

Dr hab. Wiesław Wiczkowski, prof. Instytutu
Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polska Akademia Nauk w Olsztynie

Olsztyn, 20.12.2022

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Natalii Mikołajczak pt. „Zastosowanie pochodnych kwasów fenolowych do stabilizacji bioolejów roślinnych” wykonanej w Katedrze Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Małgorzaty Tańskiej, prof. UWM i promotora pomocniczej dr inż. Doroty Ogrodowskiej.

Oceniana rozprawa doktorska licząca 125 stron obejmuje cztery zagadnienia opisane i opublikowane w latach 2019-2022 w czterech oryginalnych pracach naukowych w czasopiśmie indeksowanym w Journal Citation Reports o łącznym *Impact Factor* równym 29,494 oraz sumarycznej ilości 740 punktów MNiSW (rozdział „Wykaz publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej”, str. 7-8). O dużej wartości tych prac świadczy opublikowanie ich w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych, tj. *Trends in Food Science & Technology* (IF: 12,563, 200 pkt. MEiN za 2021 rok), *NFS Journal* (IF: 3,111, 140 pkt. MEiN za 2022 rok) i *Food Chemistry* (IF: 7,514, 200 pkt. MEiN za 2022 rok). Przed opublikowaniem wskazane prace były poddane ocenie recenzentów, musiały spełnić wszystkie wymagania dotyczące sposobu przedstawiania wyników, ich interpretacji oraz dyskusji, a przyjęcie ich do druku w najlepszych czasopiśmie w dziedzinie świadczy o ich bardzo dużej i sprawdzonej wartości naukowej. We wszystkich artykułach Doktorantka jest pierwszym autorem i zgodnie z informacjami zawartymi w rozdziale „Wykaz publikacji stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej” (str. 7-8) oraz czterech załącznikach pt. „Oświadczenie współautora” (str. 59-65) jej udział w powstaniu tych prac był wiodący i polegał na opracowaniu koncepcji badań, zebraniu literatury, zaplanowaniu doświadczeń, doborze metod analitycznych, przeprowadzeniu doświadczeń, opracowaniu i interpretacji wyników oraz uczestniczeniu w przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptów.

Wkład Doktorantki został oszacowany na poziomie 75%, 80%, 65% i 70%, odpowiednio w pracy pierwszej, drugiej, trzeciej i czwartej.

Oprócz wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską (str. 7-8), załączonych pełnych tekstów publikacji (str. 66-125) oraz informacji o charakterze udziału współautorów w publikacjach (str. 59-65) dysertacja zawiera informacje o finansowaniu badań (str. 6), wstęp (str. 9-15), hipotezy badawcze, cel główny i cele szczegółowe (str. 16), opis organizacji i metodyki badań (str. 17-24), omówienie rezultatów badań (str. 25-48) oraz wnioski i podsumowanie badań (str. 49-50). Całość uzupełnia streszczenie w języku polskim (str. 4) i angielskim (str. 5) oraz bibliografia (str. 51-58).

W siedmiostronicowym wstępie składającym się z czterech podrozdziałów Doktorantka naszkicowała tło teoretyczne pracy i przekonujące uzasadnienie celowości zajęcia się wybranym problemem naukowym. Zamieściła opis znaczenia bioolejów w diecie człowieka, wskazała w jaki sposób można ograniczyć procesy utleniania w olejach roślinnych, scharakteryzowała mechanizmy przeciwutleniające związków fenolowych w olejach oraz przedstawiła funkcje pochodnych kwasów fenolowych w hamowaniu utleniania olejów roślinnych. Wstęp opracowany został z uwzględnieniem najnowszych osiągnięć z zakresu prowadzonych badań, zawiera opisy i objaśnienia szeregu istotnych zjawisk, procesów i pojęć oraz wskazuje przestrzenie/luki wymagające wyjaśnienia i dalszych badań. Oprócz bardzo ważnych kwestii technologicznych dotyczących pozyskania olejów oraz zagwarantowania ich jakości poprzez ograniczenie procesów utleniania we wstępie wskazano również na niezbędną występowania olejów w diecie oraz roli składników olejów w procesach fizjologicznych organizmu człowieka. W mojej ocenie przedstawiony wstęp jest ściśle związany z przedmiotem pracy doktorskiej i w bardzo dobrym zakresie naświetla problemy poruszone w dysertacji. Odpowiednio uzasadnia potrzebę badań w zakresie zastosowania pochodnych kwasów fenolowych do stabilizacji bioolejów roślinnych.

W kolejnym rozdziale Autorka przedstawia jasno sformułowane cztery hipotezy oraz główny cel badawczy rozwinięty w czterech celach szczegółowych.

Rozdział „*Organizacja i metodyka badań*” składa się z dziewięciu podrozdziałów i liczy sześć stron. W jego pierwszej części przedstawiono i opisano podział zaplanowanych badań na

cztery następujące po sobie etapy ze wskazaniem obszarów ujętych w poszczególnych opublikowanych pracach naukowych stanowiących rozprawę doktorską (schemat 1). W kolejnych częściach opisano materiał badawczy oraz szereg złożonych metod badawczych wykorzystanych do zrealizowania sformułowanych celów. Doktorantka przedstawiła opis oznaczenia parametrów jakościowych bioolejów (tj. liczba kwasowa, liczba nadtlenowa, liczba anizydynowa, zawartość kwasów sprzężonych, dienów i trienów, zawartość wody, analiza barwy), oznaczenie składu kwasów tłuszczowych w bioolejach, oznaczenie zawartości związków anty- i prooksydacyjnych w olejach (tj. zawartość skwalenu i steroli, tokoferoli, karotenoidów, całkowitą zawartość barwników chlorofilowych, całkowitą zawartość związków fenolowych w formie wolnej, skład kwasów fenolowych), oznaczenie stabilności oksydacyjnej olejów (tj. test Rancimat, test przechowalniczy w warunkach naturalnych, test przechowalniczy w warunkach wymuszonych) oraz opis zastosowanej analizy statystycznej. Bardzo wysoko oceniam opanowanie i wykorzystanie przez Doktorantkę w badaniach składników olejów trudnych metod chromatograficznych, tj. chromatografii gazowej sprzężonej z spektrometrią mas oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem fluorescencyjnym i fotodiodowym. Według mojej oceny w opisie zastosowanej metodyki badawczej występuje jednak kilka drobnych nieścisłości lub/i podane informacje są niepełne, tj.

- strona 21: sformułowanie „*próbki olejowe*” jest niefortunne; myślę, że odpowiednim zwrotem byłoby „*próbki olejów*”.

- strony 21-23: brak konsekwentnego podejścia do sposobu opisu metodyki - przedstawiono metodę analizy skwalenu i steroli, karotenoidów, całkowitej zawartości barwników chlorofilowych, całkowitej zawartości związków fenolowych w formie wolnej i skład kwasów fenolowych pomijając jednocześnie opis procedur ekstrakcji tych komponentów; należy jednak nadmienić, że w zamieszczonych publikacjach przedstawiono pełne opisy metodyki.

- strona 24: brak wskazania wersji wykorzystanego w pracach programu Statistica; użyte sformułowanie „*najnowszych wersji programu*” jest mało precyzyjne; natomiast w zamieszczonych publikacjach przedstawiono pełne informacje na temat wykorzystanej wersji oprogramowania.

Podkreślenia wymaga fakt, że zastosowane techniki przygotowania próbek do analiz oraz metody analityczne były złożone i czasochłonne oraz potrzebowały dużego nakładu pracy aby w pełni umożliwić zrealizowanie założonych celów badawczych. Dzięki temu jednak

możliwe było uzyskanie wielu nowych informacji o zawartość związków fenolowych w bioolejach z różnych gatunków roślin i o różnej zawartości wody oraz na temat wpływu tych substancji na stabilność oksydacyjną olejów. Umożliwiło również określenie oddziaływania dodatku pochodnych kwasów fenolowych na stabilność oksydacyjną bioolejów oraz na szybkość degradacji składników bioaktywnych w tych bioolejach podczas procesu ich utleniania. Podsumowując stwierdzam, że wykorzystana metodyka została poprawnie dobrana i zastosowana.

Liczący dwadzieścia cztery strony rozdział „*Rezultaty badań przedstawione w monotematycznym cyklu publikacji*” składa się z czterech podrozdziałów zawierających dziewięć tabel i jeden rysunek. Na podstawie zestawień liczbowych, będących rezultatem pracy organizacyjnej i analitycznej Doktorantka przedstawiła w poszczególnych podrozdziałach opis pracy przeglądowej i własnych osiągnięć. W ramach przyjętej organizacji badań w pierwszej kolejności omówiła wyniki dotyczące zawartość i profilu związków fenolowych w bioolejach z różnych gatunków roślin, metod ich oznaczania oraz wpływ tych substancji na stabilność oksydacyjną. Zawarte w tym rozdziale informacje stanowią połączenie danych przedstawionych w publikacji przeglądowej (pierwsza praca z wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską) oraz badań własnych Doktorantki zamieszczonych w trzeciej i czwartej pracy z wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską. Doktorantka wykazała w swojej pracy, że zawartość i rodzaj związków fenolowych występujących w olejach roślinnych są wysoce zróżnicowane i zależą przede wszystkim od surowca oraz metody produkcji oleju. Wskazała również, że w profilu związków fenolowych olejów roślinnych najczęściej występują kwasy fenolowe i flawonoidy, natomiast lignany i sekoirydoidy są obecne znacznie rzadziej i w mniejszych ilościach. W zakresie wpływu związków fenolowych na stabilność oksydacyjną olejów Doktorantka zasugerowała, że ze względu na polarny charakter związków fenolowych ilość wody w oleju roślinnym może wpływać na ich rozpuszczalność w olejach roślinnych i warunkować ich właściwości przeciwutleniające, tym samym decydować o jakości olejów.

W tej części pracy pojawiły się dwie nieścisłości:

- strona 26: „*Xuan i in. (2018) potwierdzili obecność flawonoidów również w innych olejach, jednak ich ilość była ponad 40-krotnie mniejsza niż związków fenolowych.*” Proszę o wyjaśnienie informacji przedstawionej w tym zdaniu, biorąc pod uwagę fakt, że flawonoidy zaliczają się do związków fenolowych, są ich częścią składową.

- strona 31: „*Generalnie, kwercetyna, mirycetyna, morina, rutyna, naringina i [-]epikatechina wykazały bardziej korzystne efekty działania na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego (zwiększenie o co najmniej 71%) niż pozostałe flawonoidy.*” Jakie pozostałe flawonoidy ma na myśli Autorka w tym zadaniu?

Drugim etapem badań była bardzo interesująca i istotna analiza zawartość związków fenolowych w bioolejach lnianych o różnej zawartości wody oraz ich wpływ na stabilność oksydacyjną i powstawanie produktów utlenienia w tych olejach. Przedstawione zagadnienia były przedmiotem badań własnych Doktorantki i zostały zamieszczone w drugiej pracy z wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską. W badaniach Doktorant wykazała, że początkowa jakość i zawartość związków bioaktywnych w olejach lnianych tłoczonych na zimno ma wpływ na stabilność oksydacyjną (tj. czas indukcji) i powstawanie produktów utlenienia podczas przechowywania. Ponadto wskazała, że czas indukcji w wyższych temperaturach był bardziej zależny od składu kwasów tłuszczowych (głównie od procentowej zawartości kwasu linolenowego i oleinowego) oraz zawartości wolnych związków fenolowych, z kolei jakość początkowa olejów (zawartość wody, liczba kwasowa, liczba nadtlenkowa, liczba anizydynowa i zawartość kwasów sprzężonych) niejednoznacznie wpływała na procesy utleniania, zarówno intensyfikowała jak i spowalniała procesy tworzenia się pierwotnych i wtórnych produktów utleniania.

Kolejny obszar badań przedstawiony w rozdziale „*Rezultaty badań przedstawione w monotematycznym cyklu publikacji*” oraz w trzeciej pracy z wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską dotyczył oceny wpływu dodatku różnych stężeń pochodnych kwasów fenolowych (4-winylogwajakolu i 4-winylosyringolu) na stabilność oksydacyjną jedenastu bioolejów roślinnych tłoczonych na zimno. W pierwszym etapie tego badania, na podstawie analizy składu kwasów tłuszczowych Doktorantka oszacowała wartości wskaźnika peroksydacji olejów i podzieliła badane oleje na trzy grup, tj. wysoko (oleje konopny, wiesiołkowy, krokoszowy, makowy), średnio (oleje sojowy, z ostropestu, kukurydziany, z czarnuszki) i nisko (oleje dyniowy, słonecznikowy, sezamowy) podatne na utlenienie. Następnie, poprzez szereg eksperymentów i analiz wykazała istotny wpływ rodzaju i stężenia pochodnych kwasów fenolowych na stabilność oksydacyjną badanych olejów tłoczonych na zimno, przy czym odnotowała silniejszy wpływ rodzaju dodatku niż jego stężenia. Zaobserwowała, że rodzaj pochodnej kwasu fenolowego miał największe znaczenie dla stabilności oksydacyjnej olejów sojowego i konopnego, natomiast stężenie dodanych substancji było najistotniejsze dla oleju wiesiołkowego. Wykazała również, że

skumulowany efekt rodzaju i stężenia pochodnych kwasów fenolowych był najsilniejszy w przypadku oleju słonecznikowego. Podsumowując ten etap badań uważam, że określenie wpływu dodatku różnych stężeń 4-winylogwajakolu i 4-winylosyringolu na stabilność oksydacyjną bioolejów roślinnych tłoczonych na zimno stanowi ważne osiągnięcie pracy Doktorantki.

W ostatniej części rozdziału „*Rezultaty badań przedstawione w monotematycznym cyklu publikacji*” oraz w czwartej pracy z wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską Doktorantka przedstawiła wpływ dodatku 4-winylogwajakolu i 4-winylosyringolu na szybkość degradacji składników bioaktywnych (tj. związków fenolowych, nienasyconych kwasów tłuszczowych, steroli, tokoferoli, karotenoidów i skwalenu) w tłoczonym na zimno oleju lnianym i rzepakowym podczas procesu ich utleniania. Zebrane przez Doktorantkę dane analityczne wskazały, że związki bioaktywne obecne w tych dwóch olejach ulegają znacznej degradacji podczas utleniania. Natomiast, dodatek 4-winylogwajakolu i 4-winylosyringolu do olejów pozwolił ograniczyć degradację większość natywnych składników, w tym głównie steroli, karotenoidów i skwalenu. Ponadto, dodatek 4-winylogwajakolu ograniczył również starty kwasu α -linolenowego w obu olejach. Z drugiej strony Doktorantka zaobserwowała, że dodatek obu pochodnych kwasów fenolowych spowodował znaczną degradację α -tokoferolu w oleju rzepakowym, przy czym wpływ 4-winylogwajakolu był ponad 2-krotnie niższy niż 4-winylosyringolu. W tym miejscu należy podkreślić, że określenie stopnia degradacji naturalnych substancji bioaktywnych obecnych w olejach podczas procesu ich utleniania oraz roli dodatków w ograniczaniu tych negatywnych przemian stanowi kolejne istotne osiągnięcie pracy Doktorantki.

Uważam, że bardzo ciekawe badania zaprezentowane w drugim i czwartym rozdziale „*Rezultaty badań przedstawione w monotematycznym cyklu publikacji*” powinny zawierać klarowne wyjaśnienie powodów wyboru danego oleju do badań, tj. wyboru oleju lnianego w rozdziale drugim oraz oleju rzepakowego i lnianego w rozdziale czwartym. Należy jednak wskazać, że prace stanowiące rozprawę doktorską zawierają takie wyjaśnienia.

Badania podsumowuje siedem poprawnie sformułowanych wniosków. Są one dobrze udokumentowane i wynikają z przeprowadzonych prac i eksperymentów oraz odpowiadają założonym celom. Ponadto, zaprezentowane w tej części pracy podsumowanie wskazujące na potrzebę dalszych badań świadczy o dogłębnym rozpoznaniu przez Doktorantkę poruszonego tematu oraz wskazują na jej dużą dojrzałość naukową.

Bibliografia pracy liczy 104 pozycje przedstawiające zagadnienia związane z tematem prowadzonych badań. Większość prac (97%) jest anglojęzycznych, w 76% z ostatniego dziesięciolecia.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Natalii Mikołajczak jest oryginalnym osiągnięciem naukowym, badania są ważne z punktu widzenia naukowego, społecznego i gospodarczego. Pracę doktorską mgr inż. Natalii Mikołajczak pt. „*Zastosowanie pochodnych kwasów fenolowych do stabilizacji bioolejów roślinnych*” oceniam pozytywnie.

Uwagi końcowe

Stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Natalii Mikołajczak pt. „*Zastosowanie pochodnych kwasów fenolowych do stabilizacji bioolejów roślinnych*” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789), w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. (w sprawie szczegółowych trybów przeprowadzenia czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu naukowego (Dz.U. z 2018 r. poz. 261)) oraz w art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018, poz. 1669, z późn. zm.) i niniejszym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Natalii Mikołajczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie proponuję wyróżnić rozprawę mgr inż. Natalii Mikołajczak za szczególnie duży wkład pracy w przygotowanie publikacji przeglądowej w czasopiśmie *Trends in Food Science & Technology*, wykonanie doświadczeń charakteryzujących zastosowanie 4-winylogwajakolu i 4-winylosyringolu do stabilizacji bioolejów oraz bardzo wysoki poziom naukowy i szeroki zakres badań, których wyniki opublikowano w czterech pracach w renomowanych czasopismach o łącznym IF = 29,494 oraz sumarycznej ilości 740 punktów MNiSW.

