

Poznań, 3.09.2019r.

Prof. UPP, dr hab. inż. Dorota Piasecka-Kwiatkowska
Katedra Biochemii i Analizy Żywności
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Ul. Mazowiecka 48
60-623 Poznań

RECENZJA

Pracy doktorskiej mgr inż. Celiny 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 Wydziału Technologii Żywności
Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Promotor: prof. dr hab. inż. Lesława Juszczała
promotor pomocniczy: dr Robert Socha

Podstawa opracowania recenzji

Podstawę opracowania niniejszej recenzji stanowiło pismo Dziekana Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie dr hab. inż. Agnieszki Filipiak-Florkiewicz prof. UR. z dn.3.07.2019r.

Uwagi wstępne

W Polsce w ostatnich latach wzrasta zainteresowanie pszczelarstwem, zwiększa się zarówno liczba pasiek, jak i rodzin pszczelich. Według danych Inspekcji Weterynaryjnej liczba rodzin pszczelich w 2017 roku zwiększyła się o 4%, a w 2018 roku o dalsze 5,2%. Obserwuje się także wzrost spożycia miodu: w 2010 roku statystyczny Polak spożywał 0,48 kg, a obecnie 0,6 kg miodu. Wynikać to może między innymi z faktu, że coraz więcej osób jest świadomych ścisłego powiązania pomiędzy sposobem odżywiania a funkcjonowaniem organizmu, w tym szczególnej roli składników bioaktywnych zawartych w naturalnej, nieprzetworzonej żywności. Produkty pszczele, takie jak miód, mleczko pszczele, pierzga, propolis czy pyłek pszczeli należą właśnie do tej grupy produktów, która ceniona jest przez współczesnych konsumentów również jako źródło składników prozdrowotnych. Dobroczynne działanie składników bioaktywnych zawartych w produktach pszczelich było znane i wykorzystywane od najdawniejszych czasów. Współcześnie potencjał prozdrowotny potwierdziły liczne badania. Zastosowanie nowoczesnych narzędzi analitycznych pozwoliło zidentyfikować bogactwo różnych związków o właściwościach przeciwutleniających, a ich obecność, choć różna, to została stwierdzona we wszystkich produktach pszczelich. Bez wątplenia ze względu na swoje pożądane walory smakowe, najchętniej spożywanym produktem pszczelim jest miód, który

w tej grupie nie ma najwyższej aktywności biologicznej. Spożycie innych produktów pszczelich jest ograniczone, co wynika między innymi z niskiej akceptacji sensorycznej. Wzbogacenie miodu w produkty, zawierające więcej składników bioaktywnych wydaje się więc być jak najbardziej zasadne, gdyż dzięki takim zbiegom konsument uzyskuje innowacyjny, nieprzetworzony produkt - miód o zwiększonej aktywności biologicznej. Jednak należy pamiętać o tym, że różnorodne składniki zawarte w poszczególnych produktach pszczelich będą wchodzić w interakcje ze składnikami miodu, co może wpłynąć na jego właściwości. Choć miody wzbogacane w produkty pszczele można już znaleźć na rynku, to niewiele jest publikacji naukowych na temat ich wartości biologicznej. Brak jest opracowań dotyczących badań wpływu ściśle określonych zróżnicowanych dawek, różnych produktów pszczelich na właściwości miodu, w tym na cechy fizykochemiczne, sensoryczne i wartość biologiczną.

W przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej, mgr inż. Celina Habryka podjęła się takiego zadania: przeprowadziła ocenę wpływu wzbogacania miodu w produkty pszczele, takie jak pyłek kwiatowy, pierzga i propolis na zawartość związków bioaktywnych oraz jego cechy fizykochemiczne i jakość sensoryczną. **Biorąc pod uwagę powyższe, zarówno wybór tematyki pracy doktorskiej, jak również sposób jej realizacji przez mgr inż. Celinę Habrykę uważam za interesujące, mające charakter nowości naukowej.**

Ocena formalna

Przedstawiona do oceny praca doktorska jest typową pracą o charakterze eksperymentalnym, podzieloną na dwie zasadnicze części: teoretyczną i badawczą. Stanowi zwarte opracowanie obejmujące 229 stron maszynopisu, jest napisana według struktury właściwej dla klasycznych rozpraw doktorskich z zachowaniem prawidłowych proporcji rozdziałów. Rozpoczyna ją spis treści (2 strony), wykaz stosowanych skrótów (1 strona), streszczenie w języku polskim (4 strony) i w języku angielskim (3 strony). Kolejne cztery rozdziały (50 stron) obejmują przegląd piśmiennictwa (którego autorka niestety formalnie nie wyodrębniła), dalej znajdują się: cel pracy i hipoteza badawcza (1 strona), materiał i metody badawcze (20 stron), wyniki i dyskusja (105 stron), wnioski (4 strony) oraz składający się z 328 pozycji bibliograficznych wykaz literatury z osobno wyodrębnioną netografią (26 stron). Na końcu pracy zamieszczono spis fotografii, rysunków, tabel i wykresów (5 stron).

Praca jest przygotowana dość starannie pod względem edytorskim i językowym z bogatą i skrupulatnie przygotowaną dokumentacją, która obejmuje 10 fotografii, 9 rysunków, 46 wykresów i 24 tabele. Przy tak obszernym opracowaniu nie ustrzeżono się niedociągnięć redakcyjnych: Rozdział 8 to Materiał i metody badawcze, ale także Wyniki i dyskusja, podobnie dwukrotnie taką samą numerację nadano rozdziałom 8.1. i 8.2. Nie wpływa to jednak na ogólną ocenę formalną pracy.

Podsumowując tę część oceny pracy mogę stwierdzić, że recenzowana praca spełnia formalne wymagania stawiane dysertacjom doktorskim.

Ocena merytoryczna

Po zapoznaniu się z treścią pracy stwierdzam, że **tytuł pracy został sformułowany w sposób prawidłowy, zwięźle i adekwatnie do jej treści. Zastrzeżeń nie budzi także streszczenie (zarówno polska, jak i angielska wersja)**, które w syntetyczny sposób przedstawia badania wykonane przez Doktorantkę.

Przegląd piśmiennictwa obejmuje 4 rozdziały, w których zostały omówione historyczne aspekty związane z pozyskiwaniem i wykorzystaniem miodu, a także stan polskiego i europejskiego rynku miodu. Pani Magister wykorzystując odpowiednio dobraną bibliografię scharakteryzowała także skład i wartość odżywczą produktów pszczelich zwracając uwagę na ich znaczenie w diecie człowieka. Ta część pozwala czytelnikowi w sposób szczegółowy zapoznać się z właściwościami produktów pszczelich, które stanowiły przedmiot Jej badań. Uważam, że rozdziały zawierające „Przegląd piśmiennictwa” stanowią dobre wprowadzenie w tematykę dysertacji, wskazując na zasadność badań podjętych przez Doktorantkę. Ta część pracy została opracowana, na podstawie bogatej i trafnie dobranej bibliografii, pokazuje to dużą wnikliwość pani mgr inż. Celiny Habryki. **Dobór merytoryczny źródeł oraz sposób ich wykorzystania uważam za prawidłowy.**

Rozdział „**Cel pracy i hipoteza badawcza**” po krótkim wprowadzeniu, zawiera sformułowany cel pracy oraz hipotezę badawczą. **Autorka w jasny, prawidłowy sposób sformułowała możliwą do weryfikacji hipotezę**, która zakłada, że wzbogacanie miodu produktami pszczelimi wpłynie istotnie na wzrost zawartości biologicznie aktywnych składników, w tym kwasów fenolowych, flawonoidów oraz wzmocnienie potencjału przeciwutleniającego przy niezmiennych parametrach jakościowych i właściwościach sensorycznych. Natomiast mam zastrzeżenia, co do celu sformułowanego przez Autorkę. Moim zdaniem powinien brzmieć: „Celem pracy jest **określenie wpływu wzbogacania miodu pyłkiem kwiatowym, pierzgą lub propolisem na zawartość związków bioaktywnych, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów, potencjał przeciwutleniający, właściwości sensoryczne oraz parametry jakościowe**”. Ponadto we wstępie znalazło się dość niefortunne, skomplikowane sformułowanie: „Każdy produkt pszczeli różni się między sobą ilością poszczególnych składników zawartych w swoim składzie”, które wymaga poprawy.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Materiał i metody badawcze” **Autorka szczegółowo i precyzyjnie omówiła metodykę pracy**. Na wstępie został omówiony badany materiał, w tym sposób przygotowania próbek miodu z dodatkiem produktów pszczelich. Na szczególne podkreślenie zasługuje bardzo starannie przygotowana dokumentacja

graficzna – fotografie analizowanych próbek wykonane przez Autorkę. Również metodyki zostały opisane prawidłowo, bardzo dokładnie w sposób nie budzący żadnych zastrzeżeń. Moją wątpliwość w tej części budzą jedynie równania opisujące wykresy 2, 3, 4, 5, 9 i 10, które prezentują krzywe wzorcowe poszczególnych oznaczeń. Wysoka wartość współczynników dopasowania wskazuje na bardzo rzetelne przeprowadzenie poszczególnych oznaczeń, co bardzo dobrze świadczy o zdolnościach analitycznych Doktorantki. Zastanawiające jest jednak, dlaczego równania te mają przebieg typu $y=ax+b$ a nie $y=ax$, zwłaszcza, że były wykonane próby zerowe, a wartości współczynnika b są bardzo niskie. Liczę na wyjaśnienie tego w czasie publicznej dyskusji.

Chciałabym też zwrócić uwagę na błędny tytuł rozdziału „Materiał badawczy”. Niestety błąd taki dość często można spotkać w pracach naukowych. „Badawczy” to przymiotnik relacyjny utworzony od rzeczownika badanie, który oznacza działanie związane z badaniami. Dlatego może się odnosić tylko do metod analitycznych, a nie do materiału, który jest poddany badaniom. Prawidłowo rozdział ten powinien być zatytułowany „Materiał badany”, gdyż analizowany materiał został poddany badaniom, czyli był badany.

Najobszerniejszą część dysertacji (46% manuskryptu) stanowi rozdział, w którym Autorka zaprezentowała, omówiła i przedyskutowała z wynikami innych badaczy rezultaty swoich badań. Zaprezentowane wyniki dotyczyły miodów bez i z dodatkiem produktów pszczelich. Nie przeprowadzono natomiast analiz pyłku pszczelego, pierzgi i propolisu, co jest dość zaskakujące. Powoływanie się na wyniki innych autorów, jest dużym uproszczeniem i może być mylące, szczególnie w przypadku produktów pszczelich, które jak każdy materiał biologiczny cechują się dużą zmiennością. Prosiłabym o wyjaśnienie, dlaczego nie przeprowadzono badań dodawanych do miodu: pyłku pszczelego, pierzgi i propolisu.

Rozdział „Wyniki i dyskusja” podzielony został na trzy logicznie wydzielone części, w których kolejno omówiono uzyskane wyniki badań nad wpływem wzbogacania miodu produktami pszczelimi na właściwości przeciwutleniające, cechy sensoryczne i parametry jakościowe. W pierwszej części zaprezentowano rezultaty dotyczące wpływu wzbogacania miodu wielokwiatowego pyłkiem pszczelim, pierzgą i propolisem na całkowitą zawartość związków fenolowych, a także poszczególnych składników, tj. flawonoidów i kwasów fenolowych a także bardziej szczegółowo na profil tych związków. Ponadto zaprezentowano wyniki dotyczące zawartości antocyjanów, karotenoidów oraz witaminy C. Określono też aktywność przeciwutleniającą oraz zdolność redukcyjną oraz wzajemne korelacje pomiędzy tymi czynnikami. Ta część pracy obejmuje, aż 53 strony maszynopisu. Wyniki zostały zaprezentowane na 9. wykresach i w 8. tabelach. Mnogość wyników uzyskanych z zastosowaniem różnych nowoczesnych technik jest imponująca i świadczy o właściwym opanowaniu warsztatu i nowoczesnych technik analitycznych przez Doktorantkę. Niedosyt budzi brak wykorzystania bardziej zaawansowanych metod statystycznych, które pozwoliłyby

na dogłębną interpretację i w konsekwencji bardziej dogłębną interpretację uzyskanych wyników. Komentarz na ten temat zamieściłam w części uwagi i zastrzeżenia.

W drugiej części omówiono wyniki oceny sensorycznej miodu bez oraz z dodatkiem określonych ilości pyłku, pierzgi i propolisu. Ocenę przeprowadzono w odpowiednio zaplanowany i właściwy sposób, wykorzystując ilościowo-opisową metodę profilowania sensorycznego oraz ocenę akceptowalności konsumenckiej metodą skali hedonicznej. Badania wykonał odpowiednio dobrany i przeszkolony czternastoosobowy zespół w pracowni sensorycznej Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Uzyskane wyniki zostały przedstawione na piętnastu, starannie przygotowanych wykresach radarowych. Ponadto Doktorantka wyznaczyła współczynniki korelacji liniowej pomiędzy rezultatami akceptowalności a poszczególnymi parametrami profilowania sensorycznego. Pozwoliło to Autorce zapoznać się z cechami sensorycznymi, które we wzbogacanym miodzie w największym stopniu wpływają na akceptowalność konsumencką. Dwie z takich zależności, o wysokich wartościach współczynników korelacji, zostały zaprezentowane w formie graficznej na wykresach korelacyjnych, daje to czytelnikowi prosty pogląd na siłę tych związków. Wyniki analizy sensorycznej omówione zostały na 19 stronach maszynopisu. Ta część pracy jest bardzo istotna z punktu widzenia możliwości aplikacyjnych związanych z wytwarzaniem miodów o określonej zawartości pyłków, pierzgi i propolisu. Niska akceptowalność konsumencka produktów pszczelich jest przyczyną ich ograniczonego wykorzystania. Należy zatem z rozważą podchodzić do ilości produktów pszczelich dodawanych do miodu. Innowacyjny produkt powinien charakteryzować się nie tylko wysoką zawartością związków bioaktywnych, ale powinien być sensorycznie akceptowany przez konsumentów.

W trzeciej, ostatniej części prezentującej rezultaty badań własnych mgr Celina Habryka zaprezentowała wyniki analizy instrumentalnej wybranych parametrów fizykochemicznych próbek miodu i miodu wzbogaconego dodatkami pszczelimi. Barwę oceniła metodą odbiciową a dodatkowo wyniki porównała je z uzyskanymi metodą profilowania sensorycznego. Zgodnie z wytycznymi zamieszczonymi w Rozporządzeniach MRiRW oceniała też wpływ dodatku określonych ilości produktów pszczelich na parametry jakościowe wzbogacanego miodu. Ponadto wykorzystując technikę atomowej spektroskopii absorpcyjnej (ASA) dokonała oceny zawartości wybranych makro i mikroelementów w badanych miodach wzbogaconych produktami pszczelimi. Wyniki zamieszczone w tej części uzupełniają znajdujące się we wcześniejszych rozdziałach charakterystyki miodów wzbogaconych w różne dodatki ale przede wszystkim pozwoliły ocenić je zgodnie ze szczegółowymi wymaganiami w zakresie jakości handlowej.

Dysertację kończy rozdział zatytułowany „Wnioski”, w którym moim zdaniem zamieszczone zostały wnioski wraz z podsumowaniem. Szkoda, że przy tak obszernym opracowaniu nie wyodrębniono dwóch odrębnych rozdziałów „Podsumowanie” i „Wnioski”.

W przypadku tak szerokiego opracowania, jakim jest oceniana praca rozdział „Podsumowanie” pozwoliłby Doktorantce odnieść się kompleksowo do uzyskanych wyników wykonanych przez siebie prac badawczych, co ułatwiłoby wskazanie najważniejszych osiągnięć. W rozdziale „Wnioski” natomiast powinny znaleźć się wyłącznie twierdzenia, które na podstawie wyników badań weryfikują postawioną tezę i odpowiadają na postawiony cel badań. Dzięki temu, być może udało by się uniknąć powtórzeń stwierdzeń zawartych we wniosku 1 i 2: „ze wzrostem ilości dodawanego pyłku kwiatowego, pierzgi, propolisu wzrastała zawartość flawonoidów”, czy też stwierdzeń ogólnych jakie znalazły się na końcu wniosku 9.

Po przeczytaniu pracy nasuwają mi się także następujące uwagi, zastrzeżenia:

1. Podczas omawiania wyników Doktorantka niepotrzebnie powtarza wyniki zamieszczone w tabelach lub wręcz przeciwnie używa nieprecyzyjnych określeń „nieduży”, „nieco większy” „nieznaczny”, „niewielki” itp. Wyrażenie wyników w procentach ułatwiłyby precyzyjną interpretację, jednoznacznie pokazując tendencje, o których pisze Autorka. Z całą pewnością pozwoliłoby to uniknąć nieściśłych sformułowań, takich jak np.
str.94 „W miodzie manuka oznaczono ogólną zawartość flawonoidów niemal dwukrotnie większą niż..” podczas gdy w miodzie manuka oznaczono ogólną zawartość flawonoidów półtora raza większą (więcej o 53%),
str.96 „Wartość ta jest **nieco niższa** od podawanej przez

” podczas gdy nastąpił wzrost o 40% (to chyba nie jest „nieco”),
str.132 „Miód manuka cechował się nieco wyższą....” , z wyników wynika, że o 30%...
To są tylko przykłady, ale przedstawiona uwaga ma zastosowanie w wielu miejscach manuskryptu.
2. Niefortunne jest wielokrotnie powtarzające się, w odniesieniu do różnych związków, zdanie: „Fakt ten potwierdzony jest wzrastającymi wynikami całkowitej zawartości związków fenolowych” (np. str. 94, 96, 98). Zawartość antocyjanów, flawonoidów, kwasów fenolowych, ale także innych związków zawartych w dodawanych produktach pszczelich wpływała na całkowitą zawartość związków polifenolowych w badanych miodach. Wzrost tej wartości nie może zatem być potwierdzeniem wzrostu zawartości tylko jednej, określonej grupy związków.
3. Do oceny istotności różnic pomiędzy średnimi wyznaczono współczynniki NIR, brak jest jednak informacji jakich grup dotyczy (porównywano średnie wyniki oznaczenia miodu, z miodem z określonym dodatkiem, niezależnie od jego ilości?) i czy obliczone wartości są istotne przy poziomie istotności $\alpha=0,05$? Dlaczego zastosowano ten test? Dlaczego nie skorzystano z innych, np. Tukeya lub Duncana, które mogłyby dostarczyć więcej i bardziej precyzyjnych informacji?

4. Na wykresach korelacyjnych 12, 13, 14, 15, 16 nie zamieszczono współczynników korelacji oraz równań matematycznych je opisujących.
5. Podczas interpretacji związków korelacyjnych (np. Tabela 17 str.135) zwrócono uwagę jedynie na ich istotność. Szkoda, że nie podkreślono siły tych związków – współczynniki o wartościach 0,4-0,7 są istotne, jednak ich siła jest umiarkowana w przeciwieństwie do tych o wartościach powyżej 0,9 które wskazują na bardzo silną zależność.

Uwagi szczegółowe:

6. Zdanie ze str.19: „Pomimo stale wzrastającej liczby rodzin pszczelich nadal występuje duże zapotrzebowanie na Polski miód” – powinno raczej brzmieć: ”Pomimo stale wzrastającej liczby rodzin pszczelich produkcja miodu w Polsce nadal jest niewystarczająca”
7. Na str.42 błędnie podano informację „W pyłku zidentyfikowano również witaminy z grupy B: B₃ (niacyna) i witamina PP (kwas nikotynowy)” podczas gdy witamina B₃ inaczej witamina PP, jest to wspólna nazwa dla kwasu nikotynowego i jego amidu
8. Wielokrotnie powtarzające się sformułowanie „Wzrastający/narastający/zmienny dodatek...”, można skrócić, wystarczyłoby „dodatek...” tym bardziej jeżeli w dalszej części zdania podawany jest zakres procentowy (np. str.130)
9. Często powtarzający się skrót myślowy: „Zawartość..... przedstawiono w tabeli / na wykresie” należy zastąpić „wyniki zawartości... przedstawiono w tabeli / na wykresie”.
10. Na str. 90: „Do badan wykorzystali pierzgę w miodzie dostępną na rynku..”, czyż materiałem badanym nie był miód wzbogacony w pierzgę?
na str. 134 błędnie wpisano wartość współczynnika korelacji opisującego zależność całkowitej zawartości flawonoidów i związków fenolowych, jego wartość powinna być dodatnia.

Przedstawione powyżej uwagi krytyczne mają jedynie charakter dyskusyjny i nie przesłaniają wartości badań podjętych, wykonanych i przedstawionych w rozprawie przez Doktorantkę. Stwierdza, że praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jakim jest określenie wartości biologicznej miodów wzbogacanych produktami pszczelimi i stanowi doskonały materiał wyjściowy do dalszych badań.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr inż. Celiny Habryki jest dowodem kompetencji Autorki do planowania badań, ich wykonania, następnie analizowania, omawiania, dyskusowania z wynikami innych autorów i dokumentowania wyników w formie przyjętej dla publikacji naukowych. Problematyka badawcza pracy doskonale wpisuje się w nurt badań związanych

z produkcją żywności o podwyższonej aktywności biologicznej, a uzyskane wyniki mają znaczenie poznawcze, ale również praktyczne.

Podsumowując stwierdzam, że dysertacja mgr inż. Celiny Habryki spełnia wszystkie wymagania ustawowe stawiane pracom na stopień doktora (art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14.03.2003r. Dz.U.nr 65, poz.595, z późn. zm. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki) i wnoszę do Rady Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie pani mgr inż. Celiny Habryki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

D. Piasecka-Kwiatkowska

Prof. UPP, dr hab. inż. Dorota Piasecka-Kwiatkowska