

Dr hab. lek. Dariusz Włodarek, prof. Uczelni

Warszawa, 08.11.2023

Katedra Dietetyki

Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

### **Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Jańczuk-Grabowskiej pt:**

**„Zastosowanie laktoferyny jako składnika o szczególnych właściwościach prozdrowotnych w żywieniu osób o określonym profilu genetycznym”**

przygotowanej w Katedrze Oceny Jakości i Przetworów Produktów Zwierzęcych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz w Vitagenum Sp. z o.o. w ramach Programu MNiSW (MEiN) „Doktorat Wdrożeniowy” (0029/DW/2018) pod promotorstwem dr hab. Anety Brodziak, prof. Uczelni i opieką dr inż. Tomasza Czerneckiego.

#### **Podstawa wykonania recenzji**

Podstawą wykonania recenzji było pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prof. dr hab. Waldemara Gustawa z dnia 02 października 2023 roku. Przedmiotem recenzji jest ocena czy przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania ustawowe określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz. 1668 z późn. zmianami).

#### **Uzasadnienie podjęcia tematu**

Choroby cywilizacyjne, w tym otyłość, dotyczą coraz większej liczby osób na całym świecie. Dlatego też poszukiwanie składników pokarmowych, które mogą mieć znaczenie w ich zapobieganiu i leczeniu jest zagadnieniem istotnym dla zdrowia publicznego. Jednym, ze składników pokarmowych mogącym mieć znaczenie w leczeniu otyłości jest laktoferyna. Jest ona dostępna na rynku głównie jako składnik farmaceutyków. Natomiast zgodnie z rozporządzeniem Komisji (UE) z 2018 roku dopuszczono jej stosowanie w określonych kategoriach żywności, w tym jogurtach, które jako składnik codziennej diety mogą stać się jej istotnym źródłem pokarmowym. Jednocześnie mała jest liczba badań oceniających skuteczność jej przyjmowania w formie fortyfikowanych produktów na rozwój otyłości, zwłaszcza u osób o określonym profilu genetycznym. Uważam zatem, że podjęcie przez Doktorantkę badań stanowiących przedmiot jej rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej uzasadnione, aktualne oraz istotne dla zdrowia publicznego.



### **Ocena formalna pracy**

Ocenianą pracę stanowi zbiór trzech, powiązanych tematycznie, publikacji badawczych. Ukazały się one w 2022 i 2023 roku w czasopiśmie znajdujących się na liście czasopism Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Dwie z nich ukazały się w czasopiśmie *Foods* (IF= 5,200; MEiN = 140 pkt) i jedna w czasopiśmie *Animals* (IF = 3,000; MEiN = 100 pkt).

Publikacjom towarzyszy przygotowane przez Doktorantkę opracowanie zawierające wykaz prac stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej (1 strona), streszczenie w języku polskim i angielskim (4), wstęp uzasadniający podjęcie tematyki badawczej (2), hipotezy badawcze i jej cele (2), rozdział opisujący strukturę przeprowadzonych badań (3), opis metod i materiału do badań (11), opis wyników wraz z dyskusją (49), wnioski (2), wykaz skrótów (2), wykaz piśmiennictwa oraz plan żywieniowy opracowany oddzielnie dla kobiet i mężczyzn. Do pracy dołączone są kopie trzech artykułów wchodzących w cykl publikacji w niniejszej rozprawie doktorskiej i oświadczenia poszczególnych autorów o wkładzie w ich powstanie. We wszystkich publikacjach Doktorantka była pierwszą autorką a w jednej również autorką korespondencyjną. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami autorów publikacji uczestniczyła ona we wszystkich etapach przygotowania publikacji do druku zatem można stwierdzić, że jej wkład w ich powstanie był duży i że jest dobrze przygotowana do publikowania uzyskanych przez siebie wyników badań w przyszłości.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Celem głównym pracy było opracowanie i optymalizacja technologii produkcji jogurtu fortyfikowanego laktoferyną a następnie włączenie go do żywienia osób z nadwagą i otyłością o określonym obrazie funkcjonalnym organizmu na podstawie badań DNA oraz biochemicznych i laboratoryjnych. Towarzyszy mu sześć dobrze sprecyzowanych celów szczegółowych pozwalających na jego właściwą realizację. Doktorantka sformułowała 4 hipotezy badawcze a mianowicie:

1. Laktoferyna może być stosowana jako funkcjonalny składnik w produkcji jogurtów naturalnych.
2. Fortyfikacja laktoferyną jogurtów naturalnych nie powoduje znacznej modyfikacji parametrów fizyko-chemicznych, mikrobiologicznych i organoleptycznych produktu gotowego.
3. Jogurty fortyfikowane laktoferyną mogą być wykorzystane jako element dietoterapii osób o określonym profilu genetycznym, cierpiących na nadwagę lub otyłość.
4. Wykorzystanie jogurtu fortyfikowanego laktoferyną w dietoterapii osób o określonym profilu genetycznym wpływa na poprawę parametrów masy ciała i gospodarki węglowodanowej organizmu.

Hipotezy są prawidłowo sformułowane, a przyjęte w rozprawie doktorskiej cel główny i cele szczegółowe pozwalają na ich weryfikację.

Doktorantka w sposób bardzo przejrzysty przedstawiła etapy weryfikacji hipotez badawczych. Etapy te zostały starannie opisane w tabeli 1, w której do każdego z 6 etapów przyporządkowała przewidziane zadania do wykonania oraz sposób prezentacji uzyskanych wyników. W tabeli 2 dodatkowo przedstawiła jakie metody wykorzystano w weryfikacji hipotez badawczych w poszczególnych etapach.

Przygotowane w rozprawie doktorskiej uzasadnienie podjętej tematyki badawczej jest syntetycznym przedstawieniem aktualnego stanu wiedzy na temat laktoferyny, z uwzględnieniem możliwości jej wykorzystania w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym oraz jej właściwości prozdrowotnych w kontekście chorób cywilizacyjnych w tym otyłości z uwzględnieniem jej wpływu na gospodarkę węglowodanową. Zagadnienia te zostały obszernie opisane w przygotowanym przez Doktorantkę wraz ze wsp. artykule *Jańczuk i wsp. Lactoferrin-The Health-Promoting Properties and Contemporary Application with Genetic Aspects. Foods. 2022 Dec 23;12(1):70*, wchodzącym w cykl publikacji. Opracowanie to obejmuje 20 stron maszynopisu, do którego przygotowania wykorzystano 106 pozycji piśmienniczych. Przygotowany przegląd literatury potwierdza dobre przygotowanie autorki niniejszej dysertacji do przeprowadzenia zaplanowanych badań.

### **Materiał i metody badawcze**

Materiałem do badań był jogurt naturalny fortyfikowany laktoferyną oraz jogurt naturalny kontrolny (bez fortyfikacji). Doktorantka bardzo dokładnie opisała poszczególne etapy wytwarzania jogurtu w warunkach laboratoryjnych i przemysłowych. Z należytą starannością opisała zarówno surowiec do produkcji jogurtu jak i metody badawcze wykorzystane do oceny uzyskanego jogurtu. Na podkreślenie zasługuje kompleksowość zastosowanych metod analitycznych. Obejmowały one analizę podstawowego składu chemicznego jogurtu, oznaczenie zawartości laktoferyny, określenie kwasowości, ocenę tekstury, jakości mikrobiologicznej, zdolności zatrzymywania wody, spontanicznej syntezy serwatki powierzchniowej, instrumentalną ocenę barwy, ocenę organoleptyczną.

W celu realizacji kolejnych etapów badania z grupy 135 osób wyłoniono 19 osób spełniających kryteria włączenia. Doktorantka opisała dobór grupy badawczej, metody wykorzystane do genotypowania, sposób wykonania pomiarów antropometrycznych czyli pomiaru obwodu talii, bioder, wysokości i masy ciała, wyznaczenia wskaźnika BMI, stosunku obwodu talii do wysokości (WHtR), zawartości tkanki tłuszczowej (pomiar BIA). Dodatkowym ocenianym parametrem było również stężenie hemoglobiny glikowanej (HbA1c) we krwi. Opisano również sposób przeprowadzenia

interwencji dietetycznej wraz z parametrami jakie spełniał przygotowany 7 dniowy jadłospis. Badanie z udziałem ludzi otrzymało pozytywną opinię komisji bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie.

Metody badawcze dobrane przez Doktorantkę pozwalają na realizację celów badawczych. Zostały one opisane z należytą starannością. Metody statystyczne zostały dobrane właściwie i poprawnie opisane.

W opinii recenzenta, realizacja tak szerokiego zakresu badań wskazuje na dużą umiejętność Doktorantki zarówno w zakresie przygotowania nowatorskiej koncepcji badań, jak również doboru metod badawczych pozwalających na weryfikację hipotez badawczych.

Prosił bym jednak o uzupełnienie następujących informacji:

1. Do badania włączono łącznie 19 osób, jednak nie podano informacji ile osób zostało włączonych do poszczególnych ramion badania i jaka była struktura płci w tych podgrupach.
2. Prosił bym o wyjaśnienie, dlaczego przyjęto schemat w którym czas trwania podawania uczestnikom jogurtu kontrolnego wynosił 7 dni, podczas gdy jogurt z laktoferyną był podawany przez 21 dni.
3. Brakuje informacji tłumaczących przyjęcie do obliczenia całkowitego wydatku energetycznego wskaźnika aktywności fizycznej  $PAL = 1,2$  (mała aktywność fizyczna). Jaką metodę wykorzystano do jego ustalenia.

### **Wyniki i dyskusja**

W przygotowanym opracowaniu Doktorantka chronologicznie przedstawiła uzyskane w kolejnych etapach wyniki. Rozpoczyna od przedstawienia wyników badań dotyczących zastosowania laktoferyny jako funkcjonalnego dodatku do produkcji jogurtu naturalnego, a mianowicie wyniki dotyczące jakości laktoferyny zastosowanej do fortyfikacji jogurtu, jakości jogurtu wytworzonego w warunkach laboratoryjnych a następnie wytwarzanego w skali przemysłowej. W kolejnych rozdziałach prezentuje wyniki dotyczące możliwości wykorzystania jogurtu fortyfikowanego laktoferyną w dietoterapii osób z genetyczną predyspozycją do nadwagi i otyłości. Wyniki zamieszcza w 23 tabelach i na 10 wykresach w sposób czytelny i z właściwym opisem. Opis wyników jest poprawny (choć należy zaznaczyć, że wartości średnie w tekście powinny być podawane wraz z odchyleniem standardowym (np. str. 68). W ostatnim rozdziale przedstawiono analizę korelacji, które to wyniki nie były publikowane wcześniej. Doktorantka w sposób krytyczny dyskutuje wyniki własne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Rozdział ten jest przygotowany starannie z zachowaniem właściwej kolejności przedstawianych wyników, odpowiadającej poszczególnym etapom badania. W tej części pracy widać doskonałą orientację autorki w zagadnieniach w obszarze wiedzy będącym przedmiotem

jej dysertacji. Jeszcze wyraźniej jest to uwidocznione w znacznie szerszej dyskusji przygotowanej w ramach cyklu publikacji.

#### Uwagi do wyników

1. Opracowane przez Doktorantkę wartości energetyczne diet stosowanych przez kobiety i mężczyzn w trakcie interwencji dietetycznej w oparciu o należną masę ciała, związane było z uzyskaniem deficytu energetycznego w stosunku do ich realnych potrzeb wynikających z rzeczywistej masy ciała. Podanie szacunkowej wielkości deficytu energetycznego jest istotne w ocenie skuteczności interwencji dietetycznej. Dlatego uważam, że wartości te powinny być umieszczone w opisie wyników.
2. Proszę o wyjaśnienie dlaczego, zgodnie z danymi zamieszczonymi w tabeli 19, podaż białka przewidziana w diecie interwencyjnej jest mniejsza niż 1g/kg, podczas gdy w założeniach Doktorantka napisała, że podaż ta będzie wynosiła 1,1 g/kg NMC.
3. Czas trwania interwencji dietetycznej jest istotnym czynnikiem wpływającym na wielkość redukcji masy ciała podczas stosowania diety o określonym deficycie energetycznym. Dlatego proszę o wyjaśnienie dlaczego nie przyjęto takich samych przedziałów czasowych podczas stosowania diety redukującej masę ciała z jogurtem kontrolnym i z jogurtem z dodatkiem laktoferyny. W moim przekonaniu zastosowanie różnych przedziałów czasowych w których stosowano dietę z dodatkiem jogurtu naturalnego oraz jogurtu z dodatkiem laktoferyny utrudnia ustalenie w jakim stopniu laktoferyna, jako czynnik dodatkowy, wspomaga redukcję masy ciała. Ponadto w odniesieniu do oceny zmian HbA1c powyższe uwagi również są aktualne. HbA1C określa średni poziom glukozy we krwi z okresu 3 miesięcy. Dlatego w ocenie zmian jej stężenia w wyniku zastosowania interwencji dietetycznej czynnik czasu ma znaczenie.

W przedstawionej dysertacji piśmiennictwo zawiera 113 pozycji, z czego część stanowią normy, natomiast należy zaznaczyć, że ogólna liczba pozycji piśmienniczych w poszczególnych artykułach stanowiących cykl publikacji jest znacząco większa i wynosi: 106 pozycji piśmienniczych w artykule pierwszym, 90 w artykule drugim i 28 w artykule trzecim. Potwierdza to dobrą znajomość przez Doktorantkę osiągnięć innych autorów w obszarze badań, który stał się jej domeną.

#### Wnioski

Przygotowane opracowanie Doktorantka kończy wnioskami. Formułuje 10 wniosków korespondujących z uzyskanymi wynikami. Doktorantka stwierdza między innymi, że badania literaturowe wskazują na możliwość zastosowania laktoferyny we wspomaganiu leczenia chorób cywilizacyjnych. Odpowiednio prowadzony proces wytwarzania jogurtu fortifikowanego laktoferyną

w ilości 80mg/100g nie wpływa niekorzystnie na badane właściwości fizyko-chemiczne, mikrobiologiczne i organoleptyczne jogurtu. Dodatek laktoferyny do jogurtu skutkował istotnymi zmianami w zawartości suchej masy, białka ogółem i laktoferyny, ogólnej liczby bakterii, w wartości parametrów barwy. Okres przechowywania chłodniczego istotnie wpływał na parametry jakościowe jogurtów, a zmiany te wynikały z procesów naturalnych zachodzących w tym czasie, jednak stwierdzono dużą stabilność wytwarzanych jogurtów. Jogurty fortyfikowane laktoferyną wytwarzane w warunkach laboratoryjnych i na skalę przemysłową charakteryzowały się porównywalnymi właściwościami fizyko-chemicznymi, mikrobiologicznymi i organoleptycznymi. Wytypowana do badania interwencyjnego populacja charakteryzowała się wyższą częstością występowania badanych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu SNP niż w populacji europejskiej. Kolejny wniosek dotyczy wykorzystania parametrów antropometrycznych do oceny zawartości tkanki tłuszczowej u kobiet i mężczyzn. Doktorantka stwierdza, że w grupie kobiet najlepiej ocenia jej zawartość obwód uda (czego nie obserwuje w grupie mężczyzn), oraz że redukcja masy ciała wykazuje silną korelację ze zmianami poziomu hemoglobiny glikowanej. Trzy kolejne wnioski dotyczące wykorzystania jogurtu fortyfikowanego laktoferyną w interwencji dietetycznej u osób z określoną predyspozycją genetyczną do otyłości oraz jej przydatności w terapii w zaburzeniach przemiany węglowodanów są adekwatne do uzyskanych i opisanych w pracy wyników. Pragnę jednak zwrócić uwagę, że istotne jest ustosunkowanie się Doktorantki do uwag dotyczących zaplanowanego schematu badania podczas interwencji dietetycznej w celu określenia adekwatności uzyskanych przez nią wyników odnośnie wykorzystania laktoferyny w diecie u osób otyłych.

### **Podsumowanie**

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską Pani mgr Anny Jańczuk-Grabowskiej w skład której wchodzi trzy publikacje opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych oceniam pozytywnie. Wysoko oceniam przygotowany przegląd literatury dotyczący wykorzystania laktoferyny w prewencji schorzeń dietozależnych, w tym otyłości. Za wzorcowe uważam przygotowanie i przeprowadzenie badań dotyczących możliwości zastosowania laktoferyny jako funkcjonalnego dodatku do produkcji jogurtów naturalnych. Pomimo uwag dotyczących schematu interwencji dietetycznej, co do których oczekuję komentarza ze strony Doktorantki, uważam że generalna koncepcja tego etapu badania jest prawidłowa. Należy zaznaczyć, że Doktorantka w przygotowanym opracowaniu nie ograniczyła się tylko do prezentacji już opublikowanych wyników w trzech artykułach stanowiących jednotematyczny cykl publikacji, ale rozszerzyła je o dodatkowe analizy statystyczne nie publikowane wcześniej. Uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Anny Jańczuk-Grabowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jakim było wykorzystanie laktoferyny do fortyfikacji jogurtów naturalnych oraz ich zastosowanie w dietoterapii

osób genetycznie predysponowanych do rozwoju otyłości. Przygotowane publikacje i rozprawa doktorska świadczą o dużej wiedzy Doktorantki w zakresie badanej tematyki, umiejętności identyfikacji oryginalnych problemów badawczych, umiejętności planowania i prowadzenia badań naukowych, krytycznej analizy wyników własnych, odniesienia ich do wyników uzyskanych przez innych badaczy i adekwatnego wnioskowania. Wskazują one również na umiejętność opracowywania i publikowania wyników w renomowanych czasopismach naukowych. Ponadto w przygotowanym opracowaniu Doktorantka umiejętnie zestawiła treści zawarte w cyklu artykułów przedstawiając ich logiczny związek oraz właściwie udokumentowała realizację przyjętego celu badawczego oraz weryfikację hipotez badawczych.

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a jej przygotowanie jako zbiór publikacji w renomowanych czasopismach, świadczy o dobrym przygotowaniu Pani mgr Anny Jańczuk-Grabowskiej do pracy naukowo-badawczej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Anny Jańczuk-Grabowskiej pt. „Zastosowanie laktoferyny jako składnika o szczególnych właściwościach prozdrowotnych w żywieniu osób o określonym profilu genetycznym ” spełnia wymagania ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz. 1668 z późn. zmianami) i stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Anny Jańczuk-Grabowskiej do publicznej obrony.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Dariusz Zolty', with a large, sweeping flourish underneath.

