

Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 8.05.2023r.

O C E N A

rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Eweliny Sylwii Sidor

pt.: „Analiza składu chemicznego i aktywności biologicznej preparatów z czerwiu trutowego oraz możliwość ich wykorzystania w projektowaniu suplementów diety”
wykonanej w Instytucie Technologii Żywności i Żywienia, Kolegium Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytetu Rzeszowskiego
pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Dżugan jako promotora
i dr inż. Moniki Tomczyk jako promotora pomocniczego

W wieku XXI konsumenci żywności są coraz bardziej świadomi roli diety w kształtowaniu ich dobrej kondycji fizycznej i psychicznej. Są więc zainteresowani produktami, które uważane są za korzystne z punktu widzenia zdrowia, jednak nie zawsze mają możliwość aby odpowiednio skomponować swoją dietę. Pomocne mogą być wyroby, które można określić jako funkcjonalne, niezależnie od uznanej definicji i ograniczeń, które są z tym związane.

Miód jest produktem uznawanym przez badawczy, z jednej strony za produkt o znacznej wartości odżywczej ze względu na obecne w nim liczne składniki bioaktywne, a z drugiej, ze względu na dużą zawartość cukrów, przez niektórych dietetyków i lekarzy uważany za kontrowersyjny. Niezależnie od opinii naukowej i pseudonaukowej, konsumenci cenią i lubią miód pszczele, natomiast inne produkty pszczele są w zasadzie nieznane i spożywane przez nielicznych. Do takich produktów zdecydowanie należy czerw trutowy, który nie jest znany, a poza tym, biorąc pod uwagę niechęć Polaków do nowych, nieznanych surowców, a przede wszystkim owadów, na pewno nie zostałby łatwo zaakceptowany jako żywność.

Natomiast inaczej wygląda podejście konsumentów do suplementów diety. Zwykle nie wiedzą i nie chcą wiedzieć jakie jest źródło bioaktywnych składników, najważniejsze jest ich potencjalne działanie. Biorąc to pod uwagę wybór tematu pracy doktorskiej uważam za słuszny i istotny z punktu widzenia nauki i zdrowia publicznego.

Struktura pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr inż. Eweliny Sidor ma formę opracowania, którego podstawę stanowi jednotematyczny cykl 5. publikacji, w którym pierwszym autorem jest Doktorantka, sumaryczny wskaźnik IF=20,485, a punktacja według MNiSW= 430 pkt. (zgodnie z rokiem opublikowania pracy). Udział procentowy Doktorantki w poszczególnych publikacjach jest znaczący i wynosi od 40 do 80%. Cykl publikacji składa się z jednego artykułu przeglądowego i czterech oryginalnych artykułów w czasopiśmie naukowym.

Publikacja I. Ewelina Sidor (80%), Małgorzata Dżugan. *Drone Brood Homogenate as Natural Remedy for Treating Health Care Problem: A Scientific and Practical Approach*. *Molecules* 2020, 25 (23), 5699, doi.org/10.3390/molecules25235699.

Publikacja II. Ewelina Sidor (50%), Michał Miłek, Grzegorz Zaguła, Aleksandra Bocian, Małgorzata Dżugan. *Searching for Differences in Chemical Composition and Biological Activity of Crude Drone Brood and Royal Jelly Useful for Their Authentication*. *Foods* 2021, 10 (9), 2233, doi.org/10.3390/foods10092233.

Publikacja III. Ewelina Sidor (60%), Michał Miłek, Monika Tomczyk, Małgorzata Dżugan. *Antioxidant Activity of Frozen and Freeze-Dried Drone Brood Homogenate Regarding the Stage of Larval Development*. *Antioxidants* 2021, 10 (5), 639, doi.org/10.3390/antiox10050639.

Publikacja IV. Ewelina Sidor (70%), Monika Tomczyk, Michał Miłek, Małgorzata Dżugan. *The effect of storage time on the antioxidant activity and polyphenolic profile of frozen and lyophilized drone brood fixed in honey*. *Food Science and Technology Quality* 2022, 29 (2), 45-56, doi.org/10.15193/zntj/2022/131/415.

Publikacja V. Małgorzata Dżugan, Ewelina Sidor (40%), Michał Miłek, Monika Tomczyk. *The possibility of using bee drone brood to design novel dietary supplements for apitherapy*. *Applied Sciences* 2023, 13 (8), 4687, doi.org/10.3390/app13084687.

Rozprawa składa się ze streszczeń w języku polskim i angielskim, wstępu, celu i hipotez badawczych, materiałów i zastosowanych metod, omówienia wyników i dyskusji, podsumowania i wniosków, literatury oraz aneksu. W aneksie znajduje się wykaz pozostałych osiągnięć i kopie wszystkich publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej. Wszyscy współautorzy określili na czym polegał ich wkład w przygotowanie publikacji i wyrazili zgodę aby publikacje zostały wykorzystane w przewodzie doktorskim mgr inż. Eweliny Sidor. Są także oświadczenia Doktorantki, z określeniem na czym polegał jej wkład w przygotowanie publikacji.

Ocena pracy

Celem głównym pracy była ocena składu chemicznego i aktywności biologicznej preparatów z czerwiu trutowego oraz możliwość ich wykorzystania w projektowaniu suplementów diety.

W ramach celu głównego Doktorantka zdefiniowała także cele szczegółowe pracy.

1. Analiza aktywności biologicznej homogenatu czerwiu trutowego pozyskanego z podkarpackich pasiek.
2. Określenie stadium rozwoju larw o najwyższej aktywności biologicznej.
3. Dobór optymalnej metody utrwalenia homogenatu czerwiu trutowego i wytwarzanie preparatów.
4. Zastosowanie czerwiu trutowego do projektowania suplementów diety o wysokiej biodostępności.

Doktorantka sformułowała także hipotezy badawcze:

1. Homogenat czerwiu trutowego jest obfitym źródłem składników bioaktywnych.
2. Faza rozwoju larwy istotnie wpływa na aktywność biologiczną homogenatu czerwiu trutowego.
3. Liofilizacja pozwala zachować cenne składniki czerwiu trutowego o dobrej biodostępności.
4. Czerw trutowy może być rekomendowany jako wartościowy suplement diety o dobrej przyswajalności składników odżywczych i bioaktywnych.

W pierwszej publikacji Doktorantka przedstawiła bardzo wszechstronny przegląd literatury na temat przedmiotu badań. Ze względu na dosyć ograniczone, dostępne badania i publikacje, nie było to łatwe zadanie, ale Doktorantka wywiązała się z niego znakomicie.

Doktorantka przeprowadziła badania analityczne w trzech etapach, przedstawionych w publikacjach:

Etap I: Analiza zawartości składników bioaktywnych w czerwiu z uwzględnieniem fazy rozwoju i pochodzenia oraz poszukiwanie markerów, pozwalających jednoznacznie odróżnić czerw trutowy od mleczka pszczelego (publikacja II i III).

Etap II: Analiza wpływu różnych metod utrwalania czerwiu trutowego na zmiany potencjału antyoksydacyjnego, całkowitej zawartości związków polifenolowych i profil polifenolowy (publikacja III i IV).

Etap III: Ocena biodostępności składników czerwiu z zaprojektowanych suplementów diety i ocena bezpieczeństwa ich stosowania (publikacja V).

Doktorantka poddała badaniom czerw trutowy pozyskany w trzech fazach rozwoju, z trzech podkarpackich pasiek. Przeanalizowała następujące parametry: zawartość testosteronu i estradiolu (metodą ELISA), aktywność antyoksydacyjną i profil związków polifenolowych (HPTLC), zawartość białka i profil białkowy (SDS-PAGE), aktywność enzymatyczną (diastaza, inne glikozydazy) oraz zawartość składników mineralnych (ICP-OES). Jak wynika z przeglądu literatury przedmiotu, zmienność składu w zależności od fazy rozwoju i pochodzenia pasiecznego została zbadana przez Doktorantkę po raz pierwszy. Ze względu na krótką trwałość materiału Doktorantka poszukiwała też skutecznej metody jego utrwalenia. Zaproponowała metodę mrożenia, liofilizacji, suszenia i mieszania z miodem. Utrwalenie czerwiu trutowego metodą liofilizacji pozwoliło zachować potencjał antyoksydacyjny czerwiu i całkowitą zawartość związków polifenolowych, mrożenie pozwoliło na pełne zachowanie jego właściwości antyoksydacyjnych podczas 6-miesięcznego przechowywania w temperaturze pokojowej, natomiast miód wzbogacony czerwim trutowym stanowi wygodną formę wprowadzenia małych dawek czerwiu do diety.

Tę część rozprawy oceniam bardzo wysoko ze względu na dużą unikalność przeprowadzonych doświadczeń. W polskiej literaturze naukowej brak jest w zasadzie badań i publikacji na temat czerwiu trutowego. Temat jest zupełnie nieznan, co prawdopodobnie znacznie utrudniało Doktorantce zaplanowanie i przeprowadzenie badań. Doktorantka zrobiła to bardzo dobrze. Oceniała wpływ stadium rozwoju, warunków pasiecznych i markery jakościowe czerwiu trutowego, pozwalające na odróżnienie od mleczka pszczelego, zaproponowała metody utrwalania, przeprowadzając wszechstronne badania analityczne. Zestaw zastosowanych w dwóch pierwszych etapach metod i technik analitycznych jest imponujący; są to zarówno proste jak i aparaturowe metody chemiczne. W mojej opinii te dwa etapy byłyby zupełnie wystarczające do przedstawienia jako rozprawa doktorska.

Doktorantka jednak nie zatrzymała się na samej ocenie i propozycjach konserwacji czerwiu trutowego. Przeprowadziła etap trzeci, w którym utrwalony czerw wykorzystwała do zaprojektowania innowacyjnego suplementu diety (w wygodnej do stosowania formie kapsułek) i oceniła jego biodostępność metodą symulowanego, enzymatycznego trawienia *in vitro*. Preparat wzbogaciła w wapń dwoma metodami: stosując węglan wapnia (forma nieorganiczna) i zmielone skorupy jaj (organiczna), a następnie oceniła biodostępność wybranych składników (hormony, wapń, białko, antyoksydanty i polifenole). Ocena dziennego pobrania składników bioaktywnych z zaprojektowanych suplementów, potwierdziła bezpieczeństwo ich stosowania.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka sformułowała 11 wniosków. Zrealizowane badania dostarczyły nowych, istotnych informacji odnośnie technologii pozyskiwania czerwiu trutowego o optymalnej bioaktywności, optymalnego sposobu jego utrwalenia, a także zastosowania w prewencji lub leczeniu osteoporozy i innych chorób u ludzi. Praca wnosi cenne informacje do nauki o żywności, poszerza wiedzę w dyscyplinie technologia żywności i żywienia i ma aspekt zastosowawszy. Rozprawa przygotowana jest starannie, stwierdziłam naprawdę pojedyncze uchybienia językowe. Moja ocena jest jednoznacznie pozytywna.

Z obowiązku recenzenta pragnę jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia i potknięcia zauważone w pracy, które nie obniżają w żaden sposób wagi i jakości rozprawy i zapewne są dyskusyjne, ale mogą być przydatne w dalszej działalności Doktorantki lub przy przygotowywaniu publikacji:

1. Pierwsza hipoteza (Homogenat czerwiu trutowego jest obfitym źródłem składników bioaktywnych) jest za mało konkretna; co oznacza „obfite źródło”? Może lepiej byłoby: Homogenat czerwiu trutowego jest źródłem wybranych składników bioaktywnych? Poddaję to pod dyskusję.
2. Czwarta hipoteza (Czerw trutowy może być rekomendowany jako wartościowy suplement diety o dobrej przyswajalności składników odżywczych i bioaktywnych) jest z kolei zbyt daleko idącą – Doktorantka nie zaplanowała i nie przeprowadziła badań klinicznych u ludzi, pozwalających na rekomendowanie preparatu jako suplementu.
3. W opinii Recenzenta przedstawione wnioski są zarówno stwierdzeniami jak i wnioskami. Wnioski powinny odpowiadać na cel pracy i hipotezy, są to wnioski nr 1, 3, 5 i 11. Pozostałe to stwierdzenia z badań. To jest oczywiście szczegół porządkujący, jednak wydaje mi się dość istotny.

4. Zabrakło mi także jednoznacznego stwierdzenia, które hipotezy i w jakim stopniu zostały potwierdzone. Oczekuję, że Doktorantka odniesie się do tego w czasie obrony pracy doktorskiej.

Uwagi końcowe

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani mgr inż. Eweliny Sylwii Sidor wnosi nowe elementy do nauki o żywności i jej technologii. Doktorantka postawiła przed sobą konkretne, bardzo ambitne zadania i konsekwentnie je wykonała. Praca ma duży aspekt poznawczy, a także aplikacyjny.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca pani mgr inż. Eweliny Sylwii Sidor spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję do Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie pani mgr inż. Eweliny Sylwii Sidor do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Eweliny Sylwii Sidor, ze względu na jej wysoki poziom naukowy i możliwości aplikacji uzyskanych wyników w praktyce przemysłowej i dietetycznej.

