

dr hab. inż. Małgorzata Dżugan, prof UR

Zakład Chemii i Toksykologii Żywności
Instytut Technologii Żywności i Żywnienia
Kolegium Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Rzeszowski
e-mail: mdzugan@ur.edu.pl, tel. 178721619

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Natalii ŻAK pt. *Wykorzystanie metod fizykochemicznych do oceny jakości, identyfikacji oraz potwierdzenia autentyczności krajowych miodów odmianowych*

wykonanej w Katedrze Zarządzania Jakością na Wydziale Zarządzania i Nauk o Jakości
Uniwersytetu Morskiego w Gdyni pod kierunkiem Promotora
dr hab. inż. Aleksandry Wilczyńskiej, prof. UMG

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Przewodniczącej Rady Naukowej Wydziału Zarządzania i Nauk o Jakości Uniwersytetu Morskiego w Gdyni z dnia 29.11.2021 r., powołujące się na uchwałę Rady Naukowej Wydziału z dnia 26.11.2021r.

Przedłożona do recenzji praca doktorska podejmuje istotne i aktualne zagadnienie oceny jakości, identyfikacji odmiany oraz weryfikacji autentyczności miodów odmianowych w oparciu o proponowany wielokryterialny model bazujący na wynikach pomiarów parametrów fizykochemicznych, widm fluorescencji oraz wyróżników jakości sensorycznej.

Ocena aktualności problematyki badawczej

Miód jako najbardziej znany produkt pszczoły, jest powszechnie stosowany jako naturalny środek terapeutyczny. Warunkiem aktywności biologicznej miodu jest jego wysoka jakość wynikająca zarówno z naturalnego pochodzenia jak i właściwego postępowania z miodem podczas jego pozyskiwania i dystrybucji. Miody produkowane w kraju, cieszą się uznaniem konsumentów w kraju i zagranicą, szczególnie poszukiwane są miody odmianowe o udokumentowanym działaniu leczniczym. Odmiana miodu, będąca wynikiem pochodzenia botanicznego, jest więc głównym kryterium oceny jakości prozdrowotnej miodu. Pszczoły pobierają nektar roślinny obfitujący w specyficzne dla danego gatunku rośliny związki bioaktywne i włączają je w procesie przetwarzania nektaru do produktu finalnego. Im bardziej jednorodny pożytek znoszony jest do ula, tym większa zawartość składników bioaktywnych, i bardziej określone działanie lecznicze miodu.

W Polsce odmiana miodu jest deklarowana przez pszczelarza, w oparciu o rodzaj pożytku, który był dostępny dla pszczół podczas produkcji miodu. W wielu przypadkach ta deklaracja nie jest prawidłowa, co potwierdzają liczne doniesienia o niewłaściwym znakowaniu odmian miodu wprowadzonego do obrotu, stanowiące najczęstsze zafałszowanie miodu na rynku krajowym i UE. Odrębnym zagadnieniem staje się rosnąca ilość przypadków zafałszowań związanych głównie z modyfikacją naturalnego składu miodu przez dodatek syropów cukrowych, szczególnie tych produkowanych ze skrobi kukurydzianej. Dodatkowy problem na rynku miodów stanowią miody importowane, często o obniżonej jakości, które konkurują z produktami krajowymi niską ceną. Rosnąca globalizacja handlu żywnością oraz liberalne przepisy w zakresie znakowania pochodzenia miodu importowanego, wymuszają konieczność kontroli pochodzenia geograficznego i jakości miodów odmianowych dostępnych na rynku, w celu dostarczenia konsumentom produktu o oczekiwanych walorach leczniczych.

Niewłaściwa klasyfikacja odmiany miodu rodzi także wiele problemów analitycznych, ponieważ skład chemiczny miodu tej samej odmiany opartej na deklaracji pszczelarzy wykazuje ogromną zmienność. Jedyną uznaną w kraju i UE metodą weryfikacji pochodzenia botanicznego miodu jest analiza pyłkowa. Metoda melisopalinologiczna, zaproponowana do analizy miodu w 1970, charakteryzuje się, przy wysokiej precyzji, dużą pracochłonnością i wymaga doświadczenia analitycznego, a w obliczu rosnącej skali zafałszowań miodu okazuje się coraz mniej skuteczna. Dlatego w ostatnim 10-leciu trwają intensywne poszukiwania instrumentalnej metody pozwalającej na identyfikację odmiany miodu. Proponowane są różne narzędzia analityczne i markery składu chemicznego (tzw. „fingerprint” odmiany), które mogłyby stanowić alternatywę dla analizy pyłkowej. Nowym zagadnieniem jest zastosowanie analiz chemometrycznych, które w oparciu o zbiór informacji o składzie chemicznym miodu (wyniki analiz), na drodze procedur matematycznych proponują modele statystyczne do różnicowania odmian miodu. W tym aspekcie recenzowana praca wpisuje się w aktualny trend badawczy dotyczący poszukiwania nowatorskich rozwiązań do weryfikacji odmiany i potwierdzania autentyczności miodów. Te rozwiązania są niezwykle oczekiwane przez środowisko pszczelarskie, zatroskane o wysoką jakość oferowanego miodu.

Ocena formalna i merytoryczna pracy doktorskiej

Oceniana rozprawa doktorska składa się z 184-stronnicowego opracowania przygotowanego wg zasad właściwych tego typu opracowaniom. W mojej ocenie tytuł rozprawy nie oddaje

jednak w pełni treści pracy, gdyż nie uwzględnia analizy sensorycznej, stanowiącej istotną część rozprawy. W pracy wyróżniono 4 główne rozdziały zawarte na 119 stronach zatytułowane jako: 1) *Zagadnienia w świetle literatury* – przegląd aktualnego stanu wiedzy w zakresie poruszanej problematyki, 2) *Część doświadczalna* - zawierająca cel i hipotezy pracy, opis materiału, harmonogram badań oraz syntetyczny opis metod, 3) *Wyniki badań i dyskusja* – raport z badań, wyniki analiz statystycznych połączone z dyskusją oraz 4) syntetyczne *Podsumowanie i wnioski*. Wyniki przeprowadzonych badań i analiz statystycznych udokumentowano w treści pracy w postaci 30 tabel i 21 rycin. Spis bibliografii wykorzystanej w opracowaniu obejmuje 296 publikacji, niezwykle starannie opracowanej, w tym ponad 60% prac z ostatnich 10 lat. Na końcu zamieszczono streszczenie pracy w języku polskim i angielskim oraz dodatkowe tabele i ryciny w formie 41 załączników, zawierających karty oceny sensorycznej, wyniki analizy statystycznej oraz widma fluorescencyjne badanych miodów.

Praca napisana jest poprawnym językiem, z wykorzystaniem naukowej terminologii, w sposób przejrzysty i logicznie spójny. Wstęp zawiera właściwe uzasadnienie podjęcia zagadnienia i wprowadza czytelnika w tematykę i strukturę pracy. Przegląd aktualnego stanu wiedzy w zakresie poruszanej tematyki przedstawiono w Rozdziale I (44 str.), który został podzielony na trzy podrozdziały skoncentrowane na: charakterystyce składu chemicznego miodu i wymaganiach odnośnie jego jakości, zagadnieniu autentyczności miodu jako atrybutu jakości produktu oraz zastosowaniu metod statystycznych do modelowania autentyczności miodu. Na szczególne podkreślenie w tej części zasługuje opracowanie przeglądu metod badawczych stosowanych w ocenie jakości i autentyczności miodów w oparciu o dostępne publikacje naukowe w formie Tabeli 6.

Rozdział II rozpoczyna się sformułowaniem głównego celu pracy, którym było opracowanie wielokryterialnego modelu wykorzystującego parametry fizykochemiczne do oceny jakości, identyfikacji oraz potwierdzania autentyczności krajowych miodów odmianowych, do którego realizacji wyznaczono 5 zadań badawczych. W ramach głównej hipotezy pracy wydzielono 4 cząstkowe hipotezy badawcze dotyczące: klasyfikacji odmiany miodu w oparciu o wyznaczone zakresy parametrów fizykochemicznych, wykorzystanie widm fluorescencji do różnicowania odmian, ustalenie sensorycznych wyróżników jakości miodu przydatnych do identyfikacji i autentykacji miodów odmianowych oraz opracowanie modelu do określenia autentyczności miodów odmianowych na bazie wyselekcjonowanych na wcześniejszych etapach parametrów z użyciem narzędzi statystycznych. Na szczególne

podkreślenie zasługuje graficzne przedstawienie harmonogramu realizacji prac, co przy tak obszernej pracy ułatwia jej ocenę. Z niejasnych względów, być może dla skrócenia objętości pracy, bardzo pobieżnie opisano zarówno materiał jak i metody analityczne, ograniczając się do podania norm lub pozycji literaturowych bez sprecyzowania wykorzystanej aparatury, szczególnie podano jedynie dla analizy fluorescencyjnej, sensorycznej i stosowanych metod statystycznych.

Najobszerniejszą część pracy stanowi Rozdział III, który został podzielony na 2 części: *Charakterystyka badanych miodów* (rozdz. 3.1) i *Identyfikacja odmian badanych miodów* (rozdz. 3.2). W części pierwszej przedstawiono wyniki badań laboratoryjnych, oddzielnie dla analiz fizykochemicznych (7 parametrów ujętych w przepisach, dodatkowo zdolność przeciwrodnikowa DPPH, zawartość polifenoli ogółem i parametry barwy w skali CIE L*a*b*), analizy sensorycznej (wyróżniki smaku, zapachu, barwy, mętności i gładkości w 5-punktowej skali) i analizę widm fluorescencji wg metody opatentowanej przez zespół prof. Przybyłowskiego z rodzimej Katedry. Przy tak szerokim zakresie badań połączenie omówienia wyników, dyskusji z literaturą oraz analizą współzależności między parametrami bardzo ograniczyło analizę istotności różnic odmianowych w ocenie jakości badanych miodów. W mojej opinii analiza współzależności pomiędzy 3 typami prowadzonych analiz, powiązana z opracowaniem modeli matematycznych, mogła być wydzielona jako osobny rozdział pracy. Tym bardziej, że równania wyznaczone metodą regresji wielorakiej, które pozwalają zastąpić proste oznaczenia chemiczne (np. liczby diastazowej) przez obliczenie parametru w oparciu o wyróżniki analizy sensorycznej (do wyznaczenia w pracowni analiz sensorycznych), mają charakter wyłącznie teoretyczny, a nie aplikacyjny.

Najistotniejsza część pracy zawarta jest w rozdz. 3.2, w którym zaprezentowano wyniki zastosowania analizy dyskryminacyjnej do identyfikacji odmiany miodu na podstawie dużego zbioru danych eksperymentalnych. Wyznaczone równania funkcji dyskryminacyjnych dla wybranych parametrów fizykochemicznych (przewodność, kwasowość i HMF) pozwoliły na poprawną identyfikację wszystkich 10 badanych odmian miodu w oparciu o wartości zmiennych kanonicznych (F1 i F2). Zastosowanie podejścia chemometrycznego dla pełnego wykorzystania informacji zawartej w synchronicznych widmach fluorescencji, mierzonych przy dużej wartości $\Delta\lambda$, również pozwalało prawidłowo sklasyfikować próbki miodów, co potwierdzono zarówno dla pełnego zestawu 10 odmian, jak i oddzielnie dla miodów ciemnych i jasnych. Analogiczna analiza z wykorzystaniem determinant jakości sensorycznej pozwoliła poprawnie zakwalifikować miody tylko 4 odmian (rzepakowy, lipowy, spadziowy i

wrzosowy), w pozostałych przypadkach (6 odmian) uzyskano słabsze wyniki, co ogranicza zastosowanie tego modelu. W końcowej części pracy testowano model oparty na kombinacji 16 wybranych zmiennych wyselekcjonowanych z pomiarów fizykochemicznych, fluorescencyjnych i analizy sensorycznej, jednak opracowany model nie pozwolił na poprawną klasyfikację wszystkich odmian i ma jedynie wymiar teoretyczny.

W końcowej części pracy (*Podsumowanie i wnioski*) Doktorantka w sposób syntetyczny podsumowała rezultaty osiągniętych badań. Należy podkreślić, że z tego trudnego zadania, wymagającego interpretacji olbrzymiego zbioru danych Doktorantka wywiązała się znakomicie formułując 5 wniosków, wypływających z przeprowadzonych badań i będących równocześnie odpowiedzią na postawione do realizacji tezy. Wnioskowanie końcowe wskazuje, że założony do realizacji cel badawczy został osiągnięty w pełni. Niewątpliwe osiągnięcia badawcze pracy koncentrują się wokół następujących zagadnień: zidentyfikowanie głównych parametrów fizykochemicznych do identyfikacji odmiany miodu; wykazanie, że analiza synchronicznych widm fluorescencji może być przydatna w identyfikacji odmiany miodu, podczas gdy rozróżnianie odmian miodów oparciu o wyróżniki jakości sensorycznej jest możliwe w ograniczonym zakresie; opracowanie teoretycznych modeli opartych na parametrach fizykochemicznych, widmach fluorescencji i determinantach jakości sensorycznej.

Ze względu na skrócony opis metodyki części eksperymentalnej, z ciekawości naukowej poznam odpowiedzi i opinie Doktorantki odnośnie następujących zagadnień:

1. W jaki sposób weryfikowano odmianę analizowanych próbek miodu? Czy ich pochodzenie geograficzne mogło wpłynąć na uzyskane zakresy wartości parametrów fizykochemicznych? Jaka była zmienność miodów w obrębie danej odmiany, czy mogła to być przyczyna słabych korelacji ($r < 0,5$) pomiędzy badanymi parametrami, np. pomiędzy aktywnością przeciwrodnikową i zawartością polifenoli?
2. Jak długo przechowywano miody do analiz? Które właściwości miodów mogły ulegać zmianom podczas przechowywania miodu?
3. Czy stopień zaawansowania krystalizacji miodu może wpływać na wyniki analizy sensorycznej oraz instrumentalnego pomiaru barwy?
4. Który z opracowanych modeli matematycznych ma wg Doktorantki największą wartość aplikacyjną?

Z obowiązku recenzenta należy wymienić nieliczne błędy, które pojawiają się w pracy, jak. np.:

- niewłaściwe użycie terminu rekrystalizacja (str. 18 i na rys. 2),
- błędnie określenie zawartości dla disacharydów w miodzie (tab. 4),
- niepełna informacja o znakowaniu mieszanek miodu (str. 28),
- pominięcie głównego zastosowania spektroskopii SCIRA do identyfikacji zafałszowania miodu syropem cukrowym z roślin C4 (tab. 6),
- użycie terminu „footprint” zamiast „fingerprint” (str. 38)
- brak rozróżnienia siły korelacji (w większości przypadków słaba) oraz brak interpretacji ustalonych zależności,
- brak legendy na rysunkach w zał. 37, niepoprawna jednostka intensywności fluorescencji.

W związku z olbrzymią liczbą wyników eksperymentalnych i obliczeń, ich przedstawienie stanowiło spore wyzwanie edytorskie, stąd uwagi te nie mają znaczenia dla oceny merytorycznej rozprawy.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Problematyka badawcza poruszana w przedstawionej do oceny pracy dotyczy poszukiwania skutecznego i szybkiego narzędzia do identyfikacji odmiany miodu, które pozwoliłoby na zapewnienie odpowiedniej jakości miodów dostępnych na rynku. Uzyskane wyniki dostarczyły szeregu danych odnośnie determinant jakości miodów, szkoda że opracowane modele dyskryminacyjne mają charakter jedynie teoretyczny. Przeprowadzenie przez Doktorantkę tak rozległych i kompleksowych badań wymagało ogromnego zaangażowania w pracę laboratoryjną, ale także zgłębienia metod statystycznych, w tym zaawansowanych metod chemometrycznych. Poziom przygotowanej rozprawy świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki, wskazuje na zdolności organizacyjne, pracowitość i rzetelność badawczą.

Podsumowując stwierdzam, że dysertacja mgr inż. Natalii Żak 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 Naukowej dyscypliny *Nauki o Zarządzaniu i Jakości* Wydziału Zarządzania i Nauk o Jakości Uniwersytetu Morskiego w Gdyni o dopuszczenie Pani mgr inż. Natalii Żak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, dnia 14 stycznia 2022

dr hab. inż. Małgorzata Dżugan, prof. UR