prof. dr hab. inż. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz
Katedra Technologii Produktów Roślinnych
i Higieny Żywienia
Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

Kraków, 3.09.2021 r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr **ANNY ROGASKIEJ**
"**OPRACOWANIE RECEPTURY CHLEBÓW BEZGLUTENOWYCH WZBOGACANYCH W WYBRANE SKŁADNIKI MINERALNE I OCENA ICH BIODOSTĘPNOŚCI W UKŁADACH MODELOWYCH *IN VITRO* I *IN VIVO* ",**

wykonanej pod kierunkiem **Prof. UPP dr hab. JULITY REGUŁY**
w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki, Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Żywienia, Pani prof. UPP dr hab. Bożeny Danyluk (z dnia 8.07.2021 r.), zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia podjętą w dniu 27.05.2021 roku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anny Rogaskiej oparta jest o cykl 4 publikacji naukowych, opatrzonych wspólnym tytułem „Opracowanie receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocena ich biodostępności w układach modelowych *in vitro* i *in vivo*".

W skład cyklu wchodzą następujące publikacje:

1. Reguła J., **Cerba A.,** Suliburska J., Tinkov A.A., *In vitro* bioavailability of calcium, magnesium, iron, zinc and copper from gluten free breads supplemented in natural additives, Biological Trace Element Research 2018, vo1. 181, iss. 1, s.140-146.
2. **Rogaska A.**, Reguła J., Król E. The effect of diets including gluten-free bread enriched with natural additives on the content of calcium and magnesium in rats with deficiencies of these elements, Journal of Elementology 2020, 25(1): 21-34.
3. **Rogaska A.,** Regula J., Suliburska J., Krejpcio Z. A comparative study of the btoavatlability of Fe, Cu and Zn from gluten-free breads enriched with natural and synthetic additives, Foods 2020, 9, 1853.
4. **Rogaska A.**, Reguła I, Suliburska I, Krejpcio Z. Comparison of the in vitro bioavailability of selected minerals from gluten-free breads enriched with grains and synthetic organic and non-organic compounds, Molecules 2021, 26, 2085.

Dane bibliometryczne cyklu publikacji: MNiSW - 225 pkt., IF - 10,453, liczba cytowań - 12.

Wszystkie publikacje są współautorskie (3-4 autorów), z udziałem Doktorantki (zgodnie z przedstawionymi oświadczeniami) obejmującym opracowywanie koncepcji badań, przeprowadzanie doświadczeń, analizę statystyczną oraz udział w przygotowaniu publikacji. Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe mgr Anny Rogaskiej zostały opublikowane w renomowanych zagranicznych czasopismach takich jak Biological Trace Element Research, Journal of Elementology, Foods i Molecules, co dowodzi ich wysokiego poziomu naukowego.

W ocenie przedłożonej pracy zwracam uwagę przede wszystkim na jej wartość merytoryczną tj. zasadność celu pracy oraz jego uzasadnienie, metodologię badań, umiejętność interpretacji i dyskusji otrzymanych wyników, a także wnioskowania. W następnej kolejności oceniałam stronę formalną dysertacji.

W ostatnich latach choroby związane z obecnością w pożywieniu glutenu zyskały znaczny rozgłos, tym samym zwiększyła się świadomość społeczeństwa dotycząca glutenopatii. Dieta bezglutenowa jest dietą konieczną w leczeniu chorób glutenozależnych. Najważniejszymi i niepodważalnymi wskazaniami medycznymi do stosowania diety bezglutenowej są: celiakia (choroba trzewna), nietolerancja glutenu, alergia na gluten oraz choroba Dühringa, nazywana także skórną odmianą choroby trzewnej. W chorobach tych dieta bezglutenowa jest traktowana jako metoda leczenia, bowiem nie istnieją środki farmakologiczne, pozwalające leczyć ww. schorzenia. Dieta wykluczająca gluten znajduje także zastosowanie w leczeniu autyzmu, choroby Hashimoto i zespole jelita drażliwego, jednak wskazania medyczne do włączenia diety bezglutenowej w tych jednostkach chorobowych nie są jednoznaczne.

W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost liczby konsumentów unikających glutenu, pojmujących jego eliminację z diety jako pewnego rodzaju „styl życia" i alternatywny sposób odżywiania. Wykluczenie glutenu z diety stanowi trend żywieniowy, zgodnie z którym zakłada się ograniczenie spożycia produktów zawierających pszenicę, jak i ogólnie węglowodany. W tym miejscu konieczne jest wskazanie, że stosowanie diety bezglutenowej wiąże się z ryzykiem powstawania niedoborów żywieniowych, w tym szczególnie witamin i składników mineralnych. Prawidłowe zbilansowanie diety bezglutenowej jest bowiem trudniejsze niż właściwe skomponowanie diety zawierającej gluten ze względu na mniejszą dostępność bezglutenowych produktów zbożowych.

Chleb jest podstawowym pożywieniem człowieka od tysięcy lat. Spożywany jest zarówno przez osoby zdrowe, jak i cierpiące na różnego rodzaju schorzenia, stąd też rynek

piekarski oferuje produkty o różnych składach, w tym pieczywa o przeznaczeniu dietetycznym czy specjalnym, jak pieczywo bezglutenowe. Brak glutenu stwarza szereg problemów technologicznych. Produkty bezglutenowe, w tym pieczywo, wytwarza się na ogół z rafinowanej mąki czy skrobi przez co jego jakość sensoryczna i odżywcza jest niższa niż pieczywa tradycyjnego. Problem ten jest szczególnie widoczny, kiedy porówna się ilość składników odżywczych zawartych w produktach pełnoziarnistych z ich bezglutenowymi zastępnikami. Dotyczy to szczególnie niskiej zawartości błonnika pokarmowego, witamin z grupy B (tiaminy, ryboflawiny, niacyny, folianów) oraz żelaza, wapnia, fosforu i cynku.
Mimo że rynek produktów bezglutenowych z roku na rok poszerza swoją ofertę, to pacjentom stosującym dietę bezglutenową wciąż trudno jest odnaleźć produkty mogące sprostać ich oczekiwaniom pod względem jakości. W przypadku pieczywa bezglutenowego największe wyzwanie technologiczne stanowi zastąpienie glutenu i dobór odpowiedniej receptury ciasta z uwzględnieniem preferencji konsumenckich oraz zaleceń żywieniowych.

Mając powyższe na uwadze, wybór tematu dotyczącego opracowania receptury pieczywa bezglutenowego oraz weryfikacji biodostępności zawartych w nim składników mineralnych uważam za zasadny i pożądany, zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Zagadnienie to jest istotne dla producentów pieczywa, jak i konsumentów.
Opracowanie zawierające cykl czterech publikacji obejmuje m.in.:

- Spis treści.
- Streszczenia w językach: polskim i angielskim.
- Wykaz skrótów użytych w pracy do oznaczenia zaprojektowanych chlebów bezglutenowych.
- Wstęp.
- Hipotezy badawcze, cel główny i cele szczegółowe rozprawy.
- Materiał i metody.
- Wyniki.
- Wnioski.
- Bibliografię.
- Spis tabel.
- Aneks zawierający wykaz i publikacje stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej.

W rozdziale "Wstęp" mgr Anna Rogaska przedstawiła występowanie i charakterystykę nietolerancji glutenu, w tym celiakię. Omawiając pieczywo bezglutenowe skupiła się nie tylko na jego składzie chemicznym i właściwościach, ale również metodach jego produkcji. Doktorantka wskazała na problemy technologiczne związane z produkcją tego rodzaju pieczywa. Magister Anna Rogaska słusznie podkreśliła odmienne cechy sensoryczne pieczywa

bezglutenowego w stosunku do wyrobów piekarskich konwencjonalnych. W dalszej części Doktorantka przedstawiła możliwości wzbogacania pieczywa bezglutenowego celem zwiększenie jego wartości odżywczej. Ważnym elementem wstępu jest charakterystyka zawartości i biodostępności składników mineralnych w pieczywie bezglutenowym. Aspekt ten jest szczególnie istotny z technologicznego, żywieniowego i zdrowotnego punktu widzenia. Jak pisze Doktorantka „…*Uzyskanie pieczywa bezglutenowego o wysokiej biodostępności składników mineralnych przy zachowaniu odpowiednich cech strukturalnych i smakowych jest niezwykle trudne. Badania pokazują, iż jest to temat coraz częściej podejmowany przez naukowców zajmujących się żywnością funkcjonalną i dietetyczną, choć nadal przeważająca większość doniesień literaturowych skupia się nad poprawą cech strukturalnych i reologicznych pieczywa bezglutenowego...”*

Doktorantka sformułowała dwie hipotezy badawcze:

1. Wartość odżywcza chlebów oraz zawartość wybranych składników mineralnych zależy od rodzaju zastosowanej do wypieku mąki (gryczana, ryżowa) oraz dodatku naturalnego (mak, mleko w proszku, mieszanka nasion, mieszanka mąk, żółtko jaja) i syntetycznego (mleczan wapnia, mleczan magnezu, glukonian żelaza, glukonian cynku, glukonian miedzi, węglan wapnia, węglan magnezu, siarczan żelaza, siarczan cynku, siarczan miedzi).
2. Biodostępność wybranych składników mineralnych oceniona w doświadczeniach modelowych *in vitro* i *in vivo* zależy od zastosowanej mąki i dodatków oraz ich wzajemnego oddziaływania.

Cel główny rozprawy doktorskiej, którym było pozyskanie pieczywa bezglutenowego o wysokiej biodostępności wybranych składników mineralnych, których niedobór często notuje się u osób z nietolerancją glutenu został przez Doktorantkę doprecyzowany poprzez określenie celów szczegółowych tj.:

1. Przedstawienie propozycji receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w naturalne i syntetyczne dodatki w dwóch wariantach chlebów bezglutenowych: wariant 1 z zastosowaniem mąki ryżowej, wariant 2 — z zastosowaniem mąki gryczanej.
2. Analiza wartości odżywczej pozyskanych chlebów bezglutenowych.
3. Ocena biodostępności w warunkach modelowych doświadczeń *in vitro* i *in vivo* wybranych składników mineralnych z zaprojektowanych chlebów.

Należy podkreślić, że zakres pracy był bardzo obszerny i obejmował (podobnie jak dyscyplina naukowa do której przypisano rozprawę) zarówno aspekty technologiczne, jak i żywieniowe.

Rozdział „Materiał i metody" zawiera opis badań wykonanych w ramach czterech publikacji, stanowiących osiągnięcie naukowe mgr Anny Rogaskiej. Dokładnie przedstawiono recepturę zaprojektowanych chlebów bezglutenowych oraz procedurę ich wypieku. W kolejnym podrozdziale Doktorantka przedstawiła metodykę oznaczania wartości odżywczej chlebów bezglutenowych, przebieg doświadczenia modelowego *in vitro* oraz *in vivo* wraz z oceną biodostępności składników mineralnych. Rozdział ten kończy opis analizy statystycznej wyników. Lektura rozdziału oraz publikacji nasuwa następujące pytania. Czym kierowała się Doktorantka stosując w doświadczeniach *in vivo* raz 30% (publikacja 3), a raz 70% (publikacja 4) dodatek pieczywa do diety szczurów? Jaki był powód zastosowania w badaniu *in vivo* diety AIN-93M podczas gdy zwierzęta były 6 tygodniowe tj. rosnące, a nie dojrzałe? Czy diety zwierząt były bilansowane pod kątem zawartości m.in. błonnika, który jak wiadomo jest jednym ze składników żywności najsilniej determinującym biodostępność składników mineralnych?

W tym miejscu warto też docenić zastosowanie przez Doktorantkę kontroli jakości metod badawczych i stosowanie certyfikowanych materiałów referencyjnych.

W kolejnym rozdziale „Wyniki" Doktorantka opisała i przedyskutowała uzyskane wyniki w oparciu o dostępną literaturę przedmiotu.

Celem badania opisanego w pierwszej publikacji była ocena wartości odżywczej oraz biodostępności Ca, Mg, Fe, Cu i Zn w zaprojektowanym i wzbogacanym bezglutenowym pieczywie ryżowym i gryczanym. Doktorantka wykazała, że dodatek mleka w proszku i nasion znacznie zwiększył (o ok. 30%) wartość energetyczną chlebów zarówno ryżowych, jak i gryczanych. W pieczywie tym wyższa była także zawartość białka (o 50%) i błonnika (o 70%). Ilość tłuszczu w chlebach wzbogacanych była 8-krotnie większa w stosunku do chlebów bez dodatków. Inną tendencję zaobserwowano w przypadku węglowodanów, przy czym wyższą ich zawartość zaobserwowano w chlebach gryczanych w porównaniu z chlebami ryżowymi. Z kolei zawartość wapnia w chlebach była zbliżona (29,6 mg/100 g suchej masy). Dodatek mleka w proszku i maku znacznie zwiększył ilość wapnia w produktach. Stwierdzono zbliżoną zawartość tego składnika zarówno w chlebach z dodatkiem mleka i maku, jak i mleka oraz nasion. Zawartość magnezu była istotnie wyższa w chlebach gryczanych. Istotną różnicę zaobserwowano także między chlebami ryżowymi: bez dodatków, z dodatkiem mleka i maku oraz z dodatkiem mleka i nasion. W przypadku zawartości żelaza wzbogacanie chleba

(niezależnie od rodzaju dodatku) zarówno ryżowego, jak i gryczanego powodowało istotne zwiększenie zawartości tego składnika mineralnego. Zaobserwowano wyższą zawartość cynku w chlebach z dodatkiem mleka w porównaniu z pozostałymi. Zawartość miedzi także zwiększała się w przypadku wzbogacania chlebów. Większą ilość tego składnika mineralnego zanotowano w chlebach gryczanych w porównaniu z chlebami ryżowymi. Stwierdzono także wyższą zawartość miedzi w chlebach ryżowych z dodatkiem mleka i nasion w porównaniu z chlebami gryczanymi z tymi dodatkami.

Przedstawione powyżej wyniki pozwoliły na potwierdzenie pierwszej hipotezy badawczej w części dotyczącej wpływu naturalnych dodatków na wartość odżywczą pieczywa.

W eksperymentach dotyczących trawienia *in vitro* Doktorantka zaobserwowała znaczącą redukcję zawartości składników mineralnych w porównaniu z produktami wyjściowymi. Mimo wysokiej zawartości wapnia w chlebach ryżowych i gryczanych wzbogacanych mlekiem i makiem wykazano stosunkowo niską jego biodostępność (najwyższą w chlebie ryżowym - 79,3%). Chleby gryczane, w tym wzbogacane mlekiem i nasionami wykazały niższą biodostępność wapnia w stosunku do analogicznych chlebów ryżowych. W przypadku magnezu zaobserwowano wzrost potencjalnej biodostępności wraz ze zwiększeniem ilości dodatków zarówno w chlebach ryżowych, jak i gryczanych. Na biodostępność tego składnika wpływ miał nie tylko zastosowany dodatek, ale również rodzaj chleba. Większe wartości stwierdzono dla chleba ryżowego. Wyższą biodostępność żelaza zaobserwowano w chlebach ryżowych. Biodostępność cynku w chlebach ryżowych była tym wyższa im większy był udział mleka lub nasion. Z kolei biodostępność miedzi była najniższa w chlebach ryżowych i gryczanych wzbogacanych mlekiem i makiem (odpowiednio 39,2% i 37,8%).

Za bardzo interesujące uważam wyniki przedstawione w publikacji nr 2, której celem było porównanie biodostępności wybranych składników mineralnych (Ca, Mg, Fe, Cu i Zn) z chlebów bezglutenowych wzbogacanych nasionami oraz związkami organicznymi i nieorganicznymi syntetycznymi. Doktorantka wykazała statystycznie wyższe ilości wszystkich analizowanych składników mineralnych (za wyjątkiem cynku) w chlebach ryżowych i gryczanych z dodatkami naturalnymi i syntetycznymi w stosunku do chlebów bez dodatków. Odnotowała także istotnie wyższą zawartość analizowanych składników mineralnych w pieczywie gryczanym w porównaniu z pieczywem ryżowym (niezależnie od zastosowanego dodatku). W chlebach ryżowych stwierdziła istotnie wyższą zawartość Fe, Zn i Cu w pieczywie wzbogacanym dodatkami składników mineralnych w formie związków organicznych w stosunku do chleba, w którym dodatki występowały w formie związków nieorganicznych. W

chlebach gryczanych podobną zależność odnotowano w przypadku żelaza i wapnia. Zawartość wody, białka, tłuszczu oraz węglowodanów, w tym błonnika była istotnie zróżnicowana pomiędzy rodzajami pieczywa. Chleby ryżowe i gryczane bez dodatków zawierały więcej wody oraz węglowodanów przyswajalnych w stosunku do pieczywa z dodatkami nasion.

W eksperymentach *in vitro* Doktorantka nie wykazała istotnego zróżnicowania jeśli chodzi biodostępność żelaza we wszystkich chlebach ryżowych, przy czym należy podkreślić, że była ona dość wysoka (43- 46%). Niższą biodostępnością żelaza odznaczały się natomiast chleby gryczane. Wyższą biodostępnością cynku i miedzi wśród chlebów ryżowych charakteryzowały się te wzbogacane nasionami niż składnikami mineralnymi w postaci związków chemicznych. Zaobserwowano także istotne różnice biodostępności tych składników w zależności od formy związków syntetycznych, na korzyść związków nieorganicznych. Dodatek nasion do chleba ryżowego zmniejszał, a do chleba gryczanego zwiększał istotnie biodostępność wapnia. Rodzaj dodatku syntetycznego (organiczny, nieorganiczny) nie miał z kolei wpływu na biodostępność tego pierwiastka. Odwrotną tendencję stwierdziła Doktorantka w przypadku magnezu. Chleby ryżowe wzbogacane dodatkami syntetycznymi odznaczały się wyższa biodostępnością magnezu w porównaniu z pozostałymi rodzajami pieczywa ryżowego. Podobną tendencję wykazała Doktorantka w przypadku pieczywa gryczanego. Najwyższą biodostępność cynku i miedzi Doktorantka stwierdziła w chlebach ryżowych i gryczanych wzbogacanych nasionami w porównaniu z dodatkami syntetycznymi.

Uzyskane w badaniach rezultaty pozwoliły na finalną weryfikację pierwszej oraz częściową drugiej hipotezy badawczej.

Celem trzeciej publikacji stanowiącej dysertację doktorską było określenie wpływu diet zawierających chleby bezglutenowe wzbogacone w naturalne dodatki na zawartość wapnia i magnezu u szczurów z wywołanym deficytem tych składników. W doświadczeniu modelowym w warunkach *in vivo* Doktorantka oceniła biodostępność wapnia i magnezu z diet wzbogacanych w chleby ryżowe i gryczane: bez dodatków, wzbogacanych mlekiem i makiem oraz wzbogacanych mlekiem i nasionami. W tym miejscu należy podkreślić, że diety doświadczalne były bardzo zróżnicowane zarówno pod względem wartości energetycznej, zawartości białka, tłuszczu jak i, co najważniejsze, wapnia. W przypadku diet zwierających chleby ryżowe i gryczane wzbogacane nie wykazano istotnych różnic w ilości wapnia. Wraz ze wzrostem ilości dodatków w chlebach ryżowych zwiększyła się także zawartość magnezu w dietach zawierających ten chleb. Miało to zapewne istotny wpływ na uzyskane rezultaty. Doktorantka stwierdziła większe spożycie diety z chlebami wzbogacanymi w dodatki naturalne w stosunku do diet z chlebami bez dodatku. Masa początkowa szczurów nie różniła się istotnie

statystycznie w żadnej grupie. Zaobserwowano natomiast statystycznie wyższy przyrost masy ciała u szczurów żywionych dietą z chlebami wzbogacanymi w stosunku do szczurów żywionych dietą z chlebami bez dodatków. Jak wskazuje Doktorantka miało to związek z większym spożyciem diety w tych grupach, co potwierdza wskaźnik FER, określający stosunek przyrostu masy ciała do spożytej diety. Rodzaj diety nie wpływał natomiast na masę narządów. Na podstawie wartości odżywczej diet oraz ilości spożytej diety w całym okresie trwania doświadczenia Doktorantka określiła całkowite spożycie wapnia i magnezu. Najwyższe spożycie wapnia zaobserwowano wśród szczurów żywionych dietą z chlebami wzbogacanymi w mleko i mak oraz mleko i nasiona, natomiast najniższe w przypadku diety zwierających chleby bez dodatków. Pomimo większego spożycia przez zwierzęta wapnia i magnezu Doktorantka nie wykazała istotnej różnicy w stężeniu tych pierwiastków we krwi szczurów. Istotnie wyższą ilość wapnia oznaczono natomiast w śledzionach szczurów żywionych dietą z dodatkiem chlebów ryżowych i gryczanych wzbogacanych mlekiem i makiem (odpowiednio 224,9mg/kg i l81mg/kg). W pozostałych narządach (nerki, serce, kości) poziom tego pierwiastka nie różnił się istotnie pomiędzy grupami zwierząt. Z kolei zawartość magnezu w kościach różniła się istotnie statystycznie w zależności od rodzaju chleba oraz ilości dodatków. Ilość tego składnika wzrastała wraz ze zwiększeniem ilości zastosowanych dodatków do chlebów, przy czym była wyższa w chlebach gryczanych w porównaniu z chlebami ryżowymi. Ponadto, Doktorantka wykazała, istotnie wyższą zawartość magnezu w wątrobie szczurów żywionych dietami zawierającymi chleby ryżowe i gryczane bez dodatków.

Przedstawione w publikacji trzeciej wyniki pozwalają na częściowe potwierdzenie drugiej hipotezy badawczej.

Publikacja czwarta przedstawiała wyniki badań, których celem było porównanie biodostępności żelaza, miedzi i cynku z pieczywa bezglutenowego wzbogacanego w dodatki naturalne i syntetyczne. Kontynuując badanie modelowe *in vivo* Doktorantka oceniła biodostępność żelaza, miedzi i cynku z diet wzbogacanych w pieczywo ryżowe i gryczane: bez dodatków oraz wzbogacane w mleko i mak oraz wzbogacane w dodatki syntetyczne w formie organicznej. Nie wykazano istotnych różnic w ilości spożytej diety, masie początkowej czy końcowej szczurów w żadnej grupie. Natomiast zaobserwowano istotnie wyższą różnicę masy ciała w grupie szczurów żywionych dietą z dodatkiem chleba wzbogacanego w dodatki naturalne w stosunku do diet z zawierających chleby bez dodatków. Co za tym idzie wskaźnik FER również był istotnie wyższy w tych grupach. Doktorantka wykazała istotnie wyższe spożycie żelaza w przypadku diet z chlebami wzbogacanymi w stosunku do diet z pieczywem bez dodatków. Ponadto zaobserwowano istotnie wyższe spożycie żelaza u szczurów żywionych

dietami z dodatkiem chlebów gryczanych (niezależnie od rodzaju dodatku) w porównaniu z dietami zawierającymi chleby ryżowe. Analizując zawartość żelaza w poszczególnych narządach Doktorantka stwierdziła, niższą ilość tego pierwiastka w nerkach zwierząt z grupy żywionej chlebem ryżowym z dodatkiem syntetycznym w odniesieniu do diety zawierającej chleb bez dodatku. Nie odnotowała istotnych różnic w ilości żelaza w kościach ani sercach szczurów w przypadku żadnej z grup. Z kolei w śledzionie jego ilość była istotnie zróżnicowana w zależności od rodzaju pieczywa oraz zastosowanych dodatków. Przykładowo w grupie zwierząt żywionych dietami z chlebami gryczanymi wyższą zawartość żelaza wykazano w śledzionach szczurów żywionych dietami z chlebami wzbogacanymi syntetycznymi dodatkami. Doktorantka odnotowała też, że istotnie wyższą zawartością żelaza we krwi charakteryzowały się zwierzęta żywione dietą z chlebami ryżowymi i gryczanymi wzbogacanymi naturalnie.

Podobnie jak w przypadku żelaza także spożycie cynku i miedzi wyższe było wśród szczurów żywionych dietami zawierającymi chleby wzbogacane. Jak wykazały przeprowadzone badania poziom cynku w kościach i sercach był istotnie zróżnicowanymi pomiędzy grupami zwierząt. Istotnie wyższą zawartość cynku stwierdzono w kościach szczurów żywionych dietami z dodatkiem chlebów ryżowych. Taka sama tendencja charakterystyczna była także w przypadku miedzi. We krwi badanych zwierząt wykazano istotnie wyższy poziom cynku w przypadku żywienia szczurów dietami z dodatkiem chlebów ryżowych i gryczanych wzbogacanych w mleko i mak. Nie zauważono natomiast różnic między chlebami ryżowymi i gryczanymi. Doktorantka wykazała, że wzbogacanie pieczywa w dodatki naturalne istotnie zwiększa zawartość miedzi w nerkach szczurów. Z kolei w przypadku śledziony poziom miedzi był najwyższy ($p<0,05$) w przypadku dodawania do diety szczurów chleba ryżowego z syntetycznym dodatkiem. Także serca zwierząt z tej grupy zawierały istotnie więcej tego pierwiastka. Podobnie wysokie wartości odnotowano w grupie zwierząt żywionych dietą z dodatkiem chleba gryczanego wzbogacanego w mleko i mak. Z kolei dodatek chleba ryżowego niewzbogacanego do diety szczurów skutkował najwyższym poziomem tego pierwiastka w wątrobie zwierząt. Stężenie miedzi we krwi szczurów było istotnie zróżnicowane w zależności od rodzaju pieczywa, przy czym żywienie zwierząt dietami zawierającymi chleby gryczane skutkowało wyższą koncentracją tego mikroelementu. Doktorantka nie zaobserwowała natomiast istotnego wpływu rodzaju dodatku do pieczywa na stężenie miedzi we krwi zwierząt.

Opisane w publikacji czwartej wyniki badań pozwoliły na finalną weryfikację hipotezy drugiej.

Po szczegółowym omówieniu publikacji stanowiących rozprawę doktorską mgr Anna Rogaska zamieściła najważniejsze wnioski odnoszące się do postawionych hipotez badawczych, zwracając słusznie uwagę, że znajomość określonych w badaniach zależności pozwala na zaprojektowanie pieczywa dla grup osób o określonych niedoborach składników mineralnych.

Rozdział „Bibliografia" zawiera 41 pozycji literaturowych, z czego większość pochodzi z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo zostało starannie opracowane i dobrze dobrane.

Ostatni rozdział opracowania to „Aneks", zawierający m.in. oświadczenia współautorów publikacji, na podstawie których można jednoznacznie ocenić charakter udziału Doktorantki w powstawaniu prac. Uważam jednak, że informacja o zmianie nazwiska przez Doktorantkę byłaby wskazana.

Niezależnie od faktu, iż publikacje stanowiące rozprawę doktorską ukazały się w renomowanych czasopismach i były recenzowane, szczegółowa analiza przedstawionego opracowania nasuwa pewne wątpliwości, które z obowiązku recenzenta zmuszona jestem przedstawić w formie uwag krytycznych:

- Doceniam sformułowanie hipotez badawczych jednak uważam, że są one zbyt oczywiste. Jednocześnie nie mam wątpliwości, że wszystkie zostały zweryfikowane.
- Nazwy związków chemicznych wskazanych w hipotezie pierwszej powinny być zgodne z ustalonymi przez Komisję Nazewniczą Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej.
- W celu pracy korzystniejsze byłoby sformułowanie „Otrzymanie pieczywa …" a nie „Pozyskanie pieczywa…" To drugie sugeruje bowiem nabycie, a nie wytworzenie. Podobnie proponowałabym określenie „Opracowanie receptury.." a nie „Przedstawienie receptury…".
- Zastosowane metody badań pozwoliły na realizację założonego celu rozprawy. W tym miejscu nasuwają się jednak następujące pytania: Jaki rodzaj analizy wariancji zastosowano w publikacjach 1 i 4 jedno- czy wieloczynnikową? Czy porównywano wyniki uzyskane dla grup żywionych dietą z udziałem chleba ryżowego i gryczanego bez dodatków ze zwierzętami z grupy kontrolnej (AIN-93M) i deficytowej (AIN-93M z deficytem składników mineralnych)? Czy zastosowanie deficytu składników mineralnych pozwoliło na zachwianie homeostazy u zwierząt?
- Należy unikać stosowania skrótów myślowych np. „*Zaobserwowano wyższą zawartość wody i węglowodanów dla R i B oraz wyższą wartość energetyczną, zawartość tłuszczu,*

białka i błonnika dla chlebów RS i BS. Biorąc pod uwagę rodzaj chleba wykazano istotnie wyższą różnicę w przypadku błonnika pokarmowego zarówno dla chleba B jak i dla chleba BS, a także istotnie wyższą zawartość węglowodanów dla chleba R oraz białka dla chleba B...” czy sformułowań typu „wielkość masy”.

- Zastosowanie tej samej kolejności omawiania publikacji i ich przedstawienia w aneksie ułatwiłoby analizę opracowania.

Uwagi powyższe odnoszą się głównie do polskojęzycznego opracowania rozprawy. Sądzę, że gdyby Doktorantka ograniczyła się do krótszej, bardziej syntetycznej formy ww. prezentacji, to zapewne uniknęłaby wielu problemów edycyjnych.

Przedstawione powyżej uwagi krytyczne, o charakterze w większości porządkowym, wyjaśniającym lub dyskusyjnym, nie umniejszają wysokiej wartości recenzowanej rozprawy i nie mają wpływu na jej jednoznacznie pozytywną ocenę. Wskazanie ich jest niejako obowiązkiem recenzenta i w związku z faktem, że prace stanowiące rozprawę doktorską zostały już opublikowane, mają stanowić wskazówki w dalszej pracy naukowej i przygotowywaniu kolejnych publikacji.

Reasumując należy stwierdzić, że spójny tematycznie cykl publikacji stanowiący rozprawę doktorską, większościowego współautorstwa mgr Anny Rogaskiej jest oryginalnym i bardzo wartościowym opracowaniem dotyczącym wartości odżywczej pieczywa bezglutenowego, ze szczególnym uwzględnieniem biodostępności składników mineralnych. Chciałabym podkreślić także aplikacyjny charakter pracy, uzyskane przez Doktorantkę rezultaty mogą mieć bardzo szeroki zakres zastosowania od producentów, dietetyków po samych konsumentów.

We wniosku końcowym stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska, stanowiąca spójny tematycznie cykl czterech publikacji pod wspólnym tytułem „Opracowanie receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocena ich biodostępności w układach modelowych *in vitro* i *in vivo*”, w pełni odpowiada warunkom określonym w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki w zakresie sztuki *(Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.)*.

Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny technologia żywności i żywienia Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Anny Rogaskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agnieszka Fabiszewska-Pokorska