Mariusz Piskuła Olsztyn, 15.02.2021

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności

Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

ul. Tuwima 10

10-748 Olsztyn

**RECENZJA**

**Całokształtu dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego, naukowo-badawczego i współpracy międzynarodowej dr Iwony Kowalskiej oraz będącego podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie** *nauk rolniczych* **w dyscyplinie** *rolnictwo i ogrodnictwo* **Jej osiągnięcia naukowego pt. „Charakterystyka fitochemiczna oraz aktywność biologiczna (*Triticum* L.)”**

Podstawą formalną oceny jest Uchwała nr 67/2020 Rady Naukowej Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 30 listopada 2020 r. oraz pismo L.dz. RN-61/2020 z dnia 21.12.2020 r. Pana prof. dr hab. Janusza Podleśnego, Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej IUNG-PIB, w którym prowadzone jest to postępowanie.

Ocenę przygotowałem na podstawie otrzymanej dokumentacji dotyczącej wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w formie papierowej. Nie rozumiem z jakich względów Kandydatka zdecydowała się na taką archaiczną formę przekazania dokumentacji, skoro do Rady Doskonałości Naukowej (RDN) wysłała ją w wersji cyfrowej.

1. ***Informacje ogólne i przebieg pracy zawodowej Kandydatki.***

Studia wyższe pani Dr Iwona Kowalska ukończyła w roku 2004 na Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) w Lublinie na Wydziale Rolniczym na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka, specjalność analiza środków spożywczych. Na podstawie pracy pt. „Zmiany zawartości witaminy C, związków fenolowych, ich aktywności antyoksydacyjnej i aktywności amoniakoliazy L-fenyloalaniny podczas przechowywania sałaty, w roślinach kontrolnych i poddanych działaniu jonów wapniowych” pod kierunkiem prof. dr hab. Ireny Peruckiej, otrzymała tytuł zawodowy magistra inżyniera technologii żywności i żywienia człowieka.

Niedługo po ukończeniu studiów została zatrudniona w Instytucie Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Zakładzie Biochemii i Jakości Plonów, w którym bez przerwy pracuje do dzisiaj. W międzyczasie, w roku 2009, Rada Naukowa macierzystego instytutu nadała Jej tytuł doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii na podstawie pracy doktorskiej pt. „Skład i zawartość związków- fenolowych w częściach nadziemnych *Medicago truncatula* Gaertner” wykonanej pod promotorstwem prof. Anny Stochmal. Od roku 2013 pracuje na etacie adiunkta by od roku 2020, po 16 latach pracy w tym samym zakładzie, objąć jego objąć kierownictwo.

Niestety, dr Kowalska - podobnie jak parę innych osób, których karierę i dorobek naukowy przyszło mi recenzować w związku z ubieganiem się o stopień dr. habilitowanego jest Kandydatką, która nie odbyła istotnych staży naukowych krajowych lub tym bardziej zagranicznych, bo trudno do nich zaliczyć miesięczny pobyt na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie, na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej, w Katedrze Chemii Zakładu Chemii Nieorganicznej, czy pięciodniowy pobyt na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, w Pracowni Ekotechnologii Instytutu Inżynierii Biosystemów. Oba te zdarzenia miały miejsce w roku 2019, czyli dopiero po 15 latach pracy w IUNG-PIB i być może były wymogiem formalnym przed powierzeniem Kandydatce funkcji kierownika zakładu lub wiązały się z warunkiem *sine qua non* wykazania się aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednym ośrodku naukowym wymaganą od osób aspirujących do stopnia doktora habilitowanego.

Brak staży zagranicznych są przyczyną braku w Autoreferacie oczekiwanej przez RDN informacji o istotnej aktywności naukowej realizowanej przez Kandydatkę w zagranicznej uczelni lub instytucji naukowej, do czego nie zaliczam zdalnej współpracy międzynarodowej. Dłuższy staż weryfikuje wiedzę i umiejętności w obcym środowisku, a jego brak uważam za niedostatek. Słaba mobilność na początkowym etapie kariery naukowej źle wróży przyszłości kariery samej Kandydatki jak i grupy, której będzie przewodzić po uzyskaniu statusu tzw. samodzielnego pracownika naukowego. W dodatku, jeżeli Kandydatka planuje uzyskanie tytułu profesora nadal pracując bez przerwy w IUNG-PIB w Puławach, będzie to kolejny przypadek nieelegancko określany „chowem wsobnym”.

Dokumentacja zawiera także informacje o kursach i szkoleniach wymienionych przez Kandydatkę jako elementu podnoszenia własnych kompetencji. Składa się na to 10 pozycji, z których cztery, 2-3 dniowe kursy dotyczące spektrometrii mas i metod statystycznych można bez wahania uznać jako podnoszące kwalifikacje dr Kowalskiej jako badacza. Pozostałe to nieistotne parogodzinne warsztaty tematyczne organizowane przez IUNG-PIB czy podobne szkolenia dotyczące aplikowania o projekty naukowe. Zupełnie nie rozumiem co w tym zestawieniu robi wydarzenie „Potencjał lubelskiego środowiska naukowego i biznesowego w zakresie żywności funkcjonalnej” organizowane przez Uniwersytet Medyczny w Lublinie (12.12.2017) ?

Na zakończenie tej części oceny należy wspomnieć o Jej współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym, które poległo głównie na udziale w wykonywaniu prac zleconych przez firmy sektora rolno-spożywczego polegających na analizach ilościowo-jakościowych metabolitów wtórnych roślin, określaniu aktywności antyoksydacyjnej i opracowywania raportów z uzyskanych wyników badań.

1. ***Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego.***
	1. ***Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne***

Charakter pracy w instytucie badawczym nie sprzyja budowaniu dorobku dydaktycznego. Pomimo tego dr Kowalska legitymuje się osiągnięciami, które należy uznać za wystarczające dla Kandydata do stopnia doktora habilitowanego. Pełniła funkcję opiekuna naukowego 5. studentów i doktorantów z zagranicy (Włoch, Gruzji, Egiptu i Tunezji) w czasie ich pobytu w Jej macierzystym zakładzie. Opiekowała się także uczniami szkół średnich, stażystami krajowych ośrodków naukowych oraz studentami Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (łącznie 8. osób). Kandydatka aktualnie pełni funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim mgr inż. Edyty Aleksandrowicz, wszczętym dnia 26.04.2019 w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie agronomia, specjalność: jakość surowców roślinnych, wykonującej pracę pt. „Ocena kumulacji mykotoksyn i składników bioaktywnych w ziarnie odmian pszenicy ozimej jako reakcji na stres wywołany zakażeniem grzybami rodzaju *Fusarium,”*  pod opieką prof. dr hab. Grażyny Podolskiej.

Zaangażowanie Kandydatki w działalność organizacyjną pojawiło się dopiero po uzyskaniu stopnia doktora. Dr Kowalska była członkiem komitetów organizacyjnych dwóch konferencji krajowych oraz trzech o zasięgu międzynarodowym, wszystkie odbyły się w Puławach. Dodatkowo, w jednej z tych konferencji była także członkiem komitetu naukowego.

Ku mojemu zdziwieniu Kandydatka niestety nie należy żadnej międzynarodowej lub nawet krajowej organizacji czy towarzystwa naukowego. Nie mam wątpliwości, że jest to związane z wieloletnia pracą na stanowiskach nienaukowych, kiedy to te aspekty działalności są pomijane.

Za osiągniecia w swojej pracy naukowej była dwukrotnie nagradzana Nagrodą zespołową Dyrektora IUNG-PIB I i II stopnia a Jej praca doktorska została wyróżniona przez Radę Naukową tego samego Instytutu.

* 1. ***Osiągnięcia popularyzatorskie***

Popularyzacja nauki jest to sfera działalności naukowej, która w ostatnich czasach nabiera istotnego znaczenia. Wynika z obowiązku informowania społeczeństwa o badaniach prowadzonych w jednostkach naukowo-badawczych za, było nie było, pieniądze podatników. Dr Iwona Kowalska nie wymienia w złożonej dokumentacji jakichkolwiek przejawów takiej działalności co jest pewnym niedostatkiem osoby ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego. I tu podobna sytuacja jak z przynależnością do organizacji i towarzystw. Prawdopodobnie Kandydatka zbyt krótko pracowała na stanowisku naukowym, z którym działalność popularyzatorska jest/powinna być nierozerwalnie związana, by móc się wykazać aktywnością na tym polu.

* 1. ***Współpraca międzynarodowa***

Współpraca międzynarodowa to najsłabsza strona dr Kowalskiej. Nie odbyła żadnego istotnego zagranicznego (ani krajowego) stażu. Nie należy do komitetów redakcyjnych i rad naukowych międzynarodowych czasopism. Nie recenzowała projektów międzynarodowych (ani krajowych bo nie znalazłem nic na ten temat w przedstawianej dokumentacji). Obraz ten nieco poprawia uczestnictwo jako wykonawca w realizacji międzynarodowych projektów: FP 6. projekt NUTRA-SNACKS, FP7. projekt PROFICIENCY czy projekt OSCAR. Nie mniej trzeba zauważyć, że ta współpraca międzynarodowa jest wynikiem znalezienia się Kandydatki w odpowiednim czasie w odpowiednim miejscu, bo liderami w nich byli ówcześni bezpośredni przełożeni Kandydatki pracującej na etacie technicznym. Podobnie, jak podejrzewam, wykazana w punkcie 17.2 współpraca z 5. zagranicznymi jednostkami naukowymi (Uniwersytet w Salerno – Włochy; Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research –Niemcy; Gazi University –Turcja; Bahcesehir University – Turcja; The University of Alabama – USA). W tym miejscu wspomnę o współpracy krajowej. Takich ośrodków dr Kowalska wymienia 7. z czego 4. to sąsiedzkie ośrodki lubelskie, i po jednym z Łodzi, Szczecina i Rzeszowa.

Bezsprzecznie jasnym puntem aktywności naukowej Kandydatki jest wykonanie imponującej liczby 74 recenzji artykułów złożonych do czasopism o zasięgu międzynarodowym, co pośrednio świadczy o uznaniu pozycji eksperckiej dr Kowalskiej w międzynarodowym obiegu naukowym. Niestety, te kompetencje nie przełożyły się na zaproszenia do uczestnictwa w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych czy wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy i/lub dydaktyczny.

Podsumowując ocenę przedstawionych dotychczas obszarów działalności Kandydatki stwierdzam, że osiągnięcia w sferze dydaktycznej i organizacyjnej są zadawalające. Sfera popularyzatorska praktycznie nie istnieje. Poza robiącym wrażenie pełnieniem funkcji recenzenta w czasopismach międzynarodowych, niestety praktycznie brak jest innej indywidualnej działalności międzynarodowej. Jeżeli nic w tej kwestii się nie zmieni, to po uzyskaniu stopnia doktora habilitowanego Instytutowi przybędzie samodzielny pracownik naukowy o lokalnym zakresie działania.

1. ***Ocena osiągnięć naukowo-badawczych***
	1. ***Formalna analiza dorobku publikacyjnego i naukowo-badawczego z wyłączeniem osiągnięcia naukowego będącego podstawą wystąpienia o stopień doktora habilitowanego.***

Zestawienie dorobku publikacyjnego dr Iwony Kowalskiej przedstawione w Załączniku 4 jasno oddziela osiągnięcia do czasu uzyskania stopnia doktora od tych, które stanowią podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego podzielone jest wg. standardowych ‘kategorii osiągnięć’. Co prawda w podsumowaniu kolumn przy pozostałych publikacjach objętych przez Journal of Citation Reports (JCR) podano liczbowo ile z nich powstało przed a ile po doktoracie, ale w tabelarycznym zestawieniu czasopism takie rozróżnienie też powinno się znaleźć. .

Przed doktoratem dr Kowalska była współautorem 2 prac w czasopismach JCR. Po uzyskaniu stopnia doktora, takich prac było 22 (łącznie 5. stanowiącymi tzw. osiągnięcie habilitacyjne). Jest to z pewnością istotne powiększenie dorobku publikacyjnego, aczkolwiek o ile przed doktoratem w 1. z 2. prac była pierwszym autorem to po doktoracie, wyłączając osiągnięcie naukowe, tylko w 2. z 18. jest pierwszym autorem a w 3. ostatnim (nie wiadomo czy korespondencyjnym). Ponieważ przy każdej pracy brak jest deklaracji o udziale/wkładzie intelektualnym Kandydatki oraz czy były one do tej pory „wykorzystywane” przy ubieganiu się o stopnie/tytuły naukowe, trudno o inny wniosek niż ten, że Kandydatka była po prostu członkiem zespołu wykonywującego badania. Całość publikacji recenzowanych z okresu po doktoracie dopełnia jedna praca spoza obecnego wykazu ministerialnego. Ciekawe ile dorobek publikacyjny dr Kowalskiej wypełniłby tzw. „slotów ewaluacyjnych” w koncepcji obecnie lansowanej przez MEiN?

Wartości współczynnika wpływu (impact factor) czasopism, w których dr Kowalska publikowała po doktoracie mieściły się w przedziale od 0,638 *(Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*) do 4,298 (*Phytochemistry Review*). Pozostając przy parametrach bibliometrycznych, z których część moim zdaniem jest przeceniana/mało użyteczna, przytaczam za Kandydatką:

* sumaryczny Impact Factor publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR)

zgodnie z rokiem opublikowania wynosi IF = 61,668

* liczba cytowań publikacji:
	+ według bazy Web of Science (WoS) - 250 (222 bez autocytowań);
	+ według bazy Scopus - 262 (232 bez autocytowań);
* indeks Hirscha - 10
* punkty wg. jednolitej koncepcji MNiSW z dnia 18.12.2019 – 2310 punktów

Celowo pominąłem wartości dla publikacji w suplementach, ponieważ prace nie recenzowane uważam za małowartościowe. Całość dopełniają 2. monografie, obie powstałe po doktoracie, jedna w języku polskim i jedna w języku angielskim. Biorąc po uwagę cały dorobek publikacyjny dr Kowalskiej oraz powiązane z nim parametry/wskaźniki naukometryczne uważam, że lokuje się on w stanach średnich.

Liczba komunikatów naukowych dr Kowalskiej na konferencjach po doktoracie wzrosła pięciokrotnie. Przede wszystkim uwagę zwraca zwiększenie uczestnictwa w konferencjach międzynarodowych a zwłaszcza pojawienie się 2. prezentacji ustnych, które uważam za najcenniejsze w tej formie aktywności naukowej. Zaznaczyć należy, że tylko jedna z tych konferencji odbyła się za granicą, w Australii, natomiast druga w Lublinie. Podobnie jak to miało miejsce z konferencjami krajowymi, gdzie nastąpił wzrost z 1. do 3., z uwagą, że te 3. miały miejsce w Puławach. Tą sferę aktywności Kandydatki oceniam zadowalająco.

Dr Kowalska w swoim dorobku nie ma wykonanych ekspertyz (oprócz raportów z prac zleconych), w latach 2011-2014 kierowała jednym projektem finansowanym przez NCN. W tym miejscu trzeba dodać, że projekt został „rozliczony” w 2016. Wszystkie 5. publikacji stanowiących osiągnięcie habilitacyjne powstały jako rezultat tego projektu, a co zadziwiające, 4. z nich parę lat po „rozliczeniu” z NCN (2019, 2019, 2020, 2020). Po zakończeniu tego projektu Kandydatka 4-krotnie aplikowała do NCN o sfinansowanie kolejnego własnego projektu, niestety bez sukcesu. Podobny los spotkał 3 inne projekty, w których miała być wykonawcą. Projektów wykonywanych w ramach działalności statutowej Instytutu, czy w ramach tzw. programów wieloletnich, niezależnie od pełnionej w nich funkcji nie uwzględniam jako dorobku indywidualnego, ponieważ wykonywane były w ramach obowiązków służbowych dr Kowalskiej. Zgodnie z przedstawianymi informacjami, oprócz wcześniej wymienionym udziale w realizacji projektów zagranicznych, była także wykonawcą w 5 innych projektach. Jednym z ówczesnego MNiSW kierowanym przez prof. Annę Stochmal oraz w 4. przyznanych dr hab. Beacie Feledyn-Szewczyk przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

 Oceniając łącznie ww. projekty i charakter udziału Kandydatki w ich realizacji uznaję te osiągnięcia jako zadowalające.

* 1. ***Ocena dorobku naukowo-badawczego z wyłączeniem osiągnięcia naukowego będącego podstawą wystąpienia o stopień doktora habilitowanego.***

Pierwsze szlify młodego naukowca dr Kowalska otrzymała w czasie stażu w Zakładzie Biochemii i Jakości Plonów, IUNG-PIB w Puławach w którym, jaka pokazała historia pracuje do dzisiaj.

Zajmowała się izolacją, identyfikacją, analizą jakościową i ilościową oraz badaniem polimorfizmu metabolitów wtórnych roślin, głównie związków fenolowych lucerny *Medicago truncatula.* Z części nadziemnych odmiany Jemalong Al7 zebranych w czasie 3-letnich doświadczeń polowych wyizolowała 23. związki flawonoidowe, w tym 20 flawonów i 3 flawonole. Osiągnięciem naukowym było opisanie po raz pierwszy 8. spośród nich, nie znalezionych dotychczas w żadnym innym gatunku roślin. Struktura wyizolowanych flawonoidów została ustalona z wykorzystaniem spektrometrii mas oraz wodorowego i protonowego, jądrowego rezonansu magnetycznego ('H i 13C NMR). Pozwoliło to na opracowanie metody ultrasprawnej chromatografii cieczowej (UPLC) do ilościowego oznaczania jakościowego i ilościowego flawonoidów w liściach i łodygach trzech odmian *M. truncatula* (M *truncatula* var *truncatula*, *M. truncatula* var *longispina* i *M. truncatula* Jemalong Al7). Wyniki te weszły w skład Jej wyróżnionej pracy na stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii. W międzyczasie Habilitantka angażowana była w inne bieżące badania Zakładu, w którym wykonywała prace na stopień doktora. Między innymi zajmowała się opracowaniem metody uzyskania wodnego ekstraktu z części nadziemnych mięty *(Mentha longifolia* L.).

Po uzyskaniu stopnia doktora, jak sama to określiła Kandydatka, z czym się całkowicie zgadzam, Jej dwa główne obszary działalności naukowo-badawczej to:

* **charakterystyka fitochemiczna roślin uprawnych,**
* **źródła związków o właściwościach antyoksydacyjnych**.

Przy czym ten pierwszy bezwzględnie należy uznać za dominujący.

Już jako ukształtowana fitochemiczk, z opanowanym warsztatem badawczym, przez pewien czas po doktoracie Habilitantka nadal zajmowała **lucerną** *M. truncatula,* ale tym razem izolacją i identyfikacją związków fenolowych z jej korzeni*.* I znowu, spośród 7. wyizolowanych związków, 3. glikozydy fenolowe były związkami dotychczas nie opisanymi w literaturze naukowej, których struktury chemiczne, podobnie jak w przypadku części naziemnych tej rośliny, zostały określone w ramach współpracy z Uniwersytetem w Salerno, Włochy.

Badania metabolitów drugorzędowych lucerny *(Medicago* L.) przez dr Kowalską wykazały, że rośliny rodzaju *Medicago* zawierają szereg związków biologicznie aktywnych. Z uwagi na pojawiające się nowe odmiany tej rośliny oraz stosowanie w uprawie szczepionek, zawierających bakterie symbiotyczne, analizowała ich wpływ na skład chemiczny lucerny i zawartość związków aktywnych, jak również efektywność takiego systemu nawożenia.

W tym miejscu zaniepokoiło mnie stwierdzenie dr Kowalskiej o uzupełnieniu i opublikowaniu pozostałych wyników badań zawartych w Jej pracy doktorskiej. Dotyczy to 4. artykułów naukowych, co do których pozostaje pytanie w jakim stopniu należy je traktować jako dorobek publikacyjny po doktoracie, a w jakim sprzed doktoratu ?.

Ze względu na globalne znaczenie gospodarcze, znaczną część swoich badań Habilitantka poświeciła **pszenicy *(Triticum* L.)**. Pszenica była też obiektem, na którym zbudowała swoje osiągnięcie habilitacyjne w ramach projektu, którym kierowała. Była również wykonawcą badań nad pszenicą w zakresie doboru odmian zbóż jarych, oceny i poprawy jakości plonu współczesnych i dawnych odmian pszenicy jarej oraz ich przydatności dla przemysłu piekarskiego i makaronowego oraz ich potencjału prozdrowotnego. Pełnienie funkcji promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim mgr inż. Edyty Aleksandrowicz wiąże się z współuczestnictwem dr Kowalskiej w analizie porównawczej wybranych metabolitów pierwotnych i wtórnych ziarna pszenicy. Nadal pracuje nad charakterystyką metabolitów wtórnych ziarna pszenicy, obecnie w celu określenia wpływu preparatów z siarką na zawartość kwasów fenolowych, alkilorezorcynoli oraz ich aktywność antyoksydacyjną.

Kolejnym obiektem badań Habilitantki, mieszczącym się w obszarze „charakterystyka fitochemiczna roślin uprawnych” była **koniczyna *(Trifolium* L.)**. Roślina ważna w medycynie i żywieniu zwierząt gospodarskich. Podobnie jak w przypadku innych roślin, dr Kowalską zainteresowała analiza fitochemiczną różnych gatunków koniczyn pod kątem możliwości ich wykorzystania profilaktycznego i leczniczego. W prowadzonych badaniach Habilitantka zajęła się wyizolowaniem i identyfikacją wtórnych metabolitów różnych gatunków koniczyn, w tym ustaleniem ich struktury chemicznej, określeniem aktywności biologicznej oraz opracowaniem metod ich oznaczania. Poprzez analizę spektroskopii masowej (ESI-MS) oraz wodorowego i węglowego, jądrowego rezonansu magnetycznego (1H i 13C NMR) dr Kowalska zidentyfikowała w częściach naziemnych *T. scabrum* 16 związków po raz pierwszy. Występujących w dużych ilościach, większych niż w soi - 14 izoflawonów (aglikony i ich glikozylowane pochodne) oraz 2 glikozydy flawonoli. Po przeanalizowaniu ich aktywności ich przeciwutleniającej zaproponowała aby ekstrakt z *T. scabrum* używać jako składnika żywności funkcjonalnej lub suplementu diety.

W ramach analizy fitochemicznej dr Kowalska incydentalnie badała związki fenolowe **w kiełkach wybranych roślin bobowatych** m.in. soczewicy (*Lens* Mill.), wyki (*Vicia* L.), koniczyny (*Trifolium* L.) oraz lucerny (*Medicago* L.) znajdujących coraz szersze uznanie ze względu na ich wartości odżywcze oraz w **wybranych produktach spożywczych**: naparach kawy palonej, imbiru oraz kardamonu, a także w ekstraktach z chili, sałaty, cebuli i orzecha włoskiego.

Najwyższą zawartością polifenoli ogółem pośród badanych kiełków charakteryzowały się ekstrakty kiełków soczewicy, a następnie wyki kosmatej. Natomiast analiza profili polifenolowych w naparach wodnych wybranych produktów spożywczych techniką UPLC/MS przed i po ich trawieniu *in vitro* wykazała, że w naparze kawy przed trawieniem występowały głównie związki z grupy kwasów hydroksycynamonowych, których zawartość obniżyła się po tym procesie. Z kolei analiza naparu imbiru przed i po trawieniu *in vitro* pozwoliła na zidentyfikowanie 5. związków, które były nadal obecne w naparze po trawieniu. Podobnie analiza związków fenolowych w wodnym naparze z cynamonu wykazała obecność 8. związków, które nadal były obecne po trawieniu.

Habilitantka określała także skład fitochemiczny **roślin energetycznych i biomasy drzewnej** pod kątem możliwości ich zastosowania w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym czy spożywczym. Przeanalizowała robiącą wrażenie liczbę roślin: kukurydzę (*Zea mays* L.), sorgo *(Sorghum bicolor),* rdestowiec sachaliński (*Fallopia sachalinensis*), rdestowiec japoński (*Fallopia japonica*), topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), miskant olbrzymi (*Miscanthus giganteus*), mozgę trzcinową (*Phalaris arundinacea* L.), proso rózgowate (*Panicum virgatum* L.), rożnik przerośnięty (,*Silphium perfoliatum),* wierzbę *(Salix* spp.) oraz robinię akacjową (*Robinia pseudoacacia*).

Drugim obszarem badań dr Kowalskiej po uzyskaniu stopnia doktora były **źródła związków o właściwościach antyoksydacyjnych**. W tym przypadku uwaga Kandydatki skierowana była na ocenę właściwości antyoksydacyjnych czystych związków i ekstraktów roślinnych. Wątek ten przeplata się przy przeprowadzonej do tego miejsca analizie osiągnięć naukowo-badawczych i samego osiągniecia naukowego czy wykonywanych analiz na zlecenie. Zainteresowanie tym obszarem wzięło się z obserwacji, z których wynika, że wolne rodniki tlenowe biorą udział w patomechanizmie wielu schorzeń i chorób.

Do tego celu Habilitantka wykorzystywała chromatografię cienkowarstwową (test TLC-DPPH**.**), modyfikowaną w zależności od charakterystyki fizyko-chemicznej badanej próby. Porównawcza analiza ilościowa oparta była o komputerową analizę obrazu. Przy pomocy takich narzędzi określiła aktywność przeciwutleniającą metabolitów wtórnych lucerny (*Medicago sativa* L. i *Medicago Iruncatula* L.), związków fenolowych z hodowli *in vitro Medicago truncatula,* substancji biologicznie aktywnych różnych gatunków rodzaju *Trifolium* (w tym izoflawonów części nadziemnych *Trifolium scabrum* L.), związków fenolowych kiełków roślin bobowatych, flawonoidów z części nadziemnych soczewicy *(Lens culinaris*), ekstraktów kiełków roślin jadalnych, związków fenolowych izolowanych z części nadziemnych pszenicy (*Triticum aestivum L.),* alkilorezorcynoli oraz kwasówfenolowych ziarna pszenicy ozimej i jarej, holopasożytów z rodzaju *Orobanche,* związków aktywnych miodunki, chmielu, mniszka, rdestowca, nawłoci, jęczmienia, gryki, warzyw dyniowatych (dyni, cukinii, ogórka, patisona białego i żółtego) i astrowatych (cykoria, sałata zielona i czerwona, topinambur). Lista obiektów robi wrażenie.

Kładąc na szalę z jednej strony projekty, którymi dr Kowalska kierowała a z drugiej projekty, w których brała udział jako wykonawca oraz brak informacji o charakterze Jej udziału w publikacjach stanowiących dorobek po uzyskaniu stopnia doktora, nie mam pewności czy te dwa zadeklarowane przez Nią podstawowe obszary zainteresowań naukowych są efektem autonomicznych decyzji dr. Kowalskiej, czy raczej pochodną miejsca, w którym pracowała.

* 1. ***Ocena osiągnięcia naukowego będącego podstawą wystąpienia o stopień doktora habilitowanego.***

Osiągnięciem naukowym, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) przedstawionym przez Habilitantkę jest cykl 5. publikacji pod wspólnym tytułem: „Charakterystyka fitochemiczna oraz aktywność biologiczna pszenicy (*Triticum* L.)”

W 4. z 5. prac wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantka pełni funkcję autora korespondencyjnego, pozycję, która w powszechnym rozumieniu zarezerwowana jest dla autora wiodącego. Jej zadeklarowany udział w powstanie tych prac, oznaczonych numerami 1,2,3,5, wyrażony procentowo wynosi (65%, 60%, 70%, 65%). Jedynie w pracy numer 4, w której Kandydatka nie pełni funkcji autora korespondencyjnego, swój udział oszacowała na 50%. Znalazło to potwierdzenie w stosownych oświadczeniach współautorów stwierdzających ich mniejszościową rolę w powstawaniu poszczególnych publikacji. Przedstawiony cykl publikacji spaja projekt własny dr Kowalskiej finansowany przez NCN w ramach którego powstał: „Charakterystyka metabolitów wtórnych (związki fenolowe, saponiny, kwasy hydroksamowe) pszenicy jako element badań genomiki funkcjonalnej roślin zbożowych”. Chociażby z tego względu nie mam wątpliwości, że przedstawiony jako osiągnięcie cykl prac jest monotematyczny.

Obiektem badań były **części nadziemne** oraz **ziarna** jarych i ozimych **odmian pszenicy**, uprawianych w różnych systemach gospodarowania, **ekologicznym i konwencjonalnym**.

Podstawowym celemprzeprowadzonych badań była zawansowana analiza fitochemiczna prób pszenicy wraz z oceną aktywności przeciwutleniającej wybranych związków i ekstraktów w ambitnym kontekście ich potencjalnego wykorzystania w prewencji niezakaźnych chorób przewlekłych.

W pierwszym rzędzie Habilitantka zajęła się izolacją i ustaleniem struktur wyizolowanych związków fenolowych z części nadziemnych pszenicy *Triticum aestivum* L. var. Legenda. Analiza ekstraktów metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS wykazała, iż frakcja fenolowa – podstawowy obiekt zainteresowań dr Kowalskiej, zawiera głównie kwasy fenolowe i flawonoidy. Wśród 14. wyizolowanych i oczyszczonych związków fenolowych, 3 okazały się być związkami nie opisanymi dotychczas w literaturze naukowej. Przy użyciu nowych i posiadanych wzorców pojedynczych związków opracowała nową metodę UPLC i wykonała analizę ilościową związków fenolowych w ekstrakcie z części nadziemnych *T. aesthmm* var. Legenda by następnie określić ich aktywność przeciwutleniającą techniką chromatografii cienkowarstwowej (test TLC-DPPH). Ostatecznie wykazała, że pochodne kwasu kawowego i glikozydy luteolinowe, z wolną grupą hydroksylową w pozycji C7, były głównymi związkami frakcji fenolowej *Triticum aestivum* L. wychwytującymi wolne rodniki.

Kontynuując swoje poszukiwania Kandydatka postawiła pytanie czy i w jakim stopniu ekologiczny system uprawy wpływa na kumulację w częściach nadziemnych pszenicy metabolitów wtórnych o właściwościach przeciwutleniających. Seria pracochłonnych analiz fitochemicznych i testów aktywności antyoksydacyjnej doprowadziły Ją do stwierdzenia, że sumaryczna zawartość związków fenolowych w odmianach pszenicy uprawianych w systemie ekologicznym była dwukrotnie wyższa w pszenicach jarych niż w pszenicach ozimych. Co więcej, w próbach roślin z uprawy ekologicznej stwierdziła większą zawartość kwasów fenolowych, a w próbach z systemu konwencjonalnego flawonoidów. W odmianach pszenicy jarej flawonoidy występowały średnio w ilości 10-krotnie wyższej niż kwasy fenolowe a średnie zawartości badanych związków były zdecydowanie wyższe w odmianach pszenicy jarej niż w odmianach ozimych. Wyniki testów TLC-DPPH**.** wykazały, że odmiany pszenicy jarej stanowiły na ogół bogatsze źródło związków o właściwościach antyoksydacyjnych niż odmiany ozime. Porównując aktywność antyoksydacyjną odmian pszenicy ozimej uprawianych w obu systemach gospodarowania wykazała, że analizowane odmiany w uprawach konwencjonalnych miały wyższą średnią aktywność przeciwutleniającą.

Pozostając przy poszukiwaniu relacji pomiędzy odmianą pszenicy, systemami gospodarowania a związkami fenolowymi dr Kowalska zawęziła szerokie spektrum tych związków do przeanalizowania benzoksazynonów (kwasów hydroksamowych i ich glikozydów) w częściach nadziemnych odmian ozimych i jarych pszenicy. Stosowała wyrafinowane analizy instrumentalne świadczące o Jej wysokich kwalifikacjach analitycznych. Porównując zawartość benzoksazynonów w tych samych odmianach pszenicy uprawianych systemie ekologicznym i konwencjonalnym, wykazała wyższą ich zawartość w uprawach ekologicznych. Dodatkowo zaobserwowała, że odmiany ozime zawierały mniej benzoksazynonów niż odmiany jare. Ponieważ wysokie stężenie benzoksazynonów w częściach nadziemnych pszenicy jest istotne dla jej odporności na szkodniki i choroby, obserwacja ta jest cenna w kontekście prac hodowlanych w kierunku nowych odmian pszenicy do upraw ekologicznych w związku ze rosnącym zapotrzebowaniem na tzw. produkty ekologiczne.

Przechodząc do właściwości antyoksydacyjnych związków fenolowych pszenicy, dr Kowalska skupiła się na 2. z 14 związków fenolowych zidentyfikowanych w części nadziemnej pszenicy. Były to pochodne apigeniny różniące się miedzy sobą rodzajem cząsteczki cukru w pozycji C6 - klasyczny przykład „structre antioxidative properties realtionship”. Stawiając sobie ambitny cel, Habilitantka badała wpływ tych związków na procesy krzepnięcia krwi i stres oksydacyjny w osoczu *in vitro.* Określała ilościowo peroksydację lipidów osocza poprzez pomiar substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym oraz szeregu innych mierników stresu oksydacyjnego. Ostatecznie skonkludowała, że obie pochodne apigeniny miały różny wpływ na procesy krzepnięcia i biomarkery stresu oksydacyjnego w osoczu, aczkolwiek oba związki wykazywały działanie przeciwutleniające. Jak deklaruje Habilitantka, były to pierwsze dane pokazujące wpływ apigeniny i jej pochodnych na procesy krzepnięcia i stres oksydacyjny *in vitro*.

Moim zdaniem zabrakło tu krytycznej oceny przydatności wyników testów *in vitro* w odniesieniu do sytuacji *in vivo*. Spożyte z żywnością związki fenolowe podlegają intensywnemu metabolizmowi. Jako ksenobiotyki, na poziomie bariery jelitowej i wątroby ulegają koniugacji z kwasem glukuronowym i siarkowym oraz modyfikacji w procesach metylacji i hydroksylacji, nie wspominając o katabolicznym rozpadzie do niskocząsteczkowych pochodnych przez mikrobiotę jelita grubego. Z tego względu rozciąganie wyników *in vitro* do hipotetycznych efektów profilaktycznych na poziomie systemowym organizmu człowieka jest dalece nieuprawnione, przynajmniej bez rozpoznania biodostępności badanych związków w układzie LADME (***L****iberation*, ***A****bsorption,* ***D****istribution*, ***M****etabolism*, ***E****xcretion/elimination).*

Ostatni cykl badań wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego dotyczył ziaren pszenicy. Przy pomocy opracowanej do tego celu metody UPLC, dr Kowalska określiła skład i zawartość alkilorezorcynoli w ziarnie odmian pszenicy jarej i ozimej uprawianych w obu systemach, ekologicznym i konwencjonalnym, stosując jak zwykle swój świetny warsztat fitochemiczny.

Sumaryczna zawartość alkilorezorcynoli w ziarnach pszenicy ozimej i jarej uprawianych w systemie ekologicznym była porównywalna. Habilitantka wykazała, także że odmiany uprawiane w systemie konwencjonalnym zawierały niższą zawartość, niż te same odmiany uprawiane w systemie ekologicznym.

Podobnie jak w przypadki benzoksazynonów, charakterystyka alkilorezorcynoli - związków korzystnych dla zdrowia człowieka obecnych wziarnie pszenicy- ma istotne znaczenie dla przemysłu rolno-spożywczego w programach hodowlanych dla rozwoju odmian pszenicy chlebowej o wysokiej zawartości tych prozdrowotnych związków.

Po charakterystyce jakościowej i ilościowej alkilorezorcynoli, Habilitantka oceniała ich aktywność antyoksydacyjną przy pomocy zmodyfikowanej i zoptymalizowanej do tego celu metodą TLC-DPPH**.**, uprzednio stosowanej przy analizie aktywności antyoksydacyjnej części nadziemnych pszenicy. Wyniki analiz wykazały, że odmiany pszenicy jarej są na ogół bogatszym źródłem związków o właściwościach antyrodnikowych niż odmiany ozime oraz, że aktywność zmiatania wolnych rodników pszenicy jarej oraz pszenicy ozimej była istotnie wyższa w uprawach ekologicznych. W podsumowaniu, Habilitantka wskazała na zdolność do zmiatania wolnych rodników przez alkilorezorcynole ziaren jako potencjalne źródło naturalnych przeciwutleniaczy do ochrony ziarna podczas jego przetwarzania i przechowywania.

Podsumowując analizowane osiągnięcie naukowe uważam, że zawiera ono duży ładunek poznawczy, powstało przy użyciu nowoczesnych metod analitycznych świadczących o wysokich kompetencjach Kandydatki jako fitochemiczki. Zwłaszcza ze względu na charakterystykę chemiczną związków fenolowych obecnych w częściach nadziemnych i ziarnie pszenic jarych i ozimych uprawianych w systemach konwencjonalnych i ekologicznych. Szczególnym ładunkiem poznawczym jest identyfikacja i opisanie po raz pierwszy 3. związków w częściach nadziemnych pszenicy. Reasumując, przedstawione osiągnięcie naukowe i jego spójność z całokształtem dorobku dr Kowalskiej wnosi istotny wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

***Wniosek końcowy***

Na podstawie dokonanej oceny dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego, naukowo-badawczego i współpracy międzynarodowej oraz przedstawionego indywidualnego osiągnięcia będącego podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, pomimo pewnych mankamentów wskazanych w recenzji, wnoszę o dopuszczenie dr Iwony Kowalskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

prof. dr hab. Mariusz K. Piskuła