

dr hab. Monika Osińska-Jaroszuk
Katedra Biochemii i Biotechnologii
Instytut Nauk Biologicznych
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

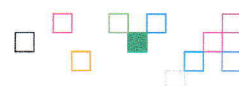
RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Katarzyny Kały

wykonanej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

**pt. „Substancje biologicznie aktywne owocników
i mycelium kultur *in vitro* wybranych grzybów jadalnych”**

Podstawą formalną przygotowania recenzji jest pismo Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie prof. dr hab. n. farm. Jacka Sapy oraz Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki farmaceutyczne UJ prof. dr hab. Anny Wesołowskiej z dn. 08 lipca 2021 r z prośbą o sporządzenie oceny rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kały pt. „Substancje biologicznie aktywne owocników i mycelium kultur *in vitro* wybranych grzybów jadalnych”. Rozprawa doktorska została opracowana pod kierunkiem Pani promotora prof. dr hab. Bożeny Muszyńskiej.



1. Celowość podjętej tematyki badawczej

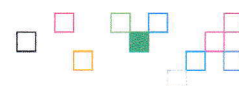
Grzyby należą do bardzo szeroko rozpowszechnionej grupy organizmów zasiedlających niemal każdą niszę ekologiczną począwszy od środowisk lądowych po wody słodkie i słone. Poza ich niewątpliwą rolą biologiczną jaką pełnią w ekosystemie, od lat towarzyszą człowiekowi jako popularny element diety o niespotykanych walorach smakowych i leczniczych. Grzyby są źródłem wielu cennych składników odżywczych między innymi: błonnika pokarmowego, aminokwasów (endo- i egzogennych), nienasyconych kwasów tłuszczowych, witamin z grupy B i D czy składników mineralnych. Od lat stosowane są również w chińskiej medycynie tradycyjnej ze względu na ich liczne właściwości prozdrowotne i lecznicze. Wykazano m.in. ich działanie immunostymulujące i przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe, przeciwalergiczne, przeciwmiażdżycowe, hepatoprotekcyjne czy przeciwzapalne. Ponadto grzyby stanowią cenne źródło metabolitów o istotnym znaczeniu biotechnologicznym takich jak: białka i peptydy, enzymy, polisacharydy, terpeny, polifenole, sterole, antrachinony czy pochodne kwasu benzoowego. Niestety o ile w kulturze azjatyckiej ich rola prozdrowotna nie budzi żadnych wątpliwości, o tyle w krajach europejskich wciąż są niedoceniane, a ich potencjał leczniczy i dietetyczny jest kwestionowany także przez niektóre środowiska naukowe. Dlatego też, uważam, za niezmiernie celowe i uzasadnione prowadzenie nowych badań naukowych zajmujących się tą tematyką badawczą. Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Kały dotycząca badań substancji biologicznie aktywnych pochodzenia grzybowego w kontekście ich właściwości prozdrowotnych jak najbardziej wpisuje się w ten problem. Praca doktorska Pani mgr Katarzyny Kały została wykonana w zespole badawczym Pani prof. dr hab. Bożeny Muszyńskiej zajmującej się od ponad 30 lat problematyką dietetycznych i leczniczych właściwości grzybów i stanowi kontynuację tej tematyki badawczej, co dodatkowo gwarantuje bardzo wysoki poziom merytoryczny i celowość podjętych badań



2. Charakterystyka rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Kały powstała w oparciu o cykl dziewięciu spójnych tematycznie artykułów naukowych (2 prac przeglądowych oraz 7 prac eksperymentalnych) wydanych w latach 2016-2021 w uznanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym:

1. Sułkowska-Ziaja K., Kała K., Lazur J., Muszyńska B. (2018). Chemical and bioactive profiling of wild edible mushrooms. W: B. P. Singh, C. Lallawmsanga, A. K. Passari (Eds). *Biology of Macrofungi* (s. 129-157). Cham: Springer Nature. MNiSW=20 pkt.
2. Muszyńska B., Kała K., Lazur J., Włodarczyk A. (2020). *Imleria badia* culinary-medicinal mushroom with interesting biological properties. *Food Bioscience*, 37:100663. IF=3,067 MNiSW=70 pkt.
3. Kała K., Krakowska A., Sułkowska-Ziaja K., Szewczyk A., Reczyński W., Opoka W., Muszyńska B. (2017). Kinetics of extracted bioactive components from mushrooms in artificial digestive juices. *International Journal of Food Properties*, 20(8):1796-1817. IF=1,845 MNiSW=25 pkt.
4. Muszyńska B., Kała K., Radović J., Sułkowska-Ziaja K., Krakowska A., Gdula-Argasińska J., Opoka W., Kudaković T. (2018). Study of biological activity of *Tricholoma equestre* fruiting bodies and their safety for human. *European Food Research & Technology*, 244(12):2255-2264. IF=2,056 MNiSW=30 pkt.
5. Kała K., Krakowska A., Zięba P., Opoka W., Muszyńska B. (2021). Effect of conservation methods on the bioaccessibility of bioelements from *in vitro*-digested edible mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(8):3481-3488. IF=2,614 MNiSW=100 pkt.
6. Kała K., Kryczyk-Poprawa A., Rzewińska A., Muszyńska B. (2020). Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. *European Food Research & Technology*, 246(4):713-722. IF=2,366 MNiSW=70 pkt.
7. Kała K., Maślanka A., Sułkowska-Ziaja K., Rojowski J., Opoka W., Muszyńska B. (2016). *In vitro* culture of *Boletus badius* as a source of indole compounds and zinc released in artificial digestive juices. *Food Science and Biotechnology*, 25(3):829-837. IF=0,699 MNiSW=20 pkt.
8. Kała K., Krakowska A., Gdula-Argasińska J., Opoka W., Muszyńska B. (2019). Assessing the bioavailability of zinc and indole compounds from mycelial cultures of the bay mushroom

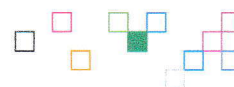


Imleria badia (Agaricomycetes) using *in vitro* models. International Journal of Medicinal Mushrooms, 21(4):343-352. IF=1,423 MNiSW=40 pkt.

9. Kała K., Krakowska A., Szewczyk A., Ostachowicz B., Szczurek K., Fijałkowska A., Muszyńska B. (2021). Determining the amount of potentially bioavailable phenolic compounds and bioelements in edible mushroom mycelia of *Agaricus bisporus*, *Cantharellus cibarius*, and *Lentinula edodes*. Food Chemistry, 352:129456. IF=6,306 MNiSW=200 pkt.

Sumaryczny współczynnik wpływu (Impact Factor, IF) dla wszystkich dziewięciu czasopism osiągnął wartość 20,376 oraz 575 pkt. MNiSW i jest to w mojej ocenie bardzo dobry wynik. W sześciu z zaprezentowanych publikacji Doktorantka jest pierwszym autorem z czego w trzech pracach także autorem korespondencyjnym, natomiast w pozostałych trzech pracach drugim autorem. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów prac, Jej udział w powstaniu w/w artykułów jest wiodący i większościowy. Doktorantka uczestniczyła w planowaniu koncepcji badań, przygotowaniu grzybowego materiału badawczego, przeprowadzała badania w modelu przewodzenia pokarmowego *in vitro*, samodzielnie wykonywała część analiz, opracowywała uzyskane wyniki badań oraz brała udział w przygotowywaniu treści manuskryptu. Dodatkowo, na uwagę zasługuje fakt, iż badania przedstawione w rozprawie doktorskiej były częściowo finansowane w ramach grantu Preludium (2017/25/N/NZ7/00554) oraz dotacji celowych dla młodych naukowców i uczestników studiów doktoranckich ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum) projekty o numerze K/DSC/005361 oraz N42/DBS/000052, których to Doktorantka była kierownikiem.

Zaprezentowane prace badawcze zostały poprzedzone liczącym 108 stron autoreferatem, który zawierał typowy układ pracy spotykany w monograficznych pracach doktorskich. W autoreferacie Doktorantka zamieściła: wykaz publikacji wraz z odpowiednimi danymi naukowymi, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim (4 strony), wprowadzenie do tematu rozprawy doktorskiej w postaci teoretycznego wstępu (25 stron), cel i założenia pracy (1 strona), materiały i metody zastosowane w badaniach (10 stron), uzyskane wyniki badań wraz z dyskusją (22 strony), podsumowanie i wnioski (3 strony), a także spisy



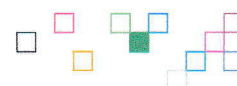
zaprezentowanych fotografii (16 pozycji), tabel (8 pozycji) i rycin (9 pozycji) oraz piśmiennictwo (129 pozycji). Doktorantka zaprezentowała również swój dotychczasowy dorobek naukowy. Oddzielnie zostały załączone oświadczenia współautorów publikacji naukowych wchodzących w skład zaprezentowanego cyklu prac.

Przedstawione do oceny prace stanowią uzupełniającą się całość dziewięciu spójnych tematycznie publikacji dotyczących: „Substancji biologicznie aktywnych owocników i mycelium kultur *in vitro* wybranych grzybów jadalnych”.

Głównym celem rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Kały była ocena potencjału prozdrowotnego zarówno owocników, jak i kultur mycelialnych wybranych gatunków grzybów jadalnych. W ramach realizacji celu głównego Doktorantka postawiła sobie również cele szczegółowe dotyczące:

- określenia ilości biopierwiastków, związków indolowych i fenolowych, a także lowastatyny zarówno w materiale grzybowym, jak i w ekstraktach otrzymanych do sztucznych soków trawiennych w warunkach termostatowanych z użyciem aparatu Gastroel-2014;
- oceny ilości substancji ulegających transportowi aktywnemu i biernemu z materiału grzybowego z zastosowaniem komórek CaCo-2 oraz błony półprzepuszczalnej, co pozwoliło na lepszą ocenę potencjalnej biodostępności substancji o znaczeniu leczniczym z tego rodzaju materiału;
- uzyskanie kultur mycelialnych grzybów jadalnych na odpowiednio sporządzonych podłożach, wzbogacanych w związki lecznicze (organiczne i nieorganiczne), bądź ich prekursorów w celu otrzymania grzybni o jak najlepszych właściwościach prozdrowotnych.

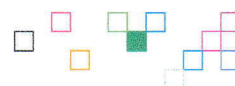
W mojej opinii podjęta tematyka badawcza jest jak najbardziej uzasadniona i stanowi cenny materiał naukowy pozwalający na kompleksowe uzupełnienie dotychczasowej wiedzy na temat właściwości prozdrowotnych grzybów także w kontekście ich użycia jako suplementów diety czy też substancji leczniczych.



Pierwsza z zaprezentowanych prac, zatytułowana „*Chemical and bioactive profiling of wild edible mushrooms*” jest opracowaniem przeglądowym i stanowi jeden z rozdziałów w manuskrypcie „*Biology of Macrofungi*”. Autorzy pracy przedstawiają mechanizmy dotyczące regulacji biosyntezy metabolitów wtórnych u grzybów, a następnie szczegółowo opisują poszczególne grupy substancji bioaktywnych jakie występują u grzybów jadalnych m.in.: węglowodany, polisacharydy, chitynę, lektyny, aminokwasy i białka, kwasy tłuszczowe, związki fenolowe i indole, enzymy, witaminy oraz inne substancje o aktywności biologicznej jak statyny czy biopierwiastki. Pomimo, że praca ma charakter przeglądowy w dużym stopniu uzupełnia i systematyzuje dotychczasową wiedzę na temat substancji biologicznie czynnych u grzybów jadalnych oraz wskazuje na duży poziom znajomości prezentowanych zagadnień przez Doktorantkę.

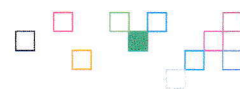
Druga z prac przeglądowych „*Imleria badia culinary-medicinal mushroom with interesting biological properties*” ukazała się w renomowanym czasopiśmie Food Bioscience. W opracowaniu tym, Autorzy prezentują prozdrowotne właściwości jednego z najbardziej znanych gatunków grzybów jadalnych, cenionego ze względu na smak, aromat i właściwości dietetyczne - Podgrzybka brunatnego. W sposób szczegółowy zostały opisane substancje biologicznie czynne, które do tej pory udało się wyizolować z owocników tego gatunku grzyba np. węglowodany, białka, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, β -tokoferol, witaminy, związki fenolowe itd. Przedstawiono także korzystne działanie terapeutyczne i prozdrowotne tych substancji związane z ich aktywnością biologiczną o charakterze przeciwzapalnym, przeciwnowotworowym i antyoksydacyjnym. Podobnie jak pierwsza praca przeglądowa, publikacja ta stanowi cenne źródło informacji na temat prozdrowotnych właściwości grzybów jadalnych i jak najbardziej wpisuje się w tematykę prezentowanej pracy doktorskiej.

Trzecia praca opublikowana w czasopiśmie International Journal of Food Properties pt. „*Kinetics of extracted bioactive components from mushrooms in artificial digestive juices*” dotyczyła badań owocników 12 –stu grzybów jadalnych wybranych przez Doktorantkę na podstawie wartości dietetycznej, właściwości terapeutycznych, częstotliwości spożycia oraz



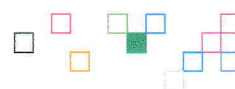
dostępności i ich sprzedaży w Polsce. W pracy określono ilości prozdrowotnych biopierwiastków (Mg, K, Na, Ca, Cu, Zn, Fe) oraz przeprowadzono badania ich biodostępności w sztucznych sokach trawiennych poprzez symulację warunków występujących w przewodzie pokarmowym człowieka z użyciem aparatu Gastroel-2014 UJ CM oraz za pomocą metody spektroskopii absorpcji atomowej. W mojej opinii jest to bez wątpienia nowatorskie, do tej pory niespotykane podejście do badań dotyczących uwalniania związków aktywnych z owocników grzybów. Dodatkowo przy użyciu metody HPLC dokonano oceny zawartości związków indolowych i kwasów fenolowych. Analizie poddano ekstrakty metanolowe z liofilizowanych owocników 12 gatunków grzybów jadalnych po trawieniu w roztworach sztucznych soków trawiennych (ślina, sok żołądkowy i jelitowy). W trakcie przeprowadzonych badań wykryto i oznaczono siedem związków indolowych: serotoninę, 5-hydroksy-L-tryptofan, L-tryptofan, tryptaminę, 5-metylotryptaminę, 6-metylo-D,L-tryptofan i melatonina. Określono także zawartości kwasów: protokatechowego, p-hydroksybenzoesowego, syringowego i galusowego. Na uwagę zasługuje fakt niezmiernie dużej ilości przeprowadzonych analiz badawczych, które jak najbardziej słusznie zostały poddane analizie chemometrycznej. Bez wątpienia prezentowane wyniki badań dowodzą, że owocniki grzybów jadalnych są cennym źródłem związków indolowych, kwasów fenolowych, a także pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Praca stanowi ważny wkład naukowy umożliwiający prawidłową ocenę możliwości dietetycznych i prozdrowotnych wybranych do badań owocników grzybów jadalnych.

W czwartej pracy zatytułowanej “*Study of biological activity of Tricholoma equestre fruiting bodies and their safety for human*” Doktorantka podjęła się próby badania aktywności biologicznej i zawartości substancji bioaktywnych w owocnikach *T. equestre* w kontekście zasadności przydatności ich spożywania jako składników codziennej diety. Przeprowadzono kompleksowe analizy dotyczące oceny zawartości biopierwiastków (wapń, magnez, miedź, żelazo i cynk) poprzez analizę materiału grzybowego i ekstraktów uzyskanych do sztucznych soków trawiennych metodą F-AAS oraz jedenaście kwasów tłuszczowych i trzech steroli



metodami GC oraz GC-MS. Oprócz tego dokonano oceny potencjału przeciwzapalnego metodą Western blot, a także właściwości przeciwdrobnoustrojowych i antyoksydacyjnych metodą DPPH i przez określenie całkowitej zawartości związków fenolowych. W wyniku przeprowadzonych analiz Doktorantka wykazała, że owocniki Gąski zielonej nie odznaczają się szczególnymi właściwościami prozdrowotnymi a ich aktywność antyoksydacyjna, całkowita zawartość związków fenolowych, zawartość biopierwiastków, kwasów tłuszczowych i steroli, czy aktywność przeciwbakteryjna pozostają na poziomie podobnym lub niższym w porównaniu do innych gatunków grzybów jadalnych. W mojej opinii, uzyskane wyniki badań stanowią bardzo cenny materiał badawczy potwierdzający znikome korzyści wynikające ze spożycia tego gatunku grzyba w porównaniu do innych gatunków uznawanych w Polsce za jadalne, także w kontekście bezpieczeństwa spożywania owocników *T. equestre* w codziennej diecie.

Piąta praca badawcza “*Effect of conservation methods on the bioaccessibility of bioelements from in vitro-digested edible mushrooms*” stanowi kontynuację poprzednich badań i dotyczy istotnego ze względu aplikacyjnego problemu odnoszącego się do zależności pomiędzy metodą przechowywania materiału grzybowego (świeży, mrożony) i sposobem suszenia, a zawartością biopierwiastków (magnezu, cynku, żelaza i miedzi) oraz zdolnością ich ekstrakcji do sztucznych soków trawiennych u wybranych przez Doktorantkę trzech gatunków grzybów jadalnych: *Agaricus bisporus*, *Cantharellus cibarius* oraz *Imleria badia*. W opracowaniu tym wykorzystano opisywane we wcześniejszych pracach badawczych metody analityczne uzyskując szereg cennych wyników. Podobnie jak w publikacji trzeciej ze względu na mnogość otrzymanych wyników badań zostały one poddane analizie chemometrycznej. Doktorantka wykazała, że biodostępność badanych pierwiastków dla organizmu człowieka zależy nie tylko od gatunku grzyba, ale również od sposobu ich przetwarzania. Między innymi potwierdzono, że świeży materiał grzybowy jest cenniejszym źródłem biopierwiastków niż mrożony, a suszenie metodą liofilizacji oraz na słońcu jest korzystniejsze niż suszenie w suszarce. Dodatkowo grzyby charakteryzowały się największą biodostępnością takich pierwiastków jak magnez i cynk. Zaprezentowane wyniki badań bez wątplenia stanowią uzupełnienie poprzednich prac



badawczych Doktorantki, a wiedza na temat możliwości przechowywania grzybów jadalnych wydaje się być istotna zwłaszcza w kontekście wykorzystania ich w przemyśle spożywczym.

Szósta przedstawiona do oceny publikacja pt. *"Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin"* dotyczyła badań wybranych owocników grzybów jadalnych (tj. ponownie *A. bisporus*, *C. cibarius*, *I. badia* oraz *Lentinus edodes*) i ich kultur mycelialnych jako potencjalnego źródła lowastatyny oraz oceny jej możliwości ekstrakcji do sztucznych soków trawiennych. Badania potwierdziły obecność tego związku we wszystkich badanych gatunkach grzybów, przy czym jak wykazali Autorzy pracy największe ilości lowastatyny oznaczono po ekstrakcji w sztucznych sokach trawiennych w przypadku *L. edodes*. Dodatkowo w pracy wykazano, iż w wyniku modyfikacji biotechnologicznych poprzez wzbogacenie grzybni *L. edodes* w lowastatynę w formie czystej substancji chemicznej (wzorca) dochodzi do zwiększenia przyrostu biomasy otrzymywanych kultur mycelialnych. Na uwagę zasługuje fakt, że w manuskrypcie po raz pierwszy przedstawiono analizy zawartości lowastatyny w sztucznych sokach trawiennych. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań pokazują kolejne, nowe możliwości zastosowań grzybów jadalnych, tym razem jako suplementów diety o charakterze przeciwmiażdżycowym.

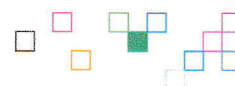
Publikacja siódma zatytułowana *"In vitro culture of Boletus badius as a source of indole compounds and zinc released in artificial digestive juices"* oraz ósma pt. *"Assessing the bioavailability of zinc and indole compounds from mycelial cultures of the bay mushroom *Imleria badia* (Agaricomycetes) using in vitro models"* były przedmiotem badań kultur mycelialnych gatunku *Imleria badia* (poprzednio znanego pod nazwą *Boletus badius*) jako potencjalnego źródła cynku i związków indolowych ulegających ekstrakcji do sztucznych soków trawiennych w połączeniu z etapem wchłaniania w modelu transportu aktywnego i biernego. Doktorantka wykazała, że dodatek związków cynku nie tylko wpływa na akumulację tego biopierwiastka z pożywki, ale także sprawia, że materiał grzybowy wzbogacony o te związki jest dobrym źródłem niehalucynogennych związków indolowych. Nowatorskie badania dotyczyły także przeprowadzenia procesu transportu aktywnego i biernego cynku oraz



związków indolowych z zastosowaniem linii komórkowej CaCo-2 oraz błony półprzepuszczalnej, przy użyciu specjalnie skonstruowanego aparatu Transcell-2017. Badania te potwierdziły, że ekstrakty z *I. badia* otrzymane po wytrawianiu w sztucznych sokach trawiennych są źródłem cynku i związków indolowych dla organizmu człowieka (szczególnie 5-hydroksy-L-tryptofanu). Z tego względu, kultury mycelialne gatunku *I. badia*, po odpowiedniej modyfikacji podłoża, mogą stanowić cenny materiał o potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej.

Dziewiąta, ostatnia z przedstawionych do oceny prac “*Determining the amount of potentially bioavailable phenolic compounds and bioelements in edible mushroom mycelia of Agaricus bisporus, Cantharellus cibarius, and Lentinula edodes*” ukazała się w renomowanym czasopiśmie Food Chemistry. Za główne cele badawcze w prezentowanej publikacji Doktorantka przyjęła sobie określenie zawartości związków fenolowych i biopierwiastków w otrzymanym materiale grzybowym, a także analizę zawartości pożywek pochodowlanych oraz ilości substancji bioaktywnych oznaczonych po ekstrakcji do sztucznych soków trawiennych z kultur mycelialnych. Uzyskano bardzo ciekawe wyniki badań udowodniające, że mycelia wszystkich badanych gatunków grzybów *A. bisporus*, *C. cibarius* oraz *L. edodes* mogą być wzbogacane w związki cynku i selenu, a także w kwasy fenolowe, przy czym mycelia gatunku *A. bisporus* są najbogatszym źródłem cynku i selenu, natomiast kultury mycelialne *L. edodes* są najbogatszym źródłem kwasów fenolowych o aktywności antyoksydacyjnej. Co bardzo istotne, udowodniono, także że już kilka gramów wysuszonego mycelium otrzymanego po odpowiednich modyfikacjach, może pokryć dzienne zapotrzebowanie dorosłego człowieka na cynk i selen. Zaprezentowane wyniki badań po raz kolejny pokazują jak cennym materiałem dietetycznym są grzyby jadalne i w sposób jednoznaczny obalają mity o ich niskim potencjale dietetycznym i leczniczym.

Reasumując merytoryczną część recenzji pragnę zwrócić uwagę, że zaprezentowane do oceny prace badawcze stanowią monotematyczny, oryginalny cykl publikacji, które w sposób kompleksowy wyjaśniają zagadnienia związane z oceną potencjału prozdrowotnego zarówno



owocników, jak i kultur mycelialnych. wybranych gatunków grzybów jadalnych, co było głównym celem rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Kały. Tematyka badawcza jakiej podjęła się Doktorantka jest jak najbardziej aktualna i uzasadniona, zwłaszcza w kontekście poszukiwania nowych substancji bioaktywnych i dietetycznych pochodzenia grzybowego. W większości z prac mamy do czynienia z nowatorskim podejściem do zaprezentowanych zagadnień i wysoką jakością prowadzonych analiz pod względem metodycznym. Doktorantka po raz pierwszy podjęła się badań związanych z biodostępnością substancji bioaktywnych pochodzenia grzybowego z zastosowaniem roztworów sztucznych soków trawiennych oraz specjalnie skonstruowanego aparatu Gastroel-2014. W tym miejscu pragnę zwrócić uwagę na doskonały warsztat badawczy Doktorantki oraz umiejętność posługiwania się zaawansowaną aparaturą analityczną (między innymi: metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC); metoda chromatografii cienkowarstwowej (TLC) z detekcją densytometryczną, metoda chromatografii gazowej (GC) oraz chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS), impulsowo różnicową anodową woltamperometrią strippingową (DP ASV), atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją płomieniową (F-AAS) oraz metoda całkowitego odbicia promieniowania rentgenowskiego (TXRF)). Bardzo wysoko oceniam również staranność obróbki statystycznej ogromnej ilości wyników analitycznych w tym umiejętność posługiwania się narzędziami chemometrycznymi.

Nie mam żadnych uwag krytycznych, co do sposobu zaplanowania i wykonania zaprezentowanych prac badawczych. Prace zostały przygotowane w sposób niezmiernie staranny, prezentują wysoki poziom merytoryczny i świadczą o wysokich umiejętnościach analitycznych Doktorantki jednak w tym miejscu nasuwają się pytania/uwagi do dyskusji podczas obrony pracy doktorskiej:

- Czy próbowano przynależność gatunkową grzybów potwierdzić badaniami genetycznymi np. poprzez uzyskanie sekwencji nukleotydowej regionu ITS (internal transcribed spacer)?



- Dlaczego to badań antyoksydacyjności wybrano metodę z DPPH, czy sprawdzano również inne metody np. z ABTS, FRAP, chemiluminescencyjną ?
- Czy poza ekstraktami cykloheksanowymi, dichlorometanowymi i metanolowymi prowadzono również badania na ekstraktach etanolowych? Jakimi kryteriami w doborze rozpuszczalników kierowała się Doktorantka?
- Jakie są dalsze plany badawcze Doktorantki ?

3. Formalna ocena pracy

Rozprawa doktorska została przygotowana w sposób bardzo staranny, wręcz wzorowy aczkolwiek w trakcie pisania autoreferatu Doktorantka nie uniknęła niewielkich błędów językowych np.:

- str. 22 zbyt często pojawia się wyraz wykazano, który można było zastąpić innymi synonimami np. stwierdzono, udowodniono, potwierdzono ...
- str. 27 „może być także związany indukcją...” poprawniej brzmi „może być także związany z indukcją...”

Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Kały zawiera oryginalne, wartościowe wyniki badań dotyczące potencjału prozdrowotnego zarówno owocników, jak i kultur mycelialnych. wybranych gatunków grzybów jadalnych. Uzyskane wyniki badań mogą mieć również bardzo ważne znaczenie aplikacyjne w kontekście możliwości opracowania ewentualnych grzybowych preparatów żywieniowych, suplementów diety, czy leków.

W trakcie wykonywania pracy badawczej oraz podczas przygotowywania rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyna Kała wykazała się dużą umiejętnością planowania i realizacji zadań badawczych z wykorzystaniem zaawansowanych technik badawczych. Pragnę również zwrócić uwagę na bardzo dobry dorobek publikacyjny Doktorantki poza cyklem publikacji



będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej (27 publikacji, 7 rozdziałów w książkach i 10 komunikatów konferencyjnych). Łączny IF prac wchodzących w skład dorobku naukowego mgr Katarzyny Kały wynosi aż 82,635. Indeks Hirscha jest równy 9, co jest osiągnięciem rzadko spotykanym na tym etapie kariery naukowej.

Ostatecznie stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja Pani mgr Katarzyny Kały pt. "Substancje biologicznie aktywne owocników i mycelium kultur *in vitro* wybranych grzybów jadalnych" spełnia warunki stawiane pracom doktorskim w związku z ubieganiem się o stopień doktora nauk farmaceutycznych określone w art.13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789), zgodnie z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. „Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669)". Dlatego też, zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki farmaceutyczne Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Kały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na bardzo wysoki poziom merytoryczny prezentowanej dysertacji, uzyskanie niezwykle cennych wyników badań oraz wysoką jakość dorobku naukowego wnioskuję o nagrodzenie Pani mgr Katarzyny Kały stosownym wyróżnieniem (wymagany przez Radę Dyscypliny Nauki farmaceutyczne UJ odpowiedni wniosek został osobno załączony do recenzji).

Lublin, 21.08.2021

dr hab. Monika Osińska-Jaroszuk

