



WYDZIAŁ
CHEMICZNY



KATEDRA CHEMII, TECHNOLOGII
I BIOTECHNOLOGII ŻYWNOCI

Dr hab. inż. Dorota Martysiak –Żurowska, prof. PG
Politechnika Gdańska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności
80-233 Gdańsk

Gdańsk, 11.11.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Mahbuba Islam

pt. „Zastosowanie różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do oceny jakości wybranych olejów jadalnych”

Promotor: dr hab. Jolanta Tomaszewska-Gras, prof. UPP;

Promotor pomocniczy : dr inż. Anna Kaczmarek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności

Podstawa prawna opinii

- Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. – Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Dz. U. z 2020 r., poz. 85 z późniejszymi zmianami);
- Uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 19 października 2023 r. w sprawie powołania mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej (Pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienie, prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu z dnia 26 października 2023 r.).

Ocena podjęcia tematu badawczego

Niezdrowe nawyki żywieniowe i niska jakość żywności, w połączeniu ze stresem, brakiem aktywności fizycznej i zanieczyszczeniem środowiska, są głównymi przyczynami chorób cywilizacyjnych, takich jak otyłość, cukrzyca, nadciśnienie, miażdżyca i nowotwory. Jednak dzięki rosnącej w ostatnich latach świadomości konsumentów, wzrosło zapotrzebowanie na żywność wysokiej jakości, o wyjątkowych wartościach odżywczych, bogatą w składniki aktywne przyczyniające się do profilaktyki chorób cywilizacyjnych.

Do takich produktów niewątpliwie zaliczają się oleje jadalne, zwłaszcza tłoczone na zimno, które dostarczają znaczną część niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i innych związków

funkcjonalnych. Frakcja lipidowa wielu roślin jest bogata w związki bioaktywne i jest pożądanym składnikiem diety człowieka. Oleje roślinne zawierają wysoką zawartość niezbędnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), które pełnią wiele ważnych funkcji biologicznych w organizmie człowieka. Decydują o budowie błon komórkowych, ograniczają syntezę trójglicerydów, regulują wydzielanie insuliny i są substratami do produkcji eikozanoidów. Otrzymywanie olejów jadalnych metodą tłoczenia na zimno pozwala zachować niezwykłą kombinację acylogliceroli wraz z szeregiem innych związków bioaktywnych, takich jak związki fenolowe, sterole, tokoferole, tokochromanole, fosfolipidy, karotenoidy i pigmenty. Jednak wysoka zawartość PUFA w olejach jadalnych czyni je podatnymi na degenerację oksydacyjną, a stosunkowo wysoka cena olejów tłoczonych na zimno sprzyja potencjalnym próbom zafałszowania tych produktów innymi olejami. Większość metod oceny jakości olejów jadalnych opiera się na czasochłonnych analizach chemicznych, wymagających użycia znacznych ilości odczynników organicznych, często toksycznych. Dlatego kluczowe jest opracowanie technik pozwalających na szybką i jednoznaczną ocenę autentyczności i jakości olejów tłoczonych na zimno w okresie ich przydatności do spożycia.

Mając na uwadze powyższe, wybór zagadnień badawczych w rozprawie doktorskiej określonych jako: „badanie możliwości wykorzystania instrumentalnej techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do kompleksowej charakterystyki olejów jadalnych tłoczonych na zimno tj. olej lniany, lniankowy i konopny, uzyskanych z różnych odmian, pod kątem oceny stabilności oksydacyjnej i jej zmian podczas przechowywania, a także możliwości oceny autentyczności olejów i wykrywania zafałszowań olejami rafinowanymi” uważam za uzasadnione, ciekawe, naukowe i innowacyjne.

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, numer grantu: 2018/31/B/NZ9/02762, pt.: „Identyfikacja lipidomicznych biomarkerów rozpoznawania autentyczności olejów jadalnych wsparta profilowaniem DSC i chemometria”.

Struktura pracy

Recenzowany doktorat mgr Mahbuba Islam opiera się na spójnym zbiorze 6 artykułów naukowych opublikowanych w międzynarodowych czasopismach:

1. Tomaszewska-Gras, J.; **Islam, M.**; Grzeca, L.; Kaczmarek, A.; Fornal, E. Comprehensive Thermal Characteristics of Different Cultivars of Flaxseed Oil (*Linum usittatissimum* L.). *Molecules* 2021, 26, 1958. <https://doi.org/10.3390/molecules26071958>; output 51%
2. **Islam, M.**, Muzolf-Panek, M., Fornal, E. et al. DSC isothermal and non-isothermal assessment of thermo-oxidative stability of different cultivars of *Camelina sativa* L. seed oils. *J Therm Anal Calorim* 147, 10013–10026 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10973-022-11367-8>; output 45%
3. **Islam, M.**; Kaczmarek, A.; Grygier, A.; Tomaszewska-Gras, J. DSC Phase Transition Profiles Analyzed by Control Charts to Determine Markers for the Authenticity and Deterioration of

Flaxseed Oil during Storage. Foods 2023, 12, 2954. <https://doi.org/10.3390/foods12152954>; output 45%

4. **Islam, M.**, Montowska, M., Fornal, E., Tomaszewska-Gras, J. (2023). Discrimination of Selected Cold-Pressed and Refined Oils by Untargeted Profiling of Phase Transition Curves of Differential Scanning Calorimetry. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 224-232. <https://doi.org/10.31883/pjfn/169425>; output 45%
 5. **Islam, M.**; Kaczmarek, A.; Montowska, M.; Tomaszewska-Gras, J. Comparing Different Chemometric Approaches to Detect Adulteration of Cold-Pressed Flaxseed Oil with Refined Rapeseed Oil Using Differential Scanning Calorimetry. Foods 2023, 12, 3352. <https://doi.org/10.3390/foods12183352>; output 45%
 6. **Islam, M.**, Kaczmarek, A. Tomaszewska-Gras, J. Differential scanning calorimetry as a tool to assess the oxidation state of cold-pressed oils during shelf-life. Journal of Food Measurement and Characterization (2023). <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02152-8>, output 51%.
- The Total Impact Factor of these publications is very high, equal to IF = 26.1 (Total MEiN: 700).

Doktorantka jest pierwszym autorem 5 z 6 prezentowanych publikacji. Jej indywidualny udział w pracach zawiera się w przedziale 45 – 51%.

Rozprawa doktorska liczy 49 stron (+ przedruki artykułów) i jest napisana w języku angielskim. Rozprawa składa się ze streszczenia w języku angielskim i polskim, spisu publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, wstępu, opisu materiałów i metod, celów i hipotez badawczych, wyników jako opisu treści publikacji, wniosków, rysunków (14), piśmiennictwo (82 pozycje) oraz załączników w postaci przedruków artykułów wybranych jako podstawa przewodu doktorskiego.

Struktura pracy jest prawidłowa i zawiera wszystkie niezbędne elementy rozprawy doktorskiej, opartej na spójnym zbiorze opublikowanych artykułów.

Ocena merytoryczna pracy dyplomowej

Niniejsza praca dotyczy możliwości wykorzystania instrumentalnej techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do kompleksowej charakteryzacji olejów pod kątem stabilności oksydacyjnej i oceny ich autentyczności.

W pierwszej części pracy zawarto wprowadzenie do tematu oraz streszczenia treści naukowej sześciu artykułów składających się na część merytoryczną pracy. Pozostałą część pracy stanowią wydruki sześciu artykułów. Wszystkie publikacje zawarte w rozprawie charakteryzują się bardzo wysokim poziomem naukowym oraz dbałością o właściwą prezentację i dyskusję przedstawionych wyników i wniosków. Artykuły ukazały się w renomowanych czasopismach międzynarodowych, dlatego też zostały zrecenzowane przez ekspertów z prezentowanej dziedziny, co potwierdza wysoki poziom tych naukowych publikacji.

W artykule **A1** opisano właściwości termiczne wybranych odmian oleju lnianego, wykorzystując technikę różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Profile krystalizacji i topnienia olejów analizowano izotermicznie przy różnych szybkościach skanowania. Określono czas indukcji utleniania (OIT) izotermicznie w temperaturach 120°C i 140°C oraz temperatury początku utleniania (Ton) przy szybkości skanowania 2 i 5°C/min.

Wykazano, że szybkość skanowania ma istotny wpływ na zachowanie oleju podczas topienia. Krzywe topnienia wybranych odmian olejów lnianych tłoczonych na zimno przy szybkości ogrzewania 5°C/min nie różniły się, co można wykorzystać w analizach profilowych oceniających autentyczność oleju lnianego. Olej lniany jest bardzo podatny na utlenianie termiczne, zaobserwowano, że jego stabilność spada wraz ze wzrostem temperatury i malejącą szybkością ogrzewania. Następnie zbadano związek pomiędzy parametrami stabilności oksydacyjnej DSC i chemicznymi wskaźnikami stabilności oksydacyjnej a składem kwasów tłuszczowych (KT) w olejach. Stwierdzono istotne ujemne korelacje liniowe pomiędzy zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych (C18:2 n-6, C18:3 n-3) a parametrami DSC (OIT, Ton). Analiza głównych składowych (ang. Principal Component Analysis PCA) wykazała silną korelację pomiędzy całkowitą wartością utlenienia (TOTOX), liczbą nadtlenną (LOO) i wszystkimi parametrami DSC stabilności termooksydacyjnej.

Następnie przy użyciu różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) w warunkach izotermicznych i nieizotermicznych zbadano odporność termiczną na utlenianie trzech różnych odmian olejku lniankowego tłoczonego na zimno, tj. Omega, Luna i Śmiłowska (artykuł **A2**). Charakterystykę badanych olejów tłoczonych na zimno uzupełniono analizą chemiczną tj. składem KT, liczbą nadtlenną LOO, liczbą p-anizydynową LAn, liczbą kwasową LK oraz aktywnością przeciwutleniającą przeciwrodnikową testem z 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylem (RSA DPPH).

W badaniach porównujących stabilność oksydacyjną trzech odmian lnianki sprawdzono wpływ temperatury ogrzewania (izotermiczna analiza DSC) na m.in. czas indukcji utleniania (IOT) i szybkość utleniania. Przeprowadzone analizy korelacyjne wykazały, podobnie jak w przypadku oleju lnianego (**A1**), istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy zawartością niektórych WKT, zwłaszcza kwasu α -linolenowego (C18:3, n-3), a parametrami utleniania DSC (OIT i Ton). Stabilność oksydacyjna olejów lniankowych była również silnie dodatnio skorelowana z wartością b* (zażółcenie wynikającą z zawartości kolorowych związków przeciwutleniających, takich jak karotenoidy) i aktywnością wychwytywania rodników przez 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (RSA DPPH).

W kolejnych badaniach analizę DSC w warunkach izotermicznych i nieizotermicznych wykorzystano do oceny stabilności oksydacyjnej trzech olejów tłoczonych na zimno podczas sześciomiesięcznego przechowywania (A6). Do badań wykorzystano trzy popularne oleje tłoczone na zimno, tj. olej lniany, olej z nasion lnianki i olej z nasion konopi. Badania wykazały, że wraz z długością przechowywania parametry DSC uzyskane z pomiarów izotermicznych (OIT) i

nieizotermicznych (Ton) zmieniały się odpowiednio do wskaźników chemicznych (LOO, LAn, TOTOX, LK). Ważną informacją przedstawioną w pracy jest wskazanie optymalnego testu monitorowania zmian degradacyjnych olejów podczas długotrwałego przechowywania (test izotermiczny DSC w temperaturze 120°C).

Kolejna praca (**A3**) skupiająca się na wpływie czasu przechowywania na krzywe topnienia DSC różnych odmian oleju lnianego tłoczonego na zimno miała na celu ocenę stabilności parametrów termodynamicznych oraz zrozumienie, w jaki sposób czas przechowywania wpływa na profile przejścia fazowego olejów.

Stosując procedurę analizy dekonwolucyjnej, która umożliwiła zebranie danych w temperaturze szczytowej (T), wysokości pików (h), powierzchni pików (A) i procentach powierzchni (PA), a także stosunku obliczonym z tych parametrów zidentyfikowały cztery charakterystyczne pików przejść fazowych w okolicach -36, -30, -25 i -12 °C. Wykazano, że podczas przechowywania nastąpił znaczny spadek wysokości pików (h₂) i procentu powierzchni (PA₂) dla drugiego pików profilu topnienia, dlatego uznano je za wskaźniki degradacji oleju. Jednocześnie wykazano, że zmienności wartości parametrów przejść fazowych DSC dla pierwszego i trzeciego pików, nie były istotne statystycznie w trakcie przechowywania ($p > 0,05$); w związku z tym mogą być stosowane jako markery autentyczności oleju lnianego. Nowością w tym badaniu było zastosowanie kart kontrolnych X-bar i R jako narzędzi statystycznej kontroli procesu w celu identyfikacji markerów autentyczności i pogorszenia jakości oleju.

Możliwość wykorzystania całych profili przejścia fazowego topnienia jako swego rodzaju unikalnego odcisku palca do oceny autentyczności olejów jadalnych wykazano także w kolejnych badaniach (**A4**). Do odróżnienia olejów tłoczonych na zimno (lnianego, lniankowego, konopnego) od olejów rafinowanych (rzepakowego, słonecznikowego, sojowego) wykorzystano profile DSC w połączeniu z zaawansowanymi metodami chemometrycznymi, głównie analizą dyskryminacyjną zmiennych ortogonalnych metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów (OPLS-DA) (ang. Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis).

Przydatność różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) w szeroko rozumianej ocenie jakości i identyfikacji olejów roślinnych wykazano także w artykule **A5**. W pracy przedstawiono analizę krzywych topnienia DSC różnych odmian oleju lnianego, zarówno czystego, jak i zafałszowanego rafinowanym olejem rzepakowym w różnych stężeniach. W celu oceny przydatności techniki DSC do wykrywania zafałszowań porównano różne podejścia chemometryczne: modele klasyfikacyjne, modele regresji oraz łączony model ortogonalnej analizy dyskryminacyjnej metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów (OPLS-DA). Techniki te wykorzystano do skonstruowania modelu klasyfikacyjnego służącego do kategoryzowania poziomu substancji zafałszowującej w oleju oraz modelu regresji do ilościowego określenia stężenia substancji zafałszowującej.

Podsumowanie

Rozprawa ma bardzo współczesny i nowoczesny aspekt. Przedstawia wielotorowe podejście do możliwości wykorzystania instrumentalnej techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do kompleksowej charakterystyki olejów jadalnych tłoczonych na zimno pod kątem oceny stabilności oksydacyjnej i jej zmian podczas przechowywania, a także możliwości oceny autentyczności olejów i wykrywanie zafałszowań innymi olejami.

Należy podkreślić interdyscyplinarny charakter pracy oraz bardzo szeroki zakres metodologii badań, obejmujący badanie utleniania DSC, profile przejść fazowych topienia i krystalizacji DSC, wyznaczanie chemicznych wskaźników jakości olejów, stosowanie kart kontrolnych X-bar i R jako narzędzia statystycznej kontroli zmian termodynamicznych w celu identyfikacji markerów autentyczności i pogorszenia jakości oleju oraz wykorzystanie różnych modeli chemometrycznych klasyfikacji i regresji w celu wykrywania zafałszowań olejów. Uzyskane wyniki mają znaczenie praktyczne i przyczyniają się do postępu w zastosowaniu technik DSC do oceny jakości olejów jadalnych.

Pytania do pracy:

Pytanie A1: Jaki był cel pomiaru barwy olejów?

P2: Główną ideą badań opisanych w artykułach (A4 i A5) było wykorzystanie DSC jako skutecznej techniki analitycznej umożliwiającej odróżnienie olejów tłoczonych na zimno od olejów rafinowanych oraz wykrywanie zafałszowań oleju tłoczonego na zimno innymi rodzajami olejów rafinowanych. Jaka jest opinia Doktorantki na temat możliwości wykorzystania DSC do identyfikacji olejów tłoczonych na zimno i rafinowanych pochodzących z tej samej rośliny? Czy rafinacja oleju roślinnego może mieć realny wpływ na krzywe topnienia DSC do tego stopnia, że spowoduje błąd w ocenie autentyczności oleju?

P3: Jaka jest opinia Doktorantki na temat możliwości stworzenia bazy danych profili przejść fazowych DSC olejów jadalnych jako unikalnego odcisku palca dla każdego rodzaju oleju? Jakie warunki analizy DSC, analizy statystyczne i/lub metody chemometryczne należałoby wziąć pod uwagę, aby zoptymalizować poziom powodzenia identyfikacji olejów?

Wniosek końcowy

Oświadczam, że rozprawa doktorska pt. „Zastosowanie różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do oceny jakości wybranych olejów jadalnych” napisana przez mgr Mahbuba Islam spełnia wymogi stawiane rozprawie doktorskiej zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. – Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Dz. U. z 2020 r., poz. 85 ze zm.) i rekomenduję Radzie Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Poznańskiego Nauk Przyrodniczych, o dopuszczeniu Pani mgr Mahbuba Islam do dalszych etapów postępowania w procedurze o nadanie stopnia doktora.

Wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej

Mając na uwadze oryginalność rozwiązania problemu naukowego, wartość poznawczą i aplikacyjną oraz bardzo dużą aktywność naukową Doktorantki, ubiegam się o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej, ponieważ:

- W mojej opinii recenzowana rozprawa doktorska znacznie przewyższa średni poziom rozprawy doktorskiej pod względem wagi rozwiązanego problemu, jakości i zakresu przeprowadzonych badań oraz istotności uzyskanych wyników.
- Przedstawiona rozprawa doktorska wprowadza szereg nowatorskich rozwiązań w zakresie poruszanej tematyki.
- Recenzowana dysertacja opiera się na zbiorze 6 spójnych artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych (Total Impact Factor IF = 26,1), co potwierdza bardzo wysoki poziomie rozprawy doktorskiej.
- Mgr Mahbuba Islam jest współautorem 13 artykułów naukowych w czasopismach recenzowanych z listy JCR. Spośród tych 13 artykułów jest pierwszą autorką 8 z nich opublikowanych w czasopismach o IF > 4 (IF 4,9 i 5,2).



Dr hab. inż. Dorota Martysiak –Żurowska prof. PG

Gdańsk, 11.11.2023