

Dr hab. Beata Madras-Majewska, prof. SGGW

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Instytut Nauk o Zwierzętach

Samodzielna Pracownia Pszczelnictwa

ul. Nowoursynowska 166

02-787 Warszawa

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Katarzyny Jaśkiewicz

pt. „Charakterystyka aktywności antyoksydacyjnej krajowych miodów odmianowych”

przygotowanej pod kierunkiem naukowym

Promotora Pani **dr. hab. Teresy Szczęsnej, prof. IO** Zakład Pszczelnictwa w Puławach,
Instytut Ogrodnictwa-Państwowy Instytut Badawczy

Podstawą wydania opinii jest pismo **Pani prof. dr hab. Bożeny Matysiak** - Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Ogrodnictwa – Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 23-go maja 2023r. oraz dokumentacja w postaci papierowej wersji pracy doktorskiej nadesłanej w dniu 30-go maja 2023r.

1. Trafność wybranej tematyki

Powszechnie wiadomo, że zanieczyszczenie środowiska naturalnego, szybkie tempo życia czy stosowanie używek mają negatywny wpływ na nasze samopoczucie, wygląd i zdrowie. Jednocześnie są to dobre warunki do tworzenia się wolnych rodników, czyli atomów/grup atomów, które wywołują niepożądane zmiany w komórkach naszego organizmu. Z danych literaturowych można wywnioskować, że zabezpieczeniem przed negatywnymi skutkami działania wolnych rodników tlenowych jest profilaktyczne włączenie antyoksydantów do codziennej diety. Badania wykazały, że antyoksydanty zabezpieczają komórki i DNA przed uszkodzeniem oraz spowalniają proces starzenia się organizmu. Ważne jest więc odżywianie bogate w produkty naturalne zawierające substancje wykazujące właściwości przeciwutleniające, do których należą m.in. witamina C i E oraz związki fenolowe (kwas fenolowy, flawonoidy). Stwierdzono, że neutralizują one wolne rodniki opóźniając proces starzenia komórek, rozwój zmian nowotworowych i innych chorób, nazywanych ogólnie cywilizacyjnymi. W związku z powyższym w ostatnich latach coraz większe zainteresowanie środowiska naukowego zyskuje miód jako bogate i urozmaicone źródło naturalnych związków biologicznie czynnych. Wykazano, że właściwości odżywcze, profilaktyczne i prozdrowotne miodu są uwarunkowane między innymi aktywnością antyoksydacyjną. Z kolei wysoki potencjał antyoksydacyjny tego produktu pszczelego zależy głównie od obecności w jego składzie związków polifenolowych, w tym flawonoidów.

Właściwości przeciwutleniające krajowych miodów odmianowych oraz dokładny skład związków fenolowych za nie odpowiedzialnych nie były do tej pory scharakteryzowane w sposób szczegółowy, w oparciu o dużą liczbę powtórzeń dla poszczególnych odmian. Poza

tym literatura przedmiotu dotyczy głównie badań całkowitej zawartości związków fenolowych oraz właściwości antyoksydacyjnych w oparciu o techniki spektrofotometryczne. Rozwój nowych metod analitycznych z wykorzystaniem różnych technik chromatograficznych i metod detekcji pozwala na coraz dokładniejszy rozdział poszczególnych grup związków aktywnych biologicznie znajdujących się w miodzie, a co za tym idzie na dokładniejszą identyfikację substancji o właściwościach przeciwutleniających zawartych w tym produkcie pszczelim. Istnieje zatem uzasadniona potrzeba stałego doskonalenia metod badania składu chemicznego oraz uzupełniania charakterystyki związków aktywnych biologicznie występujących w miodzie.

Dlatego też uważam temat badań podjęty przez Panią mgr Katarzynę Jaśkiewicz za ważny. Na wstępie stwierdzić należy także, iż zakres pracy eksperymentalnej oraz treść dysertacji odpowiadają przyjętemu tematowi ocenianej rozprawy doktorskiej. Warto podkreślić, że zagadnienia poruszane w dysertacji Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz są aktualne, a wybór problemu badawczego jest celowy i bardzo znaczący ze względów poznawczych oraz aplikacyjnych. Uzyskane w ramach niniejszej rozprawy wyniki stanowią istotne uzupełnienie brakujących danych literaturowych i znajdują zastosowanie praktyczne zarówno w laboratoriach kontrolnych zajmujących się oceną jakości i wartości biologicznej oraz identyfikacją pochodzenia miodu, a także podczas promocji polskich miodów odmianowych, co może przełożyć się na rozszerzenie możliwości wykorzystania miodu w dietetyce i profilaktyce ludzi.

Stwierdzam, że dobór problematyki badawczej zaproponowany przez Doktorantkę wpisuje się istotnie w najnowsze trendy badań nad jakością i wartością biologiczną miodu-naturalnego słodkiego produktu wytwarzanego przez pszczoły *Apis mellifera* z nektaru roślin lub spadzi.

2. Ocena formalnej strony pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska to monografia, która liczy 180 stron, ma typowy układ i zawiera wstęp i cel pracy (2str.), przegląd piśmiennictwa (41 str.), materiał i metody (26 str.), wyniki i ich omówienie (33 str.), dyskusję wyników (14 str.), podsumowanie i wnioski (3 str.), spis piśmiennictwa (35 str.) oraz streszczenie w języku polskim i angielskim po 1 stronie każde. Całość poprzedzona została alfabetycznym wykazem skrótów stosowanych w pracy (3 str.) oraz dopełniona spisem rycin (3 str.) oraz spisem tabel (2 str.). Dysertacja zawiera 17 tabel, 61 rycin (schematy/fotografie). W pracy wykorzystano 295 naukowych pozycji bibliograficznych.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że w literaturze naukowej 75% (221 pozycji) to publikacje w języku angielskim o zasięgu międzynarodowym, co świadczy o umiejętności wykorzystania przez Autorkę rozprawy bogatej literatury przedmiotu. Najnowsze publikacje, wydane w okresie ostatnich 5-6 lat (od 2017 roku), stanowią 33% (96 pozycji) pozycji bibliograficznych, wykorzystanych w dysertacji, co przy obecnej dynamice rozwoju nauki jest zadowalającym wskaźnikiem. Pod względem jakościowym, literatura jest dobrana prawidłowo, stosownie do omawianego tematu. Ponadto jest bardzo zróżnicowana, a wiele artykułów pochodzi z renomowanych czasopism/wydawnictw zarówno polskich jak i zagranicznych. Od strony formalnej praca nie budzi zastrzeżeń.

3. Ocena wartości merytorycznej pracy

Rozprawę doktorską rozpoczyna rozdział „Wstęp i cel badań”, który jest bardzo ważny z punktu widzenia osadzenia pomysłu badawczego w wybranej dyscyplinie i sformułowanie problemu badawczego. Bardzo ogólnie omówiono tu zagadnienia związane z genezą dysertacji uzasadniając właściwie i precyzyjnie przedstawiony zarówno:

- cel pracy:

- uzupełnienie charakterystyki krajowych miodów odmianowych o właściwości antyoksydacyjne i skład jakościowy i ilościowy kwasów fenolowych i flawonoidów

– jak i zakres badań:

- dopracowanie metod spektrofotometrycznych oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej miodu z wykorzystaniem rodnika DPPH i całkowitej zawartości związków fenolowych z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu;
- opracowanie metodyki identyfikacji i ilościowego oznaczenia związków fenolowych w miodzie w wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (HPLC-DAD);
- oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej, całkowitej zawartości związków fenolowych oraz jakościowego i ilościowego składu związków fenolowych w krajowych miodach odmianowych opracowanymi miodami.

Przedstawiony w dysertacji starannie przygotowany rozdział „**Przegląd literatury**”, oparty o aktualne i ważne publikacje, stanowi dobry asumpt do zaplanowanych badań, nakreślając w zarysie najważniejsze kwestie związane z tematem pracy, w tym przeprowadzone w dalszej części pracy analizy (procedury badawcze).

W oparciu o piśmiennictwo Pani mgr Katarzyna Jaśkiewicz w przystępny sposób, wracając uwagę na cały szereg ważnych czynników (pochodzenie botaniczne/geograficzne, warunki klimatyczne, warunki przetwarzania/przechowywania), przedstawiła właściwości fizyczne, a także skład chemiczny miodu. Autorka uwzględniła również istotne informacje dotyczące wpływu poszczególnych substancji/grup związków zawartych w miodzie na jego trwałość, cechy fizyczne, sensoryczne, organoleptyczne oraz potencjał biologiczny czy właściwości antybakteryjne, antyoksydacyjne. Doktorantka szczególnie podkreśliła znaczenie właściwości przeciwutleniających, przeciwbakteryjnych i przeciwzapalnych bioaktywnych związków fenolowych (flawonoidów i kwasów fenolowych), które dokładnie scharakteryzowała w rozdziale 3.1. Następnie Pani mgr Katarzyna Jaśkiewicz skoncentrowała się na pracach dotyczących właściwości antyoksydacyjnych krajowych i zagranicznych miodów odmianowych, uwzględniając również ich role w profilaktyce zdrowotnej i żywieniu człowieka. Kolejną część rozdziału Autorka poświęciła na cytowanie prac dokładnie charakteryzujących krajowe miody odmianowe (rzepakowy, akacjowy, lipowy, gryczany, wrzosowy, faceliowy, nawłociowy, spadziowy, spadziowy ze spadzi liściastej, spadziowy ze spadzi iglastej) mając na względzie bazę pożytkową, charakterystyczne dla danej odmiany cechy organoleptyczne, właściwości fizykochemiczne, walory odżywcze i prozdrowotne.

Z zadowoleniem stwierdzam, że rozdział został przedstawiony w sposób logiczny i przejrzysty. Treści wzbogacone tabelami i rycinami stanowią interesującą lekturę w oparciu o aktualny stan wiedzy. Dobrze opracowywany materiał oparty został na obszernym przeglądzie oryginalnych prac badawczych w większości opublikowanych w renomowanych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Potwierdza to dobre przygotowanie Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz do podjętego tematu pracy oraz umiejętności studiowania i analizowania problemów badawczych na podstawie odpowiednio dobranego piśmiennictwa. Niewątpliwie, ta część rozprawy stanowi właściwe wprowadzenie do realizacji zaplanowanego celu badań i interpretacji otrzymanych wyników.

Pewien niedosyt budzi, moim zdaniem, brak sformułowanych w oparciu o literaturę hipotez badawczych, które byłyby dobrym wstępem do wyników badań własnych i pozwoliłyby Doktorantce na wykazanie w tym obszarze jej dojrzałości naukowej, a czytelnikowi umożliwiłyby uzyskanie pełnego obrazu szeroko zakrojonych badań.

Z rozdziału „**Materiały i metody**” wynika, że Pani mgr Katarzyna Jaśkiewicz posłużyła się licznym materiałem badawczym (265 próbki) wykorzystując w doświadczeniu 10 krajowych miodów odmianowych, które skompletowała w dwóch etapach, z pasiek Zakładu Pszczelnictwa Instytutu Ogrodnictwa w Puławach oraz pasiek prywatnych pszczelarzy. W latach 2011-2015 pozyskała (152 próbki) miód akacjowy, rzepakowy, lipowy, wrzosowy, gryczany oraz faceliowy. Natomiast w talach 2017-2018 (134 próbki) oprócz ww. odmian także miód nawłociowy, nektarowo-spadziowy, ze spadzi liściastej i spadzi iglastej. Badania wykonano w Laboratorium Badania Jakości Produktów Pszczelich Zakładu Pszczelnictwa Instytutu Ogrodnictwa w Puławach.

W tej części pracy na podkreślenie zasługuje zaplanowanie i przygotowanie do badań własnych imponująco dużej liczebności próbek krajowych miodów odmianowych. Według mnie koncepcja wykorzystania w doświadczeniu zarówno odmian miodu, które zostały scharakteryzowane w PN-88/A-77626 „Miód Pszczeli” jak i innych np. miodu faceliowego, czy nawłociowego jest w pełni zasadna zważywszy na fakt, że w ostatnich latach pszczelarze często uzyskują miód odmianowy z uprawianej na coraz większą skalę facelii oraz z, występującej na dużych powierzchniach nieużytków, inwazyjnej nawłoci kanadyjskiej i olbrzymiej.

W dalszej części pracy (podrozdział 4.2) przedstawiono dokładny opis stosowanych metod (procedur) badawczych obejmujący: etapy badań oraz właściwe dobrane do prezentowanych analiz wykazy aparatury i sprzętu laboratoryjnego, stosowanych odczynników chemicznych, sposoby przygotowania roztworów stosowanych odczynników chemicznych/miodu, ewentualnie wykreślenia krzywej kalibracyjnej. Autorka w pierwszej kolejności prezentuje metodykę dotyczącą klasyfikacji miodów odmianowych - ocenę organoleptyczną, mikroskopową analizę pyłkową i przewodność elektryczną właściwą. Następnie bardzo skrupulatnie opisuje procedury badawcze kolejnych etapów doświadczenia czyli oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej miodu wobec rodnika DPPH oraz całkowitej zawartości związków fenolowych metodą Folina-Cicalteu (TPC). Równie profesjonalnie i szczegółowo przedstawiono opracowaną przez Panią mgr Katarzynę Jaśkiewicz metodykę pomiarową oznaczenie flawonoidów i kwasów fenolowych w miodach za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem w postaci matrycy fotodiodowej (HPLC-DAD) z uwzględnieniem procedur badawczych zarówno z zakresu analizy jakościowej i ilościowej związków fenolowych (kwasów fenolowych i flawonoidów), jak również ustalenia przez Doktorantkę warunków ekstrakcji związków fenolowych z miodu metodą techniki SPE (w tym warunków rozdziału chromatograficznego i detekcji). Niewątpliwie szczególnie ważne i warte docenienia jest przeprowadzenie walidacji wszystkich ww. metod oznaczeń przed właściwymi pomiarami, co w moim zdaniem znacznie podnosi wartość merytoryczną pracy.

Oprócz nie zrozumiałej, w opinii recenzenta, decyzji dotyczącej wykluczenia z badań przewodności właściwej miodów nektarowych podczas gdy autorzy cytowanych w dysertacji publikacji wykorzystywali ww. metodę zarówno dla miodów spadziowych jak i nektarowych uważam, że rozdział „Materiał i metody” opracowano w bardzo rzetelny i czytelny sposób. Autorka rzeczowo i szczegółowo przedstawia poszczególne etapy przebiegu doświadczeń, co świadczy o samodzielnym wykonaniu badań. Na podkreślenie zasługuje również konsekwentna realizacja zaplanowanych działań przy dużej liczebności przeprowadzonych analiz, co na pewno wymagało od Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz zaangażowania, dobrej organizacji pracy i determinacji ale przede wszystkim ugruntowanej wiedzy, koniecznej do dokonania doboru odpowiedniego sprzętu, materiałów czy dopracowania technik nowych metod badawczych w celu uzyskania wyników badań jak najwyższej jakości.

Warto również zaznaczyć, że Doktorantka wybrała właściwe narzędzia statystyczne. Do analizy danych wykorzystano bowiem program Statistica 13.1 (Statsoft, Kraków). Z uwagi na niespełnienie założeń o normalności rozkładu, ocenionego za pomocą testu Shapiro-Wilka, zastosowano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa. Z kolei do opisu korelacji prawidłowo wybrano współczynnik korelacji rang Spearmana.

W rozdziale „**Wyniki**” w szczegółowy sposób zaprezentowano szereg interesujących wyników badań własnych. Nazwy rozdziałów są odpowiednie i przedstawione w tej samej kolejności zagadnień co w rozdziale „Materiały i metody”. Układ i sekwencja występujących po sobie eksperymentów jest logiczna i dobrze przemyślana co już podkreślałam wcześniej.

W podrozdziałach 5.1 oraz 5.2 Doktorantka zaprezentowała wyniki badań dotyczące klasyfikacji miodów. Stwierdzono, że wszystkie próbki wykorzystane w doświadczeniu zarówno miodów nektarowych (akacjowy, rzepakowy, lipowy, wrzosowy, gryczany, faceliowy, nawłociowy) jak i nektarowo-spadziowych, spadziowych ze spadzi liściastej oraz spadziowych ze spadzi iglastej spełniały wymagania określone w PN-88/A-77626 „Miód pszczeli” dla miodów odmianowych. Następnie przedstawiono wartości aktywności antyoksydacyjnej zbadanych miodów odmianowych wobec rodnika DPPH (podrozdział 5.3) oraz całkowitą zawartość związków fenolowych oznaczonych metodą Folina-Cicalteu (TPC) (podrozdział 5.4). Analiza statystyczna wykazała, że pochodzenie botaniczne miodu (odmiana miodu) miało wpływ na aktywność antyoksydacyjną wobec rodnika DPPH, a także na całkowitą zawartość związków fenolowych. Przeprowadzone badania wykazały również, że miody ciemne (spadziowy ze spadzi iglastej i liściastej, nektarowo-spadziowy, gryczany, wrzosowy) charakteryzowały się istotnie wyższą aktywnością przeciwutleniającą niż miody jasne (akacjowy, rzepakowy, faceliowy). Najwyższe średnie zawartości aktywności antyoksydacyjnej stwierdzono w miodzie ze spadzi iglastej (90,9%), gryczanym (89%), oraz ze spadzi liściastej (84%) (str. 93). Również najwyższą całkowitą zawartość związków fenolowych zidentyfikowano właśnie w miodach ciemnych: miodzie gryczanym (127 mg GAE/100g), spadzi iglastej (95,6 mg GAE/100g) oraz wrzosowym (81,3 mg GAE/100g) (str. 96). Dodatkowo wykazano silną dodatnią korelację ($r=0,798$) pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą wobec rodnika DPPH.

W podrozdziale 5.5 doktorantka zaprezentowała wyniki analiz jakościowych i ilościowych związków fenolowych wykonanych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fotodiodowym (HPLC-DAD). W tabeli 12 przedstawiono warunki rozdziału chromatograficznego sprawdzane na etapie opracowywania wyników metody oznaczania związków fenolowych techniką HPLC-DAD. Na podstawie uzyskanych danych utworzono bibliotekę widm badanych związków zarejestrowanych przy odpowiedniej długościach fali dla których zaobserwowano maksimum absorpcji (rycina 49, 50, 51). Opracowaną metodę HPLC-DAD wykorzystano do równoczesnego oznaczania kwasów fenolowych (wanilinowego, kawowego, trans-ferulowego, p-kumarowego, salicylowego, sumaryczna zawartość kwasów fenolowych) i flawonoidów (hesperydyny, rutyny, kwercetyny, hesperetyny, luteoliny, kemferolu, izoramnetyny, pinocembryny, chryzyny, akacetyny, suma zawartości flawonoidów) oraz aldehydu waniliny w krajowych miodach odmianowych (tabela 14 i 15).

Istotnym wynikiem badań jest stwierdzenie, że zawartość kwasów fenolowych w krajowych miodach odmianowych była dużo wyższa w porównaniu z zawartością flawonoidów. We wszystkich odmianach miodu oznaczono następujące kwasy: wanilinowy, kawowy, p-kumarowy, trans-ferulowy i salicylowy. Miody odmianowe pozyskiwane w naszym kraju były szczególnie bogate w kwas salicylowy, zwłaszcza miód spadziowy ze spadzi iglastej oraz kwas p-kumarowy, którego najwyższą zawartością wyróżniał się miód

wrzosowy. Z kolei najwyższą sumę zawartości kwasów fenolowych w miodach odmianowych stwierdzono w miodzie ze spadzi iglastej (1362,8 µg/100 g) (str. 106). Godnym podkreślenia jest również stwierdzenie, że nie wszystkie zidentyfikowane w próbkach flawonoidy (hesperydynę, rutynę, kwercetynę, hesperetynę, luteolinę, kemferol, izoramnetynę, pinocembrynę, chryzynę i akacetynę) występują w każdym z miodów odmianowych, a zawartości poszczególnych flawonoidów była zmienna i zależna od gatunku miodu (str. 110). Dodatkowo udowodniono, że aktywność antyoksydacyjna i całkowita zawartość związków fenolowych oraz zawartość oznaczonych kwasów fenolowych i flawonoidów wykazywały dużą zmienność w obrębie każdej z badanych odmian miodu.

Wyniki badań zostały zestawione w postaci licznych tabel i rycin z uwzględnieniem wyników analizy statystycznej, które są czytelnie zaprezentowane co ułatwia ocenę, interpretację i dokonanie porównań wyników badań. Niewątpliwie na podkreślenie zasługują bardzo rzetelnie wykonane analizy statystyczne wyników, łącznie z korelacjami. Pani mgr inż. Katarzyna Jaśkiewicz wykazała się umiejętnością logicznego i przekonującego przedstawienia oraz omówienia uzyskanych przez nią wyników badań.

W rozdziale „**Dyskusja**” Doktorantka umiejętnie dokonała dyskusji wyników własnych badań na tle licznych doniesień literaturowych. Autorka w zasadzie trafnie wybrała pozycje literatury do konfrontacji z wynikami jakie otrzymała przeprowadzając swoje doświadczenia. Sposób przedstawienia dyskusji jest logiczny i poprawny merytorycznie. Pani mgr Katarzyna Jaśkiewicz opanowała, więc dobrze zarówno warsztat badawczy, jak i umiejętności interpretacji uzyskanych wyników. Jest to kolejny dowód na to, że Doktorantka jest dojrzałym i wnikliwym pracownikiem naukowym.

W rozdziale „**Podsumowanie i wnioski**” Autorka przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej, podsumowując dyskusję zwraca szczególną uwagę na fakt, że przeprowadzone badania krajowych miodów odmianowych dotyczące właściwości antyoksydacyjnych i składu związków determinujących te właściwości są ważnym elementem oceny zarówno jakości jak i wartości biologicznej tego cennego produktu pszczelego. Zdaniem Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz i moim również: „...wyniki tej dysertacji uzupełniają lukę dotyczącą odmian miodów które nie zostały scharakteryzowane w PN-88/a-77626 „Mód Pszczeli” przede wszystkim od strony składu związków aktywnych biologicznie.

Na zakończenie pracy Doktorantka przedstawia 10 **wniosek**ów, dotyczących najważniejszych osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań. Świadczą one o realizacji przez Autorkę celu jak i zakresu badań. W opinii recenzenta wnioski nr 1, 7, 8 i 9 są szczególnie cenne.

Wniosek 1. Pochodzenie botaniczne miodu (odmiana miodu) miała wpływ na aktywność antyoksydacyjną i zawartość związków fenolowych. Miody ciemne (spadziowy ze spadzi iglastej i liściastej, nektarowo-spadziowy, gryczany, wrzosowy) silniej „zmiały” rodnik DPPH, czyli wykazywały wyższe właściwości antyoksydacyjne (przeciwutleniające) niż miody jasne (akacjowy, rzepakowy, faceliowy). Podobnie, najwięcej związków fenolowych oznaczonych metodą Folina-Ciocalteu posiadały miody ciemne, natomiast miody jasne charakteryzowały się znacznie niższą zawartością tych związków.

Wniosek 7. Opracowana metoda oznaczania związków fenolowych w miodzie techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem z matrycą fotodiodową (HPLC-DAD) umożliwia identyfikację związków fenolowych w miodzie oraz ich ilościowe oznaczenie. Metoda może być zastosowana do równoczesnego oznaczania

w miodzie następujących kwasów fenolowych: wanilinowego, kawowego, transferulowego, p-kumarowego, salicylowego oraz flawonoidów: hesperydyny, rutyny, kwercetyny, hesperetyny, luteoliny, kemferolu, izoramnetyny, pinocembryny, chryzyny, akacetyny, a także aldehydu waniliny. Utworzona biblioteka widm dla badanych związków fenolowych przy określonych długościach fali ułatwia ich identyfikację, a zastosowana na etapie przygotowania próbki miodu do badań technika SPE w wykorzystaniu kolumniek wypełnionych oktedecylovym sorbentem C18, pozwala na skuteczne wyizolowanie frakcji fenolowej z miodu.

Wniosek 8. Charakterystyka fizykochemiczna krajowych miodów odmianowych została uzupełniona o właściwości antyoksydacyjne i całkowitą zawartość związków fenolowych oraz o jakościowy i ilościowy skład kwasów fenolowych i flawonoidów. Charakterystyka ta może być wykorzystana do wyznaczenia wymagań normatywnych w ocenie wartości biologicznej miodu.

Wniosek 9. Opracowana metoda oznaczania związków fenolowych w miodzie techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem z matrycą fotodiodową (HPLC-DAD) może znaleźć zastosowanie w laboratoriach kontrolnych zajmujących się oceną jakości i wartości biologicznej miodu i innych produktów pszczelich.

4. Uwagi krytyczne

-Praca napisana jest bardzo starannie zarówno pod względem stylistycznym, poprawności językowej jak i graficznym oraz estetycznym. Wszystkie drobne uwagi dotyczące niefortunnych sformułowań, powtórzeń, literówek, interpunkcji znajdujące się na str. 5, 30, 63, 66, 68, 69, 104, 119 naniesiono bezpośrednio w egzemplarzu pracy. Poprawiony egzemplarz dysertacji przekazano Doktorantce.

-Nazwa rozdziału 5. zatytułowanego w pracy, jako „Wyniki” oraz przyporządkowany nr str.78 powinna być również umieszczona w spisie treści.

- W rozdziale „Przegląd literatury”, podrozdziale 3.4 „Charakterystyka polskich miodów odmianowych”, zdaniem recenzenta, powinna być przedstawiona w kolejności kwitnienia krajowej bazy pożytkowej.

- W rozdziale „Przegląd literatury” Autorka powołując się na badania wielu autorów wymienia szereg analiz wykorzystywanych do badania właściwości antyoksydacyjnych miodów np. DPPH, FRAP, CUPRAC, RSA, TEAC, całkowita liczba polifenoli oraz analizę HPLC wybranych polifenoli. W prezentowanej dysertacji przeprowadzono trzy z ww. wariantów metod. Argumentacja powyższego wyboru znajduje się w rozdziale „Dyskusja” i odnosi się głównie do technicznej strony analiz - łatwy i szybki do wykonania pomiar (str.123). Bardzo proszę Doktorantkę o dokładniejsze sprecyzowanie merytorycznych podstawy wyboru tych powszechnie stosowanych analiz.

- W rozdziale „Materiał i metody” nie zamieszczono danych dotyczących czasu magazynowania miodu (od pozyskania próbek do analizy), znamy tylko temperaturę przechowywania materiału badawczego (str. 53). Jediną informację traktującą o czasie przechowywania prób umieszczono w podrozdziale 5.1 „Klasyfikacja miodów odmianowych nektarowych” (str. 78) - „ocenę organoleptyczną przeprowadzono dla próbek świeżych, w ciągu 2 tygodni od pozyskania”. Czas magazynowania materiału badawczego może mieć wpływ na aktywność antyoksydacyjną miodu. W związku powyższym bardzo proszę Doktorantkę o uzupełnienie tych istotnych informacji

- W rozdziale „Dyskusja” porównano przede wszystkim zawartość polifenoli w materiale badawczych do wyników innych badaczy (z kraju i zagranicy). Wprowadź w dysertacji

poświęcono dużo uwagi i pracy właśnie badając konkretne polifenole jednakże, w mojej opinii, warto byłoby dyskusję wzbogacić o dodatkowy opis ww. związków również w kontekście ich właściwości biologicznych i siły potencjału antyoksydacyjnego.

Odnosząc się do przeprowadzonych przez Doktorantkę badań i bardzo interesujących wyników własnych, podczas publicznej obrony pracy doktorskiej prosiłabym przybliżenie ewentualnych planów naukowych, w kontekście zrealizowanych badań.

Wyżej wymienione uwagi krytyczne nie umniejszają wartości merytorycznej niniejszej dysertacji. Należy traktować je jako sugestie, które mogą okazać się przydane przy przygotowywaniu pracy do publikacji.

5. Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz wpisuje się istotnie w najnowsze trendy badań nad jakością miodu. Podjęty problem badawczy ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym, jak i aplikacyjnym. Przedstawiona w pracy część teoretyczna nie budzi zastrzeżeń. Jest dobrze osadzona w obszernej, aktualnej i trafnie dobranej literaturze przedmiotu. Część eksperymentalna została przeprowadzona konsekwentnie zgodnie z zaplanowanymi procedurami i przy pomocy właściwych metod badawczych. Doktorantka wykazała się umiejętnością opracowania uzyskanego materiału i omówienia wyników ale także dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach i pracowitością. Świadczy to o samodzielności naukowej i badawczej Autorki.

W świetle wszystkich powyższych argumentów stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego będąc potwierdzeniem umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz wnosi znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo. Zostały więc spełnione warunki podstawowy dla rozpraw doktorskich zgodnie z art.13.ust.1 Ustawy z dn. 14 marca 2003 roku „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595. (z póź. nowelizacjami z dn. 18 marca 2011 roku), jak i spełnione są warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1688).

Dlatego wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Ogrodnictwa – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Jaśkiewicz do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.



Dr hab. Beata Madras - Majewska, prof. SGGW