

Lublin, 06.06.2022 r.

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

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr inż. Karoliny Tkacz

pt. „Owoce rokitnika pospolitego (*Hippophaë rhamnoides*) w projektowaniu żywności  
o ukierunkowanym potencjale prozdrowotnym”  
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Anety Wojdyło

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym  
i nauce (Dz.U z 2021, poz. 478)

Podstawą opinii jest pismo prof. dr hab. Agnieszki Kity Przewodniczącej Rady  
Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego  
we Wrocławiu z dnia 26-04-2022

### **Informacje ogólne - uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej**

Tematyka żywności funkcjonalnej, jako narzędzia do ograniczania niekorzystnych tendencji populacyjnych znajduje się w kręgu zainteresowań technologów żywności, dietetyków, biologów populacyjnych od szeregu lat. Jednym z kluczowych czynników decydujących o skuteczności prewencji dietetycznej, oprócz unikalnego składu i bioaktywności nowo opracowanych produktów jest akceptowalność konsumencka, w kreowaniu której istotną rolę odgrywa ocena organoleptyczna. Zgodnie z dotychczasową



wiedzą idealnymi surowcami (produktami) są owoce i warzywa, które są doskonałym źródłem substancji działających prewencyjnie w rozwoju zespołu metabolicznego oraz innych chorób, których etiologia związana jest z niepożądanymi zachowaniami żywieniowymi obserwowanymi w krajach wysokorozwiniętych. W trend ten idealnie wpisują się badania zawarte w dysertacji, które oprócz szczegółowej analizy jakościowo-ilościowej oraz bioaktywności owoców rokitnika pospolitego obejmują ocenę linii nowych produktów oraz dodatków funkcjonalnych. Dodatkowo, charakterystyka innych części morfologicznych (stanowiących zwykle materiał odpadowy) idealnie wpisuje się w założenie produkcji „zero waste”. Z uwagi na powyższe, uważam, że badania podstawowe oraz aplikacyjne wchodzące w skład przedstawionej do oceny dysertacji są niezwykle istotne i stanowią znaczący wkład do nowoczesnej technologii żywności, dietetyki oraz prewencji populacyjnej.

### Ocena formalna pracy

Podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Karoliny Tkacz pt. „Owoce rokitnika pospolitego (*Hippophaë rhamnoides*) w projektowaniu żywności o ukierunkowanym potencjale prozdrowotnym”, stanowi 7 oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2019-2021 w czasopismach indeksowanych w Journal Citation Reports:

1. Tkacz K., Wojdyło A., Turkiewicz I.P., Bobak Ł., Nowicka P. 2019. Anti-oxidant and antienzymatic activities of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) fruits modulated by chemical components. *Antioxidants*, 8, 618.
2. Tkacz K., Wojdyło A., Turkiewicz I.P., Ferreres F., Moren, D. A., Nowicka P. 2020. UPLCPDA-Q/TOF-MS profiling of phenolic compounds and carotenoids and their influence on anticholinergic potential for AChE and BuChE inhibition and on-line antioxidant activity of selected *Hippophaë rhamnoides* L. cultivars. *Food Chemistry*, 309: 125766.
3. Tkacz K., Wojdyło A., Turkiewicz I.P., Nowicka P. 2021. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries, branches and leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104107.
4. Tkacz K., Gil-Izquierdo Á., Medina S., Turkiewicz I.P., Domínguez-Perles R.,



Nowicka P., Wojdyło, A. 2021. Phytoprostanes, phytofurans, tocopherols, tocotrienols, carotenoids and free amino acids and biological potential of sea buckthorn juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 11345.

5. Tkacz K., Chmielewska J., Turkiewicz I.P., Nowicka P., Wojdyło A. 2020. Dynamics of changes in organic acids, sugars and phenolic compounds and antioxidant activity of sea buckthorn and sea buckthorn-apple juices during malolactic fermentation. *Food Chemistry*, 332: 127382.

6. Tkacz K., Wojdyło A., Turkiewicz I.P., Nowicka P. 2021. Anti-diabetic, anti-cholinesterase, and antioxidant potential, chemical composition and sensory evaluation of novel sea buckthorn-based smoothies. *Food Chemistry*, 338, 128105.

7. Tkacz K., Wojdyło A., Michalska-Ciechanowska A., Turkiewicz I.P., Lech K., Nowicka P. 2020. Influence carrier agents, drying methods, storage time on physico-chemical properties and bioactive potential of encapsulated sea buckthorn juice powders. *Molecules*, 25(17), 3801.

Cykl publikacji stanowiących podstawę dysertacji jest wynikiem realizacji projektu w ramach programu „Diamentowy Grant” (Ministerstwo Edukacji i Nauki) pt. „Opracowanie atrakcyjnego sensorycznie produktu funkcjonalnego na bazie owoców rokitnika pospolitego z wyznaczeniem właściwości biologicznych metodami *in vitro*”, nr DI2017007047, którego kierownikiem była mgr inż. Karoliny Tkacz, pod opieką prof. dr hab. inż. Anety Wojdyło.

Całkowita punktacja publikacji wchodzących w skład dysertacji wynosi 1000 punktów wg wykazu oceny czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki, zaś sumaryczny IF (*impact factor*) – 41,462. Wszystkie publikacje wchodzące w skład dysertacji są pracami wieloautorskimi, w których Pani Tkacz jest pierwszym (autorem korespondencyjnym jest Promotor). Udział Kandydatki w ich powstawaniu (zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów) jest kluczowy i został jasno podkreślony. Ranga czasopism, w których prace zostały opublikowane oraz dotychczasowy dorobek naukowy Pani Tkacz nie pozostawiają wątpliwości, co do wysokiego poziomu naukowego i warsztatowego Kandydatki.

Przedstawione do oceny opracowanie rozpoczyna się streszczeniem w języku polskim



oraz angielskim oraz wstępem, który wprowadza w tematykę oraz potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w danej dyscyplinie naukowej. W kolejnej części Pani Tkacz jasno przedstawia hipotezę badawczą oraz wskazuje cel główny oraz cele szczegółowe mające służyć jej weryfikacji. Rozdział „Organizacja badań” charakteryzuje materiał badawczy, procesy technologiczne oraz metodologię badań. W tej części na podkreślenie zasługuje schemat organizacji badań nad owocami rokitnika pospolitego obejmujący kolejne etapy charakteryzacji surowca oraz zaprojektowanej żywności funkcjonalnej (strona 15) potwierdzający umiejętność planowania wielowątkowych badań naukowych. Główną część dysertacji stanowi rozdział „Omówienie i dyskusja wyników”, gdzie konsekwentnie omówiono i skonfrontowano z literaturą tematu uzyskane wyniki badań. Całość została podsumowana w 7 wnioskach, które odnoszą się do założonych celów szczegółowych. Dysertację kończą pełne, oryginalne wersje prac (z oświadczeniami współautorów). Reasumując, w mojej ocenie opracowanie stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Jednocześnie pragnę podkreślić, że ich zakres badań pokrywa się z podanym przez Doktorantkę tytułem dysertacji.

Ostatni rozdział (nie związany bezpośrednio z projektem doktorskim) obejmuje podsumowanie dorobku naukowego Pani Tkacz. Czuję się w obowiązku podkreślić, że dotychczasowy dorobek Aplikanta jest imponujący (HI= 10, sumaryczny IF= 135,304). Składa się na niego (prócz publikacji wchodzących w skład dysertacji) 23 publikacje naukowe, kierownictwo oraz udział w projektach finansowanych m.in. przez NCN oraz NCBiR, liczne staże naukowe i szkolenia. Wszystko to wskazuje, iż jest Ona młodym naukowcem o już znaczących osiągnięciach, który znajduje się w awangardzie młodych naukowców zajmujących się problematyką technologii żywności i żywienia.

### **Ocena merytoryczna pracy**

We Wstępie Autorka przedstawia tło badań, dokonując szczegółowej charakterystyki surowca oraz potencjalnej aktywności biologicznej. Na tle danych literaturowych wskazuje na potencjalne aplikacje owoców rokitnika wskazując jednocześnie na cechy surowca,



które mogą stanowić czynniki ograniczające w technologii i otrzymaniu akceptowalnych produktów spożywczych. Już na tym etapie konfrontuje swoje wyniki z danymi literaturowymi wskazując na potrzebę dalszych szczegółowych badań oraz optymalizacji procesów np. organicznie pożądanego smaku soków poprzez fermentację jabłkowo-mlekową, czy też proces mikroenkapsulacji. Uzasadnia również część projektu dotyczącą wykorzystania innych niż owoce części anatomicznych rokitnika pospolitego (skórki, mięszu, nasion, endokarpu, pędów i liści) nie wynikającą bezpośrednio z tematu dysertacji. Treści zostały przedstawione w sposób jasny i konsekwentny, moja drobna uwaga dotyczy jedynie sposobu określania procesu inhibicji (dotyczy również reszty opracowania). Sugerowałbym użycie zwrotu "zdolności do hamowania aktywności enzymu" zamiast będącego uproszczeniem „hamowanie enzymu”.

Sformułowana w Rozdziale II hipoteza badawcza, cele projektu (bezpośrednie odniesienia do publikacji wchodzących w skład dysertacji) oraz sposoby ich realizacji zostały jasno określone i w pełni potwierdzają zarówno poznawczy jak i praktyczny charakter badań. W kolejnej części (Organizacja badań) jasno scharakteryzowano materiał i zakres badań, co jest niezwykle istotne w przypadku faktu, że zarówno technologia jak i jakość wyjściowa surowca (odmian) determinują skład, a tym samym potencjalną bioaktywność produktów. Schemat projektu (s. 15) w sposób jasny przedstawia harmonogram i zakres badań, a zastosowane technologie oraz metody analityczne zostały wymienione odpowiednio w podrozdziałach „Procesy technologiczne” oraz „Metody badań”. Z uwagi na fakt, że szczegółowe opisy metodologii znajdują się w pełnych wersjach prac jest to w pełni akceptowalne.

Omówienie i dyskusja wyników opublikowanych w 7 publikacjach stanowiło nie lada wyzwanie, jednak muszę stwierdzić, że Pani Tkacz dokonała tego w sposób jasny i konsekwentny, a opracowanie stanowi kompilację w pełni oddając zakres badań. Chciałbym zaznaczyć, że z uwagi na fakt, iż w renomowanych czasopismach naukowych obowiązuje rygorystyczny system recenzowania w swojej recenzji nie odnoszę się bezpośrednio do załączonych manuskryptów. Treści zawarte w części „Omówienie i dyskusja wyników” zostały podzielone na 4 główne części weryfikujące założoną hipotezę badawczą. Wyniki zawarte w publikacjach 1-4 zostały scharakteryzowane w części pierwszej, obejmują



analizę frakcji biologicznie aktywnej rokitnika pospolitego. W publikacji 1 opublikowanej w czasopiśmie *Antioxidants* analizom poddano owoce sześciu odmian rokitnika pospolitego uprawianych w Polsce. Określono podstawowy skład chemiczny, skład ilościowo-jakościowy frakcji potencjalnie aktywnej (m.in. związki fenolowe, karotenoidy, kwasy tłuszczowe, kwasy tłuszczowe, tokoferole), pojemność przeciwutleniającą oraz zdolności do inhibicji aktywności hydrolaz trawiennych i 15-lipooksygenazy. Ta część badań jest niezwykle kompleksowa i wskazuje na duże umiejętności analityczne Aplikantki. Wyniki szczegółowej analizy frakcji polifenolowej i karotenoidów oraz ich potencjalnego udziału w kreowaniu aktywności przeciwutleniającej i zdolności do hamowania aktywności acetylocholinoesteraz zostały opublikowane w publikacji 2 (*Food Chemistry*). Wykazano, że badane odmiany zawierają 28 różnych związków fenolowych oraz 16 karotenoidów. Wśród polifenoli pochodne izoramnetyny stanowiły ponad 65% wszystkich flawonoli (zidentyfikowano również pochodne kwercetyny i kemferolu). Z kolei karoteny stanowiły od 19 do 47%, zaś ksantofile 16 do 81% wszystkich karotenoidów. Analiza statystyczna wykazała, że potencjał przeciwstarzeniowy wynika głównie z obecności flawonoli. W opracowaniu tym na szczególną uwagę zasługuje analiza *online* aktywności przeciwrodnikowej, która pozwala na wskazanie, który ze składników ekstraktu w rzeczywistości odpowiada za efekt prozdrowotny. Badania zwarte w publikacji 3 dokonują walidacji różnych części morfologicznych rokitnika oraz materiałów odpadowych z przetwórstwa jego owoców jako wartościowych źródeł substancji bioaktywnych o potencjalnym zastosowaniu w technologii żywności. Niezwykle ciekawym osiągnięciem zaprezentowanym w publikacji 4 (*Journal of the Science of Food and Agriculture*) jest charakterystyka soków z rokitnika pod kątem obecności dotychczas bardzo słabo scharakteryzowanej grupy metabolitów roślinnych - fitoprostanów i fitofuranów. Podobnie jak we wcześniejszych publikacjach wyniki dotyczące potencjalnej bioaktywności zostały skonfrontowane ze składem w celu wskazania związków, które w najwyższym stopniu generują efekty prozdrowotne. Wszystkie badania zaprezentowane w tej części dysertacji cechuje wysoki poziom naukowy, zarówno pod względem analityki jak i analizy wyników. Odnosząc się do podjętej próby zdefiniowania „kluczowych graczy” odpowiedzialnych za badane właściwości prozdrowotne chciałbym zwrócić uwagę, że zastosowane analizy statystyczne dostarczają jedynie części





wiedzy, a uzyskanie pełnego obrazu wymaga dalszej, pogłębionej analizy interakcji składników bioaktywnych w ekstraktach poddanych konkretnym testom.

Kolejne części dysertacji obejmują badania mające na celu bezpośrednie wprowadzenie owoców rokitnika do receptur produktów funkcjonalnych lub otrzymanie dodatków dedykowanych dla tego typu żywności. Pani Tkacz podjęła zakończoną sukcesem próbę poprawy jakości organoleptycznej soków na bazie owoców rokitnika pospolitego poprzez zastosowanie fermentacji jabłkowo-mlekowej. Proces ten prowadzony przy udziale szczepów *Lactobacillus plantarum* pozwolił na odkwaszenie soków przy jednoczesnym zwiększeniu zawartości flawonoli i wzroście aktywności przeciwutleniającej. Niewątpliwe wyniki te mają duży potencjał aplikacyjny, a zaproponowana technologia z powodzeniem może zostać implikowana do surowców o podobnej charakterystyce. Opracowanie recepturowe i optymalizacja technologii otrzymywania produktów funkcjonalnych z sokiem z owoców rokitnika pospolitego stanowiło niejako podsumowanie wcześniejszych badań (publikacja 6). Zdobyta wiedza została wykorzystana do opracowania receptur 18 funkcjonalnych *smoothies* zawierających wysoki udział soku z owoców rokitnika pospolitego, które charakteryzował wysoki potencjał prozdrowotny i akceptacja konsumentcka. Dodatek soków z rokitnika zwykle intensyfikował smak kwaśny, cierpki i gorzki jednak jednocześnie powodował wzrost zawartość flawonoli, których obecność jest pozytywnie skorelowana z właściwościami przeciwstarzeniowymi, przeciwcukrzycowymi i przeciwutleniającymi. W odniesieniu do tej części badań, chciałbym zapytać czy testowała Pani soki otrzymane we wcześniejszym etapie badań tzn. poddane fermentacji jabłkowo-mlekowej? Jednocześnie, jestem ciekawy czy z uwagi na niekorzystny wpływ frakcji lipidowej na stabilność produktów brała Pani pod uwagę wprowadzenie do receptur dodatków stabilizujących emulsję.

W ostatnim z opracowań optymalizowano technologię mikrokapsułkowanego dodatku funkcjonalnego zawierającego soki z rokitnika. Oceniono wpływ technologii mikrokapsulek i nośników polisacharydowych na właściwości fizyczne, składniki chemiczne i aktywność przeciwutleniającą mikrokapsulek. Wykazano, że optymalny nośnik stanowiła maltodekstryna, która oprócz wysokiej wydajności procesu zapewniała otrzymanie produktu o wysokim potencjale przeciwutleniającym i pożądanym cechach (niski poziom brązowienia nieenzymatycznego i HMF).



Całość projektu została podsumowana w formie 7 wniosków, które odnoszą się do założonych celów projektu. Pani Tkacz wykazała, że owoce rokitnika charakteryzuje wysoki potencjał prozdrowotny jednak jego zastosowanie ogranicza niski stosunek cukrów do kwasów wpływający na akceptowalność konsumencką. Co istotne, zaproponowała rozwiązania technologiczne i/lub recepturowe mogące zwiększyć udział owoców tej rośliny w przetwórstwie spożywczym, a tym samym zwiększyć udział tego niezwykle cennego składnika w profilaktyce przewlekłych chorób.

Reasumując, Kwalifikantka umiejętnie połączyła ze sobą zagadnienia z zakresu technologii żywności, chemii analitycznej i towaroznawstwa, a przedstawiona do oceny dysertacja obejmuje wyniki wartościowe pod względem poznawczym i aplikacyjnym. Uzyskane wyniki badań przedstawione w cyklu publikacyjnym stanowiącym podstawę dysertacji pozwoliły na pozytywne zweryfikowanie hipotezy badawczej. 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. Karoliny Tkacz pt. „Owoce rokitnika pospolitego (*Hippophaë rhamnoides*) w projektowaniu żywności o ukierunkowanym potencjale prozdrowotnym” spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim w artyku 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2021, poz. 478) i wnioskuje do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu 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 Żywnieniu Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

dr hab. Michał Świeca prof. uczelni





Lublin, 06.06.2022 r.

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

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Tkacz

Przestawiona do oceny dysertacja doktorska dotyczy tematyki niezwykle aktualnej i ma duże znacznie poznawcze i aplikacyjne. Sposób przeprowadzania badań, szeroki 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. Karoliny Tkacz. Prace wchodzące w skład dysertacji zostały opublikowane w czasopismach wiodących w dyscyplinie, a sumaryczne wskaźniki bibliograficzne (1000 punktów wg wykazu oceny czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki, sumaryczny IF-41,462) jednoznacznie potwierdzają aktualność tematu oraz wysoki poziom i jakość badań.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Wrocławiu o wyróżnienie dysertacji pt. „Owoce rokitnika pospolitego (*Hippophaë rhamnoides*) w projektowaniu żywności o ukierunkowanym potencjale prozdrowotnym” w sposób praktykowany na Wydziale Nauk o Żywności i Żywnieniu Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

dr hab. Michał Świeca prof. uczelni

