



Gdańsk, 01.07.2020

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Dobrochny Rabiej pt. " Fenolipidy jako nowe potencjalne składniki olejów roślinnych"

Podstawa opracowania recenzji:

Pismo prof. Dr hab. Edwarda Sztyka – Dziekana Wydziału Chemii

Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

w sprawie wykonania oceny rozprawy doktorskiej z dnia 11.05.2020

Recenzowana praca doktorska została wykonana w latach 2015-2020 pod kierunkiem Pani dr hab. Aleksandry Szydłowskiej-Czerniak, prof. UMK na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i leży w zakresie badań prowadzonych przez grupę badawczą promotora pracy. Działalność naukowo-badawcza, którą prowadzi profesor Aleksandra Szydłowska-Czerniak dotyczy zagadnień przetwórstwa olejów i tłuszczów pochodzenia roślinnego a w szczególności kontroli i poprawy ich jakości. Autorka recenzowanej pracy przystępując do zespołu Pani Profesor posiadała już solidne doświadczenia w tej tematyce zdobyte zarówno podczas realizacji swojego projektu inżynierskiego oraz pracy magisterskiej na wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, jak i pracując jako Specjalista ds. Jakości w firmie z sektora spożywczego. Prowadzone w ramach recenzowanej pracy doktorskiej badania były częściowo finansowane ze środków wspomagających rozwój młodych naukowców z grantów Dziekana Chemii UMK oraz grantu Preludium finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Głównym przedmiotem badań w pracy doktorskiej był olej rzepakowy, natomiast głównym celem Doktorantki było polepszenie jego jakości. Zarówno wybór obiektu badań jak i podjęty ich kierunek jest jak najbardziej uzasadniony. W Polsce głównym źródłem pozyskiwania oleju do celów spożywczych są właśnie nasiona rzepaku. O dużej wartości żywieniowej oleju rzepakowego nazywanego „Oliwą Północy”, decyduje skład kwasów tłuszczowych oraz obecność związków biologicznie aktywnych takich jak – tokoferole, karotenoidy, fitosterole i związki fenolowe. Jednak procesy technologiczne powodują spadek zawartości substancji bioaktywnych w tym przeciwutleniaczy, które oprócz właściwości

prozdrowotnych odpowiadają także za ochronę oleju przed niekorzystnymi zmianami oksydacyjnymi. Przemiany te stanowią poważny problem w technologii żywności, ponieważ powodują pogorszenie się jakości sensorycznej produktów, obniżenie ich wartości odżywczej, a produkty tych przemian biorą udział w procesach starzenia się organizmu oraz etiologii takich chorób, jak choroby naczyń wieńcowych i nowotwory. Najprostszym i najtańszym, a przy tym dość efektywnym, sposobem hamowania procesów oksydacji tłuszczów jest stosowanie przeciwutleniaczy. Najlepiej akceptowanym przez konsumentów rozwiązaniem byłby dodatek do olejów naturalnie występujących w przyrodzie przeciwutleniaczy. Jednak większość z nich charakteryzuje hydrofilowa natura, która limituje ich wykorzystanie w przemyśle tłuszczowym. Natomiast stosowanie komercyjnie dostępnych, syntetycznych przeciwutleniaczy jak BHA i BHT z racji wyników badań toksykologicznych oraz nacisku organizacji konsumenckich jest ograniczona przepisami prawa. Z tego względu podjęta przez Doktorantkę tematyka pracy jest jak najbardziej aktualna i wpisuje się w nurt poszukiwań nowych, bezpiecznych przeciwutleniaczy do wzbogacania olejów gwarantujących ich odpowiednią jakość. Za główny cel pracy Pani mgr inż. Dobrochna Rabiej wybrała zatem syntezę związków amfifilowych (fenolipidów) oraz w dalszej kolejności sprawdzenie ich przydatności jako dodatków o właściwościach przeciwutleniających mogących znaleźć zastosowanie w przemyśle olejowym. Wyżej wymienione fakty pozwalają na pozytywną ocenę ważności tematyki dysertacji, w szczególności w aspektach aplikacyjnych.

Praca składa się z 6 rozdziałów i napisana jest w języku polskim, w układzie typowym dla prac przygotowanych na bazie cyklu publikacji. Licząca 27 stron część pierwsza rozprawy, to wstęp oraz przewodnik po tematycznie spójnych artykułach naukowych. W tej części pracy przedstawiono cel pracy wraz z hipotezami badawczymi, których podjęcie uzasadniono w kontekście aktualnego stanu wiedzy. Opisano tam również sposób realizacji, stosowaną metodykę oraz najważniejsze rezultaty poszczególnych etapów badań. W podsumowaniu tej części pracy przedstawiono wnioski końcowe oraz wskazano kierunki dalszych badań. W kolejnym rozdziale pracy dodatkowo przedstawiono nieopublikowane jeszcze wyniki badań, które Doktorantka uzyskała w trakcie realizacji pracy doktorskiej, a które stanowią podstawę dwóch będących w recenzji manuskryptów. Kolejną część pracy stanowią patent oraz publikacje składające się na rozprawę doktorską. Ostatni rozdział zawiera oświadczenia współautorów. Cała praca poprzedzona jest życiorysem naukowym Pani mgr inż. Dobrochny Rabiej wraz z spisem (imponującym jak na młody wiek Doktorantki) osiągnięć naukowych

w postaci: (i) wykazu wszystkich publikacji naukowych (6 publikacji z listy JCR + 2 w recenzji oraz 2 innych), (ii) danych jednego patentu, którego jest współautorem, (iii) spisu komunikatów na konferencjach międzynarodowych (7) oraz krajowych (8), (iv) informacji o kierowaniu projektów w tym grantu Preludium finansowanego przez NCN, (v) informacji o działalności popularyzatorskiej oraz (vi) spisu zdobytych nagród i wyróżnień.

Rozprawa doktorska to cykl 5 monotematycznych publikacji, z których 4 ukazały się w czasopiśmie indeksowanych na listach JCR o łącznym współczynniku oddziaływania IF (9,119). Dodatkowo do publikacji dołączono patent tematycznie ściśle związany z cyklem artykułów. Sumaryczna ilość punktów tzw. MNiSW pozycji przedstawionych jako cykl artykułów to 405. Wszystkie przedstawione jako rozprawa artykuły to prace oryginalne, gdzie Doktorantka jest pierwszym autorem (2 prace), drugim autorem (3 prace) lub trzecim autorem (1 praca). W dwóch pracach Doktorantka jest autorem korespondencyjnym a w trzech pracach Promotor. Do pracy dołączono oświadczenia współautorów, z których wynika samodzielny wkład kandydatki do stopnia doktora. Wyniki rozprawy opublikowano w następujących czasopiśmie: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *LWT – Food Science and Technology*, *European Food Research and Technology* oraz *Journal of Food Nutrition Research*. Publikacje wraz z patentem stanowią monotematyczny cykl i ułożone są w logiczną całość.

Pierwszą pozycją z cyklu prac jest patent (D1), w którym opisano nowatorską procedurę otrzymywania synapianu oktylu czyli lipofilowej pochodnej kwasu synapinowego występującego naturalnie w nasionach rzepaku a traconego podczas przetwarzania. W kolejnym artykule z cyklu (D2) wykorzystano zaproponowaną metodykę do syntezy nieopisywanego wcześniej w literaturze synapianu oktylu oraz do syntezy znanych już pochodnych kwasów hydroksycynamonowych również typowych dla rzepaku, czyli estrów kwasu kawowego i ferulowego. W pracy szczegółowo opisano etapy syntezy oraz szereg technik analitycznych stosowanych między innymi do monitorowania postępu syntezy (chromatografia cienkowarstwowa), określenia jej wydajności (wysokosprawna chromatografia cieczowa), oczyszczania produktów (chromatografia kolumnowa) oraz określania ich tożsamości (magnetyczny rezonans jądrowy wodoru i węgla, spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera). W artykule tym dodatkowo porównano aktywność przeciwutleniającą otrzymanych lipofilowych pochodnych z aktywnością prekursorowych kwasów hydroksycynamonowych oraz aktywnością innych znanych przeciwutleniaczy. Wykorzystano do tego celu dwa popularne testy spektrofotometryczne wykorzystujące

rodniki ABTS i DPPH. W kolejnej z cyklu publikacji (D3) opisano wpływ otrzymanych fenolipidów na aktywność przeciwutleniającą oraz stabilność oksydacyjną rafinowanego oleju rzepakowego i porównano z działaniem znanych syntetycznych przeciwutleniaczy. Dodatkowo w pracy przedstawiono wyniki badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej dwóch fenolipidów: synapinianu oktylu i kafeinianu oktylu. Wyniki przedstawione w kolejnych artykułach (D4 i D5) są kontynuacją badań nad wpływem fenolipidów na parametry jakościowe oleju rzepakowego podczas przyspieszonego testu przechowalniczego. Dodatkowo w publikacji (D6) określono wpływ synapinianu oktylu na właściwości przeciwutleniające rafinowanego oleju rzepakowego przechowywanego w różnych opakowaniach i warunkach oraz porównano z działaniem syntetycznego przeciwutleniacza BHA.

Przedłożona do recenzji praca była już dogłębnie recenzowana przez recenzentów renomowanych czasopism naukowych i bez wątplenia wnosi wiele nowych elementów do wiedzy o jakości żywności. Chciałabym podkreślić, że w ocenianej rozprawie nie dostrzegłam większych potknięć w opisie, nieścisłości sformułowań czy błędów edycyjnych. Zapytania do Doktorantki nie mają istotnego wpływu na moją pozytywną ocenę merytoryczną rozprawy. Zasadnicze uwagi i komentarze dotyczące rozprawy doktorskiej mgr inż. Dobrochny Rabiej przedstawiono poniżej. Uwagi stanowią zbiór pewnych otwartych sugestii do dyskusji podczas obrony.

(1) W opisie właściwości przeciwutleniających fenolipidów wspomniano o tzw. „efekcie odciążenia”, który jak to tłumaczy Doktorantka "polega na braku liniowości we wzroście aktywności przeciwutleniającej fenolipidów wraz z wydłużeniem łańcucha węglowego alkoholu". Czy to oznacza, że aktywność przeciwutleniająca fenolipidu przed „efektem odciążenia” wzrasta wraz z długością łańcucha węglowego? Czyli np. synapinian oktylu będzie miał wyższą aktywność niż np. synapinian pentylu?

(2) W opisie str. 22 wspomniano, że fenolipidy zsyntetyzowano bez udziału rozpuszczalników organicznych natomiast w patencie, w podanej procedurze wykorzystywany był octan etylu. Proszę o wyjaśnienie.

(3) Porównując aktywność przeciwutleniającą zsyntetyzowanych fenolipidów z innymi związkami posłużono się parametrem IC_{50} wyznaczonym wobec dwóch rodników ABTS i DPPH. Czy zdaniem Doktorantki jest to wartość, którą można porównać bezpośrednio z innymi

parametrami IC_{50} przedstawionymi w literaturze? Czy istnieje możliwość przeliczenia tych aktywności tak aby otrzymany parametr nie był zależny od wyjściowego stężenia rodnika?

(4) W pracy określano aktywność przeciwutleniającą czystych substancji wobec rodników ABTS i DPPH i wyrażono jako stężenie powodujące redukcję tych rodników o 50%. Stężenie to podano jako stężenie masowe. Taki sposób przeliczenia właściwości badanych związków nie oddaje rzeczywistych różnic w aktywności konkretnej cząsteczki, ponieważ na końcową wartość wpływa jej masa molowa. Proszę o przeliczenie stężeń masowych przedstawionych na Rys. 3 (str. 24) na stężenia molowe tak jak zrobiono w przypadku aktywności przeciwdrobnoustrojowej i skomentowanie otrzymanych wyników.

(5) W pracy (str. 25) wspomniano o innych alkilowanych estrach bardzo silnego przeciwutleniacza - kwasu galusowego, w przypadku których zgoda na ich użycie jako dodatków do żywności została cofnięta przez Komisję Europejską. Proszę o komentarz co wyróżnia zsyntetyzowane w pracy fenolipidy i czy jest szansa, że nie podzielą one losów wspomnianych galusanów.

(6) Badania przedstawione w pracy były częściowo finansowane z grantu Preludium, którego to kierownikiem była Doktorantka. W pracy kilkakrotnie podkreślono konieczność określenia toksyczności i biodostępności badanych fenolipidów jako dalszej ścieżki badań. Zatem chciałabym się dowiedzieć czy uzyskano już odpowiedź na zawarte w tytule grantu pytanie „Czy nowe syntetyczne amfifilowe antyoksydanty są bezpieczne?”

Oceniana praca cechuje się aspektami nowości. Najważniejszym z nich jest niewątpliwie zaproponowanie szybkiej, prostej oraz wydajnej metodyki syntezy synapinienu oktylu oraz określenie przydatności tego nowego związku oraz innych fenolipidów w przemyśle tłuszczowym. Podczas realizacji doświadczeń Doktorantka umiejętnie wykorzystywała różne techniki analityczne oraz metody mikrobiologiczne co jest bez wątpienia mocną stroną tej pracy. Autorka wykazała, iż jest dobrym eksperymentatorem i potrafi interpretować otrzymane wyniki w sposób właściwy. Umiejętność prowadzenia złożonych, wielokierunkowych badań w efekcie pozwoliło na uzyskanie ważnych z naukowego punktu widzenia merytorycznych uogólnień, które z pewnością znajdą przełożenie aplikacyjne. Na uznanie zasługuje również bardzo logiczne oraz konsekwentne planowanie doświadczeń i organizacja badań, co znalazło odzwierciedlenie w bardzo spójnym tematycznie cyklu artykułów. Na koniec należy podkreślić, że nie tylko recenzowana praca jest

wartościowym materiałem badawczym, ale także dorobek naukowy Pani mgr inż. Dobrochny Rabiej nie budzi zastrzeżeń.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Dobrochny Rabiej zgodnie z art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. numer 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 26 września 2016 r. (Dz. U. z 2016 r., poz. 1586 z późniejszymi zmianami) w pełni odpowiada wymogom określonym przez wyżej wymienione ustawy. Recenzowana rozprawa reprezentuje bardzo dobry poziom naukowy, zawiera elementy nowości naukowej, a wymienione powyżej uwagi polemiczne i pytania nie umniejszają mojej wysokiej oceny recenzowanej pracy. Doktorantka uzyskała szereg ciekawych rezultatów, które zostały opublikowane w licznych pracach naukowych. Wobec powyższego wnioskuję o przyjęcie pracy i dopuszczenie mgr inż. Dobrochny Rabiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto biorąc pod uwagę wysoki poziom recenzowanej pracy oraz wszystkie jej walory wymienione w recenzji wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej w stosownym trybie.

Kusznierewicz Barbara