

Dr hab. inż. Barbara Krochmal-Marczak, prof. PANS
Zakład Produkcji i Bezpieczeństwa Żywności
Instytut Zdrowia i Gospodarki
Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **Pani mgr Anety Marii Mrozek-Szeteli**
zatytułowanej

**„Zastosowanie ozonu do stabilizacji mikrobiologicznej wybranych serii materiałów
oraz końcowych produktów - suplementów diety”**

wykonanej w ramach programu „Doktorat Wdrożeniowy” pod opieką naukową
dr hab. Katarzyny Wińskiej, prof. uczelni z Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Opiekunem pomocniczym był Pan Piotr Rejda
(Weses Concept ul. Armii Krajowej 4a/8, 50-541 Wrocław).

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Podstawą wykonania niniejszej recenzji było pismo Pani Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Prof. dr hab. Agnieszki Kity, z dnia 19.10.2023r. zgodnie z uchwałą Rady z dnia 17.10.2023r. oraz rozprawa doktorska mgr Anety Marii Mrozek-Szeteli.

Podstawę prawną stanowi Ustawa z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018r. poz. 742 ze zm.).

2. Wybór tematu i jego uzasadnienie

Rynek suplementów diety rozwija się bardzo dynamicznie, co ma związek z rozpowszechnieniem tej kategorii produktów w środkach masowego przekazu, stosunkowo bezproblemową procedurą wprowadzenia na polski rynek oraz powszechną dostępnością

(można je nabyć w aptece, sklepach zielarskich, spożywczych oraz w Internecie). Dodatkowo należy także zaznaczyć, że suplementy diety nie podlegają kontroli jakości ani weryfikacji składu przed wprowadzeniem na rynek a sprzedaż produktu może się rozpocząć bezpośrednio po wypełnieniu stosownego formularza i zgłoszenia powiadomienia do Głównego Inspektoratu Sanitarnego. W związku z tym zdarza się, że do obrotu trafiają suplementy diety niebezpieczne dla konsumentów ze względu na obecność różnych zanieczyszczeń w tym zanieczyszczeń mikrobiologicznych, które zostają wykryte dopiero przy wybiórczej kontroli przez pracowników Głównej Inspekcji Sanitarnej. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne surowców roślinnych mogą nastąpić już na etapie ich uprawy, ale również później podczas zbiorów, wstępnej obróbki, pakowania, przechowywania, transportu, a także dystrybucji. Obecność niepożądanych drobnoustrojów w surowcu bądź też w produkcie może niekorzystnie wpływać na jakość wyrobu lub zdrowie konsumenta. Problem dotyczący zanieczyszczeń surowców roślinnych do produkcji suplementów diety jest od dawna tematem dyskusji wielu grup zainteresowanych bezpieczeństwem żywności. Stosowane obecnie metody dekontaminacji surowców roślinnych (promieniowanie jonizujące, wysokie ciśnienie hydrostatyczne) wykazują wprawdzie skuteczność w redukcji mikroflory zakaźnej, ale przyczyniają się też do utraty związków biologicznie aktywnych. Dlatego też poszukiwane są metody alternatywne. W ten trend dobrze wpisuje się recenzowana rozprawa doktorska, w ramach której Autorka opracowała metodę użycia ozonu jako środka do stabilizacji mikrobiologicznej wybranych serii materiałów oraz końcowych produktów - suplementów diety. Podjęte w rozprawie badania należy uznać za aktualne i mające wymiar poznawczy oraz szeroko zakrojony wymiar aplikacyjny.

3. Ocena formalna pracy (rozprawy)

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Anety Marii Mrozek – Szeteli obejmuje 102 strony standardowego maszynopisu. Układ pracy jest typowy dla opracowań o charakterze eksperymentalnym. Zawiera osiem głównych, logicznie występujących po sobie rozdziałów (**Streszczenie pracy** w języku polskim i angielskim, **Wstęp**, będący uzasadnieniem wyboru tematu pracy, w którym zostały opisane podstawy teoretyczne i przedstawiona w ramach rozprawy tematyka badawcza, **Cel pracy**, a także część doświadczalna, którą charakteryzuje opis **Badań własnych**, na którą składa się opis materiału i metod badawczych z praktycznymi elementami jakimi są elementy graficzne ułatwiające swobodne poruszanie się w obrębie tego rozdziału (37 rysunków) oraz zestawienia tabelaryczne (29 tabel). Następnie praca zawiera **Wyniki i dyskusję wyników**,

Podsumowanie i wnioski oraz **Bibliografię** obejmującą 220 pozycji piśmiennictwa krajowego i zagranicznego, związanego tematycznie z podjętym problemem badawczym. Nie zamieszczono spisu rysunków i tabel na końcu manuskryptu.

Podsumowując, stwierdzam, że pod względem formalnym praca spełnia wymogi stawiane pracy doktorskiej.

4. Ocena merytoryczna pracy (rozprawy)

Zaproponowany temat rozprawy doktorskiej jest odpowiedni i zgodny z zamieszczonymi w publikacjach treściami.

Rozdział pierwszy „Wstęp” (45 stron) – w części tej Autorka podejmuje szeroko rozumiane kwestie, prawne związane z produkcją suplementów diety oraz ich wprowadzania na rynek. Doktorantka wymienia przepisy prawne dotyczące suplementów diety, jednakże nie wspomina o instytucjach, które są uprawnione do zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego tych produktów. **Bardzo proszę Doktorantkę aby podczas obrony uzupełniła te informacje.** Kandydatka w tej części rozprawy doktorskiej przedstawiła i opisała sondaż społeczny dotyczący przyczyn przyjmowania suplementów jak i również podział wiekowy w którym są one przyjmowane. Sondaż ten dotyczył obywateli Stanów Zjednoczonych w latach 2007-2011. Moja sugestia i uwaga dotyczy przyszłych publikacji Doktorantki, aby oparła się dodatkowo na sondażach przeprowadzanych w naszym kraju najlepiej z ostatnich lat. W tej części pracy Doktorantka posługuje się w treści opisu jak i również w podpisach tabeli 2 skrótami, cytuję „*Wszystkie one dotyczyły obywateli Stanów Zjednoczonych (badanie konsumenckie CRN, 2011 r.)*” oraz cytat z podpisu tabeli 2 „*Odsetek osób podających różne powody stosowania suplementów diety w badaniu NHANES 2007-2011 oraz w dwóch badaniach CRN...*”. Moja uwaga dotyczy konieczności w przyszłości podczas przygotowania artykułów naukowych o wyjaśnianie na początku bądź na końcu pracy znaczenia skrótów, gdyż niewyjaśnione skróty wprowadzają czytelnika w zakłopotanie.

Dalsza część wstępu dysertacji podzielona jest na podrozdziały I, II rzędu. Podział taki zwiększa czytelność, czyni pracę bardziej uporządkowaną i przejrzystą, ułatwia analizę omawianych treści i jest zgodny z przyjętym układem prac naukowo-badawczych i doktorskich. Podrozdział pierwszy zatytułowany „Zanieczyszczenia surowców roślinnych”, opracowany jest w sposób syntetyczny i zwięzły z odwołaniem do najważniejszych pozycji literatury przedmiotu, co jest bardzo dobrym rozwiązaniem. Jednakże podrozdział ten wprowadza czytelnika w błąd, gdyż zawiera informacje tylko o zanieczyszczeniach

mikrobiologicznych, dlatego też proponuję zatytułować go podczas publikowania pracy doktorskiej „Zanieczyszczenia mikrobiologiczne surowców roślinnych”.

Doktorantka w tym podrozdziale użyła błędnego nazewnictwa str. 12, wers 15 od dołu jest „*stanu prawnego*” powinno być „*przepisów prawnych*”. W tej części pracy doktorskiej podobnie jak we wcześniejszym rozdziale Autorka przedstawiła wyniki badań zagranicznych autorów. Proponuję, aby Doktorantka w przyszłości podczas przygotowania prac naukowych powoływała się również na badania przeprowadzone w Polsce. Wątpliwości także budzi zdanie z treści tegoż podrozdziału str. 12, cytuję „*Poniżej opisano budowę i funkcje roślinnego układu odpornościowego*”, treści tego zdania nie dotyczą tematu pracy doktorskiej. Ze względu na fakt, iż w dalszej części pracy jest opisana charakterystyka chemicznych i fizycznych metod usuwania zanieczyszczeń z surowca roślinnego, proponuję, aby poprawić zdanie na „*Poniżej opisano chemiczne i fizyczne metody usuwania zanieczyszczeń z surowców roślinnych*”. W tym podrozdziale zauważono także kilka literówek: str. 24, wers 2 od dołu jest „*były*”, powinno być „*było*”, str. 25, wers 6 od góry, jest „*plazma*” powinno być „*plazmy*”.

Kolejny drugi podrozdział zatytułowany jest „Ozon-budowa cząsteczki i właściwości chemiczne” podzielony jest na punkty, co jest dobrym uporządkowaniem zawartych w nich informacji dotyczących tematyki pracy doktorskiej. Autorka w tej części pracy opisuje budowę i właściwości chemiczne ozonu, historię oraz regulacje prawne związane z jego stosowaniem na świecie a także zagrożenia dla ludzkiego organizmu wynikające z jego stosowania. Treść tego podrozdziału zawiera ważne informacje na temat zastosowania ozonu w medycynie i przetwórstwie spożywczym. Informacje te zostały przedstawione w sposób czytelny na rysunku 10. Podrozdział ten oparty został na analizie, aktualnej bibliografii, w większości opublikowanej w czasopiśmie anglojęzycznych. Niektóre treści tego tekstu ujęte zostały pobieżnie, inne zaś, które były przedmiotem założeń badawczych bardziej wnikliwie. Autorka w tej części rozprawy nie ustrzegła się pewnych niedociągnięć, które należy uzupełnić i poprawić podczas publikowania pracy doktorskiej. Np. str. 25, wers 8 od dołu, jest „*Cecha ta jest wynika ze specyficznej budowy jego cząsteczki*”, należy usunąć „*jest*”. Str. 26, wers 4 od góry, zdanie powinno brzmieć „*Poniżej na Rysunku 8 przedstawiono proces powstawania ozonu przy udziale promieniowania UV*”. Str 28, wers 4 od dołu, jest „*.....jednak po już.....*”, należy usunąć „*po*”. Str 29, wers 8 od góry jest „*poczęto*”, powinno być „*rozpoczęto*”. Ta sama strona: wers 12 od góry cytuję „*.....została oparta na wartości*”, należy zmienić „*..... na poziomie wartości*” oraz wers 12 od dołu jest, cytuję

„.....założył je Georg Freibott jako następcę następcy...”. Proszę to poprawić. Na stronie 30, pojawiają się nie opisane skróty: FDA, GRAS – co wprawia czytelnika w zakłopotanie.

Kolejny podrozdział 3.3. „Zioła wybrane do procesu ozonowania – występowanie oraz właściwości biologiczne”, autorka dzieli na cztery podrozdziały III stopnia, gdzie opisuje wybrane gatunki roślin zielarskich, tj.: rumianek pospolity (*Matricaria chamomilla* L.), koper włoski *Foeniculum vulgare* Mill, (autorka napisała L. – proszę poprawić), tatarak zwyczajny (*Acorus calamus* L.) oraz wrotycz pospolity (*Tanacetum vulgare* L.). W mojej ocenie przy podrozdziale 3.3 brakuje informacji wprowadzającej do podrozdziałów III stopnia. Recenzent czytając całą pracę domyśla się, że wybrane i opisane gatunki roślin w dalszej części pracy stanowią materiał badawczy, jednakże potencjalny czytelnik może czuć niedosyt. Bardzo proszę podczas publikowania pracy doktorskiej o uzupełnienie tej uwagi. Doktorantka w tej części dysertacji przedstawia bardzo ważne kwestie dotyczące występowania, budowy morfologicznej oraz właściwości leczniczych ww. gatunków roślin jak i również ich wykorzystania w medycynie, przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym. Ta część dysertacji została opatrzona 4 rysunkami, które dobrze obrazują zagadnienia teoretyczne, wokół których skoncentrowane są te podrozdziały. Tekst w tej części pracy poparty jest dobrze dobraną zarówno krajową jak i zagraniczną literaturą. **Jednakże w mojej ocenie przy charakterystyce rumianku pospolitego oraz kopru włoskiego powinna być krótka informacja o ich reakcjach alergicznych. Bardzo proszę Doktorantkę o odniesienie się do tych uwag podczas obrony rozprawy doktorskiej.** Autorka w tej części pracy nie ustrzegła się jednak od błędów stylistycznych i literówek. Np. str. 35, wers 1 od dołu jest cytuję „.....roślinami rosnącymi dziko a hodowanymi w populacjach roślin uprawnych” proponuję zapis „.....roślinami rosnącymi dziko a uprawianymi w warunkach kontrolowanych. Na tej samej stronie wers 11 od dołu zdanie jest niezrozumiałe. Cytuję „Z punktu widzenia ziołolecznictwa największe znaczenie ma olejek eteryczny, który stanowi 0,4-2,0% kwiatów”- proszę to poprawić. Str. 35 i 36 przy cytowanej literaturze umieszczono znaki interpunkcyjne w dolnym indeksie. Str. 41 jest literówka: wers 10, „został” ma być „zostały”. Str. 42, wers 19 od dołu jest zapis cytuję „Neurologia jest dziedziną, w której dobre efekty neuroprotektoryjne, wynikające z zastosowania ekstraktu tataraku zostały potwierdzone.....”, zdanie jest niezrozumiałe, proszę poprawić na „Odnotowano również dobre efekty neuroprotektoryjne.....”. Str. 44, wers 17 od dołu cytuję „.....może być stosowane u dorosłych i dzieci powyżej 18 roku życia. – proszę to poprawić (domyślałam się, że miało być dzieci powyżej 8 roku życia).

W kolejnym czwartym rozdziale Autorka przedstawiła **Cel pracy**, w którym sformułowała cele badań i założenia. Warto zastanowić się czy nie klarowniej byłoby postawić jednego celu głównego oraz celów szczegółowych. **W tej części rozprawy zabrakło sformułowania hipotez badawczych, które Doktorantka weryfikowała w ramach prowadzonych badań. Dlatego chciałabym prosić doktorantkę o odniesienie się do tych uwag podczas obrony rozprawy doktorskiej.**

W rozdziale piątym Badania własne, Doktorantka opisała materiał badawczy, procedurę przygotowania próbek oraz opisała zastosowane metody badań. Rozdział ten jest podzielny na podrozdziały III stopnia co czyni go bardziej uporządkowanym i zrozumiałym.

W treściach tej części pracy doktorskiej Autorka zamieściła ważny z punktu prowadzonych badań rysunek 18, zawierający schemat badania procesu dekontaminacji ozonem z uwzględnieniem masy próbek i czasu ozonowania. **Jednakże niezrozumiały jest dla mnie zapis przy opisie schematu, który początkowo informuje, że wszystkie próbki były dekontaminowane w dwóch przedziałach czasowych tj. 30 i 60 minut, natomiast w dalszej części opisu schematu jest informacja, że próbki surowca były poddawane tej procedurze przez 30 lub 60 minut. Dlatego chciałabym prosić Doktorantkę o odniesienie się do tej uwagi podczas obrony rozprawy doktorskiej. Kolejna moja uwaga dotyczy opisaney przez Doktorantkę metodyki otrzymywania i oznaczania składu olejków eterycznych (podrozdział 5.2.3).** Cytuję „*Wysuszony surowiec roślinny (2g) umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml, następnie dodano 100 cm³ wody destylowanej i prowadzono hydrodestylację za pomocą aparatu Derynga*”.

W mojej opinii dwa gramy to stanowczo za mało do określenia zawartości olejku eterycznego, Farmakopea podaje, że powinno to być 30 gram dla kwiatów rumianku. Destylacja próbki o masie 2 g daje około 0,05 ml olejku z tataraku i owoców kopru, co jest najmniejszą podziałką skali aparatu Derynga, zaś dla olejku rumiankowego i wrotyczowego - 0,01 ml, co jest niemierzalne na skali aparatu Derynga. Zatem proszę Doktorantkę o odniesienie się do tej uwagi podczas obrony rozprawy doktorskiej.

W tej części rozprawy doktorskiej warto podkreślić, że Doktorantka prowadziła swoje badania wykorzystując nowoczesne techniki analityczne, jak wysokosprawna chromatografia cieczowa i gazowa. Dowodzi to, że Autorka pracy posiada duże umiejętności analityczne i ma dobrze opanowany warsztat badawczy, niezbędny do prowadzenia badań w obszarze związanym z technologią żywności i żywienia.

Postawiony w niniejszej rozprawie doktorskiej cel badawczy Doktorantka zrealizowała w trakcie badań eksperymentalnych, których wyniki opisała w szóstym rozdziale

„Wyniki i dyskusja wyników”. Autorka podzieliła ten rozdział na 7 podrozdziałów, w których zaprezentowała wyniki badań własnych i ich omówienie. Zdaniem recenzenta niepotrzebnie rozdział ten rozpoczyna się dość obszernym wstępem (treści ze str. 54 i 55). Część tych treści powinno znaleźć się w rozdziale „Badania własne” jako szersze omówienie genezy badań oraz w podrozdziale „Ozon-budowa cząsteczki i właściwości chemiczne”, co zresztą jest częściowo prezentowane w tej części pracy. Układ i sekwencja następujących po sobie eksperymentów jest logiczna i dobrze przemyślana. Nazwy podrozdziałów są czytelne i oddają w pełni informację dotyczącą przeprowadzonych analiz. Wyniki badań zostały zestawione w postaci 19 rysunków i 27 tabel. Doktorantka opisała wyniki badań własnych ale nie skonfrontowała ich z badaniami innych autorów. Autorka w tej części dysertacji nie ustrzegła się błędów literowych, błędnego nazewnictwa oraz błędnie zapisanych znaków interpunkcyjnych (jest kropka, powinien być przecinek). Przykładowo na stronie 56, licząc od góry – wers 11- jest „płytki”, powinno być napisane „szalki”, wers 2, licząc od dołu – jest „nastąpiła”, powinno być „nastąpiła”. Strona 60, wers 14, licząc od dołu jest „stanowczości” powinno być „stanowczością”. W tabelach od 7 do 22 występują kropki zamiast przecinków oddzielających miejsca dziesiętne od jedności. Bardzo proszę o poprawienie tych uwag podczas przygotowania pracy doktorskiej do druku. Recenzując pracę doktorską zauważyłam, że Doktorantka prowadzi w niektórych momentach narrację w liczbie mnogiej, co jest obce polskiemu językowi naukowemu i w przyszłych pracach naukowych Pani Anety Mrozek- Szeteli, należy tego unikać. Przykładowo na stronie 61, wers 3, licząc od dołu jest „zaobserwowaliśmy” oraz na stronie 63, wers 5, licząc od góry jest „możemy stwierdzić”.

Zastrzeżenia budzi w tym rozdziale brak analiz statystycznych, które stanowią podstawę analiz danych liczbowych wyników badań naukowych. Dlatego chciałabym prosić Doktorantkę o odniesienie się do tej uwagi podczas obrony rozprawy doktorskiej.

Kolejną część pracy stanowi rozdział Podsumowanie i wnioski, w którym Doktorantka sformułowała wniosek podsumowujący całokształt realizowanych w ramach rozprawy doktorskiej badań. W związku z tym zasadne wydaje się poprawienie tego rozdziału i wypunktowanie uzyskanych rezultatów badań. W treści tego rozdziału występuje też kilka niezrozumiałych zapisów np. cytuję „Najbardziej skuteczną dawką ozonowania pod względem czystości mikrobiologicznej okazały się być warianty ozonowania: 50 mg/m³ przez 60 minut, 100 mg/m³ przez 30 minut oraz 100 mg/m³ przez 60 minut”. Najbardziej skuteczna może być jedna dawka (metoda), a wymienione zostały trzy. **Zatem proszę Doktorantkę o odniesienie się do tej uwagi podczas obrony rozprawy doktorskiej.**

Bibliografia stanowiąca rozdział 8 rozprawy doktorskiej zawiera 220 pozycji literatury, w większości anglojęzycznych i stanowi bogate źródło wiedzy z zakresu prowadzonych przez Doktorantkę badań. Z formalnego obowiązku recenzenta muszę wspomnieć, że niektóre pozycje wymagają ujednoczenia zapisu oraz poprawnego zapisu nazw łacińskich gatunków roślin, które powinny być pisane kursywą. Błędy te pojawiają się w niektórych miejscach nie tylko spisu bibliografii ale również w tekście streszczenia w j. angielskim.

5. Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Anety Marii Mrozek-Szeteli pt. „Zastosowanie ozonu do stabilizacji mikrobiologicznej wybranych serii materiałów oraz końcowych produktów - suplementów diety” stanowi spójne opracowanie, bardzo ważne z punktu naukowego, jak i również posiada istotne wartości aplikacyjne. Zawiera oryginalne rozwiązanie problemu zdefiniowanego w tytule, jak i celu. Dlatego z przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska spełnia kryteria stawiane pracom doktorskim i stanowi niewątpliwie wkład w rozwój dziedziny nauk rolniczych, dyscypliny technologia żywności i żywienia. Poczynione moje uwagi nie zmniejszają wartości merytorycznej przedłożonej pracy doktorskiej, lecz mają jedynie charakter dyskusyjny, doskonalący naukowy warsztat badawczy Kandydatki w dalszych etapach jej pracy naukowej.

W związku powyższym stwierdzam, że moja ocena dysertacji mgr Anety Marii Mrozek-Szeteli jest pozytywna w zakresie wymaganych kryteriów oceny. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187. Ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023, poz. 742 ze zm.). W związku z powyższym, stawiam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani Anety Marii Mrozek-Szeteli do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Krosno, dnia 30 listopada 2023r.

Dr hab. inż. Barbara Krochmal-Marczak, prof. PANS