



Wrocław, 02.08.2021 r.

Prof. dr hab. Jan Oszmiański
Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

R E C E N Z J A rozprawy doktorskiej

Recenzja przedłożonej rozprawy doktorskiej mgr inż. Mai Jeż pt.

”Oszacowanie wpływu wysokich ciśnień hydrostatycznych i odmiany na profil związków bioaktywnych oraz wybrane, prozdrowotne właściwości owoców pomidora gruntowego”,

wykonanej w Zakładzie Chemicznych i Fizycznych Właściwości Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie składa się z oceny następujących elementów:

1. Dobór i znaczenie tematu.
2. Bibliografia i znajomość literatury.
3. Układ pracy i wymogi formalne.
4. Zastosowana metodyka badań.
5. Koncepcja rozwiązania problemu naukowego i przedstawionych wyników.
6. Prawdliwość wnioskowania.
7. Ocena końcowa.

Ad. 1. Ocena doboru i znaczenia tematu

Mgr inż. Maja Jeż w cyklu trzech publikacji stanowiących rozprawę doktorską podjęła się badań nad wpływem działania wysokich ciśnień hydrostatycznych i oceną odmian pomidorów na związki bioaktywne i właściwości prozdrowotne. Z wykorzystaniem nowoczesnych technik chromatograficznych identyfikowała i oznaczała związki polifenolowe i karotenoidy w wybranych odmianach pomidorów gruntowych oraz badała właściwości przeciwutleniające. Ponadto oznaczała aktywności enzymów konwertujących angiotensynę i hamujące aktywności acetylocholinoesterazy w ekstraktach z wybranych odmian pomidorów. Zagadnienia, które przedstawiła w rozprawie mgr inż. Maja Jeż są aktualne, ważne dla nauki i praktyki. Zastosowanie wysokich ciśnień do utrwalania żywności ma dużo zalet i stanowi perspektywę rozpowszechnienia tej techniki w praktyce przemysłowej. Aktualne są badania związków biologicznie aktywnych, aktywności przeciwutleniającej i potencjału prozdrowotnego żywności. Podjęcie badań w pracy doktorskiej Mai Jeż uważam za trafne, ważne i aktualne, uzasadnione ze względów poznawczych i praktycznych. Moim zdaniem

dyskusyjna jest propozycja wykorzystania wysokich ciśnień do surowca bogatego w likopen jakim są pomidory. Związek ten występuje w surowcu w formie *all-trans* izomeru natomiast oznaczany w organach i krwi w organizmie ludzkim w ponad 80% ma postać izomeru *cis*-likopenu. Izomer *cis*-likopenu wykazuje mniejszą zdolność do krystalizacji, która zmniejsza jego przyswajalność w organizmie. Ta forma także jest łatwiej rozpuszczalna w tłuszczach. Głównym czynnikiem przemiany izomeru *all-trans* likopenu do formy *cis*-likopenu jest działanie wysokiej temperatury co zwiększa jego przyswajalność w organizmie ludzkim. Dlatego zastąpienie termicznego utrwalania produktów pomidorowych techniką niskotemperaturową wysokociśnieniową moim zdaniem nie jest będzie zbyt korzystne dla wykorzystania prozdrowotnych cech likopenu pomidorów przez organizm ludzki. Powszechnie przyjmuje się, że korzystniejsze dla zdrowia jest spożywanie przetworzonych pomidorów i utrwalanych termicznie niż świeżych.

Jednakże praca ma dużą wartość poznawczą i praktyczną w ocenie ochronnego działania nietermicznej wysokociśnieniowej techniki na związki polifenolowe i karotenoidy oraz aktywności przeciwutleniające i potencjał prozdrowotny pomidorów.

Doktorantka podjęła się ważnego dla nauki i praktyki, interesującego tematu badań, który realizowała w ramach grantu OPUS nr 290900 finansowanego z Narodowego Centrum Nauki pod kierunkiem prof. dr hab. Wioletty Błaszczak pt. : „Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na profil związków bioaktywnych, aktywność przeciwutleniającą, enzymatyczną i stabilność mikrobiologiczną pulpy wybranych odmian pomidora gruntowego”.

Ad. 2. Ocena bibliografii i znajomości literatury

Bibliografia pracy dotycząca opracowania załączonych trzech publikacji liczy 66 pozycji przedstawiających zagadnienia ściśle związane z tematem badań. Większość prac, z wyjątkiem dwóch, jest w języku angielskim, były one zamieszczone także w bibliografii publikacji stanowiących rozprawę doktorską. Autorka wykazała się dużą dociekliwością i pracowitością w gromadzeniu informacji ze światowej literatury. Recenzent nie ma zastrzeżeń odnośnie znajomości tematu, zakresu i sposobu wykorzystania przedstawionej literatury.

Ad. 3. Ocena układu pracy i wymogów formalnych

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Mai Jeż została przygotowana na podstawie trzech jednotematycznych publikacji dotyczących wpływu wysokich ciśnień hydrostatycznych, odmian owoców pomidora gruntowego na profil związków fenolowych i karotenoidów oraz właściwości prozdrowotne. W pełni spełnia ona wymagania stawiane pracom doktorskim. W pierwszej części maszynopisu rozprawy na 34 stronach Autorka przedstawiła informacje ściśle związane z tematem pracy zawierające krótki wstęp, hipotezę i cele badawcze, opis materiału i metod badawczych, omówienie wyników i dyskusję w oparciu o publikacje stanowiące rozprawę oraz osiem wniosków i spis piśmiennictwa. W dalszej części zamieszczone są kopie publikacji wraz z oświadczeniami współautorów. W dwu publikacjach doktorantka jest na pierwszym miejscu z udziałem 50%, w trzeciej na drugim miejscu z udziałem 30%. Według oświadczeń uczestniczyła w wykonywaniu doświadczeń, opracowywaniu wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu do publikacji, co świadczy o Jej wiodącej roli w opublikowanych pracach.

We wstępnej części pracy, zamieszczone są podstawowe informacje o pomidorach i składzie chemicznym dotyczącym głównie karotenoidów i związków polifenolowych, które były głównym przedmiotem Jej badań. W dalszej części scharakteryzowała właściwości prozdrowotne pomidorów, szczególnie wpływające na nadciśnienie i schorzenia neurodegeneracyjne związane ze zdolnością do hamowania aktywności acetylocholinoesterazy. W dalszej części przedstawiła zagadnienia związane z utrwalaniem produktów pomidorowych oraz możliwości wykorzystania techniki wysokiego ciśnienia hydrostatycznego w technologii żywności.

Zagadnienia te są ściśle związane z przedmiotem Jej badań. Materiał opracowany został z wykorzystaniem bogatego piśmiennictwa, Autorka wykazała się dobrą znajomością zagadnień dotyczących pomidorów, związków biologicznie aktywnych i techniki wysokich ciśnień do utrwalania żywności. Do tej części pracy mam drobne uwagi, Autorka na stronie 12 wiersz 12 pisze "kwercytyny" zamiast „kwercetyny”, strona 14 wiersz 29 jest "kampferolu-3-o-rutinozydu" zamiast "kampferolu-3-O-rutinozydu".

Kolejna część rozprawy zawiera kopie trzech publikacji i oświadczenia współautorów. We wszystkich przypadkach są podpisy współautorów i dokładna informacja o roli poszczególnych autorów w przygotowaniu publikacji. Pod tym względem nie mam żadnych zastrzeżeń odnośnie prawidłowości przygotowania dokumentacji.

Ad.4.Ocena zastosowanej metodyki badań

Doktorantka zastosowała w swych badaniach nowoczesne metody chromatograficzne jak: HPLC-QTRAP-MS/MS, HPLC-DAD, RP-UHPLC-ESI-MS. Ponadto wykonywała oznaczenia potencjału przeciwutleniającego z wykorzystaniem techniki fotochemiluminescencyjnej w środowisku wodnym (PCL_{ACW}) i lipidowym (PCL_{ACL}), potencjału redukcyjnego FRAP metodą spektrofotometryczną przy użyciu czytnika płytek oraz woltoamperometrię cykliczną mierząc potencjał i pojemność redukcyjną. Potencjał antyglukacyjny i zdolność do hamowania aktywności enzymu konwertującego angiotensynę oznaczała metodą fluorescencyjną z wykorzystaniem czytnika płytek, a hamowanie aktywności enzymu acetylocholinoesterazy spektrofotometrycznie również na czytniku płytek.

Zastosowane metody analityczne były wyjątkowo złożone i czasochłonne, wymagały dużych umiejętności i nakładu pracy, w pełni pozwoliły zrealizować założony ambitny cel badań.

Część analityczna, która obejmowała dużą ilość bardzo trudnych, czasochłonnych i pracochłonnych badań zasługuje na szczególne podkreślenie, a uzyskanie wielu nowych informacji pozwoliło na opublikowanie uzyskanych wyników w renomowanych czasopismach o wysokiej randze międzynarodowej. Istotną rolę w realizacji badań była możliwość korzystania przez Doktorantkę z aparatury do przeprowadzenia doświadczeń w komorze wysokociśnieniowej (U-33, Unipress).

Ad.5.Ocena koncepcji rozwiązania problemu naukowego i przedstawionych wyników

Badania mgr inż. Mai Jeż w pierwszym etapie dotyczyły oceny wpływu wysokich ciśnień hydrostatycznych na związki polifenolowe i pojemność przeciwutleniającą ekstraktów pulpy z czterech wybranych odmian pomidorów. W pierwszej publikacji (P I) przedstawiła Doktorantka wyniki oznaczeń 10 związków fenolowych w postaci wolnej i związanej kwasów fenolowych i flawonoidów stosując bardzo złożoną procedurę ekstrakcji eterem dietylowym przed i po hydrolizie w warunkach zasadowych i kwasowych. Związki te oznaczyła w czterech odmianach pomidorów w siedmiu wariantach próbek przed działaniem wysokiego ciśnienia i po obróbce ciśnieniem 450 MPa, 550MPa i 650 MPa po czasie 5 i 15 minut czyli łącznie w 28 rodzajach próbek. Korzystniejsza byłaby moim zdaniem procedura bezpośredniej analizy związków fenolowych w ekstraktach bez pracochłonnej hydrolizy, taką którą zastosowała w trzeciej publikacji (PIII), tam oznaczyła zawartość 22 związków

polifenolowych. W publikacjach innych autorów z wykorzystaniem chromatografii cieczowej HPLC–ESI-QTOF, zidentyfikowano i oznaczano w pomidorach 47 związków polifenolowych (Anna Vallverdú-Queralt, Olga Jáuregui, Giuseppe Di Lecce, Cristina Andrés-Lacueva, Rosa M. Lamuela-Raventós. Screening of the polyphenol content of tomato-based products through accurate-mass spectrometry (HPLC–ESI-QTOF) Food Chemistry 129 (2011) 877–883). Doktorantka w swoich badaniach oprócz związków polifenolowych w 28 rodzajach próbek czterech odmian miążg pomidorów poddanych działaniu wysokiego ciśnienia oznaczyła aktywność przeciwutleniającą PCL_{ACW}, redukującą FRAP i CV oraz ogólną zawartość polifenoli z odczynnikiem Folina-Ciocalteu. Wyniki tych badań wskazują na duży wpływ odmian pomidorów zarówno na zawartość związków polifenolowych jak i aktywności przeciwutleniające. Szczególnie korzystnie pod tym względem wyróżniały się małe pomidory typu koktajlowego Cerise. Natomiast niezależnie od odmiany pomidora, proces wysokich ciśnień hydrostatycznych (HHP) istotnie redukował zawartość badanych związków polifenolowych. W przypadku oznaczeń aktywności przeciwutleniającej działanie wysokich ciśnień przyczyniała się do wzrostu lub obniżenia badanych parametrów zależnie od warunków obróbki miążgi pomidorowej wysokim ciśnieniem hydrostatycznym. Autorka stwierdza, że proces wysokich ciśnień hydrostatycznych może być interesującą propozycją sposobu zagospodarowania owoców pomidorów, który powinien uwzględniać właściwy dobór parametrów procesu ciśnieniowania.

W drugiej publikacji (P II) mgr inż. Maja Jeż przedstawiła wyniki badań dotyczące wpływu odmian pomidorów i działania wysokich ciśnień hydrostatycznych na karotenoidy i aktywność przeciwutleniającą lipofilnych ekstraktów w podobnych doświadczeniach jak w poprzedniej publikacji dotyczącej związków polifenolowych i ekstraktów hydrofilnych. Oznaczyła metodą HPLC-DAD trzy rodzaje karotenoidów likopen, β -karoten i luteinę wykazując duże zróżnicowanie zależnie od odmiany pomidorów. Największe stężenie we wszystkich badanych próbkach wykazała dla likopenu, natomiast najmniejsze dla luteiny, której brak stwierdziła w odmianach Maliniak i Lima. Proces działania wysokich ciśnień przyczynił się niezależnie od parametrów ciśnienia i czasu działania do znacznych strat karotenoidów, tym większych im dłuższy był czas obróbki wysokim ciśnieniem. Szkoda, że Doktorantka nie oznaczała form izomerów *cis* i *all-trans* likopenu, co jest istotne dla właściwości prozdrowotnych tego związku. Interesujące wyniki uzyskała Doktorantka w przypadku pomiarów aktywności przeciwutleniającej ekstraktów lipofilnych stwierdzając duże zróżnicowanie pomiędzy badanymi odmianami oraz w niektórych przypadkach zwiększenie aktywności po zastosowaniu obróbki miążgi pomidorów wysokimi ciśnieniami.

W analizie statystycznej wykazała, że o sile potencjału przeciwutleniającego w testach PCL_{ACL} i CV decydowała zawartość luteiny i β -karotenu.

Kolejna trzecia publikacja (P III) stanowiąca rozprawę doktorską mgr inż. Mai Jeż dotyczyła wpływu odmian pomidora na zdolność ekstraktów (*in vitro*) do hamowania powstawania końcowych produktów glikacji oraz aktywności enzymu konwertującego angiotensynę i aktywności acetylcholinoesterazy. Autorka wykorzystując te same odmiany pomidora gruntowego co w poprzednich pracach, oznaczyła ponownie ale już bezpośrednio bez hydrolizy metodą RP-UHPLC-ESI-MS zawartość związków fenolowych w nie oczyszczonych i oczyszczonych na żywicy Amberlite XAD-16 identyfikując 22 związki.

Szczególnie wysoko oceniam tę część badań w pracy doktorskiej mgr inż. Mai Jeż dotyczącą oceny zdolności ekstraktów surowych i oczyszczonych pomidorów do hamowania powstawania zaawansowanych, końcowych produktów glikacji w modelu BSA-GLU i BSA-MGO, aktywności enzymu konwertującego angiotensynę (ACE), a zwłaszcza dotychczas mało poznanego efektu hamowania aktywności acetylcholinoesterazy. Wyniki tych badań mają duży aspekt poznawczy i praktyczny w wykorzystaniu spożycia pomidorów w prewencji chorób układu krążenia i neurodegeneracyjnych. Ważnym osiągnięciem Doktorantki był odpowiedni zróżnicowany dobór odmian pomidorów do badań i wykazanie ich istotnego wpływu na zawartość związków bioaktywnych, aktywności przeciwutleniające, antyglykacyjne (BSA-MGO), antyhipotensyjne i antycholinergiczne.

Założenia i koncepcja rozwiązania problemu naukowego w pracy doktorskiej mgr inż. Mai Jeż były poprawne. Zostały dobrze, profesjonalnie wykonane doświadczenia, które pozwoliły na uzyskanie dużego sukcesu naukowego w zakresie wiedzy na temat związków bioaktywnych i możliwości wykorzystania techniki wysokich ciśnień w przetwórstwie pomidorów. Autorka dysponowała nowoczesną aparaturą naukową, którą w pełni wykorzystała do przeprowadzenia badań własnych.

O szczególnej wartości wyników badań mgr inż. Mai Jeż świadczy opublikowanie ich w renomowanych czasopismach naukowych jak dwie prace w Food Chemistry (IF: 6,306; punktacja MNiSW: 200) i jedną w Journal of Food Science and Technology (IF: 2,773; punktacja MNiSW: 70). Artykuły te były poddane przed publikacją ocenie wielu bardzo wymagających zagranicznych recenzentów, przyjęcie ich do druku świadczy o bardzo wysokiej ich wartości naukowej. Musiały spełniać wszystkie wymagania dotyczące sposobu przedstawienia wyników, ich interpretacji oraz dyskusji.

Ad.6. Ocena prawidłowości wnioskowania

Doktorantka na podstawie uzyskanych wyników badań przedstawiła osiem poprawnie sformułowanych wniosków. Opublikowane trzy artykuły zakończone są posumowaniem, które zawiera informacje o najważniejszych wynikach badań własnych dobrze udokumentowanych i poprawnie opracowanych statystycznie .

Ad..7. Ocena końcowa

Oceniając merytorycznie przedłożoną do recenzji pracę doktorską mgr inż. Mai Jeż stwierdzam, że Autorka wykazała się dobrą znajomością tematyki badań, dobrze dobrała surowce do badań, poprawnie wykonała doświadczenia i analizy wykazując się umiejętnością posługiwania najnowocześniejszą dostępną aparaturą analityczną uzyskując dużą ilość wartościowych wyników. Szczególnie należy podkreślić duży zakres różnorodnych, czasochłonnych analiz. Na podstawie swych badań Autorka wraz z współautorami opublikowała trzy prace w renomowanych, zagranicznych czasopismach naukowych. W dwóch publikacjach jest pierwszym autorem, świadczy to o Jej wiodącej roli w planowaniu i wykonywaniu badań oraz przygotowaniu publikacji do druku. Za te prace o wysokim łącznym IF=15,385 uzyskała 470 punktów MNiSW.

Wyniki prac mgr inż. Mai Jeż stanowią ważny wkład w poznanie aktywności związków bioaktywnych wybranych odmian pomidorów gruntowych i wpływu działania wysokich ciśnień hydrostatycznych. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską zawierają elementy nowości naukowej, zwłaszcza w zakresie badań nad wpływem odmian pomidorów na zawartość związków bioaktywnych, aktywności przeciwutleniające, antyglukacyjne (BSA-MGO), antyhipotensyjne i antycholinergiczne. Bardzo duża ilość doświadczeń wniosła wiele nowych informacji z ważnego dla nauki i praktyki zakresu badań.

Uważam, że będąca przedmiotem oceny rozprawa mgr inż. Mai Jeż w pełni odpowiada wymogom art. 179 ust.2 i 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisom wprowadzającym- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r , poz.1669), w zw. z art. 20 ust.5 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., Nr 65, poz.595 z póź. Zm)) stawianym pracom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Mai Jeż do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

