

dr hab. Marek Gancarz, prof. URK  
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie  
Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki  
Katedra Inżynierii Bioprocessów, Energetyki i Automatykacji  
ul. Balicka 116 B  
30-149 Kraków

Kraków, 17.05.2023 r.

## RECENZJA

### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Huberta Iwińskiego pt.: „Analiza właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwprzotniakowych wybranych ekstraktów ziołowych”**

Promotor rozprawy: Prof. dr hab. inż. Antoni Szumny  
Opiekun pomocniczy: dr n. biol. Henryk Różański

Dysertacja została zrealizowana w ramach programu „Doktorat Wdrożeniowy”.

#### **Podstawa formalna wykonania recenzji**

Recenzję wykonano na podstawie pisma Przewodniczącej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, prof. dr hab. Agnieszki Kita z dnia 19.04.2023 roku.

#### **Uwagi ogólne**

Rozprawa doktorska mgr inż. Huberta Iwińskiego ma układ poprawny. Składa się z 8 rozdziałów głównych i 10 podrozdziałów. Z uwagi na interdyscyplinarność badanego problemu liczba rozdziałów i podrozdziałów jest uzasadniona.

W pierwszym rozdziale zatytułowanym Wstęp Doktorant omawia skutki nadmiernego stosowania antybiotyków zarówno w medycynie, weterynarii jak i żywieniu zwierząt.

W kolejnym rozdziale podaje cele i hipotezy badawcze. Celem pracy było opracowanie składu, formułacji i ostatecznie wdrożenie do produkcji preparatów o właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwprzotniakowych opartych na wybranych składnikach pochodzenia roślinnego.

W rozdziale 3. przedstawia wyniki i dyskusję opierając ją na 3. Publikacjach z listy filadelfijskiej w których jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym, następnie prezentuje wyniki uzyskane po wykonaniu testów toksyczności oraz 6 patentów.

W następnym rozdziale opisuje wdrożenie dotyczące technologii wytwarzania, opracowania linii pilotażowej oraz wprowadzeniem 3. Nowych produktów komercyjnych w tym 2. Preparatów w formie płynnej oraz jednego w formie sypkiej.

W rozdziale 5. Autor przedstawił wnioski końcowe z przeprowadzonych badań.

Rozdział 6. Oświadczenia zawiera podpisane deklaracje współautorów wymienionych 3. publikacji o charakterze ich udziału w publikacji.

Rozdział 7. zawiera informacje o dorobku naukowym Doktoranta.

W rozdziale 8. Autor podaje cytowaną literaturę.

Całość opracowania liczy 165 stron.

#### **Ocena merytoryczna pracy**

Rozprawa doktorska mgr inż. Huberta Iwińskiego napisana została poprawnym i zrozumiałym językiem. Pomimo pewnej ilości uchybień edytorskich, od strony formalnej nie budzi większych zastrzeżeń. Należy uznać, że jest przejrzysta i przedstawia wartościowy wkład naukowy, uzupełniający wiedzę w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Interdyscyplinarny charakter eksperymentu oraz zakres prac badawczych wymusza od Autora przeprowadzenia wielowątkowego przeglądu literatury. Jednak w tym przypadku użyta liczba 21. pozycji literatury aby wyjaśnić przyczyny podjęcia problemu wydaje się być nieco uboga. Dlatego mam pytanie, dlaczego Autor nie zamieścił większej liczby publikacji, które przedstawiają badania o treści związanej z podjętym problemem?

Po zaprezentowaniu streszczenia w języku angielskim i polskim, w rozdziale pierwszym autor przedstawia Wstęp. W tym rozdziale Doktorant omawia skutki nadmiernego stosowania antybiotyków w medycynie, weterynarii jak i żywieniu zwierząt oraz wiąże to, ze spowodowaniem znacznego wzrostu oporności mikroorganizmów. Stwierdza także, że wymusiło to podjęcie zdecydowanych działań mających na celu ograniczenie stosowania antybiotyków u ludzi, ale w głównej mierze w żywieniu zwierząt. Podaje, że wykazano, iż leczenie opornych szczepów staje się mało efektywne, a dotychczas stosowane kuracje z wykorzystaniem antybiotyków nieskuteczne. Następnie podaje czynniki, które wygenerowały potrzebę znalezienia alternatywnych preparatów zapewniających wysoką skuteczność przy jednoczesnym braku negatywnych skutków dla zwierząt i zachowaniu ekonomicznego uzasadnienia ich stosowania. W dalszej części rozdziału Autor przechodzi do omawiania kokcydiozy i histomonozы bez objaśnienia, co to są za choroby i jakie są ich objawy. Tutaj należałoby wspomnieć o tym w treści wstępu i poprzeć to kilkoma dodatkowymi pozycjami literatury.

Autor podaje, że znane są liczne przykłady roślinnych metabolitów wtórnych, które charakteryzują się silną aktywnością przeciwdrobnoustrojową, w tym przeciwpierwotniczą. Doktorant, na podstawie najnowszych doniesień literaturowych jak i doświadczenia pracowników firmy AdiFeed wytypował 6 roślin o największym potencjale przeciwpierwotniczym, a zarazem posiadających różne klasy substancji aktywnych. W początkowym etapie badań skupił się na analizie właściwości ekstraktów, pozyskanych z następujących roślin: berberys zwyczajny (*Berberis vulgaris* L.), cząber ogrodowy (*Satureja*

hortensis L.), tatarak zwyczajny (*Acorus calamus* L.), katalpa zwyczajna (*Catalpa bignonioides* Walter), paulownia omszona (*Paulownia tomentosa* (Thunberg) Steudel), wrotycz pospolity (*Tanacetum vulgare* L.). Do wcześniej wyselekcjonowanych roślin dodał również siwiec żółty (*Glaucium flavum* Cr.) i oman wielki (*Inula helenium* L.). Materiał roślinny poddał ekstrakcji z wykorzystaniem zmodyfikowanego protokołu Dragendorffa. Surowce zawierające olejki eteryczne (cząber ogrodowy, tatarak zwyczajny, wrotycz pospolity oraz oman wielki) poddał również procesowi destylacji z parą wodną. Tak przygotowane ekstrakty i olejki eteryczne poddał analizom z wykorzystaniem metod chromatograficznych: TLC oraz GC-MS. Z uzyskanych wyników wywnioskował, iż stężenie substancji aktywnych różniło się diametralnie w zależności od zastosowanego ekstrahenta, ale także od wartości pH. W kolejnym etapie prac badawczych uzyskane ekstrakty analizował pod kątem pierwotniakobójczym. Tu autor podaje, że uzyskał wyniki porównywalne lub nieznacznie gorsze od testowanych wzorcowych antybiotyków – chloramfenikolu i metronidazolu. Dlatego również mam pytanie o to, na jakiej podstawie Doktorant stwierdził, że wyniki są porównywalne lub, jak to określił nieznacznie gorsze?

W dalszej części Doktorant wyjaśnia, że z uwagi na zmniejszoną dostępność surowca i wzrost jego ceny zdecydował się na zmianę komponentu aktywnego. Dodatkowo podaje, że była ona również spowodowana trudnościami w opracowaniu certyfikatów jakości produktu i jego standaryzacji. Dokumenty te, są niezbędne do zapewnienia ciągłości systemów jakości, wymaganych w procesie sprzedaży na rynek UE i rejestracji w krajach poza UE. Zaobserwował, iż największym potencjałem przeciwdrobnoustrojowym charakteryzowały się ekstrakty pozyskane z roślin zawierających olejki eteryczne oraz uzyskane z nich destylaty.

Obserwowane obecnie preferencje konsumentów dotyczące mięsa bez antybiotyków powodują wywieranie coraz to większej presji na hodowcach, co przekłada się bezpośrednio na cenę mięsa i jego jakość, a jednocześnie na opłacalność produkcji. Niemniej jednak, stosowanie alternatywnych preparatów i wyeliminowanie nadużywania antybiotyków prowadzi do ograniczenia rozwoju lekoopornych patogenów. Co ważne, jest to bardzo istotne w aspekcie bezpieczeństwa żywności i bardzo trafnym, w mojej opinii jest wybór zakresu badawczego podjętego przez Doktoranta.

W oparciu o powyższe zagadnienia mgr inż. Hubert Iwiński ustalił zakres badań i podjął się rozwiązania problemów naukowo-badawczych.

W rozdziale 2 podaje Cele i hipotezy badawcze. Celem prac badawczych zrealizowanych w ramach doktoratu wdrożeniowego było opracowanie składu, formulacji i ostatecznie wdrożenie do produkcji preparatów o właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwpierwotniaczych opartych na wybranych składnikach pochodzenia roślinnego. W początkowej fazie swoich badań Autor skupił się na różnych grupach substancji aktywnych pozyskiwanych poprzez ekstrakcję z wykorzystaniem ekstrahentów o różnych polarnościach.

Po wykonaniu tych doświadczeń, wytypował olejki eteryczne i ich mieszaniny z kwasami organicznymi i jonami metali, jako najbardziej optymalne we wdrożeniu. Pod uwagę wziął:

- skuteczność bójczą wobec pierwotniaków;
- brak skutków ubocznych dla zwierząt;
- pozostałości składników aktywnych, w tym zapachowych w mięsie;
- dostępność komponentów do jego produkcji;
- powtarzalność składu surowca;
- cenę jednostkowa surowca;
- prawne aspekty wprowadzenia na rynek;
- stabilność otrzymanych formulacji;

Postawione cele zrealizował poprzez:

- Przegląd literaturowy skuteczności poszczególnych surowców;
- Przegląd komercyjnej dostępności (cena, czas dostawy, jednorodność) surowca;
- Badanie właściwości przeciwpierwotniaczych i przeciwbakteryjnych wybranych ekstraktów zielarskich, w celu wytypowania tych o największym potencjale działania;
- Analiza in vitro oraz in vivo wybranych mieszanin pod kątem ich właściwości przeciwpierwotniaczych i wpływu na organy wewnętrzne;
- Stworzenie skutecznego preparatu o działaniu wspierającym profilaktykę i zwalczanie pasożytów i pierwotniaków, znajdującego zastosowanie zarówno u zwierząt, jak i u ludzi.

Autor podał, że cele zrealizował m.in. poprzez przegląd literaturowy skuteczności poszczególnych surowców. Szkoda, że Autor nie umieścił takiego rozdziału „Przegląd literatury” w swojej pracy. Mógłby wtedy w tym rozdziale w pełni przedstawić obecny stan wiedzy i podać przyczyny podjęcia tego rodzaju badań.

W rozdziale 3. Doktorant przedstawia wyniki i ich dyskusję. Dokonuje tego w 3. publikacjach wydanych w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu IF. Następnie prezentuje wyniki uzyskane po wykonaniu testów toksyczności oraz a podstawie aż 6 patentów.

W pierwszej publikacji p.t.: Novel Formula of Antiprotozoal Mixtures, opublikowanej w czasopiśmie Antibiotics, autorstwa: Hubert Iwiński, Jacek Łyczko, Henryk Różański oraz Antoni Szumny, Doktorant jest pierwszym autorem i jedynym autorem korespondencyjnym, co dowodzi o jego największym wkładzie w powstanie tej publikacji. W tej pracy zbadano przeciwpierwotniacze działanie mieszaniny olejków eterycznych (eukaliptusowego, lawendowego, cedrowego i herbacianego), kwasów organicznych (octowego, propionowego i mlekowego) oraz jonów metali (miedzi Cu, cynku Zn, manganu Mn). Jako model wybrano pierwotniaki: *Euglena gracilis*, *Gregarina blattarum*, *Amoeba proteus*, *Paramecium caudatum*, *Pentatrichomonas hominis*. Badane stężenia mieszanin zawierały się w przedziale 0,001–1,5%. Wykonane analizy wykazały nieoczekiwaną, jak wnioskują Autorzy, bardzo silną aktywność pierwotniakobójczą kombinacji, przedstawiając synergicę związków poprzez

oznaczenie wartości dawki półletalnej LD<sub>50</sub> i minimalna dawka śmiertelna LD<sub>100</sub> czyli statystycznie obliczonych na podstawie badań doświadczalnych ilości substancji, która powoduje śmierć odpowiednio połowy lub całej populacji po podaniu w określony sposób. Otrzymane mieszaniny wykazały istotnie wyższą aktywność wobec pierwotniaków w porównaniu z chloramfenikolem i metronidazolem. Większość analizowanych próbek wykazuje wysoką aktywność przeciwpierwotniaczą przy bardzo niskim stężeniu, w zakresie 0,001–0,009%. Najskuteczniejszymi kombinacjami dla wszystkich analizowanych pierwotniaków okazały się olejek cedrowy i olejek z drzewa herbacianego z mieszaniną kwasów i jonów manganu lub cynku. Innowacyjne połączenia olejków eterycznych, kwasów organicznych i jonów metali charakteryzuje się bardzo wysoką aktywnością przeciwpierwotniaczą przy niskich dawkach, co po dalszych badaniach może znaleźć zastosowanie do zwalczania patogenów pierwotniakowych.

W drugiej publikacji p.t.: *In Vitro Evaluation of Antimicrobial Effect of Phytobiotics Mixture on Salmonella spp. Isolated from Chicken Broiler*, opublikowanej w czasopiśmie *Antibiotics*, autorstwa: Hubert Iwiński, Karolina Wódz, Karolina Chodkowska, Tomasz Nowak, Henryk Różański, Doktorant również jest pierwszym autorem i jedynym autorem korespondencyjnym, co także dowodzi jego największego wkładu w powstanie tej publikacji. W tej publikacji zbadano działanie przeciw bakteriom wybranych szczepów *Salmonella spp.* Sformułowano wnioski, że mieszanka fitobiotyków była skuteczna przeciwko *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotypy *Enteritidis*, *Typhimurium* i *Kentucky*. Wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) i minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) tej unikalnej mieszaniny dla tych trzech patogenów wynosiły 1:256. Spośród tych trzech szczepów jeden *S. Kentucky* wykazywał najszersze profile oporności na 18 antybiotyków należących do 5 klas antybiotyków. Jeden z *S. Typhimurium* przedstawia rozbudowane profile oporności na 14 antybiotyków należących do 5 klas antybiotyków. Uzyskane wyniki sugerują, że zastosowana w doświadczeniu mieszanka fitobiotyków może być stosowana jako silny naturalny środek przeciwbakteryjny przeciwko Gram-ujemnym patogenom przenoszonym przez żywność, takim jak *S. Typhimurium*, *S. Kentucky*, *S. Enteritidis*. Była to wstępna analiza skuteczności fitobiotyku w modelu *in vitro*, która może być punktem wyjścia do dalszych badań, w tym na modelach zwierzęcych *in vivo*.

W trzeciej publikacji p.t.: *In Vitro Evaluation of Antiprotozoal Properties, Cytotoxicity Effect and Anticancer Activity of New Essential-oil Based Phytoncide Mixtures*, wydanej w czasopiśmie *Molecules*, autorstwa: Hubert Iwiński, Henryk Różański, Natalia Pachura, Aleksandra Wojciechowska, Tomasz Gębarowski, Antoni Szumny, Doktorant także jest pierwszym autorem i jedynym z dwóch autorów korespondencyjnych, co również dowodzi jego największego wkładu w powstanie także i tej publikacji. W tym badaniu nowe mieszanki olejków eterycznych (EOs), goździków, czosnku, cynamonu cejlońskiego i rozmarynu

z kwasami organicznymi (octowym, propionowym, mlekowym) i jonami metali (miedzi Cu, cynku Zn, manganu Mn) zostały przetestowane na pięciu wybranych pierwotniakach modelowych (*Euglena gracilis*, *Gregarina blattarum*, *Ameba proteus*, *Paramecium caudatum*, *Entamoeba histolytica*). Cytotoksyczność i potencjalną aktywność przeciwnowotworową otrzymanych kombinacji badano na ludzkich fibroblastach (NHDF) i ludzkich liniach komórek nowotworowych (A549, MCF7, LoVo, HT29). Wszystkie mieszanki wykazały bardzo dobre właściwości przeciwpierwotniacze. Najskuteczniejsze okazały się kombinacje olejków goździkowych i rozmarynowych, mieszanin kwasów i jonów Mn. Wartości dawki półletalnej LD<sub>50</sub> mieściły się w przedziale 0,001–0,006%, a wartości minimalnej dawki śmiertelnej LD<sub>100</sub> 0,002–0,008%. Wszystkie testowane mieszaniny nie wykazywały cytotoksyczności w stosunku do normalnych komórek, ale wykazywały hamowanie wzrostu w stosunku do linii komórek nowotworowych. Najbardziej cytotoksyczne wobec komórek rakowych były kombinacje z olejkiem cynamonowym. Niemniej jednak proponowane kombinacje zawierające olejki eteryczne, kwasy organiczne i jony metali wykazały wysoką aktywność przeciwpierwotniakową, przy niskiej toksyczności dla zdrowych komórek ludzkich.

Przeprowadzono testy toksyczności produktu mającego trafić do komercyjnej sprzedaży pod kątem potencjalnego negatywnego wpływu, wynikającego z zastosowania znacznie zawyżonych dawek tj. pięcio-, dziesięcio- i dwudziestokrotnie wyższych aniżeli zalecane. Uzyskane próbki tkanek i organów Doktorant poddał analizie histopatologicznej oraz badaniu na obecności pozostałości stosowanych związków. Podanie produktu miało miejsce czterokrotnie przez 24 h w trakcie prowadzenia tuczu. Uzyskane wyniki potwierdziły brak negatywnego wpływu na organy wewnętrzne brojlerów kurzych, co więcej osiągnięte parametry produkcyjne w grupach testowych charakteryzowały się lepszymi wynikami aniżeli grupa kontrolna. Wyniki przeprowadzonych badań (*The Impact of New Plant Phytobiotic Mixture on The Broiler Chicken Health and Meat Safety*, Hubert Iwiński, Karolina Chodkowska, Kamil Drabik, Justyna Batkowska, Małgorzata Karwowska, Piotr Kuroпка, Adam Szumowski, Antoni Szumny and Henryk Różański) były w trakcie odpowiedzi dla recenzentów czasopiśmie *Animals*. Mam pytanie, czy ta praca jest już opublikowana?

W patencie pierwszym przedmiotem wynalazku była kompozycja pierwotniakobójcza zawierająca olejek cedrowy, sposób jej wytwarzania oraz jej zastosowanie do zapobiegania i/lub leczenia chorób wywołanych przez pierwotniaki u ludzi. Celem wynalazku jest zapewnienie nowej kompozycji do zwalczania pierwotniaków o właściwościach bójczych. Istotą wynalazku jest kompozycja pierwotniakobójcza zawierająca olejek cedrowy, charakteryzująca się tym, że olejek cedrowy występuje w postaci kompleksu z kwasem organicznym i metalem.

Kolejną istotą wynalazku jest sposób wytwarzania kompozycji pierwotniakobójczej według wynalazku, charakteryzujący się tym, że obejmuje następujące etapy:



- a) zmieszanie olejku cedrowego z kwasem organicznym w stosunku wagowym od 80:1 do 1:80;
- b) dodanie katalizatora do mieszaniny z etapu a);
- c) dodawanie metalu wybranego z grupy obejmującej miedź, cynk, mangan, ich sole lub tlenki;
- d) ogrzewanie mieszaniny z katalizatorem uzyskanej w etapie c) do temperatury wrzenia oraz kontynuowanie ogrzewania w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 20-120 minut;
- e) odstawienie produktu reakcji do wystygnięcia na okres od 10 do 24 godzin;
- f) filtrowanie ostudzonego produktu reakcji.

Kolejną istotą wynalazku jest zastosowanie kompozycji według wynalazku do zapobiegania i/lub leczenia chorób wywołanych przez pierwotniaki u ludzi.

Wynalazek dostarcza następujących korzyści:

- właściwości pierwotniakobójcze kompozycji zapewniają całkowitą eliminację infekcji;
- kompozycja według wynalazku działa w niskich stężeniach;
- kompozycja według wynalazku wykazuje szerokie spektrum działania – tj. wykazuje dobre działanie bójcze wobec wielu gatunków pierwotniaków;
- kompozycja według wynalazku może stanowić alternatywę dla chemioterapeutyków pierwotniakobójczych (Antiprotozoal), takich jak np. metronidazol, albendazol, tynidazol, chlorochina, sulfonamidy lub może też stanowić dodatek do chemioterapeutyków przeciwpierwotniakowych, zmniejszający ryzyko powstania oporności na dany lek.

Wynalazek szczegółowo przedstawiono w przykładach wykonania, przy czym wszystkie opisane testy i procedury doświadczalne przeprowadzono z zastosowaniem komercyjnie dostępnych zestawów testowych, odczynników i aparatury, postępując zgodnie z zaleceniami producentów stosowanych zestawów, odczynników i aparatury. Wszelkie parametry testowe mierzono z zastosowaniem standardowych, powszechnie znanych metod stosowanych w dziedzinie, do której należy wynalazek.

Podsumowując przedmiotem wynalazku jest kompozycja pierwotniakobójcza zawierająca olejek cedrowy, charakteryzująca się tym, że olejek cedrowy występuje w postaci kompleksu z kwasem organicznym i metalem. Kolejnym przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania kompozycji pierwotniakobójczej, który obejmuje następujące etapy: a) zmieszanie olejku cedrowego z kwasem organicznym w stosunku wagowym od 80:1 do 1:80; b) dodanie katalizatora do mieszaniny z etapu a); c) dodawanie metalu wybranego z grupy obejmującej miedź, cynk, mangan, ich sole, lub tlenki; d) ogrzewanie mieszaniny z katalizatorem uzyskanej w etapie c) do temperatury wrzenia oraz kontynuowanie ogrzewania w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 20-120 minut; e) odstawienie produktu reakcji do wystygnięcia na okres od 10 do 24 godzin; f) filtrowanie ostudzonego produktu

reakcji. Kolejnym przedmiotem wynalazku jest zastosowanie kompozycji według wynalazku do zapobiegania i/lub leczenia chorób wywołanych przez pierwotniaki u ludzi.

Patent 2 jest analogiczny do patentu 1., z tą różnicą, iż kompozycja zawierała olejek Eukaliptusowy.

Patent 3 jest analogiczny do patentu 1., z tą różnicą, iż kompozycja zawierała olejek z drzewa herbacianego.

Patent 4 jest analogiczny do patentu 1., z tą różnicą, iż kompozycja zawierała olejki eteryczne z grupy olejków fenylopropanoidowych.

Patent 5 jest analogiczny do patentu 1., z tą różnicą, iż kompozycja zawierała olejki eteryczne z grupy olejków ftalidowych.

Patent 6 jest analogiczny do patentu 1., z tą różnicą, iż kompozycja zawierała olejki eteryczne z grupy olejków izoprenoidowych.

W rozdziale Wdrożenie, Doktorant dowodzi, że wyniki uzyskane w trakcie realizacji doktoratu w ramach „II” edycji programu Doktorat Wdrożeniowy, umożliwiły wdrożenie szeregu innowacji w firmie AdiFeed Sp. z o.o.

Pierwszym wdrożeniem była technologia wytwarzania mieszanin charakteryzujących się w pierwszej kolejności najlepszymi właściwościami przeciwpierwotniczymi, ale co równie istotne dla procesu technologicznego, nie tworzące osadów i nie krystalizujące po wychłodzeniu oraz będące mieszaninami jednofazowymi.

Drugim wdrożeniem było stworzenie linii pilotażowej składającej się z mieszalnika z funkcją homogenizacji oraz grzania i chłodzenia, odstojnika, a w późniejszym etapie wirówki przemysłowej. Mieszalnik został wykonany w standardzie farmaceutycznym, z zastosowaniem wysoce wytrzymałych materiałów polimerowych jako uszczelnień, ze względu na agresywne środowisko procesu.

Z kolei zastosowanie nowej technologii wytwarzania oraz pilotażowej linii produkcyjnej zaowocowało powstaniem i wprowadzeniem na rynek 3 nowych produktów komercyjnych, w tym dwóch preparatów w formie płynnej oraz jednego w formie sypkiej. W trakcie procesu wprowadzania na rynek nowych produktów niezbędne było przygotowanie wszystkich elementów począwszy od wyboru opakowań jednostkowych, poprzez opakowania zbiorcze, tworzenie etykiet oraz ulotek produktowych, a skończywszy na przygotowaniu strategii cenowej, sprzedażowej i marketingowej.

Opracowany w trakcie prowadzenia badań preparat adiBiotic® jest produktem dedykowanym dla drobiu w profilaktyce patogenów układu pokarmowego ptaków. Bazuje on na mieszaninie fitoncydów, kwasów organicznych i jonów metali. Preparat jest przeznaczony dla kurcząt rzeźnych, indyków rzeźnych, drobiu wodnego, kurcząt odchowywanych na kury nioski, niosek reprodukcyjnych i kur niosek towarowych. Opakowanie jednostkowe zawiera 1L preparatu i pakowane jest do kartonów po 4 szt.



Z kolei drugi naturBiotic® to skoncentrowany preparat wytworzony w nowej technologii, oparty na fitoncycydach, kwasach organicznych i jonach metali. Preparat jest przeznaczony dla trzody chlewnej: prosiąt, warchlaków, tuczników, loch i knurów. Dostępny jest w sprzedaży w butelce o pojemności 1L i kartonie zawierającym 4 szt.

Trzeci z preparatów adiNext®, to produkt wytworzony podobnie jak dwa poprzednie wyroby gotowe w nowej technologii, jednakże został on doprowadzony do formy sypkiej. Jest przeznaczony zarówno dla drobiu jak i trzody chlewnej. Preparat, w odróżnieniu od pozostałych dwóch, stosowany do paszy dla zwierząt. Opakowanie jednostkowe stanowi worek aluminiowy pokryty warstwą polimerową o masie 25 kg. Tu Autor podaje masę 25 kg, a na folderze informacyjnym dołączonym poglądowo jest podana masa 20 kg. Czy Doktorant może wyjaśnić te rozbieżności?

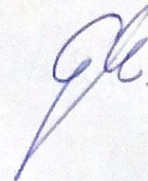
W rozdziale Wnioski Autor formułuje 6 wniosków, na podstawie przeprowadzonych badań i analiz. We wniosku 6. Doktorant stwierdza, że: „Skuteczność opracowanych i wdrożonych produktów potwierdza rosnący wolumen produkcji, a w konsekwencji sprzedaży. Na miesiąc marzec 2023 zaobserwowano około 50% wzrost sprzedaży produktów.”. Czy Autor może wyjaśnić, czy rosnący wolumen produkcji i około 50. % wzrost sprzedaży produktów w marcu 2023 roku są związane ze sprzedażą produktów w normalnej dystrybucji czy w formie działań marketingowych np.: promocyjnej sprzedaży nowych produktów?

Dorobek naukowy Doktoranta stanowi 5 publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym IF równym 26,154 oraz sumą punktów MEiN równą 450. Poza tym, jest współautorem 3. monografi i 3. rozdziałów w monografii. Brał udział w 5. konferencjach naukowych z dwoma wystąpieniami.

Podsumowując, chcę podkreślić, że zakres prac eksperymentalnych został bardzo szeroko zakrojony i Autor uzyskał wiele interesujących i wartościowych wyników z doświadczeń laboratoryjnych, które w mojej ocenie były prowadzone prawidłowo. Zaletą pracy jest również szeroki zakres badań i testów w celu opracowanie składu, formulacji i ostatecznie wdrożenie do produkcji preparatów o właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwpierwotniaczych opartych na wybranych składnikach pochodzenia roślinnego, co jest mocną stroną przedstawionej pracy.

#### **Uwagi redakcyjne**

Praca przygotowana jest starannie, mimo to Autor nie ustrzegł się pewnych niedociągnięć głównie o charakterze edycyjnym, stąd w celu uniknięcia ich podczas przygotowania pracy do druku lub publikowania wyników w czasopismach naukowych oraz prowadzenia dalszych badań pragnę zwrócić uwagę na pewne zagadnienia oraz proponuję wprowadzić następujące niewielkie korekty:



- Występują czasami braki wyrazu w zdaniu, braki litery w wyrazie, braki spacji w zdaniu. Są to oczywiście błędy, które są łatwe do wyeliminowania.
- Na stronie 9 jest stwierdzenie „Jednym z największych problemów z którymi spotykają się przedsiębiorstwa w branży mięsnej, są choroby wywoływane przez pierwotniaki m.in. Eimeria spp, Histomonas melagridis (np. kokcydioza, czarna główka) czy też bakterie takie jak Clostridium perfringens, Salmonella spp. oraz Escherichia coli (nekrotyczne zapalenie jelit, salmonelloza czy kolibakterioza)”. Ten opis należałoby umieścić we Wstępie oraz należałoby go przeredagować na następujący: „Jednym z największych problemów, na które napotykają przedsiębiorstwa w branży mięsnej, są choroby wywoływane przez pierwotniaki m.in. Eimeria spp, Histomonas melagridis (np. kokcydioza, czarna główka) czy też bakterie takie jak Clostridium perfringens, Salmonella spp. oraz Escherichia coli (nekrotyczne zapalenie jelit, salmonelloza czy kolibakterioza)”.
- Na stronie 10 podano „Jednak pomimo ich skuteczności, ze względu na ograniczoną w roku 2020 dostępność (na skalę przemysłową) i silnie wzrastającą cenę tego surowca oraz trudności technologiczne (m.in. w standaryzacji ekstraktów) zdecydowano się na wykorzystanie innych, tj. opartych na olejkach eterycznych mieszaninach.”, to sformułowanie nie jest zbyt gramatyczne, należy użyć: „opartych na mieszaninach olejków eterycznych”.
- Podając skróty należy je wyjaśnić przy pierwszym użyciu. Dotyczy to m.in. oznaczenia wartości dawki półletalnej LD<sub>50</sub> i minimalna dawka śmiertelna LD<sub>100</sub> czyli statystycznie obliczonych na podstawie badań doświadczalnych ilości substancji, która powoduje śmierć odpowiednio połowy lub całej populacji po podaniu w określony sposób.
- Inne uwagi przedstawiłem w tekście recenzji więc nie będę ich przytaczał ponownie.

Wszystkie moje uwagi i pytania podaję jako wskazówki do wykorzystania w przyszłych badaniach i publikacjach oraz mam nadzieję, że mogą być pomocne przy doskonaleniu metod badania nie tylko w produkcji preparatów o właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwpierwotniaczych.

### **Wniosek Końcowy**

Jeszcze raz podkreślam, że istotnym elementem pracy o najwyższej wartości było opracowanie składu, formułacji i wdrożenie do produkcji preparatów o właściwości przeciwpasożytniczych i przeciwpierwotniaczych opartych na wybranych składnikach pochodzenia roślinnego.

W oparciu o dobraną metodykę badań, uzyskane wyniki i ich analizę, a także wnioski końcowe można jednoznacznie stwierdzić, że założone przez mgr inż. Huberta Iwińskiego cele zostały osiągnięte, a strona merytoryczna pracy jest poprawna. Tytuł rozprawy „Analiza

**właściwości przeciw pasożytniczych i przeciw pierwotniakowym wybranych ekstraktów ziołowych**” odpowiada celom prac badawczych zrealizowanych ramach doktoratu wdrożeniowego, którymi było opracowanie składu, formułacji i ostatecznie wdrożenie do produkcji preparatów o właściwości przeciw pasożytniczych i przeciw pierwotniaczych opartych na wybranych składnikach pochodzenia roślinnego, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje wiedzę teoretyczną i techniczną Doktoranta w zakresie technologii żywności i żywienia i uważam, że rozprawa doktorska spełnia warunki 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.) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia. W związku z tym przedkładam wniosek do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Huberta Iwińskiego do dalszego toku przewodu doktorskiego oraz z uwagi na liczne osiągnięcia wnoszę wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

*Goncarov Marek*