu korzystnego wpływu dodatku tej pasy do diety na parametry gospodarki wapniowej zwierząt doświadczalnych (potwierdzenie hipotezy II), co ma swoje odzwierciedlenie w aplikacyjności tej pracy. Z kolei nie potwierdzenie hipotezy III, może być związane z parametrami biochemicznymi zwierząt na początku badania (tj. parametrów wyjściowych). Stąd też, moje pytanie: czy Doktorantka zastanawiała się, a może z literatury znane są Jej wyniki badań, w których wykazano pozytywny wpływ składników zawartych w soi na gospodarkę lipidową?

Literatura – w pracy wykorzystano, aż 407 pozycji literaturowych, z czego poz. 265 i 266 moim zdaniem to ta sama pozycja. W większości są to oryginalne prace twórcze. Na uwagę zasługuje trafny dobór źródeł oraz ich aktualność. Świadczy to o dobrym rozeznaniu literaturowym Autorki rozprawy.

Jak wspominałam wcześniej, oceniana dysertacja została wykonana starannie i napisana poprawnie pod względem językowym i merytorycznym, niemniej jednak z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na kilka kwestii, które zauważyłam podczas szczegółowej lektury pracy:

- w pracy zdarzają się błędy w odnośnikach literaturowych, np. Brzozowski 2020, powinno być 2019; Włodarek i in 2012, powinno być 2014; Rybowska 2017, powinno być 2016, Pabich i in. – nie wiadomo o którą pozycję chodzi?; czy też Florkiewicz i in 2011 – str. 129, w spisie literatury Filipiak-Florkiewicz i in., 2011.

- w tabeli 8 – skład diet eksperymentalnych, błąd jednostek.

- str. 131 '....nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami w zakresie średniego spożycia diety (Rys. 19) i średniego przyrostu masy ciała (Rys 20)' w rozdziale wyniki -str. 74-75 - Rys. 20 odnosi się do zmian spożycia diety, a Rys. 19 dotyczy zmian masy ciała, podobnie w przypadku Rys. 40 i 41. Ponadto moim zdaniem jest to zły opis w dyskusji, bo jak wynika z metodyki nie liczone przyrostów masy ciała.

Odnosząc się do przeprowadzonych przez Doktorantkę badań i wyników własnych, podczas publicznej obrony pracy doktorskiej prosiłabym o ustosunkowanie się do poniższych kwestii:

- Jak był okres adaptacyjny w przypadku zwierząt doświadczalnych?
- W ilu powtórzeniach wykonywane były oznaczenia?
- Jakie są możliwości i jednocześnie ograniczenia wykorzystania uzyskanych wyników własnych? Czy opracowana i sprawdzona w badaniach receptura produktu sojowego może być wykorzystana w przemysłowej produkcji?

5. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Marii Brzegowy wpisuje się w nurt badań dotyczących opracowywania nowych produktów o właściwościach prozdrowotnych oraz ich wpływu na zdrowie. Podjęty problem badawczy ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym, jak i aplikacyjnym. Ten obszar wiedzy nadal wymaga dalszych wnikliwych badań i poszukiwania związków przyczynowo-skutkowych między składnikami diety, nowo opracowanymi produktami na bazie produktów roślinnych (żywności funkcjonalnej) a zdrowiem. Ponadto zastosowany model badawczy odwzorowujący kobiety w okresie okołomenopauzalnym (pomenopauzalnym) jest zasadnym i koniecznym z punktu widzenia zdrowia publicznego.

Z powyższych danych oraz analizy przedłożonej dysertacji wynika, że mgr Maria Brzegowy uzyskała efekty kształcenia przewidziane wg Polskich Ram Kwalifikacji dla ósmego (doktoranckiego) poziomu kształcenia, tj. posiada umiejętność opracowania koncepcji badań,

zdolność do planowania i wykonywania eksperymentów badawczych, a także opracowywania wyników i konfrontowania ich z wynikami innych badaczy. A przedstawione uwagi i sugestie mają charakter dyskusji, które mogą być w przyszłości wykorzystane przy przygotowywaniu publikacji naukowych.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Marii Brzegowy pt. *„Wpływ produktu sojowego wzbogaconego we fruktany na parametry gospodarki wapniowej i lipidowej w organizmach szczurów doświadczalnych”* zrealizowanej pod kierunkiem dr hab. Kingi Topolskiej, prof. URK odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim w myśl Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki oraz Przepisach wprowadzających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dn. 3 lipca 2018 (Dz.U. z 2018, poz. 1669). Doktorantka wykazała się dobrą warsztatu badawczego oraz umiejętnością prowadzenia badań i prezentacji wyników.

Wnioskuje zatem do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Wydziału Technologii Żywności, Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Marii Brzegowy do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

/ Prof. dr hab. Jadwiga Hamulka /