

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Fedko
pt.: „Inhibicja termicznej polimeryzacji triacylogliceroli
przez przeciwutleniacze pochodzenia roślinnego”
wykonanej pod kierunkiem prof. UPP dr hab. Dominika Kmiecika

Wprowadzenie

Coraz większa popularność tłuszczów pochodzenia roślinnego, w tym olejów bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe sprawia, że wrasta zapotrzebowanie na substancje, które stabilizowały te oleje ograniczając tempo niekorzystnych przemian. Ogrzewanie olejów w wysokich temperaturach stosowanych w popularnym procesie smażenia powoduje szybką degradację triacylogliceroli związaną nie tylko z utlenianiem, ale w dużej mierze z powstawaniem związków polarnych, w tym polimerów.

Od lat podejmowane są liczne próby stabilizowania olejów poprzez dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających, zwłaszcza pochodzenia naturalnego. Z drugiej strony surowiec natywny, z którego pozyskiwany jest olej zawiera w swoim składzie wiele związków bioaktywnych, które jednakże w procesie wydobywania, a następnie oczyszczania oleju na drodze rafinacji są z niego usuwane. Stosowanie tłoczenia oleju w niskich temperaturach (na zimno) pozwala na zachowanie naturalnych związków bioaktywnych występujących w surowcu. Stąd też taki olej może być bogatym źródłem tokochochromanoli, steroli, karotenoidów czy fosfolipidów. Jest to złożona matryca, której efektywność działania jako dodatku stabilizującego oleje podczas ogrzewania symulującego proces smażenia dotychczas nie była określana. Badacze zazwyczaj skupiali się na jednej określonej grupie związków bądź jednym konkretnym związku. Dlatego też tematykę pracy uważam za interesującą i wpisującą się w rozwiązywanie aktualnych problemów badawczych w technologii żywności.

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest pracą o charakterze eksperymentalnym, o typowym układzie. Dysertacja obejmuje 164 strony, na które składają

się: Spis treści (2 str.), Wykaz akronimów stosowanych w pracy (1 str.), Streszczenie w języku polskim i angielskim (2 str.), Wstęp (2 str.), Przegląd piśmiennictwa (44 str.), Cel pracy (1 str.), Materiał badany i metodyka badań (11 str.), Wyniki (50 str.), Dyskusja (8 str.), Wnioski i stwierdzenia (2 str.), Literatura (23 str.), Wykaz rysunków (3 str.), Wykaz tabel (1 str.) oraz Aneks (9 str.). Proporcje poszczególnych części pracy są prawidłowe, przy czym najbardziej rozbudowaną częścią dysertacji jest wstęp teoretyczny oraz wyniki. Obszerny wykaz literatury obejmuje 294 pozycje. Wykorzystane piśmiennictwo jest głównie anglojęzyczne (ponad 98%), a prace pochodzące z ostatniej dekady stanowią 68%. Praca jest napisana na ogół poprawnym językiem, jakkolwiek w tekście znajduje się wiele błędów edytorskich bądź stylistycznych, co utrudnia sprawną analizę rozprawy. W wielu przypadkach niepoprawny jest również sposób cytowania literatury, gdzie trudno określić wg jakiego klucza postępowała Autorka. Stosowanie angielskich rozszerzeń jak „et al.” również nie powinno mieć miejsca w dysertacji przygotowanej w języku polskim. Część doświadczalna obejmuje opis doświadczenia przeprowadzonego w 3 etapach. Uzyskane wyniki badań poddane zostały analizie statystycznej i zaprezentowane w tabelach i na rysunkach. Jedynie w tabeli 10 nie zamieszczono wyników dotyczących analizy prób poddanych ogrzewaniu. Praca jest spójna tematycznie, a poszczególne etapy badawcze przeprowadzono wg przyjętego układu. Stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca spełnia formalne wymagania stawiane pracom dysertacyjnym na stopień doktora.

Ocena merytoryczna pracy

W obszernym wstępie literaturowym Autorka przedstawiła charakterystykę olejów roślinnych, z uwzględnieniem składu chemicznego w odniesieniu do budowy i właściwości triacylogliceroli, steroli, tokochromanoli, związków fenolowych, karotenoidów, fosfolipidów, terpenów, terpenoidów i olejków eterycznych. Następnie omówiła i porównała różne metody otrzymywania olejów. Nieprawidłowo wskazała, że oleje surowe, niezależnie od metody ich pozyskania są łączone i następnie poddawane rafinacji. W praktyce oleje te ze względu na duże różnice w składzie substancji towarzyszących triacyloglicerolom poddaje się rafinacji oddzielnie. W kolejnej części Autorka charakteryzuje proces smażenia omawiając trzy główne kierunki przemian prowadzących do degradacji medium smaźalniczego. Zwraca uwagę na aspekty zdrowotne jak i sensoryczne procesu smażenia. W ostatniej części omawia substancje o działaniu przeciwutleniającym i antypolimeryzacyjnym, ponownie odnosząc się do kilku grup związków pochodzenia naturalnego (sterole, tokochromanole, związki fenolowe, karotenoidy i fosfolipidy). Pomimo bardzo obszernego wprowadzenia literaturowego zabrakło podsumowania tej części dysertacji wskazującego dłaczego w części praktycznej zajęto się tylko tokochromanolami oraz sterolami. Wydaje się również niepotrzebne dwukrotne

omawianie budowy i właściwości poszczególnych grup substancji aktywnych występujących w olejach (części 1.1 i 7.3).

W kolejnym rozdziale przedstawiono cel pracy oraz trzy cele szczegółowe. Wątpliwości budzi stosowanie określenia 'wysokojednonienasycone' oleje zamiast powszechnie stosowanej nazwy 'oleje wysokooleinowe', skoro analizowano oleje, w których kwasem jednonienasyconym było kwas oleinowy. Pewien niedosyt budzi brak postawienia hipotez badawczych, które następnie Doktorantka wersyfikowałaby realizując kolejne cele badawcze.

Cześć metodyczna obejmuje charakterystykę materiału użytego do badań. W metodyce badań przedstawiono opisowo jak i graficznie model doświadczenia obejmujący trzy etapy przeprowadzone z użyciem różnych surowców wg tego samego schematu: 10 minutowego ogrzewania oleju w cienkiej warstwie w dwóch różnych wariantach temperaturowych. Pomimo zamieszczonego uzasadnienia dlaczego w poszczególnych etapach stosowano do badań poszczególne oleje nasuwa się pytanie: *Dlaczego do badań we wszystkich trzech etapach nie zastosowano jako dodatku oleju z tego samego surowca/surowców co pozwoliłoby również na porównanie wpływu metody pozyskiwania oleju na skład i zawartość związków bioaktywnych i efektywność ich działania?* W etapie II i III występuje olej z czarnuszki, ale uzyskiwany jest różnymi metodami i stosowany w różnych ilościach co nie pozwala na pełne porównanie uzyskanych wyników. Metodyka badań obejmuje kilka metod chromatograficznych z zastosowaniem różnych technik (chromatografia gazowa, cieczowa), z wykorzystaniem których przeprowadzono analizę profilu kwasów tłuszczowych, składu i zawartości tokochromanoli, steroli roślinnych oraz zawartości frakcji polarnej i dwóch grup związków polarnych: monomerów i dimerów utlenionych TAG. Pozwoliło to na profilowe scharakteryzowanie olejów i mieszanin przed i po procesie ogrzewania pod kątem tych grup związków. Nasuwa się tutaj pytanie: *Dlaczego nie włączono do analiz związków o właściwościach bioaktywnych analizy zawartości związków polifenolowych, do których Autorka odnosi się zwłaszcza w dyskusji wyników?* Pewien niedosyt budzi również dobór metod pozwalających na określanie tempa degradacji tłuszczu. *Dlaczego nie monitorowano stopnia degradacji olejów również przez określanie zawartości produktów utleniania - analizę liczby anizydynowej?* Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Każdy etap badawczy podsumowano dodatkowo analizą wielowymiarową z zastosowaniem analizy głównych składowych.

W obszernej części poświęconej analizie uzyskanych wyników wg przyjętego przez Autorkę schematu omówione zostały poszczególne wyniki uzyskane w trzech etapach badawczych. Wyniki przedstawiono zarówno w formie tabelarycznej jak i na rysunkach.

Analizując zamieszczone wyniki nasuwa się kilka pytań. W odniesieniu do zmian zawartości tokochoromanoli: *czym można wytłumaczyć większą stabilność tokochoromanoli w oleju z dodatkiem TBHQ w temperaturze 170 °C?* Z kolei analizując wyniki zawartości fitosteroli (tab. 7): *dłaczego w rafinowanym oleju rzepakowym było więcej brassikasterolu niż w oleju tłoczonym na zimno? Czy można wytłumaczyć zwiększenie zawartości Δ^5 -awenasterolu w oleju poddanym obróbce termicznej (MOR5%)?* W omówieniu wyników należy odnosić się do analizy statystycznej – jeśli wyniki nie różniły się statystycznie nie piszemy o „niewielkich zmianach” itp. Omawiając produkty termicznej degradacji oleju w pierwszej kolejności scharakteryzowano zawartość związków polarnych. Pomimo, że oleje tłoczone charakteryzowały się większą zawartością tych związków to mieszaniny z ich udziałem poddane ogrzewaniu zawierały mniej związków polarnych w zestawieniu z próbą kontrolną (rafinowanym olejem rzepakowym). Podobne zależności obserwowano w odniesieniu do zawartości monomerów utlenionych TAG co uzasadniało, że kierunek badań został prawidłowo podjęty, a zaproponowane rozwiązania są skuteczne. Najciekawszą częścią omówienia wyników stanowiło podsumowanie każdego z etapów przeprowadzone w formie analizy głównych składowych, co pozwoliło Autorce na zdefiniowanie zależności występujących pomiędzy analizowanymi próbkami nie tylko w odniesieniu do ich składu, ale i zmian zachodzących podczas stosowanej obróbki termicznej.

Pewien niedosyt budzi brak odniesienia w pracy do właściwości sensorycznych analizowanych mieszanin – zwłaszcza z olejem z kolendry lub czarnuszki, które charakteryzują się bardzo intensywnym aromatem. Stąd też proszę o komentarz: *czy mieszaniny z dodatkiem tych olejów, zwłaszcza w ilości 25%, mogą być akceptowalne pod względem sensorycznym przez konsumentów? Jak ogrzewanie tych mieszanin wpłynęło na ich cechy sensoryczne?*

Osobnym rozdziałem dysertacji jest dyskusja wyników i ten rozdział budzi pewien niedosyt. Autorka wielokrotnie odnosi się do roli związków polifenolowych jako naturalnych stabilizatorów stosowanych jako dodatki w olejach smaźalniczych, jakkolwiek w przeprowadzonym doświadczeniu nie oznaczała tej grupy związków. Dyskutując zależności pomiędzy zawartością i stabilnością analizowanych w pracy związków biologicznie aktywnych stara się niejednokrotnie wyjaśnić mechanizm działania co stanowi cenną część tego opracowania. Przytacza wiele pozycji literaturowych, próbuje również wyjaśnić obserwowane zmiany, co w przypadku analizowania tak złożonej matrycy nie jest łatwym wyzwaniem.

Autorka podsumowała całą pracę w osobnym rozdziale zatytułowanym *Wnioski i stwierdzenia* formułując 10 wniosków. W niektórych wnioskach pojawiają się próby wyjaśnienia obserwowanych zmian/mechanizmów, co o ile jest wskazanym w dyskusji wyników nie powinno już mieć miejsca w rozdziale podsumowującym, odnoszącym się do

uzyskanych wyników. Wskazaniem byłoby podsumowanie pracy konkretnymi stwierdzeniami wynikającymi bezpośrednio z analizy uzyskanych wyników.

Podsumowując stwierdzam, że zaplanowane przez Doktorantkę badania zostały zrealizowane, a cel pracy został osiągnięty. Badania dostarczają wartościowych informacji teoretycznych, a także propozycji rozwiązań praktycznych związanych ze stabilizacją oleju roślinnego poddanego ogrzewaniu symulującego krótki proces smażenia na patelni. Należy zaznaczyć, że przedstawione w recenzji krytyczne uwagi i spostrzeżenia mają na celu doskonalenie warsztatu naukowo-badawczego Autorki, co nie umniejsza wartości merytorycznej pracy.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Fedko stanowi interesujące opracowanie naukowe dotyczące wykorzystania naturalnych związków o właściwościach przeciwutleniających takich jak tokocholesterol, sterole roślinne a także olejki eteryczne do stabilizacji oleju rzepakowego poddanego ogrzewaniu w cienkiej warstwie. Praca analizuje wpływ rodzaju i ilości oleju roślinnego tłoczonego na zimno bądź ekstrahowanego CO₂ w stanie nadkrytycznym na tempo przemian polimeryzacyjnych rafinowanego oleju rzepakowego poddanego krótkotrwałemu ogrzewaniu. Praca została zrealizowana przy pomocy dobrze dobranych technik badawczych, dowodzi, że Autorka opanowała warsztat badawczy, potrafi stawiać i rozwiązywać problemy badawcze, co pozwala na samodzielne prowadzenie badań naukowych, a dodatkowo wskazuje na wiedzę teoretyczną w reprezentowanym temacie.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Fedko pt. „Inhibicja termicznej polimeryzacji triacylogliceroli przez przeciwutleniacze pochodzenia roślinnego” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Tekst jedn.: Dz.U. z 2014 r. poz. 1852 z późn. zm.). W związku z powyższym stawiam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Moniki Fedko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

