

dr hab. inż. Małgorzata Dżugan, prof UR

Uniwersytet Rzeszowski
Wydział Biologiczno-Rolniczy
Katedra Chemii i Toksykologii Żywności
e-mail: mdzugan@ur.edu.pl, tel. 178721619

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Celine Habryki pt. *Wpływ wzbogacania miodu produktami pszczelimi na wybrane właściwości fizyczno-chemiczne, parametry jakościowe oraz aktywność przeciwutleniającą*

wykonanej w Katedrze Analizy i Oceny Jakości Żywności na Wydziale Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem promotora prof. dra hab. inż. Lesława Juszczyka i promotora pomocniczego dra inż. Roberta Sochy

Podstawa prawna wykonania recenzji

Recenzja została wykonana na podstawie Uchwały Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie oraz pisma Pani Dziekan dr hab. Agnieszki Filipiak-Florkiewicz, prof. UR z dn. 03.07.2019 (DTŻ 520-61-341/2019)

Ocena problematyki badawczej

Produkty pszczele, już od czasów starożytnych, są znane i wykorzystywane nie tylko jako żywność, ale przede wszystkim jako preparaty lecznicze. Najpopularniejszym produktem pszczelim jest miód, który stanowi tradycyjny element kuchni polskiej, jednak jego spożycie w Polsce jest wciąż znacznie niższe w porównaniu do innych krajów Unii Europejskiej. Pozostałe produkty pszczele, takie jak pyłek kwiatowy, pierzga, propolis czy mleczko pszczele, które wykazują znacznie większą aktywność farmakologiczną w porównaniu z miodami, wciąż stanowią niszowe produkty w codziennej diecie Polaków. Sytuacja ta wynika prawdopodobnie z postrzegania ich wyłącznie jako produktów leczniczych, są cenione i szeroko wykorzystywane w apiterapii. Upowszechnienie ich wykorzystania w profilaktyce i leczeniu wielu chorób cywilizacyjnych wymaga intensywnych akcji promocyjnych i informacyjnych, ze wsparciem środowisk naukowych dostarczających dowodów potwierdzających ich skuteczność. Działanie odżywcze i terapeutyczne produktów pszczelich, tak jak w przypadku miodów, zależy od obecności substancji biologicznie czynnych, których zawartość jest uwarunkowana głównie pochodzeniem botanicznym i geograficznym, jak również możliwym

zafałszowaniem. Indukuje to pilną potrzebę kontroli jakości produktów pszczelich z użyciem nowoczesnych metod analitycznych.

Specyficzny smak i brak rozpuszczalności w wodzie produktów pszczelich, z wyjątkiem miodu, stanowią ważne czynniki ograniczające ich spożycie. W ostatnich latach na rynku pojawia się coraz więcej miodów wzbogaconych w składniki bioaktywne pochodzące z innych wytworów pszczół, w nowej atrakcyjnej dla konsumenta formie. Wśród nich najbardziej popularny jest miód z pyłkiem i miód z propolisem, podczas gdy miód z pierzgą jest mniej znany. Miód z dodatkiem propolisu, najczęściej w ilości 1%, stanowi dobrą alternatywę dla alkoholowych roztworów propolisu i - ze względu na silne działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne i przeciwzapalne - znajduje zastosowanie głównie w terapii stanów zapalnych górnych i dolnych dróg oddechowych u dzieci.

Badania naukowe nad produktami pszczelimi, które w ostatnich latach zostały istotnie zintensyfikowane, dotyczą głównie miodu i propolisu, rzadziej pyłku czy pierzgi. Prowadzone w kraju i na świecie projekty skupiają się na ocenie wpływu pochodzenia botanicznego i geograficznego na jakość tych produktów i wskazują na olbrzymie zróżnicowanie składu chemicznego, a w konsekwencji bioaktywność. W tym aspekcie pojawia się szereg kluczowych zagadnień, które wciąż czekają na rozwiązanie, m. in. selekcja surowców o najwyższej jakości stosowanych jako dodatki do miodów czy ocena ich aktywności biologicznej w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Odrębne, niezwykle istotne zagadnienie dotyczy wpływu zastosowanego dodatku na konsystencję i właściwości organoleptyczne miodów wzbogaconych, co może stanowić główny czynnik decydujący o wyborze konsumenckim. Doniesienia naukowe podejmujące przedstawioną tematykę, w skali kraju, pochodzą głównie z Jednostki, w której została zrealizowana oceniana praca. Doktorantka jest współautorką dwóch publikacji w czasopiśmie *ŻYWNOŚĆ. Nauka Technologia. Jakość* (2016 i 2018r.), gdzie przedstawiono ocenę właściwości przeciwutleniających komercyjnych produktów, tj. miody wzbogacone pierzgą i propolisem, dostępnych na lokalnym rynku. Wykonane w ramach pracy doktorskiej badania, oprócz ilościowego opisu wpływu zastosowanego dodatku na stopień wzbogacenia miodu, dostarczyły istotnego uzupełnienia w zakresie atrakcyjności sensorycznej miodów wzbogaconych oraz parametrów charakteryzujących ich jakość handlową. W tym aspekcie przedstawiona praca posiada zarówno aspekt poznawczy jak i praktyczny, możliwy do wykorzystania w praktyce pszczelarskiej.

Ocena pracy pod względem edytorskim i formalnym

Przedstawiona do oceny praca doktorska to maszynopis liczący 229 stron. Autorka proponuje klasyczną strukturę dysertacji, chociaż nie do końca znajduje to odzwierciedlenie w wyróżnionych 12 rozdziałach pracy (w rzeczywistości jest ich 13). Praca rozpoczyna się od wykazu stosowanych skrótów oraz streszczeń w języku polskim i angielskim (te części zwyczajowo nie są numerowane). Kolejna część pracy (rozdz. 3 do 6) to przedstawiony na 52 stronach przegląd literatury dotyczący podejmowanej problematyki, który pozwala na sformułowanie celu pracy i jednej hipotezy badawczej. Szczegółowy opis materiału i metod badawczych przedstawiono w rozdziale 8, liczącym 20 stron. Najbardziej obszerny rozdział pracy stanowi prezentacja wyników połączona z dyskusją, zrealizowana na 105 stronach. Dokumentację pracy stanowi 10 fotografii, 10 rysunków, 24 tabele i 46 wykresów. Rezultaty badań zostały podsumowane w postaci 9. wniosków. Do opracowania wykorzystano 318 pozycji literaturowych opublikowanych w czasopismach naukowych i branżowych, z czego ponad 70% artykułów pochodzi z ostatnich 10 lat.

Praca napisana jest zwięzłym, na ogół poprawnym językiem, choć w tekście zdarzają się niezręczności stylistyczne i skróty myślowe, jak np. pominięcie roli pszczoł ulowych w kształtowaniu jakości miodu (s. 22), sformułowanie „krystalizuje średniokrystalicznie” (s. 29), „substancje bioaktywne to podstawowe składniki odżywcze” (s. 47), „aktywność flawonoidów... wpływa na leczenie” (s. 55), „miód wzbogacony charakteryzował się wzrostem zawartości...” (s. 95, 107, 112), „ilość stosowanego dodatku... jest silnie uzależniona od zmian cech sensorycznych” (s.194), itp. Na podkreślenie zasługuje przejrzysty układ graficzny pracy, zamieszczone tabele (wyjątek tab. 24) i rysunki są czytelnie opisane. Starannie opracowano obszerny spis literatury, w którym pominięto jednak kilka pozycji, np. Waszkiewicz-Robak i Świdorski 2009 (s. 48), Oroian i in. 2012 (s. 83), Piątkowska i in.2011 (s.97), Woźniak i in. 2018 (s.110). Przytoczone z obowiązku recenzenta błędy nie wpływają na merytoryczną ocenę pracy, a uważna korekta autorska i redaktorska przy publikacji wyników z pewnością je wyeliminuje.

Ocena merytoryczna pracy

Rozprawa składa się zasadniczo z dwóch części: teoretycznej (około ¼ objętości pracy) i eksperymentalnej. W pierwszej części Autorka dokonała przeglądu stanu wiedzy z zakresu podejmowanego tematu, rozpoczynając od historycznego ujęcia roli miodu jako pokarmu i leku oraz analizy aktualnego rynku miodu w Polsce na tle rynków zagranicznych. Następnie przedstawiła proces powstawania miodu oraz regulacje prawne dotyczące miodu i innych

produktów pszczelich (pyłek, pierzga i propolis). W rozdziale 5 została przedstawiona charakterystyka składu chemicznego produktów pszczelich. Ze względu na największą liczbę publikacji najbardziej szczegółowo Autorka opisała miód, dokonała także przeglądu dostępnych informacji odnośnie składników bioaktywnych występujących w pozostałych produktach pszczelich. Na zakończenie części teoretycznej przedstawiono możliwe korzyści zdrowotne wynikające z wprowadzenia tych składników do diety. Szkoda, że w tym ostatnim fragmencie Autorka oparła się głównie na artykułach z krajowych czasopism, w tym branżowych (Pasięka), a nie sięgnęła po nowsze doniesienia naukowe (np. Abesha i Gelescu, 2016 DOI: 10.4172/0974-8369.1000276; Samarghandian i in. 2017, doi: 10.4103/0974-8490.204647). Dobór tematyki przedstawionej w części teoretycznej pracy oceniam jako odpowiedni, a poruszone w tym rozdziale treści poparte bogato cytacjami literaturowymi, świadczą o dobrym przygotowaniu Autorki i wskazują na opanowanie wiedzy i znajomość problematyki badawczej. Odnosząc się do zawartych w tej części informacji, chciałabym poznać opinię Autorki dotyczącą 1) *Wpływu pochodzenia geograficznego i sposobu pozyskiwania ekstraktu z propolisu na jego aktywność farmakologiczną.*

Przedstawione w części wstępnej zagadnienia, pozwoliły na sformułowanie celu badawczego pracy, logicznie zgodnego z przyjętym tytułem pracy, jako „poszerzenie wiedzy na temat wpływu wzbogacenia miodu pyłkiem kwiatowym, pierzgą i propolisem, na wzrost zawartości związków bioaktywnych, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów, potencjału przeciwutleniającego, właściwości sensorycznych i parametrów jakościowych”. Do weryfikacji postawiono jedną obszerną tezę badawczą, zakładając, że wprowadzenie składników bioaktywnych występujących w dodatkach wzbogacających pozwoli na „wzmocnienie potencjału przeciwutleniającego i przeciwrodnikowego przy niezmiennych parametrach jakościowych i właściwościach sensorycznych”. W mojej opinii, wyodrębnienie bardziej szczegółowych hipotez badawczych na tym etapie znacznie ułatwiłoby wnioskowanie końcowe.

Następna część rozprawy (rozdz. 5) dotyczy opisu materiału badawczego: pochodzenia miodów kontrolnych (wielokwiatowy i manuka) oraz sposobu wytworzenia miodów wzbogaconych (ogółem 15 próbek) dodatkiem pyłku i pierzgi (w ilości od 5 do 25%) oraz etanolowego ekstraktu propolisu (0,1 do 1%). Liczba i różnorodność metod analitycznych zastosowanych do analizy materiału badawczego budzi moje uznanie, zaczynając od prostych pomiarów fizykochemicznych (refraktometryczny pomiar zawartości wody, kwasowość miareczkowa, przewodność właściwa), poprzez metody spektrofotometryczne (ocena aktywności przeciwutleniającej, zawartości związków polifenolowych, antocyjanów, witaminy

C i flawonoidów), po bardziej wyrafinowane metody chromatograficzne (HPLC-DAD do analizy profilu polifenolowego, HPLC-RI do wyznaczenia profilu cukrowego) czy spektrometrię absorpcyjną atomową (FAAS do oznaczania zawartości składników mineralnych). Niezwykle wartościową część badań, do wykorzystania w praktyce pszczelarskiej, stanowi ocena sensoryczna miodów wzbogaconych przeprowadzona z użyciem dwóch metod: profilowania sensorycznego i skali hedonicznej. Sensoryczną ocenę barwy miodów poparto instrumentalną analizą barwy w skali CIE L*a*b. Uzyskane wyniki Autorka poddała analizie statystycznej z zastosowaniem prostych metod, tj. jednoczynnikowa analiza wariancji, test Fischera, korelacja Pearsona, test Studenta. Szkoda, że dla tak potężnego zbioru danych nie zastosowano analizy składowych głównych (PCA), mogłoby to ułatwić wnioskowanie końcowe. Przyjęty zakres badań wykonany został z użyciem odpowiednich metod analitycznych, a rozmiar wykonanej pracy laboratoryjnej, świadczy o samodzielności i dojrzałości naukowej Doktorantki. Odnosząc się do informacji zawartych w tym rozdziale, chciałabym poprosić Autorkę o uzupełnienie następujących kwestii: 2) *Jak zapewniono jednorodność produktów podawanych analizie, jakie były warunki ich przechowywania i czy podlegały one krystalizacji?* 3) *Czy sposób przygotowania ekstraktów do oznaczania właściwości przeciwutleniających pozwalał na efektywną ekstrakcję składników antyoksydacyjnych z wprowadzonych dodatków?*

W części wynikowej, najdłuższej i najciekawszej, Doktorantka przedstawiła w przejrzysty sposób uzyskane rezultaty badań, dokonując jednocześnie wyczerpującego ich omówienia i konfrontacji z dostępną literaturą. Przy tak olbrzymiej liczbie wyników i wariantów eksperymentu było to niezwykle karkołomne zadanie, a drobiazgowa analiza danych utrudniała analizę ogólnych tendencji. Wyniki są jednak logicznie zestawione w 13 tabelach, a tendencje zilustrowane w postaci 36 wykresów i 13 tabel. Autorka wykazała pozytywny wpływ wzbogacenia miodu poszczególnymi dodatkami na parametry aktywności przeciwutleniającej miodu i wykazała istnienie korelacji pomiędzy zawartością związków biologicznie aktywnych (polifenolowych, flawonoidów, karotenoidów, witaminy C) i aktywnością przeciwutleniającą. Ustaliła wpływ zastosowanych modyfikacji składu miodu na wyróżniki sensoryczne i akceptowalność sensoryczną oraz przedstawiła korelacje pomiędzy wyróżnikami sensorycznymi i parametrami fizyko-chemicznymi miodów wzbogaconych. Dokonała także oceny jakości uzyskanych produktów pod względem wymagań jakości handlowej miodu ujętych w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 2003r. z późn. zm. Na zakończenie pracy Autorka sformułowała 9. rozbudowanych wniosków, w formie dyskusyjnej. W mojej opinii ich bardziej syntetyczne sformułowanie pozwoliłoby

uwypuklić najważniejsze osiągnięcia pracy. Dlatego chciałabym poprosić Autorkę o: **4) Wypunktowanie podstawowych różnic w składzie chemicznym miodów wzbogaconych różnymi dodatkami i związaną z tym ich przydatność terapeutyczną,** **5) Wyjaśnienie czy jakość analizowanych produktów może być weryfikowana wg regulacji prawnych odnoszących się do miodu?** **6) Nakreślenie głównych obszarów kontynuacji zrealizowanych badań w zakresie zapewnienia najwyższej jakości oraz upowszechnienia spożycia analizowanych miodów z dodatkiem innych produktów pszczelich?**

Wniosek końcowy

Podsumowując recenzję rozprawy doktorskiej mgr inż. Celiny Habryki stwierdzam, że została ona właściwie zaplanowana i zrealizowana. W wyniku przeprowadzonych badań Autorka osiągnęła zamierzony cel badawczy, a uzyskane wyniki dostarczyły interesujących informacji, głównie o charakterze poznawczym. Zawarte w ocenie krytyczne uwagi oraz spostrzeżenia nie umniejszają walorów naukowych i badawczych dysertacji.

W zakończeniu stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani Celiny Habryki pt. *Wpływ wzbogacania miodu produktami pszczelimi na wybrane właściwości fizyczno-chemiczne, parametry jakościowe oraz aktywność przeciwtuleniałąca* jest oryginalnym rozwiązaniem postawionego problemu naukowego, wnosi istotne elementy do nauki i spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz. 595) z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2017 r. poz. 1789). W związku z powyższym wnoszę do Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie o dopuszczenie mgr inż. Celiny Habryki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, dnia 2 września 2019

dr hab. inż. Małgorzata Dżugan, prof. UR