

Prof. dr hab. Maria Małecka
Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

RECENZJA
rozprawy doktorskiej
pt. „Wpływ wstępnej obróbki termicznej nasion rzepaku
z zastosowaniem mikrofal na zawartość związków bioaktywnych, stabilność
oksydacyjną i pojemność przeciwutleniającą wytłoczonego oleju”
przygotowanej przez mgr inż. Agnieszkę Rękas

Podstawą sporządzenia recenzji jest pismo (MNoŻ-V-2/51/2018) prof. dra hab. Mirosława Słowińskiego - Dziekana Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie informujące o uchwale Rady Wydziału w sprawie powołania recenzentów w przewodzie doktorskim mgr inż. Agnieszki Rękas. Recenzję wykonano zgodnie z wytycznymi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Przekazana do zaopiniowania rozprawa została przygotowana przez mgr inż. Agnieszkę Rękas pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Wroniak, prof. SGGW, z Katedry Technologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW jako promotora oraz dra hab. Aleksandra Sigera z Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, jako promotora pomocniczego.

Tematyka rozprawy pt. „Wpływ wstępnej obróbki termicznej nasion rzepaku z zastosowaniem mikrofal na zawartość związków bioaktywnych, stabilność oksydacyjną i pojemność przeciwutleniającą wytłoczonego oleju” wpisuje się w aktualny trend obserwowany na rynku związany z promowaniem żywności niskoprzetworzonej, o wysokiej zawartości bioaktywnych składników korzystnych dla zdrowia i gwarantujących bezpieczeństwo konsumenta. Ze względu na wysoką wartość żywieniową tłoczonych olejów roślinnych bogatych w prozdrowotne składniki, należy dążyć do rozszerzania ich oferty na rynku, jednocześnie zwracając uwagę na stabilność oksydacyjną i konieczność zapewnienia ochrony przed niekorzystnymi zmianami obniżającymi trwałość podczas przechowywania.

Prace badawcze podsumowane w cyklu publikacji stanowiącym dysertację doktorską mgr A. Rękas dotyczą oleju rzepakowego, podstawowego oleju jadalnego produkowanego i spożywanego w Polsce. Olej rzepakowy, ze względu na cenne właściwości

fizykochemiczne i wysoką wartość żywieniową, promowany jako „oliwa Północy”, zasługuje na rozpowszechnienie jako olej tłoczony na zimno, jednak dla zapewnienia wysokiej jakości, w tym trwałości, niezbędne są kompleksowe badania nad optymalizacją parametrów technologicznych z uwzględnieniem ich wpływu na właściwości sensoryczne, wartość żywieniową i bezpieczeństwo. Wiadomo, że wstępna obróbka hydrotermiczna nasion oleistych stanowi ważny etap w procesie pozyskiwania oleju i warunkuje wydajność oraz właściwości fizykochemiczne i wartość żywieniową oleju. Zastosowanie w tym etapie ogrzewania mikrofalowego zamiast konwekcyjnego pozwala na uzyskanie efektów ekonomicznych (skrócenie czasu, zmniejszenie energochłonności). Jednak wnioskowanie o wydajności procesu tłoczenia, właściwościach sensorycznych, fizykochemicznych, wartości żywieniowej i trwałości gotowego wyrobu wymaga wieloetapowych badań w celu precyzyjnego określenia optymalnych parametrów procesu i ich wpływu na cechy gotowego wyrobu. Badania przeprowadzone w ramach opiniowanej rozprawy doktorskiej mają w tym zakresie zarówno charakter poznawczy, jak i aplikacyjny.

Rozprawę doktorską pt. „Wpływ wstępnej obróbki termicznej nasion rzepaku z zastosowaniem mikrofal na zawartość związków bioaktywnych, stabilność oksydacyjną i pojemność przeciwutleniającą wytłoczonego oleju” stanowi spójny tematycznie zbiór siedmiu artykułów opublikowanych w języku angielskim w czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu, wydanych przez renomowane wydawnictwa, m. in.: Taylor&Francis, Elsevier, Wiley-VCH. Prace zostały przygotowane we współautorstwie, przy czym zawarte w dokumentacji oświadczenia współautorów (w tym promotora i promotora pomocniczego) pozwalają na precyzyjne określenie indywidualnego wkładu Doktorantki w powstanie rozprawy. Doktorantka jest pierwszym autorem sześciu spośród siedmiu prac cyklu, a Jej wkład w powstanie publikacji kształtował się w zakresie od 50 do 75% i obejmował: opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie eksperymentów, wykonanie części analiz, zestawienie i opracowanie wyników, przygotowanie manuskryptów i pełnienie roli autora korespondującego z recenzentami i edytorami. Należy dodać, że w realizacji prac nad kompleksowym rozwiązaniem zagadnienia, szczególnie w naukach przyrodniczych, praca zespołowa jest istotnym warunkiem osiągnięcia wartości dodanej w nauce. Pod względem formalnym przedstawiony dorobek naukowy mgr A. Rękas spełnia wymagania ustawowe dla pracy doktorskiej.

Publikacje stanowiące pracę doktorską mgr A. Rękas ukazały się w latach 2016-2018 i obejmują następujące pozycje:

1. Wroniak M., Rękas A., Siger A.: Janowicz M. (2016): *Microwave pretreatment effects on the changes in seeds microstructure, chemical composition and oxidative stability of rapeseed oil*, **LWT-Food Sciences and Technology**, 68, 634-64.
2. Rękas A. , Wroniak M., Siger A., Ścibisz I., Derewiaka D., Anders A. (2017): *Mechanical hulling and thermal pretreatment effects on rapeseed oil antioxidant capacity and related lipophylic and hydrophilic bioactive compounds*, **Journal of Food Sciences & Nutrition**, 68, 788-799.
3. Rękas A. , Wroniak M., Ścibisz I. (2017): *Microwave radiation and conventional roasting in conjunction with hulling on the oxidative state and physicochemical properties of rapeseed oil*, **European Journal of Lipid Sciences and Technology**, 119, DOI: 10.1002/ejlt.201600501.
4. Rękas A., Siger A., Wroniak M., Ścibisz I. (2018): *Phytochemicals and antioxidant activity degradation kinetics during long-term storage of rapeseed oil pressed from microwave treated seeds*, **European Journal of Lipid Sciences and Technology**, 120, DOI: 10.1002/ejlt.201700283.
5. Rękas A., Ścibisz I., Siger A., Wroniak M. (2017): *The effect of microwave pretreatment of seeds on the stability and degradation kinetics of phenolic compounds in rapeseed oil during long-term storage*, **Food Chemistry**, 222, 43-52, DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.12.003.
6. Rękas A., Siger A., Wroniak M. (2018): *The effect of microwave pretreatment of rapeseed on degradation kinetics of lipophylic bioactive compounds on the oil during storage*, **Grasas y Aceites** 69, DOI: 10.3989/gya.0670171.
7. Rękas A., Wroniak M. (2018): *Oxidation kinetics of rapeseed oil pressed from microwave pretreated seeds during long-term storage*, **Journal of Food Processing and Preservation**, DOI: 10.1111/jfpp.13630.

Należy podkreślić bardzo wysokie wartości wskaźników bibliometrycznych wymienionych wyżej prac. Łączny *impact factor* cyklu publikacji wynosi 14,293, a liczba punktów według listy MNiSZW – 200. Prace charakteryzują się wysokim poziomem merytorycznym, staranną redakcją i formą prezentacji wyników, co jest zrozumiałe ze względu na wysokie wymagania wydawnictw odnośnie do poziomu merytorycznego i edycji publikacji oraz surowe procedury opiniowania.

Integralną częścią rozprawy jest 70-stronicowe opracowanie w języku polskim obejmujące: przegląd piśmiennictwa, omówienie celu pracy, opis organizacji badań i metod badawczych oraz dyskusję wyników i podsumowanie cyklu prac. Przegląd piśmiennictwa ujęty w trzech punktach zawiera treści dotyczące bioaktywnych składników oleju rzepakowego, parametrów obróbki wstępnej nasion w procesie pozyskiwania oleju i ich wpływ na właściwości fizykochemiczne i wartość żywieniową tłoczonego oleju rzepakowego.

Celem badań, których wyniki opisano w cyklu publikacji, była "analiza wpływu ogrzewania mikrofalowego nasion rzepaku, poprzedzającego tłoczenie na zimno na zawartość związków bioaktywnych, stabilność oksydacyjną i pojemność przeciwutleniającą oleju bezpośrednio po wytłoczeniu oraz podczas przechowywania". Przedstawiony przez Doktorantkę czytelny schemat organizacji doświadczeń z podziałem na trzy etapy wskazuje na konsekwencje w podejmowaniu kolejnych badań, które są powiązane z wynikami przeprowadzonych wcześniej eksperymentów. Materiał badawczy został dobrze opisany, a metody badań wyczerpująco scharakteryzowane. W prowadzonych eksperymentach wykorzystano nasiona rzepaku różnych odmian (Kana, Bakara, Bosma, Monolit),

przy czym nasiona odmiany Kana zostały zastosowane we wszystkich wariantach doświadczeń. Czynnikiem zmienności w czasie obróbki wstępnej nasion przed tłoczeniem były: nawilżanie, obłuskiwanie, prażenie i ogrzewanie mikrofalowe w różnych przedziałach czasowych. W zależności od zastosowanych warunków obróbki wstępnej analizowano mikrostrukturę nasion oraz następujące cechy jakościowe wytłoczonego oleju:

- skład chemiczny (kwasy tłuszczowe, tokoferole, plastochromanol-8, karotenoidy, fitosterole, związki fenolowe z uwzględnieniem canololu),
- barwę w systemie CIE,
- pojemność przeciwutleniającą,
- stabilność oksydacyjną.

Oceniono też wpływ parametrów obróbki termicznej nasion na kinetykę utleniania otrzymanych olejów, zmian pojemności przeciwutleniającej z uwzględnieniem frakcji lipofilowej i hydrofilowej oraz kinetykę degradacji związków bioaktywnych (tokoferoli, plastochromanolu-8, karotenoidów i związków fenolowych, w tym canololu). Stabilność oksydacyjną próbek wytłoczonego oleju rzepakowego mierzono na podstawie zawartości nadtlenu, wtórnych produktów utlenienia (liczba anizydynowa), współczynników absorpcji w zakresie dienów i trienów, testu Rancimat oraz stopnia degradacji kwasów tłuszczowych i fitosteroli. Analiza szerokiego spektrum cech jakościowych próbek wymagała zastosowania różnorodnych metod: fizycznych, chemicznych, instrumentalnych i wskazuje na opanowanie warsztatu badawczego przez Doktorantkę. Należy podkreślić, że jest niewiele doniesień dotyczących wpływu parametrów obróbki termicznej nasion na zachowanie związków bioaktywnych w oleju podczas przechowywania i oceniany cykl publikacji stanowi ważny wkład do literatury naukowej w tym zakresie.

Badania opisane w pierwszych pracach cyklu (P1, P2) wykazały konieczność optymalizacji stopnia nawilżenia nasion i czasu ogrzewania w celu uzyskania odpowiedniej wydajności tłoczenia i pożądanego składu chemicznego oleju. Ogrzewanie nasion rzepaku z zastosowaniem mikrofal wpłynęło w znacznym stopniu na wzrost zawartości związków fenolowych w wytłoczonym oleju i jednocześnie na wzrost pojemności antyoksydacyjnej próbek w porównaniu z kontrolnymi. Ważnym elementem przeprowadzonych badań było oznaczenie zawartości canololu w próbkach wytłoczonego oleju i wnioskowanie o jego poziomie w zależności od czynników zmienności. Ogrzewanie mikrofalowe nasion spowodowało też podwyższenie stężenia w oleju lipofilowych związków o działaniu przeciwutleniającym - gamma tokoferolu i plastochromanolu-8, nie wpłynęło natomiast istotnie na zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych. W celu określenia

homogenicznej grupy próbek wytłoczonego oleju rzepakowego w zależności od analizowanych czynników zmienności, wartości oznaczonych parametrów jakościowych próbek analizowano metodą głównych składowych (PCA). Z analizy wynika (praca P2), że największą zawartością frakcji hydrofilowej i canololu i jednocześnie najwyższą pojemnością antyoksydacyjną charakteryzowały się próbki oleju wytłoczonego z nasion poddanych ogrzewaniu mikrofalowemu w dłuższych przedziałach czasowych. Badania opisane w kolejnych pracach cyklu dostarczają informacji na temat poziomu substancji bioaktywnych, w tym o przeciwutleniających właściwościach, w zależności od obróbki wstępnej nasion z uwzględnieniem czasu ogrzewania i ich zachowania podczas przechowywania oleju w temperaturze 20°C. Mikrofalowe ogrzewanie nasion prowadziło do zwiększenia zawartości związków fenolowych, w tym canololu w wytłoczonym oleju, a podczas przechowywania w czasie 12 miesięcy stabilność canololu w tych próbach była dwukrotnie wyższa niż w próbie kontrolnej (P4). Równolegle obserwowano większą stabilność oksydacyjną próbek oleju rzepakowego wytłoczonego z nasion poddanych obróbce termicznej z wykorzystaniem mikrofal w porównaniu z kontrolną, co związane było z mniejszą retencją związków o właściwościach przeciwutleniających, w tym canololu. Poszczególne etapy obróbki wstępnej nasion miały zróżnicowany wpływ na stabilność oksydacyjną oleju, przy czym ważny był czas oddziaływania ogrzewania. Wprawdzie ogrzewanie mikrofalowe nasion w czasie 10 minut wpłynęło najkorzystniej na zachowanie związków fenolowych w oleju, powodowało jednak większą degradację pozostałych bioaktywnych składników w porównaniu z krótszym czasem ogrzewania (P5, P6).

Analiza kinetyki reakcji utleniania na podstawie wartości liczby nadtlenkowej, anizydynowej oraz współczynników absorpcji w zakresie dniów i trienów w próbkach olejów uzyskanych w różnych wariantach obróbki wstępnej i przechowywanych przez 12 miesięcy wykazała najniższe stałe (k) szybkości reakcji utleniania w oleju rzepakowym wytłoczonym po wstępnym ogrzewaniu mikrofalowym nasion. Obłuskiwanie nasion przed tłoczeniem wpłynęło na wzrost zawartości lipofilowych związków, zmniejszenie poziomu związków fenolowych i obniżenie stabilności oksydacyjnej wytłoczonego oleju w porównaniu z próbka kontrolną (bez obłuskiwania). Degradacja związków fenolowych w oleju podczas przechowywania przebiegała zgodnie z kinetyką reakcji pseudo-pierwszego rzędu, natomiast rozpad tokochromanoli według kinetyki reakcji zerowego rzędu.

W ocenie merytorycznej cyklu publikacji przedstawionym przez mgr A. Rękas jako rozprawa doktorska należy podkreślić konsekwencję w podejmowaniu kolejnych etapów

badania, które są powiązane z wynikami przeprowadzonych wcześniej eksperymentów. Układ doświadczenia, sekwencja analiz z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych, statystyczne opracowanie wyników wskazują na oryginalne podejście Doktorantki do rozwiązania problemu badawczego. Najcenniejszym elementem rozprawy są badania dotyczące zawartości i kinetyki degradacji związków fenolowych z uwzględnieniem canololu w zależności od czynników zmienności podczas obróbki wstępnej nasion w kontekście wpływu na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego podczas przechowywania.

W mojej opinii niecelowe jest obliczanie korelacji między czasem indukcji (IP) oznaczonym w teście Rancimat (w temperaturze 120oC) a stałymi szybkości reakcji obliczonymi na podstawie wartości oznaczonych podczas przechowywania próbek w temperaturze 20oC (praca P7). Mechanizm reakcji utleniania w temperaturze 120 oC różni się istotnie od procesu zachodzącego w praktycznych warunkach przechowywania i Autorka przytacza wyniki prac sprzed 10 lat wskazujące na ten problem.

Z obowiązku recenzenta wskazuję poniżej uchybienia wymagające dyskusji, a zauważone w podsumowaniu publikacji stanowiących rozprawę.

W mojej opinii podsumowanie cyklu publikacji zostało napisane dość pobieżnie, i zawiera kilka nieścisłości i nieprecyzyjnych sformułowań:

- zbyt daleko idącym uproszczeniem jest wyrażenie: „utlenianie polienowych kwasów tłuszczowych.... jest wynikiem przyłączenia cząsteczki tlenu atmosferycznego do wiązań podwójnych.” To tlen singletowy może bezpośrednio reagować z alkenem, tlen cząsteczkowy reaguje dopiero z wolnym rodnikiem (s. 30).
- z opisu na s. 31 wynika, że aktywność wtórnych przeciwutleniaczy oparta jest na ..”dezaktywacji tlenu i związków o właściwościach redukujących”. To wymienione związki redukujące (kwas askorbinowy, palmitynian askorbylu) należą do wtórnych przeciwutleniaczy.
- s. 20, rys. 3: sinapina nie jest kwasem fenolowym,
- s. 41: sformułowanie „canolol z łatwością przechodzi do oleju” nie jest precyzyjne,
- praca P2: brak s. 793-795 w załączonym egzemplarzu publikacji.

Szeroki zakres zastosowanych parametrów obróbki wstępnej pozwolił na uzyskanie szerokiego spektrum wyników, co stanowi solidną podstawę do wnioskowania o optymalnych parametrach obróbki wstępnej nasion gwarantujących pożądane właściwości fizykochemiczne i wartość żywieniową. Tymczasem w podsumowaniu cyklu publikacji Doktorantka zestawiała wprawdzie rzetelnie spostrzeżenia i wnioski z poszczególnych etapów eksperymentu, ale niestety nie odważyła się na wysunięcie ogólnych wniosków odnośnie do parametrów

warunkujących optymalną jakość gotowego produktu. Niemniej zrealizowała cel pracy, który brzmi: „celem badań była analiza

W recenzji dorobku naukowego mgr inż. Agnieszki Rękas nie można pominąć faktu, że obok cyklu 7 prac stanowiących rozprawę doktorską Doktorantka posiada w dorobku dodatkowo 15 publikacji (w tym 8 w czasopismach z listy filadelfijskiej), 2 rozdziały w monografiach i 10 komunikatów na konferencjach naukowych. Łączna punktacja opublikowanych prac (według listy MNiSzW) wynosi 522, a *impact factor* 19,352. Należy podkreślić, że dorobek naukowy (poza rozprawą doktorską) znacznie przekracza ustawowe wymagania sprecyzowane dla osób ubiegających się nadanie stopnia doktora.

Wniosek końcowy

Reasumując stwierdzam, że przedłożony przez Doktorantkę zbiór powiązanych tematycznie artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Dołączone do dokumentacji oświadczenia współautorów pozwalają na precyzyjne określenie indywidualnego wkładu Doktorantki w powstanie prac, który kształtował się w zakresie od 50 do 75%. Na podkreślenie zasługuje wysoki poziom merytoryczny artykułów składających się na pracę doktorską, co było niewątpliwie warunkiem publikacji w wydawnictwach o wysokich wymaganiach merytorycznych i edytorskich. Rozprawa przedłożona przez mgr inż. Agnieszkę Rękas dowodzi, że posiada ona szeroką wiedzę teoretyczną w zakresie technologii żywności i żywienia, opanowała warsztat badawczy, potrafi stawiać i rozwiązywać problemy badawcze, co pozwala na samodzielne prowadzenie badań naukowych.

Z pełnym przekonaniem wnioskuję do Rady Wydziału Nauk o Żywności SGGW o dopuszczenie pani mgr inż. Agnieszki Rękas do kolejnego etapu przewodu doktorskiego.

Poznań, 14 stycznia, 2019


Maria Małecka