

Dr hab. Magdalena Rudzińska, prof. UPP
Zakład Chemii Żywności i Analizy Instrumentalnej
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 2.05.2018

RECENZJA

**Pracy doktorskiej mgr Anny Łaszewskiej pt.
„Wpływ modyfikacji procesu odszlamowania na aktywność przeciwutleniającą
oleju rzepakowego”**

**wykonanej pod kierunkiem
Pani dr hab. Aleksandry Szydłowskiej-Czerniak prof. UMK
w Katedrze Chemii Analitycznej i Spektroskopii Stosowanej Wydziału Chemii
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Recenzja została przygotowana na podstawie pisma Prodziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, dr hab. Jacka Ścianowskiego, z dnia 14 marca 2018 roku.

Rozprawa doktorska pani mgr Anna Łaszewskiej dotyczy wpływu różnych metod odszlamowania oleju rzepakowego na jego potencjał antyoksydacyjny.

Od 1976 roku, wg bazy Web of Science, ukazało się ponad 70 publikacji na temat procesu odszlamowania oleju rzepakowego, w tym jedna praca Doktorantki, co świadczy o tym, że nadal pozostaje w tym temacie dużo do zrobienia. Należy zauważyć, że wiele z tych prac jest autorstwa naukowców z Polski.

W krajowym przemyśle olejarskim tłuszcz z nasion rzepaku wydobywany jest głównie metodą dwustopniową, tj. wstępnego wyłaczania w prasach dwuślimakowych, a następnie ekstrakcji rozpuszczalnikiem. Surowy olej ekstrakcyjny zawiera zazwyczaj znacznie większą ilość zanieczyszczeń wpływających negatywnie na jego smak, zapach i barwę oraz ograniczających trwałość, niż olej tłoczony. Szczególną rolę wśród nich odgrywają fosfolipidy, które są wprawdzie związkami wolniej rozpuszczającymi się w rozpuszczalniku niż tłuszcz neutralny, ale długi czas ekstrakcji i wysoka temperatura sprzyjają ich uwalnianiu, zwłaszcza w końcowej fazie ekstrakcji. Odszlamowanie surowych olejów roślinnych, czyli usuwanie fosfolipidów przy pomocy kwasów organicznych i mineralnych, jest pierwszym etapem procesu rafinacji i odgrywa w nim kluczową rolę. Od jego prawidłowego przebiegu zależy nie tylko jakość produktu końcowego, ale także wydajność całego procesu.

Do najczęściej stosowanych metod odszlamowania oleju należy hydratacja, kwaśne odszlamowanie i super-odszlamowanie. Metody enzymatyczne i membranowe były opisywane w literaturze, ale rzadko stosowane w przemyśle. Jednak istotnym jest, aby usuwanie z oleju zanieczyszczeń nie obniżało jego wartości odżywczej i stabilności oksydacyjnej. Stąd uważam, że podjęcie przez Doktorantkę wyzwania jakim było zbadanie wpływu procesu odszlamowania oleju rzepakowego na jego potencjał antyoksydacyjny było celowe z punktu widzenia naukowego i praktycznego.

Struktura pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 209 stron. Wyróżniono w niej: wykaz skrótów, wstęp, część teoretyczną (60 stron) i eksperymentalną (113 stron), podsumowanie i wnioski, streszczenie, bibliografię, wykaz norm, spis ilustracji i tabel oraz dorobek Doktorantki. W pracy cytowano 159 pozycji literaturowych, autorstwa wielu polskich oraz zagranicznych naukowców, które ukazały się w latach 1972-2018. Ponadto w pracy znajduje się 48 rysunków i 66 tabel.

Uważam, że układ pracy jest logiczny, typowy dla opracowań badawczo-naukowych.

Przegląd literatury

W części teoretycznej Doktorantka opisała szczegółowo składniki oleju rzepakowego, technologię jego produkcji oraz metody oznaczania aktywności przeciwutleniającej oleju rzepakowego.

Wątpliwości moje budzi sformułowanie „aktywność przeciwutleniająca oleju rzepakowego”. Sugeruje ono, że olej ten można zastosować jako przeciwutleniacz. Sugerowałabym zmianę na „aktywność przeciwutleniająca składników oleju rzepakowego”.

Uważam także, że bardzo podstawowe, podręcznikowe informacje zawarte w części literaturowej są zbędne i nie wnoszą do dysertacji żadnej nowości naukowej. Przykładem jest opis procesu utleniania lipidów (str. 33), opis i struktury chemiczne takich składników oleju jak sterole, tokoferole czy karotenoidy, które nie były przedmiotem badań.

W tabeli 1 podano, że w oleju rzepakowym zawartość białka i węglowodanów jest na poziomie zerowym, ale brak jest pozycji literaturowej. Skąd Autorka zaczerpnęła tę informację? W tabeli 2 przedstawiono skład procentowy TAG w oleju rzepakowym, przy czym nie uwzględniono, że publikacja którą cytowano opisywała oleje wysokooleinowe, o średnim udziale kwasu oleinowego i niskim kwasu erukowego oraz o niskim poziomie kwasu oleinowego i wysokim kwasu erukowego. Nie są to oleje uważane za typowe w Polsce, co należało zaznaczyć.

Prosiłabym o wyjaśnienie informacji ze strony 15 na temat składu procentowego kwasów tłuszczowych w oleju rzepakowym (25% kwasu oleinowego, 8% kwasu linolowego i 34% kwasu linolenowego), skoro w tabeli 1 wygląda to inaczej.

Doktorantka stosuje też pewne uproszczenia bądź skróty myślowe, przez co tekst nie jest zrozumiały (np. na str. 36 „Osiągnięcie wysokiej wydajności procesu tłoczenia oleju w jednym etapie z nasion oleistych tj. rzepak o dużej zawartości oleju nie jest proste”).

W tej części pracy Doktorantka często pomijała źródła literaturowe podawanych informacji, np. str. 54 ostatni akapit i str. 55 pierwszy akapit (od „Membraną można nazwać...” do „...substancji odżywczych”).

Cel pracy

Głównymi celami, przedstawionej do recenzji dysertacji było;

- określenie wpływu warunków tłoczenia i przygotowania nasion rzepaku na jakość surowego tłoczonego oleju rzepakowego;
- opracowanie nowych metod odszlamowania surowego oleju rzepakowego;
- optymalizacja procesu miękkiego i enzymatycznego odszlamowania w celu uzyskania oleju o wysokim potencjale antyoksydacyjnym.

Uważam, że pierwszy punkt celu pracy nie koresponduje z jej tytułem, w którym mowa jest tylko o wpływie modyfikacji procesu odszlamowania na aktywność przeciwutleniającą oleju rzepakowego. Moim zdaniem należałoby inaczej sformułować tytuł pracy lub pominąć tą część pracy, co nie wpłynęło by na jej wartość merytoryczną.

Część eksperymentalna

W tej najobszerniejszej części pracy, na początku opisano materiał i metody badań, w tym aparaturę, sprzęt laboratoryjny, odczynniki chemiczne, stosowane roztwory, pochodzenie i charakterystykę enzymów, materiał badany, warunki tłoczenia surowego oleju z nasion rzepaku, procedury nowych metod odszlamowania surowego oleju rzepakowego, procedury przygotowania oleju rzepakowego do analizy ilościowej fosfolipidów i aktywności przeciwutleniającej, metody oznaczania fosforu, aktywności przeciwutleniającej, stabilności oksydacyjnej i metali w oleju rzepakowym oraz analizę statystyczną. W części metodycznej brakuje odnośników literaturowych, co utrudnia ocenę prawidłowości doboru zastosowanych metod oraz kierunku ich modyfikacji (str. 107).

Na kolejnych 78 stronach dysertacji przedstawiono wyniki badań oraz dyskusję, które zakończono podsumowaniem. W pierwszej części omówiono zasadę oraz dobór parametrów

nowej metody oznaczania aktywności przeciwutleniającej oleju rzepakowego. Nasuwa się w tym momencie wiele pytań dotyczących opracowanej metody. Jak Doktorantka stwierdziła, że powstają nanocząsteczki FexOy? Czy nanocząsteczki można oznaczać spektrofotometrycznie? Czy na pewno powstają tlenki żelaza? Czy z FeCl_3 reagują tylko związki fenolowe? Czy kwas synapinowy jest dominujący w oleju rzepakowym (str. 104)? Jakie związki są faktycznie oznaczane tą metodą? Warto by też opisać jej zalety i wady.

W kolejnym punkcie pracy Doktorantka przedstawiła wyniki walidacji zastosowanych metod analitycznych, jednak brakuje tutaj dyskusji i próby wyjaśnienia np. dlaczego zastosowano tak bardzo różne zakresy stężeń standardów oraz dlaczego metoda IONP nie wykazywała wysokiej czułości dla VA i TE.

Uważam, że kolejny rozdział dotyczący wpływu parametrów tłoczenia na jakość oleju rzepakowego, mimo że zawiera bardzo ciekawe wyniki, jest poza tematyką pracy, która dotyczy procesów odszlamowania oleju rzepakowego, a nie tłoczenia.

W rozdziale 4 przedstawiono wpływ tradycyjnego procesu rafinacji na **aktywność** przeciwutleniającą oleju rzepakowego. Doktorantka w tej części pracy pisze o oznaczaniu aktywności, **potencjału** i **mocy** antyoksydacyjnej. Czy te określenia są traktowane jako synonimy?

Prosiłabym o wyjaśnienie zdania ze str. 117 „...związki o właściwościach przeciwutleniających występujące w ekstraktach olejów rzepakowych nie są jedynymi reduktorami jonów żelaza (III).” Czy to oznacza, że w ekstraktach mogą się znajdować inne związki redukujące, które nie mają właściwości przeciwutleniających? Czy Doktorantka ma jakieś sugestie, dlaczego olej z III partii ma lepsze właściwości przeciwutleniające niż oleje I i II?

Punkt 5, 6 i 7 „Wyników i dyskusji” dotyczą, odpowiednio procesu miękkiego, enzymatycznego i membranowego odszlamowania surowego oleju rzepakowego. O ile w przypadku dwóch pierwszych metod opracowano optymalne parametry przebiegu tych procesów, oznaczono zawartość fosforu, metali, aktywność przeciwutleniającą oraz stopień utlenienia otrzymanych olejów. Proces odszlamowania membranowego nie został przez Doktorantkę zoptymalizowany, zastosowano tylko jeden rodzaj membran, a w otrzymanym oleju oznaczono zawartość fosforu i aktywność przeciwutleniającą otrzymanego oleju.

Uważam, że dopiero te trzy rozdziały korespondują z tytułem przedstawionej do recenzji rozprawy i szkoda, że w stosunku do trzeciej metody nie podjęto próby jego zoptymalizowania, co szczegółowo zrobiono dla odszlamowania miękkiego i enzymatycznego. *Tę część pracy uważam za najcenniejszą, wnoszącą wiele nowości do technologii tłuszczów roślinnych.*

Należy zwrócić uwagę na statystyczne przygotowanie badań i opracowanie wyników. Odgrywa ona bardzo istotną rolę w prezentowanej pracy i czasami wyniki badań giną w masie tabel i wykresów analizy statystycznej, która powinna być tylko pomocą w realizacji badań. Uważam, że bez straty dla wartości merytorycznej pracy, dane statystyczne mogłyby znaleźć się w załącznikach. Ułatwiło by to czytanie pracy.

Podsumowanie i wnioski

Na zakończenie przedstawiono 5-stronicowe podsumowanie dysertacji wraz z trzema wnioskami mówiącymi o zrealizowaniu założonych celów w aspekcie technologicznym, analitycznym i zdrowotnym. Aspekt technologiczny dotyczy zaproponowanej modernizacji procesu odszlamowania surowego oleju rzepakowego, analityczny – opracowania nowej i modyfikacji standardowych metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej i zdrowotny – zastosowanie zmodernizowanego procesu odszlamiania pozwoli na otrzymanie oleju o wyższej zawartości związków bioaktywnych, pozbawionych komponentów niepożądanych.

Uwagi

Prosiłabym także Doktorantkę o ustosunkowanie się do kilku uwag, które nasunęły mi się podczas analizy wyników badań:

1. Czy i w jaki sposób udowodniono, że podczas redukcji Fe w reakcji IONP powstają nanocząsteczki tlenków Fe? Dlaczego nie wykorzystywano tej metody w dalszych etapach pracy? W jaki sposób zawartość nanocząsteczek, jako ciał stałych, może być oznaczana spektrofotometrycznie?
2. Na czym polegała modyfikacja standardowych metod DPPH, ABTS, FRAC, TPC oznaczania aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z oleju rzepakowego?
3. Dlaczego nie podjęto w pracy próby optymalizacji procesu odszlamowania membranowego?

Jednocześnie chciałabym zwrócić uwagę Doktorantce na pewne błędy językowe, które często pojawiają się w pracy, np.

- „**oznaczono**” zamiast „oznaczano”, „**odważono**” zamiast „odważano” - rozumiem, że te czynności były wykonywane nie jeden raz, ale wielokrotnie;
- „przygotowanie olejów do analizy **ilości** metali – mineralizacja mikrofalowa” (str. 90) – ilości czy zawartości?
- „istotne różnice między **wartościami** IONP oraz FRAP i DPPH” (str. 117) oraz „...proces odszlamowania surowych olejów rzepakowych **zredukował** FRAP i DPPH...” (str. 118) – czy metoda ma wartość i można ją zredukować?

- „wartość PL” (str. 133)
- „wybór parametrów i optymalizacja miękkiego odszlamowania” (str. 120) – rozumiem, że chodzi o „dobór”

Podsumowanie

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani magister Anna Łaszewskiej pt. „Wpływ modyfikacji procesu odszlamowania na aktywność przeciwutleniającą oleju rzepakowego” ma charakter interdyscyplinarny, gdyż łączy elementy chemii i technologii żywności. Autorka wykazała się umiejętnością korzystania z dotychczasowego dorobku nauki w przedmiotowym zakresie badań. Część doświadczalna pracy została prawidłowo zaplanowana, z wykorzystaniem narzędzi matematycznych, i konsekwentnie zrealizowana przy wykorzystaniu odpowiednich metod badawczych. Założony cel pracy został osiągnięty, a uzyskane wyniki mają wartość aplikacyjną. Pod względem merytorycznym pracę oceniam dobrze. Dysertacja napisana jest językiem poprawnym, typowym dla rozpraw o charakterze naukowym. Wspomniane wcześniej błędy językowe czy niefortunne sformułowania mają wyłącznie charakter redakcyjny i nie wpływają na wartość merytoryczną pracy.

Po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą doktorską mgr Anny Łaszewskiej stwierdzam, że w pełni spełnia ona wszelkie wymogi formalne stawiane tego typu opracowaniom zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14.03.2003 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zm.) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Anny Łaszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

