UNIWERSYTET EKONOMICZNY W POZNANIU

Dr hab. inż. Inga Klimczak, prof. UEP
Katedra Jakości i Bezpieczeństwa Żywności
Instytut Nauk o Jakości
Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej pt.: Wykorzystanie produktów wzbogaconych w owoce derenia jadalnego (*Cornus mas L.*) jako dodatku do diety kobiet", wykonanej pod kierunkiem Pani prof.dr hab. Julity Reguły w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu**

Podstawą wykonania niniejszej recenzji jest Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 23 marca 2023 r. oraz pismo wystosowane przez Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu, Panią prof. UPP dr hab. Bożenę Danyluk, z dnia 23 czerwca 2023 r.

Niedokrwistość stanowi jedno z kluczowych wyzwań w dziedzinie zdrowia publicznego, oddziałując na znaczącą część populacji globalnej, zwłaszcza na kobiety w wieku prokreacyjnym i dzieci. Wiele krajów, zarówno o niskim, średnim, jak i wysokim dochodzie, zmaga się z konsekwencjami niedokrwistości i jej negatywnymi skutkami dla zdrowia publicznego. W Polsce również obserwuje się istotną częstotliwość występowania tego schorzenia wśród kobiet w wieku prokreacyjnym. Szacuje się, że 25,7% kobiet w wieku od 15 do 49 lat cierpi na niedokrwistość. Te dane podkreślają aktualność i ważność omawianego tematu w kontekście polskiego społeczeństwa.

Współczesna medycyna coraz częściej zwraca uwagę na naturalne metody profilaktyki i terapii wielu chorób. Włączenie do codziennej diety produktów bazujących na wartościowych surowcach roślinnych staje się nie tylko modą, ale i skutecznym sposobem na poprawę zdrowia. Jednym z takich surowców, który zyskuje na popularności, jest dereń jadalny (*Cornus mas L.*), owoce tego drzewa są cenione za bogactwo składników o działaniu prozdrowotnym. Szczególnie wartościowe w kontekście walki z niedokrwistością są produkty na bazie derenia, które dostarczają cennego żelaza niezbędnego dla prawidłowej produkcji czerwonych krwinek. Decyzja Pana mgr Macieja Kazimierskiego o podjęciu tej konkretnej tematyki badawczej zdaje się być trafna, uwzględniając zarówno jej istotność w obszarze naukowym, jak i znaczenie praktyczne w kontekście wyznaczonych celów pracy.

## 1. Opis strony formalnej

Rozprawa doktorska ma klasyczny układ, typowy dla prac o charakterze empirycznym, z wyodrębnioną częścią teoretyczną i doświadczalną. Praca obejmuje 86 strony, w następującym układzie: streszczenia w językach polskim i angielskim (4 strony), wstęp (2 strony), część literaturowa (10 stron), cel pracy i hipotezy badawcze (2 strony), materiał i metody badawcze (10 stron), wyniki i ich dyskusja (33 strony), wnioski (3 strony), spis tabel (1 strona), spis rycin (1 strona), bibliografia (10 stron), załączniki (4 strony) obejmujące oświadczenia Autora i uchwałę Komisji Bioetycznej. Brakuje formularzy oceny organoleptycznej badanych produktów. Spis literatury obejmuje 128 pozycji, w tym 62 prace w języku angielskim.

## 2. Ocena merytoryczna pracy

Tytuł rozprawy: "Wykorzystanie produktów wzbogaconych w owoce derenia jadalnego jako dodatku do diety kobiet" niestety nie w pełni odzwierciedla jej zawartość. Doktorant owszem, opracował produkty na bazie derenia jadalnego, takie jak ciastka, dżemy, soki, które następnie zostały poddane ocenie organoleptycznej, ale do dalszych badań z interwencją żywieniową wykorzystany był tylko sok z derenia. Ponadto, wątpliwości budzi użycie sformułowania „wzbogaconych". Zasady wzbogacania żywności są regulowane prawnie i tak według Ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 roku o bezpieczeństwie żywności i żywienia, do środków spożywczych mogą być dodawane witaminy, składniki mineralne lub inne substancje wykazujące efekt odżywczy lub inny fizjologiczny, z uwzględnieniem wymagań określonych w rozporządzeniu (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji (Dz. U. UE L 404 z 30.12.2006, str. 26, z późn. zm.). W świetle powyższych przepisów, zastosowanie innych dodatków sprawia, że nie powinniśmy posługiwać się określeniem „wzbogacony". Poza tym, czy sok i dżem dereniowy można nazwać produktem wzbogaconym w owoce derenia jadalnego?

Studia literaturowe, stanowiące tło problemów poruszanych w badaniach własnych, zostały przedstawione na 10-ciu stronach maszynopisu, w oparciu o aktualne piśmiennictwo naukowe. Autor przestawił ogólną charakterystykę i skład chemiczny derenia jadalnego, z uwzględnieniem związków biologicznie czynnych. Omówił zasady żywienia i zalecenia żywieniowe dla kobiet oraz przedstawił problem niedokrwistości niedoborowej u kobiet, wskazując na jej przyczyny i konsekwencje zdrowotne.

Część literaturowa wydaje mi się dobrze opracowana, przedstawione informacje i dane są dobrze udokumentowane z podaniem źródeł literaturowych. Zauważone uchybienia, takie jak błędy językowe, stylistyczne, skróty myślowe, powtórzenia, błędy w nomenklaturze zostały wymienione w dalszej części recenzji.

Część doświadczalna stanowi główną część pracy. W rozdziale 3 Autor zdefiniował cel główny oraz cztery cele szczegółowe pracy. W tym miejscu pojawia się pewna nieścisłość, ponieważ brzmienie celu głównego „Pozyskanie produktów z dodatkiem owoców derenia jadalnego oraz ocena skuteczności interwencji żywieniowej z wykorzystaniem soku z derenia w żywieniu kobiet" nieco różni się od przedstawionego na s. 2 oraz 10. W moim odczuciu lepiej byłoby ujednolicić w całej pracy sformułowania związane z celem badawczym. Można by było także rozważyć modyfikację celu na np. „Zaprojektowanie (lub opracowanie receptury) produktów na bazie owoców derenia jadalnego oraz ocena skuteczności interwencji żywieniowej z wykorzystaniem soku z derenia w żywieniu kobiet w wieku prokreacyjnym". Ponadto, Autor sformułował cztery hipotezy badawcze, które nie zawsze są prawidłowe. Podstawą do sformułowania trzech hipotez jest wcześniej dokonany przegląd literatury naukowej. Już na jej podstawie te hipotezy mogą być potwierdzone. Hipotezy należałoby trochę zmodyfikować. Przykładowo, na podstawie pierwszego celu szczegółowego: Ocena zawartości wybranych składników mineralnych oraz substancji bioaktywnych w różnych odmianach derenia jadalnego, w hipotezie należałoby uwzględnić wpływ odmiany, ale i też sezonu zbiorczego owoców derenia jadalnego. W trzeciej hipotezie Doktorant stwierdził, że „Owoce derenia jadalnego oraz sok z niego pozyskany charakteryzują się wysoką zawartością witaminy C". Jakie źródła lub dowody stały za tą hipotezą? W części doświadczalnej pracy nie odnotowano badań zawartości witaminy C w soku z derenia. Hipoteza czwarta zyskałaby na precyzji, gdyby wskazano jakich kobiet dotyczy.

Obranie konkretnego celu i planowanie zadań badawczych zaowocowało realizacją licznych badań empirycznych, które były poprzedzone wyborem materiału do analizy oraz określeniem stosowanych metod. Chciałabym podkreślić rozbudowany zakres planowanych badań, który wiązał się z realizacją wielu złożonych i wymagających czasu eksperymentów laboratoryjnych. Autor wykorzystał wiele technik i metod analitycznych, m.in.: wysokosprawną chromatografię cieczową, metody spektrofotometryczne, miareczkowe, hematologiczne. W przypadku oceny sposobu żywienia zastosowano metodę bieżącego notowania spożycia.

Opis metodyczny został przedstawiony zbyt syntetycznie, w niektórych przypadkach jest niekompletny, brakuje opisu sposobu przygotowania próbek, sposobu identyfikacji związków (analiza chromatograficzna), odnośników literaturowych, co miejscami utrudniało właściwy odbiór pracy.

Część eksperymentalna nasunęła jeszcze kilka innych uwag i pytań:

1. Oznaczanie zawartości witaminy C – czy przypadkiem przesącz badanej próbki nie był zabarwiony na różowo już przed miareczkowaniem?. Jeżeli tak, to jak w takiej sytuacji uchwycono zmianę zabarwienia podczas miareczkowania?
2. Identyfikacja związków fenolowych – w jaki sposób dokonano identyfikacji związków polifenolowych? Jak zostały wyrażone wyniki? Szkoda, że nie przedstawiono chromatogramu rozdziału mieszaniny wzorców związków polifenolowych.
3. s. 24 – zastosowano powszechny skrót myślowy – „ Oznaczenie zawartości witaminy C wykonano metodą Tillmansa…" – powinno być - metodą spektrofotometryczną (metoda Tillmansa), a także w przypadku „metodą HPLC" – „wykonano za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z wykorzystaniem chromatografu cieczowego…"
4. s. 25 – „Rozdziału ekstraktu z owoców derenia…" – powinno być: Rozdziału antocyjanów zawartych w ekstrakcie…"
5. s. 26 – 4.3.1. Przygotowanie produktów i przetworów z dodatkiem derenia jadalnego – sok, dżem – „przetwory z dodatkiem"? sugerowana zmiana np. „na bazie owoców derenia jadalnego" albo jak podaje Autor w p. 4.3.2. „produktów z dodatkiem owoców derenia i przetworów z owoców derenia"
6. *Ciastka:* W jakiej formie dodawano owoce do ciastek? Proszę podać uzasadnienie dlaczego wybrano dwie odmiany a nie jedną? Czy owoce tych odmian różniły się smakiem? Przy analizie receptur w Tabeli 2 trudno zauważyć konkretny schemat ich opracowywania. Wprowadzenie wielu zmian w składzie jednocześnie sprawia, że trudno jest porównać ciastka – zarówno w obrębie jednej odmiany, jak i między różnymi odmianami. Różnorodność kształtów dodatkowo komplikuje porównanie i może wpływać na ocenę. Ponadto, dlaczego rozważano wariant z użyciem cukru trzcinowego zamiast cukru kryształowego? W przypadku receptur C3 – C5 – suma składników wynosi 101.

   *Dżemy*: brakuje opisu otrzymywania; na jakiej podstawie ustalono ilość owoców derenia jadalnego tj. 200 g? Czy oznaczono może zawartość ekstraktu ogólnego w dżemie? Proszę uzasadnić wybór miodu.

*Sok*: w mojej opinii, podany przez Autora opis soku „ był sokiem naturalnym 100%, bez konserwantów i dodatku cukru" jest niepotrzebny. Po pierwsze, definicja „sok 100%" nie jest uregulowana prawnie. Po drugie, do soków owocowych można dodawać tylko witaminy lub składniki mineralne, jeżeli ich dodanie jest dozwolone na podstawie rozporządzenia (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji (Dz. Urz. UE L 404 z 30.12.2006, str. 26, z późn. zm.; Dz. Urz. UE L 354 z 31.12.2008, str. 16, z późn. zm.), zwanym dalej "rozporządzeniem nr 1333/2008").

7. 4.3.2. Ocena organoleptyczna produktów z dodatkiem derenia i przetworów z derenia – wątpliwość moją budzi poprawność doboru metody oceny. W mojej opinii, w badaniach preferencji czy pożądalności konsumenckiej nie stosuje się metody 5-cio punktowej obejmującej 5 poziomów jakości dla oceny każdej z cech. „Metodą skalarną" – powinno być „metodą skalowania"; „pożądanie konsumenckie" – zapewne Autor miał na myśli „pożądalność konsumencką".
8. 4.4. Interwencja żywieniowa u kobiet – Czy Autor rozważał podział badanych kobiet na podstawie wyników ich badań morfologicznych, tworząc grupę z niedokrwistością niedoborową spowodowaną deficytem żelaza oraz grupę kobiet o prawidłowych wynikach badań? Czy surowiec do produkcji soku z derenia, który był używany w diecie badanych kobiet, został dostarczony przez Doktoranta, czy pochodził bezpośrednio od firmy Dary Natury? Czy Doktorant nie rozważał analizy składu soku z derenia, szczególnie w odniesieniu do zawartości żelaza i witaminy C? Moim zdaniem taka informacja byłaby kluczowa przy ocenie skuteczności interwencji żywieniowej z użyciem tego soku.
9. Analiza statystyczna – jaki test zastosowano przy weryfikowaniu istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi danego parametru, w obrębie odmian derenia (np. tab.7, 8)?

Rozdział 5 „Wyniki i ich dyskusja" liczy 34 strony i został podzielony na trzy podrozdziały. Otrzymane wyniki są przedstawione w 20 tabelach, na 7 rysunkach w postaci wykresów. Autor scharakteryzował owoce derenia jadalnego pod katem zawartości składników mineralnych, witaminy C, związków polifenolowych oraz określił ich aktywność przeciwutleniającą. Uwagi i pytania do tej części pracy:

1. Dlaczego wyniki badań prezentowane są w różnych kontekstach czasowych dotyczących okresów zbioru owoców? Zawartość składników mineralnych przedstawiono dla lat 2019 i 2021, witaminy C dla

lat 2019, 2020 i 2021, natomiast w przypadku związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej nie podano, do którego roku zbioru odnoszą się wyniki.

2. Opisy pod tabelami (3-8) dotyczące wykorzystanej statystyki są zbyt ogólnikowe i nie wskazują, jakiego testu użyto. Co było powodem, że jedynie w przypadku analizy danych zawartości sodu i potasu zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji, podczas gdy dla innych parametrów użyto analizy jednoczynnikowej, pomijając wpływ okresu zbioru na badane wartości?
3. str.41. Nie należy w pracy naukowej stosować określeń potocznych, np. „zmiatanie" rodników (raczej unieczynnianie).
4. str.42 – kwas ferulowy należy do kwasów fenolowych.
5. str.43 – „wykonano analizę związków fenolowych, antocyjanów" – związków fenolowych w tym antocyjanów.
6. Str.44, 13- należy ujednolicić sposób zapisu nazw związków polifenolowych, np. cyjanidyno-3-O-glukozyd czy glukozyd 3-O-cyjanidyny.
7. Tab.9 i s.14 – błędy w nazewnictwie związków np. glukozyd pelergonidynowy – powinno być: glukozyd pelergonidyny; kwas protekatechowy – kwas protokatechowy; w tabeli jest glukozyd cyjanidyny i pelergonidyny, a w tabeli 10 i tekście Autor pisze galaktozyd cyjanidyny i pelergonidyny. Zawartość związków polifenolowych została wyrażona w µg/ml czego?
8. Tab.10 – opisy pod tabelą związków polifenolowych powinny być napisane w języku polskim.
9. Rys.1. – „Chromatogram z rozdziału ekstraktu z owoców…" – raczej „rozdziału antocyjanów w ekstrakcie z owoców…"; brakuje opisu chromatogramu.

Uważam, że badania z interwencją żywieniową stanowią wyjątkowo interesujący i wartościowy element rozprawy. Realizacja takich badań z pewnością wymagała starannej organizacji i zaangażowania ze strony Doktoranta. Zasługuje na uznanie fakt, że udało się zaangażować do badań stosunkowo liczną grupę kobiet, co jest istotne w kontekście badań interwencyjnych. Ponadto, analizowano wiele biomarkerów, które zostały odpowiednio dobrane z uwzględnieniem celu badań. Mam pewne zastrzeżenia co do sposobu przedstawienia wyników dotyczących oceny sposobu żywienia poprzez % realizacji normy. Współczesne metody skłaniają się ku ocenie prawdopodobieństwa adekwatności spożycia, która dostarcza dokładniejszych informacji o rzeczywistym spożyciu w populacji. Rozważyłabym zastosowanie tej metody w przyszłości. Ponadto, polecałabym dokładne sprawdzenie danych w tabeli 22,

zwłaszcza pod kątem istotności statystycznej różnic między średnimi wartościami analizowanych parametrów, takich jak żelazo, ferrytyna czy hemoglobina. Nie wydaje mi się, żeby obserwowane różnice były istotne statystyczne. Pod tabelą nie podano wyjaśnień dla oznaczeń „a-c" oraz nie określono użytego testu statystycznego. Nasuwa się jeszcze jedno pytanie, na które chciałabym uzyskać odpowiedź: czy stan mikrobioty jelitowej kobiet mógł mieć wpływ na wchłanianie żelaza? Jakie analizy oceniłyby stan mikrobioty?

W pracy znalazło się również kilka niezręcznych stwierdzeń lub nieścisłości:

- związki fenolowe powinny być zastąpione określeniem związki polifenolowe ze względu na złożoną strukturę poszczególnych substancji,
- str. 14 i inne – „duża aktywność przeciwutleniająca" „duża zawartość polifenoli" – powinna być zastąpiona – „wysoka",
- str. 2, 14 i inne – „… zawartości polifenoli, proantocyjanidyn, antocyjanów…", „ polifenoli oraz antocyjanów" – proantocyjanidyny i antocyjany należą do grupy związków polifenolowych,
- str.13 – niewłaściwe sformułowania: „poziom ilości kwasów waha się"; „w nasionach wykryto około 9% oleju"; „Kwasy tłuszczowe otrzymane z pestek"; „ważnym składnikiem występującym w pestkach jest olej",
- strona 44 i inne – słowo „antyoksydacyjnych" należałoby zastąpić odpowiednikiem polskim – „przeciwutleniających".

Mimo uwag o charakterze wyjaśniającym czy dyskusyjnym, stwierdzam, że rozprawa mgr Macieja Kazimierskiego pt. "Wykorzystanie produktów wzbogaconych w owoce derenia jadalnego (*Cornus mas L.*) jako dodatku do diety kobiet" stanowi wartościowe opracowanie. Zawarte w niej wyniki badań są źródłem wiedzy naukowej oraz praktycznej. Należy podkreślić ogromny wkład pracy Doktoranta w realizację zaplanowanych badań oraz dużą liczbę uzyskanych wyników.

**WNIOSEK KOŃCOWY**

Podsumowując, mimo pewnych słabości, przedstawiona do oceny praca doktorska spełnia wymogi i kryteria stawiane rozprawom doktorskim, określone w art.187 ust.1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2020, poz. 85 ze zm). Wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Macieja Kazimierskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, dnia 22.08.2023 r. Inga Klimczak