Warszawa, dn. 30.08.2021

Prof. dr hab. Agata Wawrzyniak
Katedra Żywienia Człowieka
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, SGGW w Warszawie
agata_wawrzyniak@sggw.edu.pl

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Anny Rogaskiej (d. Cerba)

pt. *„Opracowanie receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocena ich biodostępności w układach modelowych in vitro i in vivo"*

wykonanej pod kierunkiem naukowym prof. UPP dr hab. Julity Reguły
w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Podstawa wykonania recenzji i przedmiot recenzji

Recenzja została wykonana w oparciu o Uchwałę z dn. 27 maja 2021 r. Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora Pani mgr inż. Annie Rogaskiej. Decyzja została przekazana pismem z dn. 8 lipca 2021 i podpisana przez dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu prof. UPP dr hab. Bożenę Danyluk. Recenzja uwzględnia wymogi Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 r. (opublikowanej w Dz.U. nr 65. poz. 595, z późn. zm.).

Ocena strony formalnej przedłożonej do recenzji rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. Anny Rogaskiej pt. „*Opracowanie receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocena ich biodostępności w układach modelowych in vitro i in vivo*" stanowi sekwencję 4 oryginalnych prac badawczych, zgodnych tematycznie, opublikowanych w języku angielskim w latach 2018-2021 w czasopismach z listy JCR, po uprzedniej pozytywnej ocenie recenzentów międzynarodowych. Tytuł pracy odpowiada wykonanym badaniom.

Na rozprawę doktorską składają się następujące publikacje **o łącznym wskaźniku IF wynoszącym 10,453 i punktach MNiSW o łącznej sumie 225 pkt. – przy 12 cytowaniach**:

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*

with Natural Additives. Biological Trace Element Research, 2018, 182, 140–146. doi:10.1007/s12011-017-1065-4 (Wyd. Springer - **IF 2,361; MNiSW 15 pkt.**),

2. **Rogaska, A.**, Reguła, J., Król, E.: *The effect of diets including gluten-free bread on content of calcium and magnesium in rats with deficiencies of these elements*. Journal of Elementology, 2020, 25, 21-34. doi:10.5601/jelem.2019.24.2.1830 (Wyd. UWM - **IF 0,733; MNiSW 40 pkt.**),

3. **Rogaska, A.**, Reguła, J., Suliburska, J., Krejpcio, Z.: *A Comparative Study of the Bioavailability of Fe, Cu and Zn from Gluten-Free Breads Enriched with Natural and Synthetic Additives*. Foods, 2020, 9, 1853. doi:10.3390/foods9121853 (Wyd. MDPI - **IF 4,092; MNiSW 70 pkt.**),

4. **Rogaska, A.**, Reguła, J., Suliburska, J., 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. doi:10.3390/molecules26072085 (Wyd. MDPI - **IF 3,267; MNiSW 100 pkt.**),

co należy uznać za wskaźniki wystarczające przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora.

Przedstawiona do recenzji dysertacja ma typowy układ rozprawy doktorskiej powstałej na bazie spójnego tematycznie zbioru publikacji naukowych, a przytoczony cykl publikacji jest istotny dla nauki o żywności i żywieniu i odnosi się do korzystnego wpływu jaki żywność wzbogacona w składniki mineralne może wywierać na stan odżywienia i zdrowie osób obciążonych nietolerancją glutenu lub osób charakteryzujących się nadwrażliwością na gluten, przy niedoborach spożycia składników mineralnych z produktami i/lub gorszego ich wchłaniania. Ponadto przedłożona dysertacja obejmuje streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, wstęp (co pozwoliło lepiej zrozumieć zagadnienia stanowiące przedmiot badań), hipotezy badawcze, cel główny oraz cele szczegółowe rozprawy, materiał i metody, syntetyczne omówienie wyników, wnioski, bibliografię (41 pozycji). Strona edytorska nie budzi większych zastrzeżeń, przygotowanie wyników do publikacji w formie tabel i wykresów jest czytelne. Doktorantka swobodnie posługuje się fachowym językiem angielskim w opublikowanych pracach, a publikacja prac w czasopismach światowych zwiększa ich zasięg i liczbę odbiorców, jak też możliwość cytacji w przyszłości.

Jednocześnie w pracy zamieszczono oświadczenia współautorów, iż wyrażają zgodę, aby wymienione artykuły zostały wykorzystane w pracy doktorskiej mgr Anny Rogaskiej, a udział Doktorantki w powstaniu prac należy uznać za wiodący jako pierwszego autora w trzech z nich. Doktorantka brała udział w opracowaniu koncepcji badań, prowadziła doświadczenia *in vitro* i *in vivo*, przechowywała dane, pisała publikacje, w pierwszym artykule była autorem korespondencyjnym.

Badania finansowano z funduszy Narodowego Centrum Nauki realizując projekt badawczy NCN Opus nr 2011/01/B/NZ9/0013 oraz z dotacji na finansowanie badań naukowych lub prac rozwojowych Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Doświadczenie uzyskało zgodę komisji bioetycznej przy UPP nr 888/11.

Reasumując przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymogi formalne przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora.

Ocena merytoryczna pracy

Nietolerancja lub nadwrażliwość na gluten jest jedną z najczęściej występujących przypadłości układu pokarmowego w Europie. W Polsce szacuje się, że problem ten dotyka nawet kilka procent ludności (około 7-8% populacji). Coraz większe zainteresowanie produktami bezglutenowymi znajduje odzwierciedlenie we wprowadzaniu na rynek nowych produktów spożywczych pozwalających zapewnić odpowiedni stan odżywienia osobom zmagającym się z nietolerancją tego składnika, jak też we wzroście wartości rynku żywności bezglutenowej. Ponieważ choroba ta związana jest z zanikiem kosmków jelitowych i zespołem złego wchłania składników, m.in. i składników mineralnych, w tym wapnia i żelaza, ale też magnezu, cynku i miedzi, temat podjętych przed Doktorantkę badań nad opracowaniem receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocenę ich biodostępności w układach modelowych *in vitro* i in vivo należy uznać za wysoce wartościowy naukowo i aplikacyjnie, gdyż u ww. osób prawidłowe zbilansowanie diety jest trudniejsze niż u osób zdrowych ze względu na mniejszą dostępność bezglutenowych produktów zbożowych, jak też często uboższą zawartość składników w produktach na bazie kukurydzy i ryżu.

Niezwykle satysfakcjonujący jest również zapis nt. powodu podjęcia niniejszych badań podany przez Doktorantkę, jak też uwzględnienie metodyki badań *in vivo* w eksperymencie, co uważam za najcenniejszą i wręcz unikatową część pracy badawczej: *„Pieczywo bezglutenowe jest jednym z najczęściej wzbogacanych i badanych produktów specjalnego przeznaczenia żywieniowego, jednakże nadal nie ma spójnych informacji dotyczących biodostępności składników mineralnych z tego produktu. Środowisko naukowe nadal stara się znaleźć rozwiązania poprawiające jakość i wartość odżywczą pieczywa bezglutenowego, (...) choć nadal przeważająca większość doniesień literaturowych skupia się nad poprawą cech strukturalnych i reologicznych pieczywa bezglutenowego."*

Celem głównym badań w przedstawionej do recenzji dysertacji była weryfikacja tezy, iż wartość odżywcza chlebów oraz zawartość wybranych składników mineralnych, jak też biodostępność składników mineralnych oceniona w badaniach modelowych *in vitro* i *in vivo* zależy od rodzaju zastosowanej do wypieku mąki (gryczana, ryżowa) oraz dodatku naturalnego (mak, mleko w proszku, mieszanka nasion, mieszanka mąk, żółtko jaja) lub syntetycznego (w formie związków organicznych - mleczan wapnia, mleczan magnezu, glukonian żelaza, glukonian cynku, glukonian miedzi; lub w formie związków nieorganicznych – węglan wapnia, węglan magnezu, siarczan żelaza, siarczan cynku, siarczan miedzi). Składniki w formie związków organicznych lub nieorganicznych dodawano w ilości zbliżonej do ich zawartości w chlebach na bazie dodatków naturalnych. Cel pracy został przedstawiony precyzyjnie i łączy się w logiczną całość z rozdziałem Wstępu.

W realizacji celów szczegółowych wykonano: (1) opracowanie receptur chlebów bezglutenowych wzbogacanych w naturalne i syntetyczne dodatki w dwóch wariantach chlebów bezglutenowych, tj. z zastosowaniem mąki ryżowej oraz z zastosowanie mąki gryczanej, (2) analizę wartości odżywczej pozyskanych produktów bezglutenowych, (3) ocenę biodostępności w warunkach modelowych doświadczeń *in vitro* i *in vivo* wybranych składników mineralnych z zaprojektowanych chlebów.

W pracy nie zawarto ogólnego dla całości badań schematu, co ułatwiłoby czytelność badań.

Weryfikacji również wymagają drobne uchybienia zapisane w manuskrypcie pracy przed Doktorantkę zawarte w Streszczeniu i Wstępie typu:

- „*po przeprowadzeniu trawienia in vitro stwierdzono spadek zawartości składników mineralnych we wzbogaconym pieczywie*" (str. 6) - zapewne myślano o możliwej do oznaczenia ilości, czyli zmniejszeniu dostępności z produktu (proszę o opinię),
- „*chleb (...) jest głównym źródłem (...) wapnia*" (str. 11) - główne źródło wapnia w diecie stanowi mleko i produkty mleczne – w 70-80% (proszę o opinię),
- „*poza składem produktu ważna jest jego wartość odżywcza*" (str. 12) - skład produktu opisuje wartość odżywczą produktu, co zawarto w tabelach *Wartości odżywczej wybranych produktów spożywczych i potraw*,
- „*składnikami mineralnymi określa się (...) ok. 30 pierwiastków, których organizm ludzki nie jest w stanie sam wytworzyć*" (str. 14) - żaden organizm nie wytwarza pierwiastków,
- „*na wzrost wchłaniania* (żelaza) *wpływa (...) etanol*" (proszę o wyjaśnienie), (...) „*na spadek wchłaniania (...) papierosy*" (proszę o wyjaśnienie) (str. 15).

Biorąc pod uwagę, iż praca doktorska składa się z już opublikowanych, a uprzednio weryfikowanych przez recenzentów do prestiżowych czasopism artykułów, dobór metod badawczych, jak też materiał i metody oraz wyniki badań, w tym ich przedstawienie, jak też dyskusja wyników - nie budzą zastrzeżeń. Praca doktorska jest dobrze zaplanowanym, przeprowadzonym i opisanym zbiorem tematycznie spójnych prac badawczych, wykonanym z wykorzystaniem nowoczesnych procedur i metod badawczych o szerokim zakresie oznaczeń, często analitycznie złożonych, w tym przeprowadzeniu doświadczenia na zwierzętach i opracowaniu statystycznym wyników z wykorzystaniem aktualnych metod. Doktorantka prawidłowo przeanalizowała, zinterpretowała i przedyskutowała wyniki. Dobór piśmiennictwa do prac należy uznać za właściwy. Czytelność pracy w języku polskim ułatwiłoby podanie skrótowo wypunktowanych głównych wniosków po opisie wyników zawartych w poszczególnych publikacjach (str. 29-37), choć krótkie streszczenia i podsumowania zawarto w każdym z artykułów w języku angielskim.

Elementami, które mógłby ew. uzupełnić badania w są:

- ocena sensoryczna zaprojektowanych produktów,
- ocena poprawy spożycia składników mineralnych z dietą z wybranymi produktami (jaki procent normy może pokrywać spożycie wybranych składników mineralnych z zaprojektowanymi produktami i o ile może poprawiać ogólne spożycie wybranych składników mineralnych przez pacjentów, przy znacząco mniejszym spożyciu pieczywa przez ludzi niż zastosowano w badaniu *in vivo)*,
- ocena poprawy stanu odżywienia wybranymi składnikami mineralnymi pacjentów z nietolerancją lub nadwrażliwością na glutenu, po spożyciu wybranych produktów – choć składniki mineralne we krwi osób zdrowych są w dużej mierze regulowane hormonalnie, a krew nie jest najbardziej miarodajnym medium do ich oznaczenia. Ponadto Doktorantka przedstawiła analogiczne badanie w swojej dysertacji, choć szczury nie były obciążone negatywną reakcją na gluten) (proszę o interpretację czy podobnych wyników można się spodziewać u ludzi, jak w opisie badań *in vivo*).

Przygotowaną rozprawę doktorską kończą wnioski, które są syntetycznym podsumowanie całości badań, jak też syntetycznym podsumowanie etapów *in vitro* i *in vivo*.

Za szczególnie ważne uważam wyniki badań *in vivo*, oceniające iż wyższa zawartość wapnia i magnezu w chlebach bezglutenowych nie wpłynęła na ogólne parametry żywieniowe ani zawartość tych składników we krwi szczurów, a zastosowane dodatki miały wpływ na zawartość tych pierwiastków w wybranych narządach oraz że ilość żelaza, cynku i miedzi

występująca w narządach i krwi szczurów zależała w badaniach *in vivo* od spożycia chlebów bezglutenowych (proszę o interpretację tych stwierdzeń).

W manuskrypcie pracy zabrakło zdania kończącego jaki typ pieczywa dedykowanego osobom z nietolerancją lub nadwrażliwością na glutenu, o określonych niedoborach składników mineralnych, mógłby być szczególnie polecany z produktów zaprojektowanych i ocenianych w pracy.

Wniosek końcowy

Na podstawie dokonanej oceny stwierdzam, iż rozprawa autorstwa mgr inż. Anny Rogaskiej pt. *„Opracowanie receptury chlebów bezglutenowych wzbogacanych w wybrane składniki mineralne i ocena ich biodostępności w układach modelowych in vitro i in vivo"* spełnia wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora, ma istotne walory poznawcze i jest na wysokim poziomie naukowym, a podjęty temat badawczy ma znaczenie w wymiarze poznawczym i aplikacyjnym dla nauki zajmującej się badaniem zagadnień związanych z żywnością i żywieniem. Przedłożona do oceny rozprawa jest opracowaniem oryginalnym, prawidłowo przygotowanym, spełniającym wymogi określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (opublikowanej w Dz.U. 2003 nr 65. poz. 595, z późn. zm.) oraz Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2014, poz. 1383, z późn. zm.). Biorąc powyższe pod uwagę stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr inż. Anny Rogaskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego celem nadania stopnia naukowego doktora.