

Lublin, 23.10.2023 r.

prof. dr hab. Michał Świeca  
Katedra Biochemii i Chemii Żywności  
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

#### RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Maria Magdalena Kasprzak "Cytotoksyczność stigmasterolu, estrów stigmasterolu i produktów ich termiczno-oksydacyjnej degradacji w badaniach *in vitro*"  
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Anny Olejnik, prof. UPP  
oraz prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U z 2020 r. poz. 85 z póź. zm.).

Podstawa opinii: uchwała nr 3/XXXIV/2023 Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 28-09-2023

#### **Ocena formalna pracy i uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej**

Podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marii Kasprzak „Cytotoksyczność stigmasterolu, estrów stigmasterolu i produktów ich termiczno-oksydacyjnej degradacji w badaniach *in vitro*” stanowi opracowanie monograficzne o strukturze typowej dla rozpraw doktorskich. Dysertacja rozpoczyna się spisem treści, który z pewnością ułatwia nawigację po obszernej 126 stronicowej pracy. Kolejne jej części stanowią streszczenie w języku polskim oraz angielskim, które w syntetyczny sposób wprowadzają w problematykę badawczą oraz podsumowują najważniejsze osiągnięcia projektu doktorskiego. W częściach tych znajduje się również odniesienie do instytucji finansującej badania – NCN, projekt OPUS9, nr 2015/17/B/NZ9/01535. Zgodnie z przyjętymi zasadami Kandydatka wprowadza w tematykę, przedstawia problem badawczy oraz wskazuje na potencjalne aplikacje fitosteroli w prewencji chorób niezakaźnych, w tym szeroko pojętego zespołu metabolicznego. Systematyzuje wiedzę z zakresu tematu, krytycznie odnosząc się do potencjalnych zagrożeń oraz pozytywów związanych z suplementacją produktów spożywczych w fitosterole oraz przemian fitosteroli podczas obróbki termicznej. Część doświadczalną poprzedza cel główny oraz cele

szczegółowe projektu jasno wskazujące na zakres badań, który dodatkowo został przedstawiony w formie graficznej (Ryc. 3, str. 29). Doktorantka kolejno przedstawia również hipotezy badawcze, które w mojej ocenie powinny znaleźć się we wcześniejszej części dysertacji, gdyż zwykle badania mają na celu weryfikację hipotez nie zaś odwrotnie.

Opis materiału badawczego, metod analitycznych oraz testów weryfikujących cytotoksyczność, genotoksyczność oraz mechanizmy oddziaływania stigmasterolu i jego pochodnych zostały przedstawione w sposób szczegółowy i pozwalający na odtworzenie eksperymentów. W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawia wyniki badań (25 wykresów i 4 tabele) dokonując jednocześnie ich oceny oraz dyskusji w oparciu o dotychczasowe dane literaturowe. Ta część dysertacji jest bardzo rozległa i obejmuje ponad 54 strony maszynopisu. Co istotne, dane badawcze zostały przedstawione w sposób przemyślany i konsekwentny, co istotnie ułatwia ich analizę. Całość projektu doktorskiego została podsumowana w formie 10 wniosków odnoszących się w bezpośredni sposób do postawionych hipotez badawczych i celów projektu doktorskiego. W rozdziale 7 Pani Kasprzak przedstawiła spis literatury obejmujący 144 pozycje, który obejmuje w przeważającej większości manuskrypty opisujące badania z ostatnich kilkunastu lat. Finalnie, w załączniku 8, Doktorantka przedstawia wykaz rysunków i tabel, zaś rozprawę doktorską kończy podsumowanie dotychczasowego dorobku Aplikantki obejmujące szczegółowe informacje o dotychczasowych publikacjach naukowych, doniesieniach konferencyjnych oraz wartościach wybranych wskaźników bibliometrycznych. Generalnie, dysertacja została napisana prawidłowo, zaś drobne błędy interpunkcyjne i edytorskie nie wpływają na wartość merytoryczną opracowania.

Rola fitosteroli, a w szczególności stigmasterolu w technologii produktów specjalnego przeznaczenia żywieniowego ulega stałemu zwiększeniu w ostatnich latach. Pomimo jasnych doniesień naukowych wskazując na pozytywne działanie w prewencji i/lub leczeniu zaburzeń metabolicznych zbyt mało jest opracowań pozwalających na krytyczną ocenę potencjalnych zagrożeń tego typu interwencji dietetycznych. Prowadzone do tej pory badania są zwykle jednowymiarowe i co istotne nie biorą pod uwagę przemian zachodzących w żywności podczas obróbki kulinarnej. Zarówno projekt bazowy, jak też sam projekt doktorski w sposób kompleksowy podejmują wielowymiarową analizę bezpieczeństwa stosowania stigmasterolu i jego pochodnych, zarówno na poziomie analizy przemian chemicznych, jak też ich potencjalnego oddziaływania na organizm człowieka. Krytyczne podejście do tematu zaprezentowane w tej dysertacji jest niezwykle istotne i nie tylko dostarcza nowej wiedzy z zakresu identyfikacji produktów termiczno-oksydacyjnych przemian stigmasterolu i jego estrów oraz analizy ich cytotoksyczności, genotoksyczności i mutagenności, ale także pozwala na zweryfikowanie/porównanie dotychczasowych wyników nielicznych badań prowadzonych w tej tematyce. Tym samym, w mojej ocenie, projekt doktorski wnosi istotny wkład do rozwoju technologii żywności i żywienia, a w szczególności bezpieczeństwa dodatków funkcjonalnych.

**Ocena merytoryczna pracy wraz z odniesieniem się do wymagań Ustawy stawianym kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora**

Hipotezy badań zakładają, że warunki obróbki termiczno-oksydacyjnej stigmasterolu oraz estrów stigmasterolu z kwasem linolowym i oleinowym wpływają na generowanie produktów degradacji i oksypochodnych, które charakteryzuje zróżnicowana reaktywność biologiczna. Zgodnie z przyjętymi zasadami, w rozdziale pierwszym Pani Kasprzak wprowadza w tematykę badań, systematyzuje informacje na temat fitosteroli (podrozdziały 1.1-1.3) kładąc nacisk na aspekt biodostępności, bioprzyswajalności i metabolizmu tej grupy związków. W mojej ocenie, na szczególne podkreślenie zasługuje wnikliwa analiza dotychczasowych doniesień naukowych dotyczących bezpieczeństwa spożycia fitosteroli przedstawiona w części 1.4 o kolokwialnym tytule "Bezpieczeństwo fitosteroli". Doktorantka podkreśla, że pomimo licznych badań dotyczących pozytywnych efektów fizjologicznych po spożyciu fitosteroli obserwowane są również szkodliwe skutki zdrowotne związane z autoutlenianiem zachodzącym w oraz poza organizmem człowieka prowadzącym do powstawania produktów ich utleniania (POPs - *phytosterol oxidation products*). Badania te postulują promocję rozwoju miażdżycy oraz potencjalne działanie cytotoksyczne i aterogenne. Ta część dysertacji w pełni uzasadnia podjęcie tematyki badań oraz podkreśla wagę uzyskanych wyników. Kolejny rozdział (1.4) w sposób szczegółowy opisuje korzyści wynikające ze spożycia stigmasterolu. To studium literaturowe jest bardzo wnikliwe, kolejno analizuje potencjał terapeutyczny tego związku skupiając się na otrzymanych efektach oraz molekularnych mechanizmach bioaktywności. Doktorantka podnosi tu również, niezwykle istotny w świetle prowadzonych przez nią badań, aspekt konstruowania nowych pochodnych stigmasterolu o ulepszonych właściwościach prozdrowotnych. W mojej ocenie, tak przygotowany przegląd literaturowy powinien stać się podstawą publikacji przeglądowej. Po lekturze tej części dysertacji nasunęło mi się pytanie czy w literaturze tematu istnieją doniesienia o biodostępności, bioprzyswajalności i metabolizmie oksypochodnych fitosteroli i ich pochodnych. Oczywiście dysertacja częściowo opisuje i bada problem, ale czy mogłaby Pani przedstawić ten temat lub ewentualnie zaproponować model pomocny w ocenie tego typu zagadnienia. Reasumując, już na tym etapie (pomimo, że zagadnienia te są jeszcze poruszane w rozdziale Wyniki i Dyskusja oraz w manuskryptach opublikowanych dotychczas przez Doktorantkę) mogę stwierdzić, że Doktorantka wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie naukowej technologia żywności i żywienia, a tym samym spełnia pierwsze z wymagań Ustawy stawianym kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora.

Jak już wspominałem we wcześniejszej części recenzji, hipotezy badań oraz cele projektu doktorskiego zostały jasno zdefiniowane. Kolejna część dysertacji stanowi rozdział Materiały i metodyka badań, który wyraźnie obejmuje dwa bloki tematyczne tj. syntezę i charakterystykę

stigmasterolu, jego estrów oraz produktów ich utlenienia oraz badania z wykorzystaniem modelu linii komórkowych mający na celu ocenę potencjalnych efektów biologicznych m.in. cytotoksycznych i genotoksycznych. Rozdział ten zawiera szczegółowe opisy analizowanych związków, otrzymywania estrów stigmasterolu na drodze estryfikacji chemicznej, obróbki termicznej oraz charakterystyki otrzymanych produktów. Doktorantka zastosowała tu zaawansowane techniki analityczne pozwalające m.in. na analizy ilościowo-jakościowe składu estrów i produktów degradacji stigmasterolu i jego pochodnych lub zmian oksydacyjnych w obrębie badanych cząsteczek. Część „biologiczna” zawiera wyczerpujące opisy procedur zastosowanych do oceny cytotoksyczności (model *in vitro* komórek układu pokarmowego z wykorzystaniem ludzkich prawidłowych komórek nabłonka jelita cienkiego linii FHs 74 Int, ludzkich prawidłowych komórek nabłonka jelita grubego linii CCD 841 CoN, ludzkich prawidłowych komórek wątroby linii THLE-2 oraz ludzkich komórek nabłonka okrężnicy linii Caco-2), genotoksyczności z wykorzystaniem testu kometowego oraz analizy potencjału mutagennego i promutagennego z wykorzystaniem bakteryjnego testu Ames (analiza mutacji powrotnych z histydynowej auktrofii mutantów *Salmonella typhimurium*). Na podkreślenie zasługuje rzadko spotykane podejście analityczne pozwalające na wyznaczanie EC10, EC50 oraz EC90 w badaniach cytotoksyczności (zwykle w tego typu badaniach analizuje się tylko EC50) oraz weryfikacja wyników z użyciem testów o różnym mechanizmie działania oraz próba poznania mechanizmów działania badanych związków (m.in. oznaczenie aktywności kaspaz-3/7, ocena poziomu RFT, analiza ekspresji genów techniką RT-PCR). Wszystkie eksperymenty przeprowadzono z zachowaniem rygoru badawczego, zaś ich wyniki zostały poddane odpowiednim analizom statystycznym.

Generalnie, zakres prowadzonych badań jest imponujący i pozwala na wieloaspektową ocenę badanego materiału. Pragnę podkreślić, że zastosowana metodologia jest poprawna, przemyślana i w pełni adekwatna do badań mających dostarczyć wiedzy niezbędnej do osiągnięcia zamierzonych celów, a tym samym weryfikacji postawionych hipotez. Opisy materiału oraz doświadczeń są wyczerpujące, jasne i pozwalają na powtórzenie prowadzonych eksperymentów.

Do tej części pracy nasuwają się drobne uwagi:

-Analiza produktów degradacji stigmasterolu i jego estrów została opisana bardzo szczegółowo, jednak w opisie brak informacji o ich identyfikacji. Czy mogłaby Pani wyjaśnić tę kwestię.

-W testach cytotoksyczności przygotowane związki rozcieńczano w pożywkach w celu uzyskania stężeń: 1,25; 2,5; 5; 10; 20 i 40  $\mu\text{g/ml}$ , przy zachowaniu stałego stężenia rozpuszczalnika w hodowli. Czy podobna procedura została zachowana w testach genotoksyczności (str. 37-38)?

-W analizie RT-PCR (3.14.4.3.) jako gen referencyjny zastosowano gen kodujący dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego. Czy został on wybrany na podstawie danych literaturowych, czy może zostały przeprowadzone badania w tym zakresie (*reference genes selection*)?

W tej części recenzji chciałbym się bezpośrednio odnieść się do wyników badań i ich dyskusji. Z uwagi na ilość wyników w ograniczonym zakresie przytaczam konkretne dane, zaś skupiam się na ich znaczeniu i roli w weryfikacji postawionych hipotez badawczych. Pierwsze z nich zakładały, że warunki obróbki termiczno-oksydacyjnej stigmasterolu oraz estrów stigmasterolu z kwasem linolowym i oleinowym wpływają na generowanie produktów degradacji i oksypochodnych, których poziom jest determinowany rodzajem kwasu tłuszczowego, a w szczególności poziomem jego nasycenia. Doktorantka wykazała, że estryfikacja stigmasterolu z kwasem linolowym lub kwasem oleinowym zwiększa jego stabilność termiczną i oksydacyjną oraz ogranicza tworzenie oksypochodnych stigmasterolu. Stwierdziła, że degradacja stigmasterolu i jego estrów zachodziła intensywniej w temperaturze 180 °C niż 60°C (pomimo skrócenia czasu ogrzewania do 8 godzin). Suma utlenionych pochodnych w próbkach inkubowanych w podwyższonej temperaturze była również istotnie niższa w przypadku estrów stigmasterolu. Na tej podstawie wnioskuje, że estryfikacja stigmasterolu z kwasem oleinowym jest najbardziej korzystna (2,3-krotnie zmniejszenie ilości SOPs). Efekt ten jest jeszcze bardziej widoczny po ogrzewaniu oleinianu stigmasterolu w 60 °C i 180 °C (ograniczenie produkcji SOP odpowiednio 5,1-krotnie i 4,3-krotnie w stosunku do generowania SOP podczas ogrzewania wolnego stigmasterolu). W tym miejscu chciałbym zapytać, czy w przypadku obliczeń wykonanych dla estrów stigmasterolu uwzględniła Pani rzeczywistą zawartość stigmasterolu w próbce (wg metodologii ogrzewano 50 mg próbki związków o różnych masach molowych, a tym samym różnej zawartości poszczególnych komponentów).

W dalszej części dysertacji Aplikantka dokonuje wnikliwej analizy stigmasterolu, jego estrów oraz produktów ich utlenienia. Są niezwykle wartościowe wyniki nie tylko z poznawczego punktu widzenia, ale także tzw. życia codziennego, gdyż dostarczają praktycznej wiedzy z zakresu potencjalnie toksycznego działania produktów funkcjonalnych wzbogaconych w stigmasterol. Cytotoksyczność próbek badano w modelu ludzkich komórek prawidłowych nabłonka jelita cienkiego, nabłonka jelita grubego oraz wątroby. W każdym z przypadków estry stigmasterolu charakteryzowała obniżona cytotoksyczność ( $IC_{50} > 40 \mu\text{m/ml}$ ), a co ciekawe w przypadku czystego stigmasterolu odnotowano również obniżenie cytotoksyczności po inkubacji w 180 °C (w zakresie stężeń 1,25-2,5  $\mu\text{m/ml}$  wręcz działanie ochronne). Efekt ten był intensyfikowany w przypadku estrów, gdzie zasadniczo nie zaobserwowano negatywnego wpływu tych związków i ich oksypochodnych w zakresie analizowanych stężeń. Wyniki te potwierdzają ważność projektu, generując nowe problemy badawcze i tym samym wytyczając przyszłe kierunki badań. W tym miejscu pojawia się pytanie, jaki może być potencjalny mechanizm obserwowanego zjawiska?

Potencjalną genotoksyczność stigmasterolu i jego estrów analizowano metodą kometową z wykorzystaniem prawidłowych komórek jelita grubego. Pani Kasprzak wykazała, że stigmasterol oraz jego estry (40  $\mu\text{g/ml}$ ) nie indukują rozległych uszkodzeń DNA w komórkach. Z kolei, próbki estrów

poddane inkubacji w podwyższonej temperaturze wykazywały wyraźny efekt genotoksyczny, co było szczególnie widoczne w przypadku oleinian stigmasterolu ogrzewanego w temperaturze 180 °C przez 8 godzin (wyraźna obecność w populacji komórek z klasy 3 i 4 i efekt zgoła odmienny od tego obserwowanego w testach cytotoxycności). W przypadku tego testu odnotowano również wpływ nasycenia kwasu tłuszczowego wchodzącego w skład estru na poziom genotoksycności (pochodne linolanu stigmasterolu był mniej toksyczny niż oleinianu stigmasterolu). W oparciu o przeprowadzone badania Doktorantka zweryfikowała postawioną hipotezę, wykazując, że estry stigmasterolu i produkty ich przemian termiczno-oksydacyjnych w mniejszym stopniu oddziałują na komórki układu pokarmowego niż wolny stigmasterol i jego pochodne produkowane podczas ogrzewania (pomimo zwiększonej genotoksycności). Zarówno w przypadku cyto- jak i genotoksycności zaobserwowano również wpływ komponenty kwasu tłuszczowego na obserwowany poziom aktywności.

W kolejnym badaniu analizowano potencjał mutageny i promutageny wykorzystując test mutacji powrotnych Amesa w modelu bakterii *Salmonella typhimurium*. Z punktu widzenia metodologii badań na podkreślenie zasługuje tu walidacja stężeń mutagenów referencyjnych, co tylko potwierdza wysokie kwalifikacje i świadomość naukową Doktorantki. Wartości aktywności mutagennej wyznaczone dla wszystkich badanych związków z zastosowaniem szczepów TA 98, TA100, TA102, TA1537 wynosiły poniżej 2, czyli minimalnej wartości wymaganej dla związków mutagennych. Analizy potencjału mutagennego wykazały, że nieogrzewany stigmasterol ma zdolność do cofania mutacji w szczepie *Salmonella typhimurium* TA100 bez aktywacji metabolicznej, a w szczepach TA98 i TA1537 tylko w warunkach aktywacji metabolicznej.

Dalsza charakterystyka stigmasterolu, jego estrów i produktów utlenienia obejmowała ocenę zdolności do indukowania apoptozy. Analiza wpływu badanych związków na zdolność do generowania RFT wykazała, że w komórkach traktowanych stigmasterolem ogrzewanym w temperaturze 60 °C oraz jego estrem linolowym oznaczono zwiększone stężenie tych metabolitów, zaś ester oleinowy stigmasterolu nie generował tej niepożądanego odpowiedzi metabolicznej. Wyniki te potwierdziła częściowo analiza aktywności kaspazy, gdzie w odróżnieniu do czystego stigmasterolu i jego pochodnej linolowej, próbki estru oleinowego stigmasterolu tylko w niewielkim stopniu zwiększały aktywność tych enzymów. Częściowo wyniki te potwierdziła również analiza wpływu na przebieg cyklu komórkowego wykonana w modelu komórek nabłonka jelitowego. Analiza cytometryczna wykazała, że badane związki w stężeniu 40 µg/ml mogą zakłócać przebieg cyklu komórkowego, wskazując jednocześnie na łagodne działanie proapoptotyczne tych związków (niezależnie od procesu ogrzewania).

Ostatnia część badań projektu doktorskiego oceniała wpływ stigmasterolu jego estrów oraz produktów ich przemian termiczno-oksydacyjnych na integralność i funkcjonalność bariery jelitowej w komórkowym modelu linii Caco-2. Doktorantka umiejętnie wykorzystowała model dedykowany do badań

bioprzyswajalności do oceny efektów toksycznych. Cały eksperyment jest przemyślany i konsekwentnie dąży do osiągnięcia zamierzonego celu. Pomimo braku wyraźnego negatywnego wpływu badanych związków na proliferację komórek wydłużenie czasu inkubacji pozwoliło na wykazanie, które z nich wpływają negatywnie na integralność monowarstwy komórkowej symulującej nabłonek enterocytów. Stwierdzono, że nieogrzewany i ogrzewany stigmasterol w dawce 40 µg/ml zmniejsza integralność bariery jelitowej, na co wskazywało zwiększenie wartości TEER odpowiednio o 33% i 23%. Co istotne, estry stigmasterolu oraz produkty ich przemian oksydacyjnych wykazywały istotnie niższą zdolność do naruszania bariery jelitowej. Wyniki te znalazły również potwierdzenie podczas testów przepuszczalności nabłonka jelitowego oraz wpływu na integralność i szczelność nowoutworzonego modelowego nabłonka jelitowego. Finalnie Doktorantka podjęła próbę wskazania mechanizmów działania pochodnych stigmasterolu oraz linolanu stigmasterolu poprzez analizę białkowych składników połączeń międzykomórkowych w nabłonku, które utrzymują szczelność bariery jelitowej. Badania na poziomie transkryptomu wykazały, że nieogrzewany stigmasterol nie wpływał na poziom ekspresji genów TJP1, OCLN1 i CLDN1, kodujących odpowiednio białko strefy zamykającej zonula occludens-1 (ZO-1), okludynę i kładynę. W przypadku oleinianu stigmasterolu ogrzewanego w 180 °C, zastosowanego w najwyższej dawce (40 µg/ml), zanotowano statystycznie istotny wzrost ekspresji genów TJP1 i OCLN1, bez wpływu na ekspresję genu CLDN1. Całość badań Autorka podsumowała w 10 wnioskach, które odnoszą się do głównych celów badań i postawionych hipotez. Zasadniczo w poprawny sposób podsumowują one wyniki badań, jednak w mojej ocenie wniosek nr 4 wskazujący, że obniżenie potencjału cytotoksycznego wolnego stigmasterolu jest związane z jego termiczną degradacją jest zbyt spekulatywny.

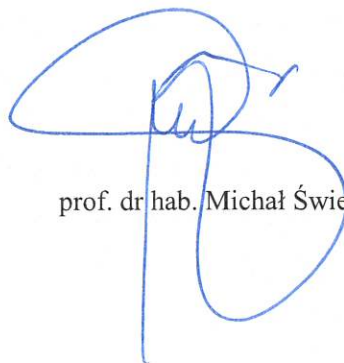
Przechodząc do podsumowania jestem przekonany, że wysoki poziom badań oraz ich zakres z pewnością pozwolą na opublikowanie wyników projektu doktorskiego w czasopiśmie wiodącym w dyscyplinie. W tym miejscu na podkreślenie zasługuje także wykonana przez Doktorantkę wnikliwa analiza i dyskusja podejmująca próbę wskazania potencjalnych mechanizmów zaobserwowanych zmian i zależności. W mojej ocenie projekt badawczy powinien nie tylko rozwiązywać problem naukowy, ale także generować nowe pytania i kierunki badań. Z pełnym przekonaniem mogę stwierdzić, że przedstawiona praca należy do tego typu opracowań. Do jej niewątpliwych osiągnięć należy wykazanie, że estryfikacja może poprawić zachowanie stigmasterolu podczas obróbki termicznej ograniczając poziom niepożądanych oksypochodnych i wykazywanych przez nie aktywności biologicznych. Doktorantka wykazała, że bezkrytyczne wprowadzenie do produktów spożywczych nowych dodatków niesie za sobą szereg zagrożeń, których analiza powinna znaleźć się w kręgu zainteresowań naukowców. Co prawda indywidualny wkład pracy Pani Kasprzak w badania nie został jasno określony, ale biorąc pod uwagę szczegółowość opisów metod badawczych, sposób przedstawienia wyników oraz ich krytyczną dyskusję mogę stwierdzić, że jest Ona młodym naukowcem, który posiada umiejętność

samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Opinię tę potwierdza również zakres prac określony w już opublikowanych manuskryptach, gdzie Doktorantka odpowiadała m.in. za tworzenie koncepcji badań, prowadzenie eksperymentów, opracowanie wyników i ich dyskusję oraz przygotowanie finalnych wersji manuskryptów.

Doktorantka umiejętnie połączyła ze sobą zagadnienia z zakresu technologii i bezpieczeństwa żywności, chemii analitycznej oraz technik molekularnych a przedstawiona do oceny dysertacja obejmuje wyniki wartościowe pod względem poznawczym i aplikacyjnym. Na tym etapie mojej opinii chciałbym stwierdzić, że Pani Kasprzak osiągnęła wszystkie zamierzone cele projektu doktorskiego i zweryfikowała postawione hipotezy badawcze, a sama dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Jednocześnie pragnę podkreślić, że wszystkie uwagi przedstawione w ocenie pracy mają charakter redakcyjny, część z nich dyskusyjny i nie mają one wpływu na pozytywną ocenę merytoryczną pracy.

#### Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji dysertacja mgr inż. Marii Magdaleny Kasprzak "Cytotoksyczność stigmasterolu, estrów stigmasterolu i produktów ich termiczno-oksydacyjnej degradacji w badaniach *in vitro*" spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U z 2020 r. poz. 85 z póź. zm.) i wniośkuje o dopuszczanie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wysoki poziom naukowy przedstawionych badań motywuje mnie do złożenia Wysokiej Radzie wniosku o wyróżnienie ocenianej dysertacji w sposób praktykowany na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.



prof. dr hab. Michał Świeca



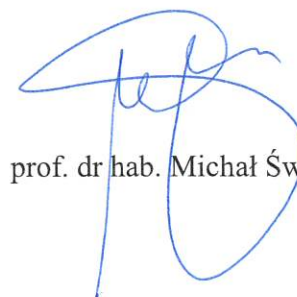
Lublin, 23.10.2023 r.

prof. dr hab. Michał Świeca  
Katedra Biochemii i Chemii Żywności  
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej  
mgr inż. Marii Magdaleny Kasprzak

Przestawiona do oceny dysertacja doktorska dotyczy tematyki niezwykle aktualnej i ma duże znacznie poznawcze. Sposób przeprowadzania badań, zakres metod badawczych, właściwy opis i interpretacja wyników oraz ich konfrontacja z literaturą tematu jednoznacznie wskazują na wysokie kwalifikacje i warsztat naukowy Pani mgr inż. Marii Kasprzak. Na podkreślenie zasługuje również krytyczne i świadome podejście Doktorantki do tematu. Dysertacja stanowi niezwykle ciekawe opracowanie obejmujące analizy bezpieczeństwa stosowania stigmasterolu oraz jego pochodnych w aspekcie potencjalnie nieporządných zmian zachodzących podczas obróbki termicznej. W mojej ocenie dysertacja wyróżnia się na tle innych projektów doktorskich. Jednocześnie Kandydatka spełnia także wymóg posiadania dorobku publikacyjnego w temacie badań zbliżonym do realizowanego w projekcie doktorskim.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o wyróżnienie dysertacji Pani mgr inż. Marii Kasprzak pt. „Cytotoksyczność stigmasterolu, estrów stigmasterolu i produktów ich termiczno-oksydacyjnej degradacji w badaniach *in vitro*” w sposób praktykowany na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.



prof. dr hab. Michał Świeca