

Łódź, 04-04-2022 r.

**Dr hab. n. med. prof. U.M. Joanna Sikora**

Kierownik Katedry Chemii Medycznej

i Zakładu Chemii Bionieorganicznej

Wydział Farmaceutyczny

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

### **Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgr Sviatlany Pankavec**

**pt.: „Proces litowania pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) różnymi solami litu na podłożu – gromadzenie, wpływ przetwarzania i uwalnianie litu in vitro”**

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Sviatlany Pankavec została zrealizowana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Jerzego Falandysza. Funkcję promotora pomocniczego pełniła dr hab. prof. UG Dagmara Strumińska-Parulska. Z informacji zawartych na str. 2 dysertacji wynika, że część badań Doktorantka zrealizowała w ramach stażu, który odbyła w Zakładzie Analizy Śladowej Wydziału Chemii Adama Mickiewicza w Poznaniu. Ponadto, badania zostały częściowo sfinansowane z środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu badawczego PRELUDIUM pt. „Badania bionagromadzenia litu przez pieczarkę dwuzarodnikową (*Agaricus bisporus*) z podłoża wzmocnionego w sole tego pierwiastka wraz z analizą oddziaływań współzależnych z kationami innych metali, wpływu procesu przetwarzania owocników i oceną biodostępności oraz występowania litu w wybranych gatunkach krajowych grzybów jadalnych rosnących dziko” projekt nr UMO-2013/11/N/NZ7/01240.

## Zasadność podjęcia tematu oraz ocena formalna pracy

Chociaż lit (Li) nie jest niezbędnym składnikiem odżywczym dla ludzi, przez wielu badaczy zostało udowodnione, że niskie spożycie Li z dietą w populacji, może wiązać się ze zwiększonymi wskaźnikami samobójstw i zabójstw, zwiększoną liczbą zachowań agresywnych, zwiększoną liczbą zaburzeń jednobiegunowych i dwubiegunowych i występowaniem ostrej manii. Z drugiej strony, Li od lat uważany jest za skuteczny środek farmakologiczny stosowany w leczeniu zaburzeń psychobehawioralnych. Korzystny efekt leczenia litem i profilaktyki pewnych zachowań można osiągnąć już przy niższych dawkach, dlatego współczesna psychiatria zachęca do rozważenia bio-wzmacniania żywności litem w celu zwiększenia jego spożycia wraz z normalną dietą. Koncepcja agronomicznego bio-wzmacniania upraw za pomocą Li jest wciąż mało zbadana i istnieje ograniczona liczba badań, skupiających się głównie na warzywach lub grzybach. Wynika z nich, że rośliny mogą gromadzić znaczne ilości Li w swoich jadalnych tkankach bez utraty plonów i negatywnych skutków związanych z ich jakością. Potencjalne stężenie Li w tkankach może osiągnąć poziom, przy którym spożycie 100-200 g świeżych warzyw lub grzybów wzbogaconych w Li może wypełnić zalecane spożycie tego pierwiastka (RDA - Recommended Dietary Allowances). Zgodnie z obecnie dostępnymi badaniami, niemożliwe wydaje się wzbogacenie roślin w Li do poziomów pozwalających na ich zastosowanie w leczeniu psychiatrycznym, co wymagałoby stosowania dawki 600–1800 mg dziennie. Dlatego istnieje potrzeba udoskonalenia metod i strategii bio-wzmocnienia Li, aby uzyskać specyficzne dla roślin i grzybów stężenie Li w częściach jadalnych, tak aby spożywanie określonej ich ilości mogło zapewnić zalecane zapotrzebowanie Li w diecie. Przegląd aktualnej literatury, jednoznacznie potwierdza zasadność podjęcia przez Doktorantkę niniejszej tematyki oraz wskazuje, że badania dotyczące procesu litowania pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) różnymi solami litu oraz ocena gromadzenia i wpływu przetwarzania pieczarki na uwalnianie litu *in vitro* doskonale wpisuje się w najnowsze trendy naukowe i może wykazać się potencjałem aplikacyjnym.

Przedstawiona do recenzji dysertacja ma typowy układ, charakterystyczny dla prac doktorskich. Została zawarta na 90 stronach klasycznego maszynopisu, składa się z 9 rozdziałów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Krótki wstęp stanowi odpowiednie wprowadzenie w tematykę badawczą oraz w dużej mierze uzasadnia celowość podjętych przez mgr Svatlanę Pankavec badań. W kolejnych rozdziałach Doktorantka postawiła sześć jasno sformułowanych hipotez badawczych oraz przedstawiła bezpośrednio z nich wynikające cele badawcze. Rozdział czwarty stanowi część opisowa, w której Doktorantka bardzo krótko przedstawia charakterystykę pieczarki dwuzarodnikowej oraz rolę litu w przyrodzie i medycynie. Ta część pracy, mimo starannego i przejrzystego opisu zostawia pewien niedosyt. Uważam, że każdy z tych podrozdziałów można było rozwinąć i wzbogacić o aktualne doniesienia, szczególnie jeśli chodzi o informacje dotyczące litu w medycynie i jego roli w leczeniu i prewencji zaburzeń psychobehawioralnych. Autorka skupiła się przede wszystkim na działaniu niepożądanym i toksycznym Li, a w tym miejscu należałoby bardziej zaakcentować korzyści płynące zarówno z odpowiedniego pobrania tego pierwiastka z pokarmem, jak również zastosowania terapeutycznego soli litu w psychiatrii. W tej części pracy dość często pojawia się określenie „skutki uboczne” - zdecydowanie bardziej poprawne byłoby stosowanie sformułowania „działania niepożądane”.

W głównej części pracy Autorka przedstawiła opisy eksperymentów i wyniki analiz w postaci 12 tabel oraz sformułowała 9 wniosków odnoszących się bezpośrednio do postawionych na początku hipotez badawczych. Bardzo obszernym elementem pracy, jest rozdział 8 zawierający 2 załączniki, w których zostały przedstawione wyniki dodatkowych badań przeprowadzonych przez Doktorantkę. Ta część dysertacji zawiera dodatkowo 6 obszernych tabel oraz 6 rycin. Piśmiennictwo zostało sporządzone w kolejności alfabetycznej i dobrze wpisuje się w poruszaną przez Doktorantkę tematykę, zawiera przede wszystkim publikacje z renomowanych czasopism o zasięgu światowym, z ostatnich kilku lat. Potwierdza to, że rozprawa doktorska prezentuje aktualną, ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki z zakresu właściwej, dla prowadzonych przez nią badań, dyscypliny. Pewnym niedociągnięciem w konstrukcji bibliografii jest brak jednolitego formatowania w przypadku cytowań stron internetowych oraz brak dat dostępu do nich.

## Ocena merytoryczna pracy

Doktorantka sformułowała sześć hipotez badawczych, które stały się podstawą do opracowania własnego, oryginalnego projektu stanowiącego rozwiązanie problemu naukowego. W oparciu o zaproponowane hipotezy, zostały wyznaczone cele badawcze, które w dalszej części rozprawy były konsekwentnie realizowane i opisywane. Rozdziały pt.: „Część eksperymentalna” oraz „Wyniki badań i ich omówienie” są zdecydowanie mocną stroną przedstawionej do recenzji pracy. W rozdziale 5, znalazły się bardzo przejrzyste i konkretne opisy kolejno wykonywanych eksperymentów, niejednokrotnie skomplikowanych i wieloelementowych. Opisy poszczególnych etapów są bardzo szczegółowe i dokładne, co może świadczyć o dużym zaangażowaniu i samodzielności Doktorantki w ich realizację.

Po pierwsze, Doktorantka, założyła, że dodanie soli litu do podłoża może mieć wpływ na zawartość tego pierwiastka w owocnikach uprawowej pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus*. Ponadto, podejrzewała, że rodzaj soli litu dodanej do podłoża może determinować zawartość Li nagromadzanego w owocnikach pieczarki. W oparciu o dostępne, dość nieliczne dane literaturowe, można stwierdzić, że obie hipotezy badawcze są zasadne i jak dotąd nie zostały w pełni wyjaśnione.

Po drugie, mgr Sviatlana Pankavec sformułowała koncepcje, że przetwarzanie kulinarne i zastosowane metody mogą mieć zróżnicowany wpływ na zawartość Li w gotowych przetworach z pieczarki, jak również, że rodzaj produktu (przetworu z pieczarek) może determinować stopień uwalniania (pozornej biodostępności) Li w przewodzie pokarmowym człowieka. W dwóch kolejnych hipotezach Doktorantka założyła, że litowanie pieczarki dwuzarodnikowej może być sposobem na uzyskanie produktu spożywczego potencjalnie przydatnego do celów medycznych, jak również, że popularne przetwory z pieczarki dwuzarodnikowej (grzyby konserwowe) dostępne na rynku krajowym, a pochodzące od różnych producentów (dostawców), mogą istotnie różnić się co do zawartości Li i innych pierwiastków metalicznych, metaloidów i niemetali. Również w przypadku tych czterech hipotez, ich podjęcie i realizacja w badaniach doświadczalnych wydaje się być zasadna i racjonalna.

Weryfikację postawionych hipotez Doktorantka rozpoczęła od przeprowadzenia 4 eksperymentów badawczych mających na celu uzyskanie pieczarki litowanej oraz próby kontrolnej stanowiącej materiał odniesienia dla dalszych analiz. W tym celu Doktorantka przeprowadziła uprawę białej pieczarki dwuzarodnikowej na podłożu komercyjnym wzmocnionym różnymi stężeniami i rodzajami soli litu ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{LiNO}_3$ ,  $\text{LiOH}$ ,  $\text{Li}_2\text{O}$ ). Efektem tego było uzyskanie 144 prób zbiorczych pieczarek litowanych oraz prób zbiorczych pieczarek stanowiących materiał odniesienia, które następnie zostały wykorzystane do zbadania wpływu wybranych sposobów przetwarzania kulinarnego (blanszowanie, marynowanie, macerowanie, mrożenie i blanszowanie, mrożenie i marynowanie) na zawartość Li w przetworach. Autorka oceniła także stopień uwalniania (pozornej biodostępności) Li z pieczarek w warunkach *in vitro* zbliżonych do tych istniejących w przewodzie pokarmowym człowieka. W ostatnim etapie oceniła wpływ litowania na nagromadzenie w owocnikach pieczarki aż 21 pierwiastków (Ag, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sr, Tl, U, V i Zn). Dodatkowo Doktorantka zbadała 10 rodzajów popularnych przetworów pieczarki dostępnych na rynku pod kątem zawartości zarówno Li, jak i innych pierwiastków. Realizacja wszystkich tych zadań wymagała nie tylko sprawności w rutynowych działaniach laboratoryjnych, ale także opanowania przez Doktorantkę zaawansowanych technik analitycznych, takich jak technika zimnych par atomowej spektroskopii absorpcyjnej (CV-AAS) zastosowanej do oznaczenia zawartości rtęci czy spektrometru mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej z analizatorem kwadrupolowym (ICP-DRC-MS), która została wykorzystana do analizy zawartości pozostałych pierwiastków. Warto zwrócić uwagę na bardzo dokładny i staranny opis przeprowadzonych procedur, co daje szansę na odtworzenie eksperymentu przez innych badaczy, co niestety nie jest często obserwowaną praktyką w opracowaniach naukowych, w których często część opisująca metodykę jest pobieżna i nie dająca szans na odtworzenie eksperymentu. Kolejnym istotnym elementem, świadczącym o świadomości i dojrzałości naukowej Doktorantki jako eksperymentatora, jest wprowadzenie procedury walidacji zastosowanych metod, m.in. poprzez prowadzenie wewnętrznej kontroli jakości analiz, jak również zastosowania metodyki opracowania wyników i ich analizy statystycznej, co razem stanowi silne potwierdzenie rzetelności uzyskanych wyników badań.

Doktorantka w opisie wyników i wnioskach wykazała, że opracowała skuteczną metodę wzbogacania w lit w procesie uprawy pieczarki dwuzarodnikowej oraz udowodniła, że zarówno ilość, jak i rodzaj soli Li dodanej do podłoża ma wpływ na zawartość tego pierwiastka w owocnikach. Potwierdziła także, że sposób przetwarzania kulinarnego pieczarki ma istotny wpływ na zawartość Li i w zależności od zastosowanej techniki obróbki materiału grzybowego prowadzi do znacznego ubytku Li i innych pierwiastków w produkcie końcowym. W eksperymentach *in vitro* z użyciem sztucznych soków trawiennych (żołądkowego i żołądkowo-jelitowego), udowodniła również, że tylko ok. 30 % Li nagromadzonego w owocnikach pieczarki (zarówno litowanej jak i uprawianej tradycyjną metodą) może być uwalniane z grzyba do światła jelit podczas trawienia żołądkowo-jelitowego.

Rozprawa doktorska mgr Sviatlany Pankavec stanowi istotny wkład w wiedzę o zawartości Li oraz innych pierwiastków w tym: biopierwiastków (Cu, Zn, Se, Mn, Co), pierwiastków toksycznych (Ag, As, Ba, Cd, Hg, Pb, Sr, Tl, U) oraz tych o nieokreślonej roli (Al, Cr, Cs, Ni, Rb, Sr, V) w przetworach z pieczarki dwuzarodnikowej, jako potencjalnego źródła składników mineralnych oraz toksycznych. Stanowi także swoiste kompendium wiedzy na temat procesu litowania pieczarki, wpływu przetwarzania kulinarnego na skład mineralny produktu oraz stwarza możliwość potencjalnego zastosowania procesu litowania do wytwarzania żywności funkcjonalnej, mogącej mieć zastosowanie w profilaktyce zaburzeń psychobehawioralnych, co oczywiście wymaga dalszych pogłębionych badań, w tym także obserwacji o charakterze klinicznym.

Biorąc powyższe pod uwagę, należy podkreślić, że podjęta przez Doktorantkę tematyka badawcza, wpisuje się w światowe trendy naukowe, spełnia kryterium celowości prowadzenia badań oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jak również stwarza szansę na zastosowanie wyników własnych badań naukowych w sferze zarówno gospodarczej, jak i społecznej, dotyczącej produkcji żywności funkcjonalnej oraz wpływu tej żywności funkcjonalnej na zdrowie człowieka.

### Podsumowanie i wniosek końcowy

Reasumując, uważam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Svatlany Pankavec pt.: „Proces litowania pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) różnymi solami litu na podłożu – gromadzenie, wpływ przetwarzania i uwalnianie litu *in vitro*” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w artykule 187.1, punkt 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Zgodnie z zapisem przywołanego aktu prawnego oceniana dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz prezentuje ogólną wiedzę Kandydatki oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne UG o dopuszczenie mgr Svatlany Pankavec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

### Wniosek o wyróżnienie doktoratu

Jednocześnie, po wnikliwej analizie rozprawy doktorskiej oraz ocenie dołączonych do przesłanej dokumentacji dokonań naukowych Doktorantki wnoszę do uprawnionych Członków Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych UG o wyróżnienie recenzowanej pracy.

#### Uzasadnienie:

Niniejsza rozprawa doktorska prezentuje wysoki poziom naukowy, jak również posiada elementy nowości naukowej oraz potencjał aplikacyjny mogący mieć zastosowanie w produkcji żywności funkcjonalnej. Ponadto, Doktorantka posiada znaczący dorobek publikacyjny – jest współautorką 9 publikacji naukowych, opublikowanych w renomowanych czasopiśmie o zasięgu światowym, z czego w pięciu z nich jest pierwszym autorem i są one bezpośrednio związane z tematyką ocenianej rozprawy doktorskiej.

KIEROWNIK  
Katedry Chemii Medycznej  
Wydziału Farmaceutycznego  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
*Joanna Sikora*  
dr hab. n. med. Joanna Sikora  
profesor uczelni