

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Adamskiej

p.t.: **Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej**

przygotowanej w ramach programu MNiSW „Doktorat wdrożeniowy”, umowa DWD/4/33/2020 na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem prof. UAM dr hab. Radosława Pankiewicza

Zrównoważona hodowla zwierząt cieszy się obecnie dużym uznaniem i staje się coraz bardziej opłacalnym kierunkiem działalności. Ten zauważalny od kilku lat, dynamiczny trend stale zyskuje na znaczeniu, co potwierdzają zmiany w preferencjach konsumentów związane z tzw. „ekologizacją spożycia”. Konsumenti produktów spożywczych przywiązują większą wagę do metod ich wytwarzania, warunków życia zwierząt oraz wpływu produkcji na środowisko. Zmiana oczekiwań konsumentów doprowadziła do wzrostu popytu na produkty pozyskiwane w sposób naturalny, co skłania hodowców do modyfikacji metod prowadzenia gospodarstw. Choć proces ten wymaga wiedzy i zaangażowania, rozwój nauki oraz rosnąca dostępność nowoczesnych, ekologicznych rozwiązań znacznie go ułatwiają.

Z uwagi na szeroką dostępność, a tym samym popularność w diecie mięsa drobiowego, poszukuje się innowacyjnych metod poprawy jego jakości oraz wartości odżywczej. Cel ten można osiągnąć między innymi, poprzez wybór odpowiednich ras i linii hodowlanych, pasz wzbogacanych w kluczowe składniki odżywcze, ale także stosując odpowiednie zabiegi poprawiające stan zdrowotny zwierząt, a tym samym przyczyniające się do wzrostu jakości pozyskiwanych produktów odzwierzęcych. Istotną rolę w tym procesie odgrywają rośliny zielarskie, ekstrakty roślinne oraz tzw. dodatki fitobiotyczne.

Fitobiotyki to preparaty bazujące na składnikach roślinnych, które pozytywnie wpływają na zdrowie i wydajność w hodowli zwierząt. Do tej grupy zaliczają się rośliny zielarskie, przyprawowe, olejki eteryczne oraz inne produkty pochodzenia roślinnego wykazujące szereg aktywności biologicznych. Najczęściej klasyfikowane jako dodatki paszowe lub jako składniki preparatów do dezynfekcji, mogą regulować funkcje trawienne zwierząt hodowlanych poprzez wpływ na ilości wydzielanych enzymów trawiennych i motorykę przewodu pokarmowego, mogą hamować biegunkę, działać osłonowo na błonę śluzową przewodu pokarmowego. Wiele z substancji izolowanych z roślin ma również działanie immunostymulujące (poprawiające odporność), wzmacniające, antystresowe, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, czy również przeciw pasożytnicze. Dlatego mając na uwadze zarówno zdrowie ptaków jak i ludzi, dąży się do stosowania naturalnych produktów roślinnych.



Dążenie to znalazło praktyczne odzwierciedlenie w sformułowanym przez Panią mgr Joannę Adamską celu badań stanowiącym podstawę recenzowanej pracy, który opisała jako zwiększenie dobrostanu kur brojlerów poprzez ograniczenie skażeń wtórnych w produkcji, a tym samym zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności kur. W tym miejscu chciałam zaznaczyć, że praca **Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej** została przygotowana w ramach realizacji programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Doktorat Wdrożeniowy” we współpracy z Przedsiębiorstwem Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o.o. z siedzibą w Śremie. Wymagania w ramach realizacji takiego programu koncentrują się na konieczności przedstawienia aplikacyjnego aspektu badań naukowych w odniesieniu do rozwoju produktów o potencjale rynkowego wdrożenia. W ramach realizacji niniejszej pracy Kandydatka do stopnia doktora spełniła wszystkie z wymagań w zakresie otrzymania i prezentacji wyników badań naukowych jak i przedstawienie konkretnego wdrożenia w postaci opracowania nowego produktu pozwalającego na poprawę dobrostanu i ochronę zdrowia zwierząt hodowlanych. Tematyka badawcza zaprezentowana w niniejszym opracowaniu wpisuje się w nurt poszukiwań innowacyjnych rozwiązań, których potrzebuje sektor rolno-spożywczy.

Zgodnie z przyjętymi zasadami przedstawiona do oceny dysertacja została przygotowana w postaci klasycznego układu obejmującego sto trzydzieści dziewięć (139) stron, wliczając stronę tytułową, strony zawierające zwyczajowe w tego typu opracowaniach podziękowania, a także wieńczący całość krótki opis wdrożenia wraz z etykietą produktu HERBAL PROTECT COATING. Pracę rozpoczyna streszczenie w języku polskim i języku angielskim oraz spis użytych akronimów. Kolejne części zawierają precyzyjne, identyfikowane cele pracy i wstęp, który w moim przekonaniu Autorka mogła włączyć w następującą po nim część literaturową. Część literaturowa, to szczegółowy opis stanu wiedzy obejmujący charakterystykę ziół o szeroko pojętym znaczeniu użytkowym, w tym terapeutycznym wynikającym z zawartości w tkankach tych roślin specyficznych substancji czynnych. Rozdział ten przygotowany w czytelny sposób zawiera wiele interesujących informacji, jednakże w relację wkradły się pewne nieścisłości, które przedstawiam poniżej:

- *Strona 16*, karwakol, powinien być karwakrol, czyli izomer tymolu, występujący w wielu gatunkach ziół, między innymi w macierzance, lebiodce, tymianku i kminku.
- *Strona 18*, w akapicie opisującym właściwości prozdrowotne rozmarynu, Autorka powinna zamieścić źródło informacji, na które się powołuje.
- *Strona 20*, wymieniając substancje czynne syntetyzowane w tkankach oregano, Autorka mylnie zakwalifikowała kwas ursolowy do fenolokwasów. Kwas ten jest przedstawicielem pentacyklicznych triterpenów o potwierdzonych naukowo interesujących właściwościach, m. in. przeciwwirusowych.
- *Strona 27*, Autorka sformułowała pogląd, że: *Choć rdest jest doskonale znany w Polsce jako chwast, to jego zastosowanie jako rośliny leczniczej nie jest jeszcze dokładnie poznawane. Natomiast jego właściwości prozdrowotne zostały docenione już w starożytnych Chinach [...].* Nie mogę się z tym zgodzić, ponieważ ziele rdestu ptasiego – *Herba Polygoni avicularis* zostało wskazane w Farmakopei Polskiej II, FP III, IV, VI. Zgodnie z FP VI ziele rdestu ptasiego pochodzi



z rdestu ptasiego – *Polygonum aviculare* L., z rodziny rdestowatych – Polygonaceae. Ziele zebrane w czasie kwitnienia powinny zawierać nie mniej niż 0,15% flawonoidów, w przeliczeniu na kwercetynę. Działanie przeciwzapalne, miejscowo ściągające. Wskazania, m.in.: skąpomocz, obrzęki na tle skąpomoczu i w przebiegu nadciśnienia oraz osłabienia krążenia; kamica moczowa; stany zapalne nerek i pęcherza moczowego.

W kolejnych rozdziałach przeglądu literatury Pani mgr Joanna Adamska bardzo przejrzyście scharakteryzowała źródła występowania, struktury chemiczne i właściwości olejków eterycznych oraz substancji polifenolowych, a także ich wybranych przedstawicieli. W tym fragmencie tekstu, kilkakrotnie, np. w Tabeli 1, Autorka podawała angielskojęzyczne nazwy substancji roślinnych, mimo iż powszechnie znane i używane są odpowiedniki polskojęzyczne. Przygotowując kolejne opracowania naukowe sugeruję używanie polskich nazw substancji. Następne podrozdziały zawierają opis znanych i stosowanych od lat metod pozyskiwania olejków eterycznych i substancji polifenolowych. Zapoznając się z tą częścią pracy niestety poczułam niedosyt, ponieważ w mojej opinii te zagadnienia Autorka potraktowała zbyt skrótowo. Uważam, że konsekwentnym uzupełnieniem aktualnej wiedzy z zakresu fitochemii, byłby także podrozdział opisujący metody identyfikacji wymienionych w pracy klas związków, czyli substancji fenolowych i terpenowych.

Ostatnie rozdziały części literaturowej dotyczą szczegółowej charakterystyki chowu kur i ich problemów zdrowotnych oraz stosowanych zabiegów profilaktycznych. Zagadnienia te w interesujący sposób obrazują istotne, praktyczne problemy, z którymi mierzą się hodowcy drobiu i dodatkowo podkreślają zasadność wyboru tematyki niniejszej rozprawy.

Bezpośrednio po części literaturowej Autorka zaprezentowała bardzo interesującą część doświadczalną swojej pracy, którą rozpoczęła od wylistowania używanych odczynników, stosowanej aparatury oraz charakterystyki i doboru materiału roślinnego, z którego planowała pozyskać ekstrakty zawierające substancje czynne. Następnie, w odniesieniu do zamieszczonego wcześniej celu i planu prowadzonych badań, Pani mgr Joanna Adamska opisała metodologię, tok postępowania oraz rezultaty prowadzonych eksperymentów. Treści te zawarła w pięciu kolejnych rozdziałach, które krok po kroku, konsekwentnie prowadzą czytającego przez zaprojektowane przez Autorkę etapy prac.

Kamieniem milowym, jak wskazała Autorka, było opracowanie bazy produktu powłokowego o odpowiednich parametrach fizykochemicznych, tj. lepkości, gęstości i odpowiedniej wartości pH, a także odpowiednich parametrach użytkowych m.in: nakładania, wydajności, przyczepności do podłoża i zmywalności. Otrzymany produkt został sprawdzony w komorze klimatycznej na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w warunkach chowu oddających rzeczywiste parametry panujące w kurnikach do odchowu kurcząt brojlerów. Kontrolowano wilgotność względną ściółki oraz zapylenie w komorze klimatycznej. Uzyskane rezultaty testów wykazały korzystny wpływ na badane parametry i tym samym umożliwiły kontynuowanie dalszych etapów projektu.

Kolejne badania Pani mgr Joanna Adamska poświęciła na pozyskanie ekstraktów z sześciu surowców roślinnych (tymianek, oregano, rozmaryn, rdest, szalwia, pokrzywa) oraz ocenę wydajności tych ekstraktów. W tym celu dokonała optymalizacji metody ekstrakcji w aparacie Soxhleta pozwalającej na pozyskanie z materiału roślinnego frakcji zawierającej substancje polifenolowe oraz



bezpośredniej hydrodestylacji, prowadzonej w aparacie Clevengera, w wyniku której otrzymała olejki eteryczne z czterech badanych gatunków. Po otrzymaniu frakcji polifenolowych i olejków eterycznych Pani mgr Joanna Adamska przeprowadziła analizę jakościową i ilościową zawartych w nich substancji. Do oceny całkowitej zawartości związków polifenolowych - reakcja z odczynnikiem Folina-Ciocalteu i oceny aktywności antyoksydacyjnej – reakcja z kationorodnikiem ABTS zastosowała techniki spektrofotometryczne, z kolei do identyfikacji składu związków polifenolowych i składu olejków eterycznych, zastosowała techniki chromatograficzne, kolejno ultrasprawną chromatografię cieczową (UPLC) i chromatografię gazową z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID). Szczegółowa analiza wyników UPLC otrzymanych w tym etapie badań pozwoliła Kandydatce do stopnia doktora na wskazanie surowców roślinnych zasobnych w kwas rozmarynowy, który wybrany został jako związek wskaźnikowy. Z kolei ocena zawartości składu olejków eterycznych z zastosowaniem GC-FID na obecność 12 terpenoidów (α -pinen, β -pinen, sabinen, β -myrcen, α -terpinen, γ -terpinen, *p*-cymen, 1,8-cyneol, linalol, α -terpineol, karwakrol i kariofilen) pozwoliła na wskazanie oregano i rozmarynu jako surowców o najwyższej zawartości tych substancji.

Przedstawiona w tej części interpretacja wyników jest precyzyjna i w pełni uzasadnia wybór przez Autorkę surowców do kolejnych eksperymentów. Gatunkami roślin, które zawierały najkorzystniejszą, z punktu widzenia wdrożenia, zawartość substancji aktywnych były olejkodajne surowce oregano i rozmarynu oraz ekstrakty z oregano, rozmarynu, szalwii i tymianku pospolitego bogate w polifenole.

Na podstawie uzyskanych rezultatów Doktorantka opracowała protokół wzbogacania wcześniej zaprojektowanej powłoki o składniki naturalne pochodzące zarówno z ekstraktów, jak i olejków eterycznych. Następnie przeprowadzono testy wydajności nakładania wzbogaconej powłoki na powierzchnię płytek w komorze starzeniowej, których wyniki wykazały opłacalność stosowania olejków eterycznych. Równocześnie przeprowadzone analizy chromatograficzne GC-FID zawartości substancji uznanych jako wskaźnikowe w przygotowanych powłokach zawierających olejki eteryczne jednoznacznie potwierdziły ich użyteczność.

Najciekawszą częścią tego etapu badań był ostateczny test wpływu zaprojektowanej powłoki zawierającej olejek z rozmarynu lub oregano na dobrostan drobiu, który w pierwszej kolejności przeprowadzono w eksperymentalnych chowach kur w komorach hodowlanych, a następnie na farmie przemysłowej podczas standardowego chowu. W trakcie testów zbadano wpływ powłok wzbogaczanych substancjami roślinnymi na wiele parametrów istotnych w hodowli drobiu, takich jak: właściwości fizykochemiczne ściółki, temperatura, wilgotność i zapylenie powietrza, zanieczyszczenie mikrobiologiczne, zapalenie podszwy stopy ptaków i innych jednostek chorobowych, liczbę oocyst kokcydiów w ściółce, a także parametry odchowu drobiu. Generalnie, w obu testach uzyskano satysfakcjonujące wyniki.

Trudnym zadaniem, którego podjęła się Pani mgr Joanna Adamska była próba oznaczenia substancji pochodzących z olejków eterycznych, które przedostały się do ściółki.

Mimo, iż eksperyment nie zakończył się powodzeniem, i nie przyniósł oczekiwanych rezultatów, zasługuje moim zdaniem na kontynuację i rozwinięcie, ponieważ zgromadzenie dodatkowych wyników poszerzyłoby aplikacyjność opracowanej powłoki.



Merytoryczną część rozprawy doktorskiej kończy obszerne, siedemnastopunktowe *Podsumowanie* potwierdzające osiągnięcia uzyskane podczas realizacji kolejnych zadań pracy doktorskiej oraz wykaz cytowanego piśmiennictwa zawierający 10 odniesień do stron internetowych oraz 117 pozycji literatury.

W trakcie lektury doświadczalnej części rozprawy nasunęły mi się pytania, które przedstawiam do dyskusji i proszę Panią mgr Joannę Adamską o komentarz:

- Skuteczność ziół i ekstraktów z nich pozyskiwanych może być różna w zależności od terminu zbioru, warunków siedliskowych, warunków suszenia i przechowywania. Czynniki te mają bezpośredni wpływ na zawartość substancji czynnych. Czy surowce przeznaczone do produkcji olejku i/lub ekstraktu były, są lub będą poddawane procesowi standaryzacji?
- W ostatnich etapach prac do wdrożenia wytypowano olejek z rozmarynu i olejek z oregano, które pozyskano z surowców pochodzących kolejno z Maroko i z Turcji. Dlaczego nie użyto rodzimych surowców?
- Czy w trakcie projektu brano pod uwagę użycie komercyjnie dostępnych olejków eterycznych?

Przedstawiona do recenzji dysertacja została napisana dość poprawnym językiem. W trakcie edycji tekstu, Autorka nie uniknęła jednak drobnych błędów językowych (literówek) i gramatycznych. Jednakże te uchybienia nie wpływają **na moją jednoznacznie pozytywną ocenę** rozprawy, a zawarte w recenzji uwagi mają charakter formalny lub polemiczny.

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej stwierdzam, że Autorka zrealizowała zaplanowane etapy badań naukowych oraz uzyskała rezultaty, dzięki którym osiągnęła postawione sobie cele badawcze. Recenzowaną rozprawę wyróżnia ważna, użyteczna, ciekawa i spójna tematyka badawcza, a uzyskane przez Doktorantkę wyniki są oryginalne i wartościowe.

W przypadku doktoratu wdrożeniowego miarą aplikacyjną wartości przedstawionej do recenzji pracy jest fakt, że rezultaty badań przeprowadzone w jej ramach zostały wdrożone na rynek. Podkreślić należy, że do końca sierpnia 2024 roku wyprodukowano i sprzedano 900 kg zaprojektowanego produktu o nazwie HERBAL PROTECT COATING, a wierzę, że do czasu pisania tej oceny jest to już znacznie większa liczba.

Dodatkowo Pani mgr Joanna Adamska jest współautorką artykułu naukowego w czasopiśmie *Przemysł Chemiczny* oraz kilku publikacji popularnonaukowych w czasopismach branżowych, a także prezentowała wyniki swoich badań na konferencjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Ponadto jest współautorką jednego patentu i jednego zgłoszenia patentowego.

Uznając walory merytoryczne ocenianej dysertacji, jako spełniające formalne i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim oraz dorobek wdrożeniowy stwierdzam, że w moim przekonaniu niniejsza rozprawa spełnia warunki ujęte w art. 13 pkt.1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), jak również warunki ujęte w art. 187, ust. 1-4





INSTYTUT CHEMII
UNIwersYTET OPOLSKI

ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, o dopuszczenie Pani mgr Joanny Adamskiej do kolejnych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Joanna Adamska

