



**UNIWERSYTET MEDYCZNY
W LUBLINIE
ZAKŁAD ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIA
20-093 LUBLIN ul. Chodźki 4a
tel. 81 535-73-52
www.umlub.pl**

Dr hab. n. farm. Wojciech Koch
Profesor Uczelni
Kierownik Zakładu Żywności i Żywienia
Wydział Biomedyczny
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Lublin, 02.01.2023

**Recenzja pracy doktorskiej
Mgr Konrada Mielcarka
wykonanej w Zakładzie Bromatologii
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Promotor: dr hab. n. farm. Katarzyna Socha

Praca na stopień doktora:

„Wartość odżywcza ryb słodkowodnych w profilaktyce prozdrowotnej u ludzi”

Ryby stanowią jedną z podstawowych grup produktów spożywczych, a ich wysoka wartość odżywcza jest powszechnie znana i doceniana przez specjalistów z dziedziny ochrony zdrowia. Wysoka zawartość pełnowartościowego białka, nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3, licznych składników mineralnych, takich jak selen, miedź czy cynk, powodują, iż w opinii ekspertów przeciętny człowiek powinien przynajmniej 2-3 razy w tygodniu spożywać porcję ryb w ilości 100-200 g. Co więcej, w ostatnich latach izolowane składniki z produktów rybołówstwa, głównie rybi tran bogaty w kwasy omega-3, takie jak DHA i EPA, jak również wit. D3, stały się powszechnymi składnikami w produkcji popularnych suplementów diety. Należy jednakże mieć na uwadze, że ze względu na rosnące skażenie mórz i oceanów, ryby stanowią również źródło licznych kontaminantów, takich jak przede wszystkim metale ciężkie (rtęć, kadm), polichlorowane bifenyle czy dioksyne, które negatywnie oddziałują na organizm ludzki, a ich nadmierne spożycie jest szczególnie niebezpieczne dla kobiet w ciąży, karmiących, jak również niemowląt i małych dzieci. W

przypadku niektórych gatunków ryb, np. tuńczyka, kumulacja zwłaszcza najbardziej niebezpiecznej formy metylo-rtęci jest bardzo wysoka i konsumpcja tej ryby w przypadku wrażliwych grup populacyjnych powinna być kontrolowana, a według wielu specjalistów wręcz zaniechana. Pominąwszy tego rodzaju nieliczne sytuacje, według najnowszych badań naukowych, konsumpcja ryb, zwłaszcza morskich, ze względu na ich udowodnione działanie kardioprotekcyjne, przynosi zdecydowanie więcej pożytku niż potencjalnych szkód. W związku z tym spożywania ryb nie należy absolutnie unikać, ale wręcz do niego zachęcać. Należy jednakże podkreślić, iż większość danych, czy to dotyczących prozdrowotnego, czy też negatywnego wpływu konsumpcji ryb na zdrowie człowieka, dotyczy gatunków morskich. W piśmiennictwie niewiele jest danych dotyczących gatunków słodkowodnych.

W związku z tym podjęcie przez Doktoranta tematyki dotyczącej oceny wartości odżywczej ryb słodkowodnych uważam za szczególnie trafne, innowacyjne i istotne, zarówno pod względem praktycznym, jak i poznawczym dla rozwoju dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska stanowi cykl 4 artykułów naukowych powiązanych tematycznie (jedna praca pogładowa i dwie oryginalne), opublikowanych w latach 2020-2022 w renomowanych czasopismach z listy Journal Citation Reports („*Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*”, „*Foods*”, „*Molecules*” oraz „*Food Chemistry*”) o sumarycznym współczynniku oddziaływania Impact Factor (IF) wynoszącym 18,547, co przekłada się na 540 pkt. MNiSW. **Wybór tak specjalistycznych czasopism świadczy o innowacyjności i istotnej wartości poznawczej prezentowanych wyników badań, dobrze dobranej tematyce oraz uznanym warsztacie badawczym.** Należy też wspomnieć, iż ogólny dorobek naukowy Pana Konrada Mielcarka jest bardzo duży i łącznie wynosi 76,021 IF oraz 1631 pkt. MNiSW, na co składa się aż 18 publikacji naukowych, z czego 13 posiadających IF. Oprócz tego Doktorant jest również współautorem 32 streszczeń zjazdowych, z czego 3 zostały wygłoszone na konferencjach zagranicznych.

W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. **Mielcarek, K.**, Socha, K. (2022). Freshwater fish consumption in the prevention of diseases. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 79, 3, 325-331. <https://doi.org/10.32383/appdr/150863>
2. **Mielcarek, K.**, Puścion-Jakubik, A., Gromkowska-Kępka, K. J., Soroczyńska, J., Naliwajko, S. K., Markiewicz-Żukowska, R., Moskwa, J., Nowakowski, P., Borawska, M. H., Socha, K. (2020). Proximal composition and nutritive value of raw, smoked and pickled freshwater fish. *Foods*, 9(12), 1879. <https://doi.org/10.3390/foods9121879>

3. **Mielcarek, K.**, Puścion-Jakubik, A., Gromkowska-Kępka, K. J., Soroczyńska, J., Karpińska, E., Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Moskwa, J., Nowakowski, P., Borawska, M. H., Socha, K. (2020). Comparison of zinc, copper and selenium content in raw, smoked and pickled freshwater fish. *Molecules*, 25(17), 3771. <https://doi.org/10.3390/molecules25173771>
4. **Mielcarek, K.**, Nowakowski, P., Puścion-Jakubik, A., Gromkowska-Kępka, K. J., Soroczyńska, J., Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Grabia, M., Bielecka, J., Żmudzińska, A., Moskwa, J., Karpińska, E., Socha, K. (2022). Arsenic, cadmium, lead and mercury content and health risk assessment of consuming freshwater fish with elements of chemometric analysis. *Food Chemistry*, 379, 132167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132167>

We wszystkich powyższych pracach Doktorant jest pierwszym autorem. Jego udział w powstawaniu tych prac wynosił 70-80%, na co składało się zarządzanie projektem, prace doświadczalne, analiza otrzymanych danych, pisanie publikacji oraz zbieranie danych literaturowych w przypadku pracy przeglądowej. **Z przedstawionych oświadczeń współautorów jednoznacznie wynika, iż Doktorant pełnił wiodącą rolę w przeprowadzonych badaniach naukowych, jak również w głównej mierze przyczynił się do powstania publikacji stanowiących dysertację doktorską.**

W pierwszej publikacji Doktorant dokonał szczegółowego przeglądu dostępnej literatury naukowej dotyczącej prozdrowotnych właściwości ryb słodkowodnych, z którego wynika, że ich spożycie może także wykazywać działanie kardioprotekcyjne. Ryby słodkowodne mogą potencjalnie wykazywać korzystny wpływ w zapobieganiu cukrzycy typu 2. Z przeglądu systematycznego i metaanalizy związku między spożywaniem kwasów tłuszczowych n-3 oraz ryb, a występowaniem cukrzycy typu 2 wynika, że zarówno suplementacja EPA i DHA, jak i spożywanie ryb nie były istotnie związane z ogólnym ryzykiem występowania cukrzycy. W badaniach na zwierzętach stwierdzono jednak, że długłańcuchowe kwasy tłuszczowe LC-PUFA wpływają na redukcję nieprawidłowości metabolicznych leżących u podstaw rozwoju tej choroby. Obejmowały one działanie uwrażliwiające na insulinę poprzez zwiększoną produkcję i wydzielanie adiponektyny i leptyny. Wpływały również prewencyjnie na wystąpienie oporności na insulinę poprzez działanie przeciwzapalne lub poprzez przemianę do specyficznych mediatorów przeciwzapalnych (rezolwiny i protektyny). LC-PUFA mogą również nasilać utlenianie kwasów tłuszczowych i zmniejszać lipogenezę *de novo*, co może hamować gromadzenie

tłuszczu w wątrobie i zachować wrażliwość wątroby na insulinę, poprzez modulację czynników transkrypcyjnych (np. białka wiążące elementy regulatorowe steroli). W pracy przeglądowej Doktorant podkreślił również, iż dane literaturowe wskazują na znaczenie ryb w profilaktyce nowotworów. Spożycie ryb słodkowodnych wiązało się z redukcją występowania raków piersi i okrężnicy. Głównymi składnikami prozdrowotnymi występującymi w rybach słodkowodnych są kwasy tłuszczowe LC-PUFA, głównie kwasy DHA i EPA. Jednakże dobroczynny wpływ na organizm człowieka wywierają również inne składniki odżywcze obecne w mięsie ryb, takie jak witamina D3, selen, miedź, cynk, czy pełnowartościowe białko o bardzo korzystnym składzie aminokwasowym. Opracowanie pracy przeglądowej potwierdziło, że wybrany do realizacji **temat pracy jest nowatorski** i niewątpliwie umożliwiło Doktorantowi gruntowne przygotowanie się do podjęcia realizacji celu pracy, którym była ocena jakości ryb słodkowodnych świeżych, wędzonych i poddanych procesowi konserwowania w zalewie octowej z regionu północno-wschodniej Polski, pod względem zawartości białka, tłuszczu i soli oraz stężenia wybranych pierwiastków uczestniczących w procesach antyoksydacyjnych (Se, Zn, Cu) i toksycznych (As, Hg, Cd, Pb).

Powyższy cel został przez Pana Konrada Mielcarka w pełni zrealizowany i opublikowany w postaci 3 prac doświadczalnych.

Doktorant realizował badania w Zakładzie Bromatologii, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Przeprowadzone badania nie wymagały Zgody Komisji Bioetycznej lub Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach, na dowód czego Doktorant przedstawił odpowiednie zaświadczenie. Materiał do badań stanowiło 212 prób ryb słodkowodnych. Próby zostały pobrane z ryb świeżych (S) (n = 74), wędzonych na gorąco (W) (n = 66) oraz poddanych procesowi konserwowania w zalewie octowej (K) (n = 72). Do badań wytypowano poniższe gatunki ryb:

- leszcz (*Abramis brama* L., S: n = 14, W: n = 10, K: n = 10),
- okoń (*Perca fluviatilis* L., S: n = 10, W: n = 10, K: n = 10),
- płoć (*Rutilus rutilus* L., S: n = 10, K: n = 12),
- sandacz (*Sander lucioperca* L., S: n = 10, K: n = 10),
- sieja (*Coregonus lavaretus* L., S: n = 10, W: n = 12, K: n = 10),
- sielawa (*Coregonus albula* L., S: n = 10, W: n = 11, K: n = 10),
- troć (*Salmo trutta morpha lacustris* L., W: n = 10),
- węgorz (*Anguilla anguilla* L., S: n = 10, W: n = 13, K: n = 10),

występujących w jeziorach na terenie północno-wschodniej Polski. Próby pozyskiwane były bezpośrednio z gospodarstw rybackich, w rejonie następujących jezior: Roś, Nidzkie, Ukiel, Czos, Śniardwy i Niegocin (Warmia i Mazury).

Metodyka i wyniki badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej zostały już ocenione przez recenzentów czasopisma, w którym ukazały się prace i merytorycznie nie budzą żadnych zastrzeżeń. Należy zauważyć, iż zaplanowane przez Doktoranta badania są **kompleksowe** i obejmowały oznaczenia zawartości białka, tłuszczu, wody, kolagenu i soli w częściach jadalnych ryb, za pomocą analizatora FoodScanTM firmy FOSS, którego działanie opiera się na metodzie NIRS (spektrometria bliskiej podczerwieni). Stężenie pierwiastków (z wyjątkiem As i Hg) oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA), z atomizacją w płomieniu acetylenowo – powietrznym (Zn) oraz elektrotermiczną w kuwecie grafitowej (Cu, Se, Cd, Pb), z korekcją tła Zeemana (Z-2000, Hitachi). Stężenie Hg zostało oznaczone bezpośrednio, bez wstępnej mineralizacji, za pomocą analizatora rtęci (AMA 254, Leco) – spektrometru absorpcji atomowej wykorzystującego technikę amalgamacji. Do oznaczenia stężenia As zastosowano metodę spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-MS) z komorą kinetycznej energii dyskryminacji KED (NexION 300 D, PerkinElmer).

Warto podkreślić, iż zastosowana metodyka oznaczania pierwiastków została sprawdzona z wykorzystaniem certyfikowanych materiałów odniesienia MODAS-3 *Herring Tissue* (M-3 HerTis) i MODAS-5 *Cod Tissue* (M-5 CodTis).

W celu oceny bezpieczeństwa spożywania poszczególnych gatunków ryb zastosowano obliczenia z wykorzystaniem wskaźników narażenia: EDI (ang. *Estimated Daily Intake*), CR (ang. *Carcinogenic Risk*), THQ (ang. *Target Hazard Quotient*), and HI (ang. *Hazard Index*).

Otrzymane dane zostały opracowane statystycznie za pomocą oprogramowania *Statistica*, co zostało szczegółowo opisane w poszczególnych publikacjach stanowiących część niniejszej rozprawy doktorskiej. Warto podkreślić, że do przeprowadzenia **wielokierunkowych badań** Doktorant zastosował **szeroki wachlarz odpowiednio dobranych metod z wykorzystaniem nowoczesnej aparatury**. Świadczy to o dobrym przygotowaniu Doktoranta do pracy laboratoryjnej. Myślę, że nie bez znaczenia jest też fakt, że praca została wykonana pod opieką Pani dr hab. n. farm. Katarzyny Socha, która dysponuje istotnym doświadczeniem naukowym i stosowną infrastrukturą badawczą do prowadzenia badań dotyczących wartości odżywczej produktów spożywczych, w tym zwłaszcza nowoczesnej analizy śladowej, związanej z kontaminacją żywności, jak również zawartości biopierwiastków, takich jak Se, Zn czy Cu. W mojej ocenie uzyskane wyniki

stanowią istotny wkład w rozwój dziedziny, którą zajmuje się Doktorant, a dyskusję nad nimi oceniam wysoko pod względem merytorycznym. Z przeprowadzonych przez Doktoranta prac badawczych płynie wiele cennych wniosków:

1. Włączenie do diety ryb słodkowodnych może wywierać pozytywne efekty zdrowotne w profilaktyce niektórych schorzeń, tj. chorób sercowo-naczyniowych i nowotworów, a także w przypadku cukrzycy typu 2. Należałoby jednak przeprowadzić więcej badań z udziałem pacjentów z wykorzystaniem tych rodzajów ryb.
2. Wartość odżywcza ryb słodkowodnych i zawartość pierwiastków różni się w rybach surowych w porównaniu do przetworzonych.
3. Prawie wszystkie gatunki badanych ryb słodkowodnych mogą stanowić źródło Se w diecie.
4. Niektóre gatunki ryb słodkowodnych (surowa i wędzona sielawa oraz surowy, wędzony i konserwowany węgorz) mogą być uznane za źródło Zn w diecie.
5. Badane gatunki ryb słodkowodnych nie są źródłem Cu, a zatem spożywanie ryb słodkowodnych z regionu Warmii i Mazur może przyczyniać się do poprawy stosunku Cu/Zn, obniżenia ryzyka stresu oksydacyjnego i jego konsekwencji w organizmie.
6. U osób z nadciśnieniem tętniczym należy rozważyć ograniczenie spożycia niektórych gatunków ryb przetworzonych (wędzony i konserwowany okoń, konserwowany leszcz i sandacz) ze względu na wysoką zawartość soli.
7. Wskazane jest monitorowanie zawartości As w niektórych gatunkach ryb słodkowodnych, np. troci wędzonej, ponieważ jej konsumpcja w dużych ilościach może mieć negatywny wpływ na zdrowie.
8. Badane ryby słodkowodne z rejonu Warmii i Mazur są w większości bezpieczne pod względem zawartości Cd, Pb i Hg. Występują jednak sporadyczne przekroczenia maksymalnej dopuszczalnej ich zawartości. Wobec powyższego zawartość pierwiastków toksycznych w rybach słodkowodnych powinna być monitorowana. Szczególne obawy powinna budzić wyjątkowo wysoka zawartość Hg w Sandaczu (prawie 0,5 mg/kg), kilkukrotnie przewyższająca średnie stężenie tego pierwiastka w pozostałych gatunkach badanych ryb.

Mocną stroną rozprawy jest jej techniczna strona. Wszystko zostało przedstawione w sposób wyjątkowo czytelny i staranny. Doktorant umiejętnie wprowadził czytelników w temat, przedstawiając w sposób zwięzły i interesujący

prozdrowotne właściwości ryb słodkowodnych oraz uzasadnia wybór materiału badawczego i realizowanego tematu. Następnie przedkłada cele pracy, opis materiału badawczego i zastosowane metody badań. W kolejnym rozdziale opisuje wyniki badań zawarte w publikacjach oraz przeprowadza ich krótką dyskusję, podkreślając, iż wyniki poszczególnych badań zostały szczegółowo przedyskutowane w konkretnych publikacjach. Warty podkreślenia i docenienia jest fakt, iż Doktorant wskazuje na możliwości dalszych badań w tym kierunku, takie jak analiza specjacyjna związków As, czy dokładny profil kwasów tłuszczowych. Zwraca również uwagę, iż dotychczasowe badania na ludziach, dotyczące prozdrowotnych właściwości ryb słodkowodnych są nieliczne i nie dotyczą gatunków krajowych. W związku z tym można byłoby również rozważyć przeprowadzenie tego typu badań w przyszłości. Końcowa część pracy zawiera oświadczenia autora oraz współautorów dotyczące procentowego udziału w prowadzeniu prac badawczych oraz pisaniu poszczególnych publikacji. Pan Konrad Mielcarek zamieścił również szczegółowe podsumowanie swoich dotychczasowych osiągnięć naukowych, co znacznie ułatwia zapoznanie się z jego dorobkiem naukowym, który, co należy podkreślić, jak na Doktoranta jest bardzo duży.

Podczas czytania rozprawy nasunęły się niżej wymienione uwagi i pytania:

1. Strona 7 – wit. D3 to nie kalcytriol, który stanowi co prawda jej aktywną formę, lecz dopiero po endogennej podwójnej hydroksylacji. Nie należy więc zamiennie stosować tych dwóch terminów.

2. Strona 12 – omawiając stężenia As w rybach raczej błędnie użyto oznaczenia g/g. Chodzi raczej o $\mu\text{g/kg}$.

Wymienione powyżej nieścisłości i usterki nie obniżają wartości merytorycznej pracy, która zawiera wiele elementów świadczących o tym, że jej Autor nabył umiejętności potrzebne w pracy naukowej, zarówno w zakresie planowania i prowadzenia badań, analitycznego podejścia do nowych metod i zjawisk, jak i ich oceny oraz interpretacji. Podsumowując, rozprawę doktorską Pana Konrada Mielcarka oceniam od strony merytorycznej bardzo wysoko. Włączona do niej praca pogładowa stanowi wartościowe opracowanie omawianego zagadnienia, a prace doświadczalne zostały starannie zaprojektowane i przemyślane. Świadczy to o dobrym przygotowaniu teoretycznym i

manualnym Doktoranta, umiejętności organizowania pracy badawczej oraz planowania i rozwiązywania zagadnień naukowych.

W związku z tym recenzowana rozprawa doktorska mgr Konrada Mielcarka pt. „Wartość odżywcza ryb słodkowodnych w profilaktyce prozdrowotnej u ludzi” w pełni odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 roku poz. 1789 ze zm.), Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 roku poz. 261), w związku z *art. 179 ust. 2 i 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce ((Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669)* oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 roku w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz. U. z 2018 roku poz. 1818).

W związku z powyższym przedkładam Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, wniosek o dopuszczenie mgr Konrada Mielcarka do **dalszych etapów przewodu doktorskiego**, a także ze względu na wysoki poziom naukowy prowadzonych badań, wysoką wartość poznawczą z nich płynącą oraz bardzo wysoki dorobek naukowy Doktoranta o rozważenie możliwości przyjęcia jej z **wyróżnieniem**.

Dr hab. n. farm. Wojciech Koch, prof. uczelni

Dr hab. n. farm. Wojciech Koch
Profesor Uczelni
-specjalista bromatolog-