

Rzeszów, 11.11.2024 r.

Prof. dr hab. Marek Koziarowski, dr h.c.
Instytut Biotechnologii
Kolegium Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Rzeszowski

OCENA

rozprawy doktorskiej

mgr inż. Agaty Koziarębskiej

pt.: Wpływ suszenia i kiszenia na wartość odżywczą suszu i kiszonki z dyni oraz ocena ich właściwości odżywczych i prozdrowotnych w badaniach na szczurach i krowach mlecznych.

Recenzja została wykonana na wniosek Rady Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 08.10.2024 r.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska wykonana została w Samodzielnej Pracowni Żywnienia Zwierząt w Instytucie Nauk o Zwierzętach SGGW w Warszawie, pod opieką naukową Promotora dr. hab. Andrzeja Łozickiego, profesora uczelni.

Praca doktorska jest realizowana w formie hybrydowej i składa się z dwóch artykułów opublikowanych w czasopismach z listy JCR w latach 2015-2023 (prace 1 i 2), których łączny współczynnik oddziaływania Impact Factor wynosi 5.9, jednego artykułu opublikowanego w czasopiśmie spoza listy JCR (praca 3) oraz jednego badania nieopublikowanego, w trakcie recenzji.

Poniżej wyszczególniono publikacje Doktorantki, wchodzące w skład dorobku naukowego przedłożonego w ramach ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych:

1. Koziarębska A, Łozicki A, Rygało-Galewska A, Zglińska K. 2023. Effect of Drying Temperature of Ambar Pumpkin on Proximate Composition and Content of Bioactive Ingredients. Applied Sciences 13, no. 14: 8302. <https://doi.org/10.3390/app13148302>, IF: 2,7; 100 pkt. MNiSW;

2. Łozicki A, Koziorzębska A Halik G, Dymnicka M, Arkuszewska E, Niemiec T, Bogdan J. 2015. Effect of ensiling pumpkin (*Cucurbita maxima* D.) with dried sugar beet pulp on the content of bioactive compounds in silage and its antioxidant potential. *Animal Feed Science and Technology* 206, 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.012>. IF: 3,2; 200 pkt.
3. Koziorzębska A, Łozicki A, Halik G. 2018. Effect of dried pumpkin (*Cucurbita maxima* D.) supplementation on growth performance, serum biochemistry and parameters of antioxidant status of rats. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Animal Science* 57, 2, 2018, 111–119. DOI 10.22630/AAS.2018.57.2.11. 5 pkt (aktualnie spoza listy ministerialnej)

oraz praca nieopublikowana:

4. Koziorzębska A., Roguski M., Bendowski W., Szara E., Niemiec T., Zigo F., Łozicki A., Potential for improving serum content of β -carotene, antioxidant status, immunity and serum biochemistry of dairy cows at the beginning of lactation by using the pumpkin (*Cucurbita maxima* D.) silage in the diets. *Journal of Applied Animal Research*, która przesłana jest do recenzji.

Do oceny dołączony został manuskrypt napisany w języku polskim, stanowiący kompendium uzyskanych wyników przedstawionych w pracach oryginalnych.

Indywidualny wkład Doktorantki w powstanie zaprezentowanych oryginalnych prac potwierdzony przez współautorów należy uznać za wystarczający do przedłożenia ich Dostojnej Radzie Naukowej w celu procedowania dalszego postępowania. Doktorantka uczestniczyła między innymi w konceptualizacji badań, analizie formalnej, w badaniach i analizach oraz w pisaniu szkicu artykułów (oświadczenia PT Współautorów w załączeniu). We wszystkich przedstawionych do oceny pracach wkład Doktorantki przekraczał 50 %. W dwóch opublikowanych pracach, oraz w pracy planowanej do druku Doktorantka jest pierwszym Autorem, w jednej pracy jest drugim Autorem.

Tematyka załączonych publikacji dotyczy zagadnień związanych z wpływem różnych temperatur i czasu suszenia oraz wpływu kiszenia dyni na wartość pokarmową i biologiczną uzyskanych pasz oraz ocena możliwości ich wykorzystania w żywieniu zwierząt monogastrycznych i przeżuwających.

Przedstawiony do oceny manuskrypt, bez załączonych kserokopii oryginalnych prac i oświadczeń współautorów liczy 65 stron. Zawiera następujące rozdziały: Streszczenie, Abstrakt, Wykaz skrótów, Wstęp, Hipoteza badawcza, cel i zakres pracy, Metodyka badań, Omówienie wyników badań i dyskusja, Podsumowanie wyników badań i wnioski, Literatura.

Manuskrypt napisany jest poprawnym językiem z zachowaniem wymagań przewidzianych dla opracowań naukowych. Dodatkowo w treści manuskryptu Autorka zaprezentowała 16 tabel i 2 ryciny.

Prace w których przedstawione są wyniki badań Doktorantki i współpracowników z Samodzielnej Pracowni Żywienia Zwierząt zostały opublikowane w czasopismach liczących się na arenie światowej nauki ocenianych przez wartość współczynnika wpływu-IF. Informuje to recenzenta, że przed przyjęciem do druku poddane zostały wnikliwej analizie i ocenie przez recenzentów, uznanych w świecie specjalistów w zakresie badań nad produktami stosowanymi w żywieniu zwierząt. Powołany na recenzenta pracy doktorskiej pozwolę sobie ocenić zaprezentowany autoreferat zgodnie z wymaganiami dla postępowań o uzyskanie stopnia doktora uznając, że hipotezy badawcze oraz cele naukowe i zakres prezentowanych wyników były wystarczające do przyjęcia do druku w uznanych czasopismach.

W zaprezentowanych pracach Doktorantka dokonała analizy wpływu różnych metod konserwacji dyni na wartość pokarmową uzyskanych pasz oraz zawartość w nich związków bioaktywnych. Doktorantka przeprowadziła badania z użyciem modeli zwierzęcych – szczurów i krów mlecznych, podczas których badała wpływ mieszanek z suszem z dyni i dawek z udziałem kiszonki z dyni na status antyoksydacji i stan zdrowia zwierząt. Czyni to zaprezentowane wyniki wartościowe nie tylko w aspekcie poznawczym ale i praktycznym, szczególnie dzisiaj w epoce masowej produkcji zwierząt.

Na bazie wcześniej opublikowanych wyników i wiedzy własnej Doktorantka założyła następujące hipotezy badawcze:

- czy zastosowanie odpowiednich metod konserwacji dyni pozwoli na uzyskanie pasz o wysokiej wartości pokarmowej i biologicznej;
- czy uzyskana wyższa zawartość w kiszonce i suszu z dyni związków bioaktywnych – wpłynie prozdrowotnie na karmione zwierzęta;

Celem naukowym badań było potwierdzenie lub zaprzeczenie założonych hipotez. W celu uzyskania odpowiedzi Doktorantka oceniła wpływ parametrów zastosowanych procedur na wartość pokarmową suszu i kiszonki oraz zawartość w nich związków bioaktywnych oraz oceniła parametry świadczące o stanie zdrowia zwierząt karmionych paszami z dodatkami suszu i kiszonki dyni.

Doktorantka podzieliła badania na dwa etapy, w każdym z nich wyodrębniła dwa zadania badawcze. W etapie I badała wpływ różnych metod konserwacji poprzez suszenie oraz

kiszenie na wartość pokarmową i biologiczną uzyskanych pasz (Prace 1 i 2). W suszach Doktorantka oznaczyła:

- podstawowy skład chemiczny
- suchą masę, białko surowe, tłuszcz surowy, włókno surowe, włókna NDF, ADF, ADL, popiół surowy,
- zawartość karotenoidów – β – karotenu, α - karotenu, wiolaksantyny, zeaksantyny, luteiny
- wskaźnik potencjału antyoksydacyjnego paszy – DPPH
- profil kwasów tłuszczowych.

W materiale świeżym i kiszonkach Doktorantka oznaczyła:

- podstawowy skład chemiczny i wskaźniki jakości kiszonki – suchą masę, białko surowe, tłuszcz surowy, włókno surowe, włókna NDF, ADF, ADL, popiół surowy, kwas octowy, kwas mlekowy, pH;
- zawartość karotenoidów – β – karotenu, α - karotenu, wiolaksantyny, zeaksantyny;
- zawartość α -tokoferolu;
- całkowitą zawartość polifenoli (CZP) i wskaźniki potencjału antyoksydacyjnego paszy – TAS, FRAP;
- profil kwasów tłuszczowych.

W etapie II Doktorantka przeprowadziła badania z użyciem modelu zwierzęcego – szczurów i krów mlecznych, podczas których badała wpływ dodatków suszu z dyni o różnych dawkach do paszy i paszy z kiszonką z dyni na wzrost zwierząt, wskaźniki przemian metabolicznych, status antyoksydacyjny (Praca 3), zawartość β -karotenu w surowicy, wskaźniki biochemiczne krwi, wskaźniki stanu antyoksydacyjnego i immunologicznego krów w okresie zasuszenia i laktacji (Praca 4).

Doktorantka oznaczyła w krwi:

- wskaźniki potencjału antyoksydacyjnego – GPx (peroksydaza glutationowa), GR (reduktaza glutationowa), TAS (całkowity potencjał antyoksydacyjny), TBARS (kwas tiobarbiturowy);
- wskaźniki biochemiczne – glukoza, białko całkowite, albuminy, mocznik, ALT (aminotransferaza alaninowa), AST (aminotransferaza asparaginianowa), ALP (fosfataza alkaliczna), trójglicerydy, cholesterol całkowity, HDL, VLDL.

W kolejnych badaniach Doktorantka oznaczyła we krwi:

- zawartość β – karotenu i wskaźniki potencjału antyoksydacyjnego – GPx (peroksydaza glutationowa), TAS (całkowity potencjał antyoksydacyjny);
- poziom immunoglobulin – IgG, IgM, IgA;
- wskaźniki biochemiczne krwi – glukozę, białko całkowite, mocznik, trójglicerydy, ALT (aminotransferaza alaninowa), AST (aminotransferaza asparaginianowa), BHB (kwas β -hydroksymasłowy).

Do badań Doktorantka użyła odmian dyni *Cucurbita maxima* – Justynkę i Ambar wyhodowanych w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Wszystkie badania z użyciem modelu zwierzęcego poprzedzone były uzyskaniem zgody II Lokalnej Komisji Bioetycznej ds. doświadczeń na zwierzętach.

W celu przeprowadzenia analizy statystycznej wyników badań Doktorantka wykorzystwała jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z testem post hoc Tukeya w programie Statistica 13.3 (wyniki zaprezentowane w pracy 1), test t (test sumy rang Wilcoxon), test t nierównych wariancji Welcha przy użyciu pakietu statystycznego R (wyniki zaprezentowane w pracy 2), jednoczynnikową analizę wariancji metodą najmniejszych kwadratów przy użyciu pakietu statystycznego Statgraphics 6.0 Plus (praca 3), test Shapiro-Wilka na zgodność z rozkładem normalnym oraz test Levene'a na równość wariancji. Ponieważ nie zostały spełnione założenia do analizy wariancji, zamiast tego Doktorantka przeprowadziła test Kruskala-Wallisa oraz test Bonferroniego i test korelacji Spearmana przy użyciu oprogramowania Statistica wersja 12 (nieopublikowana praca 4). We wszystkich pracach różnice o wartości $p \leq 0,05$ Doktorantka przyjęła jako istotne.

W I etapie badań Doktorantka dowiodła, że podniesienie temperatury suszenia dyni do 80°C istotnie wpłynęło na obniżenie zawartości w jej suszu białka ogólnego, tłuszczu surowego, włókna surowego, włókna detergentowo neutralnego, włókna detergentowo kwaśnego, najmniej strawnej ligniny detergentowo kwaśnej oraz popiołu surowego. Potwierdziła też najniższą zawartość analizowanych karotenoidów oraz najniższy potencjał antyoksydacyjny suszu przy tej temperaturze suszenia. W przypadku kwasów tłuszczowych Doktorantka stwierdziła istotne obniżenie łącznej zawartości nienasyconych kwasów MUFA oraz istotnie wyższą zawartość niektórych kwasów wielonienasyconych. W kiszonkach Doktorantka wykazała istotnie niższą zawartość białka surowego, włókna surowego oraz włókna NDF i ADL. Efektem kiszenia dyni było istotne zmniejszenie zawartości β -karotenu, α -karotenu, violaksantyny, zeaksantyny oraz α -tokoferolu. Doktorantka stwierdziła też istotnie

wyższą całkowitą zawartość polifenoli. Zastosowanie inokulanta w procesie kiszenia wpłynęło na istotne zwiększenie zawartości w kiszonce α -karotenu, β -karotenu i α -tokoferolu ale nie zmieniło potencjału antyoksydacyjnego kiszonek. Proces zakiszania wpłynął na istotne obniżenie zawartości kwasów MUFA i PUFA oraz zwiększenie nienasyconych kwasów tłuszczowych.

W kolejnym etapie badań Doktorantka nie wykazała wpływu zastosowania suszu na wzrost szczurów i zmianę ilości pobieranej paszy. Wykazała jednak obniżenie w surowicy poziomu glukozy, trójglicerydów, cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu VLDL wraz ze zwiększaniem udziału suszu w podawanej mieszance. Poprawiał się również wskaźnik potencjału antyoksydacyjnego zwierząt przy podawaniu mieszanki o zwiększonej ilości suszu. W badaniach na modelu krwi mlecznej Doktorantka stosując kiszonkę z dyni wykazała wzrost poziomu β -karotenu w surowicy oraz istotne zwiększenie poziomów badanych wskaźników potencjału antyoksydacyjnego (TAS, SOD, GPx). Obserwowała również wyższe poziomy immunoglobulin, szczególnie zaraz po wycieleniu się krów.

Podsumowując Doktorantka w swoich badaniach wykazała, wpływ temperatury suszenia na wartość pokarmową i odżywczą uzyskiwanego suszu. Zastosowanie temperatury suszenia 80°C wpływało istotnie na obniżenie zawartości analizowanych parametrów składu podstawowego oraz popiołu surowego. Doktorantka wykazała również największe straty karotenoidów oraz obniżenie potencjału antyoksydacyjnego uzyskanej w ten sposób paszy. Suszenie w temperaturze 60°C okazało się optymalne, gdyż pozwoliło na uzyskanie paszy o wysokiej wartości odżywczej przy krótszym czasie suszenia niż w temperaturze 40°C. Doktorantka wykazała, że wprowadzenie do diety krów mlecznych kiszonki z dyni oraz zwiększone pobieranie β -karotenu poprawiało ich potencjał antyoksydacyjny oraz działało stymulująco na układ odpornościowy. Pasza z dodatkiem kiszonki stanowiła dla krów dobre źródło energii, co potwierdziły poziomy badanych wskaźników biochemicznych. Doktorantka wnioskuje, że odpowiednio dobrane metody konserwacji, suszenia czy kiszenia dyni pozwalają uzyskać pasze o wysokiej wartości pokarmowej i odżywczej. Susz i kiszonka z dyni mogą być wartościowymi paszami dla zwierząt monogastrycznych i przeżuwających, wpływając pozytywnie na potencjał antyoksydacyjny i zdrowie zwierząt.

Podsumowując badania potwierdziły założone hipotezy. Dynia jest bogatym źródłem karotenoidów. Owoce dyni łatwo się przechowują, mogą stanowić dodatek do pasz przez ponad pół roku, a susz lub kiszonka może być stosowana przez cały rok. Karotenoidy zawarte w suszu z dyni wpływają pozytywnie na florę żwacza. Może to przekładać się na lepsze wykorzystywanie dawki pokarmowej przez krowy. Oprócz karotenoidów tłuszcze znajdujące

się w pestkach dyni pozytywnie wpływają na skład kwasów tłuszczowych w mleku. Czyni to zaprezentowany cykl badań wartościowym i wiele wnoszącym do nauki nie tylko w zakresie podstawowym, ale szczególnie w aspekcie aplikacyjnym. Uzyskane wyniki po analizie statystycznej w treści przedstawione zostały w sposób czytelny i zrozumiały.

W ocenianym opracowaniu oraz załączonych pracach Doktorantka wykazała się dobrym opanowaniem warsztatu badawczego, zrozumieniem rozpatrywanych problemów i znajomością piśmiennictwa z zakresu tematyki prowadzonych badań.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Agaty Koziorzębskiej pt: *Wpływ suszenia i kiszenia na wartość odżywczą suszu i kiszonki z dyni oraz ocena ich właściwości odżywczych i prozdrowotnych w badaniach na szczurach i krowach mlecznych* w opinii recenzenta spełnia wszystkie wymagania – określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. Ustaw nr 65, poz. 595 z późn. Zm.) – stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

