

dr hab. inż. Tomasz Tarko, prof. URK  
Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii  
Wydział Technologii Żywności  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kraków, 17.11.2023 r.

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj, pt. „Jakość odżywcza i prozdrowotna makaronów z pszenicy durum wzbogaconych suszem z grzybów posiadających udokumentowany potencjał prozdrowotny”, wykonanej w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii. Promotor: dr hab. Urszula Złotek, profesor uczelni, promotor pomocniczy: dr Maciej Combrzyński, opiekun pomocniczy: mgr inż. Marta Czajka.

### **Podstawa formalna wykonanie recenzji rozprawy doktorskiej**

Podstawą formalną opracowania recenzji jest pismo Pana prof. dr hab. Waldemara Gustawa, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 02 października 2023 r. z prośbą o przygotowanie oceny ww. rozprawy doktorskiej i stwierdzenie czy odpowiada ona wymogom stawianym tego typu rozprawom, w myśl Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym, z dnia 20 lipca 2018 r.

### **Problematyka badawcza pracy**

Coraz bardziej intensywny styl życia, narażenie na liczne stresy i czynniki środowiska negatywnie wpływające na zdrowie ludzi, brak czasu i niewłaściwe odżywianie generuje występowanie przewlekłych chorób niezakaźnych (m.in. otyłości, cukrzyca). Czynnikiem wpływającym na te schorzenia są często wolne rodniki oraz reaktywne formy tlenu i azotu.

Z drugiej strony obserwuje się zwiększenie dbałości o zdrowie, polegające m.in. na aktywności fizycznej i uprawianiu amatorsko różnych dyscyplin sportowych. Wyraźnie wzrasta także świadomość ludzi w aspekcie składu żywności i jego wpływie na zdrowie. Konsumentów zwracają coraz większą uwagę na zapisy umieszczone na etykietach produktów spożywczych, szczególnie za negatywnie postrzegają obecność sztucznych dodatków utrwalających. Bardzo ważne jest także szukanie w składzie żywności o wysokim potencjale odżywczym oraz komponentów prozdrowotnych (związków o właściwościach przeciwrodnikowych, witamin, minerałów).

Wychodząc na przeciw oczekiwaniom konsumentów producenci żywności starają się wprowadzać na rynek niskoprzetworzone produkty spożywcze, zawierające składniki o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj doskonale wpisuje się w tą problematykę. Dotyczy doświadczeń nad wprowadzeniem do makaronów – produktów spożywczych chętnie spożywanych na całym świecie – dodatku grzybów o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych. Autorka skupiła się na optymalizacji receptury makaronów i ich ocenie zarówno jakościowej jak również sensorycznej. Wybór tematu uważam za trafny i bardzo aktualny z punktu widzenia zdrowotnego i społecznego. Na szczególne podkreślenie zasługuje aplikacyjny charakter pracy, polegający na wdrożeniu receptury w zakładzie przemysłowym.

### **Formalna ocena pracy**

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj pt. „Jakość odżywcza i prozdrowotna makaronów z pszenicy durum wzbogaconych suszem z grzybów posiadających udokumentowany potencjał prozdrowotny” stanowi zbiór czterech spójnych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w języku angielskim, w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Artykuły przeszły proces wydawniczy i były już recenzowane.

1. Złotek U., Combrzyński M., Szydłowska-Tutaj M.: Influence of addition of mushroom powder to semolina on proximate composition, physicochemical properties and some safety parameters of material for pasta production, *LWT*, 2021, 151, 112235. IF – 6,056, MEiN – 100.
2. Szydłowska-Tutaj M., Złotek U., Wójtowicz A., Combrzyński M.: The effect of the addition of various species of mushrooms on the physicochemical and sensory properties of semolina pasta, *Food & Function*, 2022, 13, 8425-8435. IF – 6,0, MEiN – 100.
3. Szydłowska-Tutaj M., Szymanowska U., Tutaj K., Domagała D., Złotek U.: The Addition of Reishi and Lion's Mane Mushroom Powder to Pasta Influences the Content of Bioactive Compounds and the Antioxidant, Potential Anti-Inflammatory, and Anticancer Properties of Pasta, *Antioxidants* 2023, 12, 738. IF – 7,0, MEiN – 140.
4. Szydłowska-Tutaj M., Szymanowska U., Tutaj K., Domagała D., Złotek U.: Influence of Addition of Dried Maitake and Enoki Mushrooms on Antioxidant,



Potentially Anti-Inflammatory, and Anti-Cancer Properties of Enriched Pasta, Applied Science, 2023, 13, 8183. IF – 2,7, MEiN – 100.

Sumaryczny Impact Factor publikacji wynosi 21,856 punktów oraz 440 punktów wg. komunikatu Ministerstwa Edukacji i Nauki. Wszystkie artykuły są współautorskie i Doktorantka we wszystkich pracach złożyła stosowne oświadczenia, według których Jej udział wynosi 60% (pozycje 2-4) lub 70% (pozycja 1). Wkład Pani mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj polegał na opracowaniu koncepcji pracy, udziału w opracowaniu założeń metodycznych, wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu wyników badań, redagowaniu manuskryptu oraz udziału w korekcie po recenzjach. W mojej ocenie Doktorantka spełnia warunki stawiane kandydatom na stopień doktora, tj. opanowanie umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i przygotowanie rozprawy doktorskiej w postaci zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych. Praca od strony formalnej nie budzi zastrzeżeń.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Praca doktorska powstała w ramach projektu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (DWD/3/58/2019), w ramach programu Doktorat Wdrożeniowy. Realizacja projektu dawała możliwości wykonania kosztochłonnych i pracochłonnych badań, prowadzony przez zespół badawczy.

**Tytuł** rozprawy doktorskiej został sformułowany poprawnie i odpowiada zakresowi wykonanych przez Doktorantkę badań oraz odzwierciedla treści zawarte w publikacjach stanowiących cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

**Wstęp**, stanowiący formalnie przegląd literatury, obejmuje 17 stron i bardzo dobrze wprowadza czytelnika w tematykę badawczą. Autorka przedstawiła makaron jako potencjalny produkt fortyfikacji w składniki o właściwościach prozdrowotnych, przede wszystkim ze względu na jego duże spożycie na całym świecie i długi termin przydatności, ze względu na niską aktywność wodną. Opisała także bardzo dokładnie skład grzybów o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych i leczniczych, wykorzystywanych we własnych badaniach. Ta część pracy napisana jest bardzo dobrze, jednak zawiera nieliczne błędy. Nie stosuje się pojęcia „choroby cywilizacyjne”, a opisywane przez Doktorantkę schorzenia noszą nazwę przewlekłe choroby niezakaźne. *Proszę o wyjaśnienie pojęcia „aktywny polisacharyd” (strona 13) w odniesieniu do błonnika pokarmowego.* Ponadto w części tabeli, wykresów i rysunków nie podano źródła ich pochodzenia.

W pracy przedstawiono jedną **hipotezę badawczą** i zdaniem recenzenta jest poprawnie sformułowana. Główny **cel pracy** doktorskiej został dobrze określony i obejmował „opracowanie receptury makaronów z semoliny z dodatkiem suszu z wybranych grzybów (Lion's Mane, Reishi, Enoki, Maitake) oraz określenie wpływu dodatku suszu z wybranych grzybów do makaronu z pszenicy durum na jakość sensoryczną, cechy fizykochemiczne oraz właściwości odżywcze i prozdrowotne wytworzonych produktów” Cel został uzupełniony o 4 cele szczegółowe, które bardzo dobrze odpowiadają zakresowi pracy i są spójne z publikacjami, stanowiącymi podstawę niniejszej pracy doktorskiej. W tej części nasuwa się jedna uwaga – nie powinno stosować się zamiennie ocena sensoryczna i organoleptyczna.

Kolejny rozdział – „**Materiały i metody**”, zawarty w stronach 26-35, opisuje surowce do produkcji makaronów i użyty susz z wybranych grzybów oraz recepturę wytwarzania fortyfikowanych makaronów. Metodologia badawcza została dobrze przemyślana i właściwie dobrana, co z uwagi na szeroki zakres badań oraz różnorodność przeprowadzonych testów jakościowych, z pewnością nie było łatwym zadaniem. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania zostały zaplanowane w sposób logiczny, a ich zakres został opisany zrozumiale i skrupulatnie. Bardzo proszę o wyjaśnienie kilku kwestii metodycznych:

- *Rozdział 5.5. F – czy oprócz Salmonelli i gronkowca badano OLB (ogólna liczba bakterii) i OLD (ogólna liczna drobnoustrojów) – te analizy pozwalają łatwo ocenić ogólną czystość mikrobiologiczną?*
- *Rozdział 5.5. G – w jaki sposób określano jakościowo i ilościowo badane związki po analizie chromatograficznej?*
- *Rozdział 5.5. H – czy w testach antyrodnikowych badano sam PBS, etanol oraz próbę „0” po trawieniu in vitro?*
- *Rozdział 5.5. I – czy przeprowadzono testy dla samego etanolu i PSB w ocenie właściwości przeciwzapalnych?*

Rozdział „**Omówienie wyników i dyskusja**” został przedstawiony na 26 stronach. Zawiera 3 główne podrozdziały odpowiadające publikacjom stanowiącym podstawę pracy doktorskiej, a zamieszone odnośniki odsyłają czytelnika do właściwych tabel i rysunków w tych publikacjach, w celu weryfikacji pełnych wyników. Rozdział został zredagowany dobrze pod względem merytorycznym, a także jakości użytych opisów i sformułowań. W większości przypadków właściwie przeprowadzono także dyskusję w odniesieniu do badań innych autorów.

W pierwszej kolejności Doktorantka przedstawiła wyniki podstawowych parametrów jakościowych ciast makaronowych uzyskanych przez zastąpienie części mąki suszem z



badanych grzybów, w dawkach od 2,5 do 10%. Wykazała też, że ciasta z dodatkiem suszy z grzybów charakteryzują się ciemniejszą barwą, w odniesieniu do kontroli, co może mieć negatywny wpływ na akceptowalność konsumencką. Wszystkie badane próby ciast były wolne od mikroorganizmów patogennych (*Salmonella* i gronkowce) oraz zanieczyszczeń metalami ciężkimi. Zdaniem Autorki przeprowadzone testy dla ciast makaronowych nie wykluczają żadnego z nich z dalszych testów.

Dalej z ciast zostały wykonane makarony i ocenione pod względem wartości odżywczej, właściwości fizycznych, tekstury, właściwości kulinarnych i cech organoleptycznych. Doktorantka wykazała, że zastąpienie części semoliny suszem grzybowym zwiększa ilość białka nieglutenowego i błonnika, kosztem węglowodanów. Dodatek suszu grzybowego do ciast makaronowych zwiększył straty masy podczas gotowania (CL), co było zależne od gatunku grzybów i ich dawki, ale nie zmienił optymalnego czasu gotowania (OTC). Autorka dowiodła też znaczny wpływ fortyfikacji makaronów suszem grzybowym na współczynnik rozpuszczalności wodnej suchej masy (WSI), przy braku zmian dla współczynnika wodochłonności (WAI). Kluczowe znaczenia miały wyniki oceny sensorycznej i analiza barwy makaronów. Doktorantka udowodniła, że dodatek 7,5 oraz 10% grzybów Lion's Mane i Reishi negatywnie wpłynął na wyniki oceny sensorycznej nadając makaronom gorzki i nieprzyjemny smak. Fortyfikacja ciasta suszem z grzybów sprawiała, że makarony wykazywały wzrost parametru odpowiedzialnego za odcień czerwony i były ciemniejsze, szczególnie w przypadku grzybów Reishi, a w mniejszym stopniu Maitake. Właściwości teksturalne makaronów zmieniły się zwykle w kierunku spadku twardości i wzrostu elastyczności. Z dalszych badań Autorka wyeliminowała makarony z dodatkiem 7,5 oraz 10% grzybów Lion's Mane i Reishi.

Ważnym celem pracy było określenie zawartości związków bioaktywnych i właściwości prozdrowotnych makaronów fortyfikowanych suszem grzybowym. Oceniano zawartość związków fenolowych ogółem (TPC), flawonoidów (TFC) i kwasów fenolowych (PAC) w ekstraktach i próbach poddanych symulowanemu trawieniu *in vitro* (GID). Doktorantka wykazała, że prawie wszystkie badane wyróżniki były najwyższe w próbach po symulacji trawienia. Zwykle wzrost udziału suszu grzybowego zwiększał zawartości TPC i TFC w ekstraktach etanolowych i PBS, nie wpływając istotnie w przypadku prób po trawieniu (GID). Autorka zauważa (str. 52), że „próby makaronu wzbogaconego grzybami Enoki i Maitake wykazywały wyższą zawartość PAC (z wyjątkiem E10 i M2,5), w porównaniu do próby kontrolnej”, a jak wynika z tabeli 1 PIV próba E7,5 ma najniższą wartość badanego



parametru. Ponadto, jak wynika z rezultatów analizy statystycznej, różnice opisywane w pracy nie są istotne statystycznie w całej rozciągłości PAC. **Proszę o komentarz.**

Doktorantka dokonała także bardzo pracochłonnej analizy profilu związków polifenolowych w makaronach poddanych wcześniejszej ekstrakcji, a także symulowanemu trawieniu. Wykazała istotne zmiany w profilu tych cennych związków prozdrowotnych, zależne od zastosowanego gatunku grzybów oraz dawki. Oceniała także, na podstawie trawienia *in vitro*, potencjalną biodostępność konkretnych związków fenolowych w makaronach. Wszystkie uzyskane wyniki bardzo dobrze zestawiała z literaturą przedmiotu, umiejętnie korzystając z dostępnych publikacji. ***Nasuwa się tutaj pewne spostrzeżenie: wartości związków fenolowych ogółem (TPC), flawonoidów (TFC) i kwasów fenolowych (PAC) w ekstraktach były około 10 razy niższe, niż w próbach poddanych symulowanemu trawieniu in vitro (GID), ale wyniki oceny profilu związków fenolowych są niejednokrotnie wyższe w ekstraktach, niż w próbach po trawieniu. Czy jest Pani w stanie to wyjaśnić?***

Dalsze testy dotyczyły oceny aktywności antyoksydacyjnej makaronów fortyfikowanych suszem grzybowym. Doktorantka wykonała szereg testów (ABTS, DPPH, CHP, RP) w próbach makaronów ekstrahowanych etanolem, PBS i poddanych trawieniu *in vitro*. Ten bardzo duży zakres pracy poparała wyczerpującym omówieniem wyników i ich dyskusją z literaturą przedmiotu. Autorka podaje, że w większości przypadków zastąpienie części mąki pszennej suszem grzybowym zwiększa potencjał przeciwutleniający makaronów. Jednak, jak wynika z tabel w pracach III i IV, wiele z nich nie było istotnie statystycznie. Obserwuje się ponadto, podobnie jak przy zawartości związków fenolowych w próbach makaronów, wysokie wartości potencjału antyoksydacyjnego prób po symulacji trawienia. Aktywność antyoksydacyjna prób zwykle koreluje z zawartością związków fenolowych. ***Czy może Pani wyjaśnić mechanizm znacznego wzrostu potencjału antyoksydacyjnego prób po trawieniu w stosunku do prób ekstrahowanych?***

Bardzo ważne jest wykazanie potencjalnych właściwości prozdrowotnych, analizowane w recenzowanej pracy. Autorka wykonała test LOXI (hamowania lipooksygenazy) i COXI (hamowania cyklooksygenazy). Wykazała istotny wpływ wybranych dodatków grzybów do makaronów na zwiększenie potencjału prozdrowotnego w teście hamowania lipooksygenazy oraz znaczenie symulowanego trawienia na ten potencjał. Doktorantka bardzo dobrze zweryfikowała swoje rezultaty z wynikami innych badaczy, podczas dyskusji uzyskanych wyników. ***Tylko ciekawość recenzenta pozwala na zadanie kolejnego pytania. Podaje Pani, że za aktywność przeciwzapalne odpowiadają związki fenolowe – czy może Pani pokusić się***



***o podanie, które ze zidentyfikowanych związków mają największy wpływ na potencjał przeciwwzapalny badanych makaronów?***

Zwieńczeniem rozdziału „Omówienie wyników i dyskusja” jest test oceny właściwości przeciwnowotworowych prób makaronów poddanych trawieniu *in vitro*. Jednak rezultaty nie wykazały istotnych statystycznie różnic w odniesieniu do próby kontrolnej, mimo obecności związków fenolowych o potencjalnych właściwościach antykancerogennych.

Reasumując ocenę rozdziału „Omówienie wyników i dyskusja” pragnę zwrócić uwagę na bardzo szeroki zakres badań wykonany przez Doktorantkę. Otrzymane wyniki zostały dobrze zinterpretowane, z uwzględnieniem stanowiska krytycznego. Czasami należało, zdaniem recenzenta, zwrócić baczniejszą uwagę na poziom istotności statystycznej wyników. Zdolność do właściwej interpretacji tak dużej ilości wyników wskazuje, że Autorka posiada doświadczenie przydatne do planowania i realizacji badań naukowych, a także interpretacji otrzymanych wyników, co jest oczekiwane od osób ze stopniem doktora. Doktorantka w sposób dojrzały skonfrontowała własne wyniki z doniesieniami wcześniej publikowanymi przez innych badaczy. Na uwagę zasługuje obiektywizm weryfikacji własnych wyników z obserwacjami innych autorów, szczególnie, że doniesień o podobnych badaniach jest bardzo mało. Pozwoliło to na wskazanie nowości w tej pracy doktorskiej.

Na podstawie uzyskanych rezultatów Autorka sformułowała 9 wniosków, które podsumowują najważniejsze etapy badań i wyniki uzyskane w niniejszej pracy. **Wnioski** są prawidłowo opracowane i zgodne z postawioną hipotezą badawczą i celami pracy. Na szczególne podkreślenie zasługuje wytypowanie optymalnej, zdaniem Autorki, receptury makaronu fortyfikowanego suszem grzybów Maitake w dawce 10%, w stosunku do mąki z pszenicy durum i określenie jego najlepszych cech. Recepturę tę do produkcji wdraża firma PZZ Lubella Sp. z o. o.

Zwieńczeniem rozprawy doktorskiej jest **bibliografia**. Autorka skorzystała ze 155 pozycji literaturowych, w przytłaczającej większości z ostatnich 15 lat. Większość cytowanych pozycji pochodzi z renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym. Prawie wszystkie pozycje zacytowane są poprawnie. W niektórych przypadkach nie stosowano spójności nazw czasopism (pozycja 67 i 71), w pozycjach 76 i 121 brakuje nazw czasopism, z których pochodzi artykuł.

W polskiej wersji pracy znajdują się błędy stylistyczne, interpunkcyjne i skróty myślowe, niewystępujące w oryginalnych pracach opublikowanych w czasopismach i niemające wpływu na oryginalność i naukowy poziom niniejszej rozprawy.

## **Wnioski końcowe**

Praca doktorska Pani mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj, pt. „Jakość odżywcza i prozdrowotna makaronów z pszenicy durum wzbogaconych suszem z grzybów posiadających udokumentowany potencjał prozdrowotny” jest bardzo wartościowym opracowaniem naukowym o charakterze poznawczym i aplikacyjnym, stanowiącym oryginalne rozwiązanie aktualnego problemu naukowego. Zrealizowane badania, ze względu na szeroki zakres danych wykorzystanych do analiz, były bardzo pracochłonne. Poprawny układ doświadczenia i umiejętne zestawienie licznych danych świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu metodycznym, dużej wiedzy z tego zakresu i dobrej organizacji. Mimo skomplikowanego charakteru pracy oraz znacznej ilości uzyskanych wyników Doktorantka wykazała się umiejętnością poprawnej ich interpretacji, zrealizowała wszystkie założone cele, zaś zastosowane metody dowodzą dobrego opanowania przez Nią trudnego warsztatu badawczego. Zamieszczone w recenzji uwagi nie umniejszają wartości przedstawionej do oceny rozprawy.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska wykonana przez Panią mgr Magdalенę Szydłowską-Tutaj spełnia, w mojej opinii, warunki stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia przez obowiązujące przepisy określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr Magdaleny Szydłowskiej-Tutaj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. inż. Tomasz Tarko, prof. URK

