

Prof. dr hab. inż. Wiesław F. Skrzypczak
Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

OCENA

osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej oraz osiągnięć dydaktycznych,
organizacyjnych i popularyzujących naukę
dr Anny Katarzyny Stępniewskiej

Recenzja w postępowaniu w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych,
dyscyplinie zootechnika i rybactwo, przygotowana na wniosek Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (pismo NE.5210.3.1.2023 z dnia 26.05.2023 roku)

1. INFORMACJE OGÓLNE O KANDYDATCE

Anna Stępniewska ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, na kierunku chemia. Pracę magisterską nt. *Oznaczanie kadmu i amarantu metodą analizy stripingowej z zastosowaniem błonkowej elektrody ołowiowej*, wykonała pod opieką prof. dr hab. Mieczysława Korolczuka i 30 czerwca 2008 roku uzyskała tytuł zawodowy magistra.

W 2008 roku rozpoczęła studia doktoranckie w macierzystej Uczelni, w Katedrze Chemii Analitycznej Instytutu Nauk Chemicznych, które ukończyła w 2012 roku. Przewód doktorski przeprowadziła Rada Wydziału Chemii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, która uchwałą z dnia 25 września 2012 roku nadała Annie Stępniewskiej stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk chemicznych, w dyscyplinie chemia. Podstawą była rozprawa doktorska pt. *Analiza stripingowa wybranych pierwiastków z uwzględnieniem ich specjacji*. Promotorem pracy był prof. dr hab. Mieczysław Korolczuk.

W 2012 roku została zatrudniona w Katedrze Biochemii i Toksykologii na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt (obecnie: Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki) UP w Lublinie, na stanowisku asystenta. Od 2013 roku, do chwili obecnej, jest adiunktem w tej jednostce organizacyjnej.

2. OCENA OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

2.1. Ogólna ocena dorobku naukowego (dane naukometryczne)

Dorobek naukowy Habilitantki obejmuje 48 oryginalnych prac twórczych, w tym: 47 opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie JCR (44 prace zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Sumaryczny IF tych prac wynosi 112,744 (104,822 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Łączna liczba punktów wg wykazu MEN wynosi, według roku opublikowania, 3529 pkt. (3442 pkt. po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Liczba cytowań wg. bazy Web of Science (na dzień złożenia wniosku) wynosiła 333 (297 bez autocytowań), a indeks Hirscha 10.

Wszystkie oryginalne prace twórcze są współautorskie. Doktor Anna Stępniewska jest pierwszym autorem w 8 pracach, drugim autorem w 9 pracach, w 20 pracach występuje na trzecim, a w 11 pracach na dalszym miejscu.

Oryginalne prace twórcze zostały opublikowane w następujących czasopismach naukowych, posiadających współczynnik wpływu (IF): *Acta Scientiarum Polonorum (Hortorum Cultus)*; *Animal Feed Science and Technology* (3); *Animals* (8); *Annals of Animal Science* (4), *Archives Animal Breeding*; *Biosensors and Bioelectronics*; *British Food Journal*; *British Poultry Science*; *Ecotoxicology and Environmental Safety*; *Electroanalysis*; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*; *Journal of Animal and Feed Sciences*; *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (2); *Journal of Applied Animal Research*; *Journal of Elementology* (5); *Journal of Endocrinological Investigation*; *Journal of Food Composition and Analysis*; *Journal of the Iranian Chemical Society*; *Journal of the Science of Food and Agriculture*; *Livestock Science*; *Plant, Soil and Environment*; *PloS One* (2); *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*; *Poultry Science* (2); *Przemysł Chemiczny*; *Romanian Agricultural Research*; *Scientific Reports*; *Talanta*.

Ponadto, doktor Anna Stępniewska jest współautorką 2 prac przeglądowych (28 pkt. MEN) oraz 14 rozdziałów w monografiach (130 pkt. MEN), które zostały wydane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Habilitantka jest także współautorką 46 doniesień konferencyjnych (wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora), 4 zgłoszonych na konferencje zagraniczne [Sarajevo 2016; Kowno 2021 (dwa doniesienia), 2022] oraz 42 zaprezentowanych na konferencjach krajowych [Lublin 2013 (sześć doniesień), 2014 (dwa doniesienia), 2015 (sześć doniesień), 2017 (dziewięć doniesień), 2018 (trzy doniesienia), 2020, 2022 (siedem doniesień), Olsztyn 2016; Zegrze 2018; Polańczyk 2019 (dwa doniesienia); Poznań 2019, Urszulin 2022; Lidzbark Warmiński 2022 (dwa doniesienia)].

2.2. Ocena osiągnięcia naukowego pt. Poziom wybranych hormonów i składników mineralnych w organizmie szczura i kurcząt zależny jest od zastosowanej formy chromu w diecie

2.2.1. Dane naukometryczne

Doktor Anna Stępniewska jako osiągnięcie naukowe, w rozumieniu w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.), przedłożyła cykl pięciu, powiązanych tematycznie, publikacji naukowych pod wspólnym tytułem „*Poziom wybranych hormonów i składników mineralnych w organizmie szczura i kurcząt zależny jest od zastosowanej formy chromu w diecie*”:

1. **Stępniewska A.**, Tutaj K., Juśkiewicz J., Ognik K. Effect of a high-fat diet and chromium on hormones level and Cr retention in rats. *J. Endocrinol. Invest.* 2022, 45, 527-535. DOI: 10.1007/s40618-021-01677-3 [IF₍₂₀₂₁₎ **5,467; 100 pkt.**]
2. **Stępniewska A.**, Juśkiewicz J., Tutaj K., Fotschiki J., Fotschki B., Ognik K. Effect of chromium picolinate and chromium nanoparticles added to low- or high-fat diets on chromium biodistribution and the blood level of selected minerals in rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2022, 72, 229-238. DOI: 10.31883/pjfn/151750 [IF₍₂₀₂₁₎ **2,736; 100 pkt.**]
3. **Stępniewska A.**, Tutaj K., Drażbo A., Kozłowski K., Ognik K., Jankowski J. Estimated intestinal absorption of phosphorus and its deposition in chosen tissues, bones and feathers of chickens receiving chromium picolinate or chromium nanoparticles in diet. *PloS One*, 2020, 15, e0242820, DOI: 10.1371/journal.pone.0242820 [IF₍₂₀₂₀₎ **3,240; 100 pkt.**]
4. Ognik K., Drażbo A., **Stępniewska A.**, Kozłowski K., Listos P., Jankowski J. The effect of chromium nanoparticles and chromium picolinate in broiler chicken diet on the performance,

redox status and tissue histology. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2020, 259, 114326, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2019.114326 [IF₍₂₀₂₀₎ 3,247; 200 pkt.]

5. **Stępniewska A.**, Drażbo A., Kozłowski K., Ognik K., Jankowski J. The effect of chromium nanoparticles and chromium picolinate in the diet of chickens on levels of selected hormones and tissue antioxidant status. *Animals*, 2020, 10, 45, DOI: 10.3390/ani10010045 [IF₍₂₀₂₀₎ 2,752; 100 pkt.]

Łączny IF ww. prac wynosi **17,442**, a suma punktów wg wykazu czasopism naukowych MEN wynosi **600** (według punktacji obowiązującej w roku publikacji).

Wkład dr Anny Stępniewskiej w powstanie poszczególnych prac został uznany przez wszystkich współautorów za wiodący. Udział Habilitantki polegał na zaprojektowaniu badań, opracowaniu koncepcji, hipotezy i metodologii badań, przeprowadzeniu doświadczeń i analiz laboratoryjnych oraz opracowywaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptów publikacji. Należy podkreślić, że w 4 pracach doktor Anna Stępniewska jest pierwszym autorem i jednocześnie autorem korespondencyjnym.

2.2.2. Ocena wartości naukowej

Chrom jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu, nie mniej jego biologiczna rola, zarówno na poziomie ustrojowym, komórkowym jak i molekularnym, nie jest dostatecznie wyjaśniona. Wyniki badań przeprowadzonych w wielu ośrodkach naukowych wskazują na istotny wpływ chromu na regulację hormonalną metabolizmu białkowo-węglowodanowo-lipidowego oraz przemiany niektórych składników mineralnych w organizmie. Te przesłanki dały Autorce asumpt do podjęcia badań, których wyniki przedstawiła jako osiągnięcie naukowe.

Kandydatka sformułowała dwa cele badawcze: (1) zbadanie wpływu dodatku chromu do diety szczurów, w formie kompleksów organicznych lub nanocząstek, na biodystrybucję tego pierwiastka oraz wydzielanie wybranych hormonów (insuliny, glukagonu, leptyny, greliny, serotoniny, dopaminy, noradrenaliny, tyroksyny) i niektóre parametry gospodarki mineralnej organizmu, (2) zbadanie wpływu różnych form chromu (kompleksów organicznych lub nanocząstek) oraz różnych dawek (3 i 6 mg/kg diety), na wydzielanie wybranych hormonów (insuliny, glukagonu, serotoniny, dopaminy, noradrenaliny, tyroksyny), niektóre parametry gospodarki mineralnej, status redoks, wybrane funkcje wątroby oraz otłuszczenie organizmu kurcząt.

Celem pracy *Effect of a high-fat diet and chromium on hormones level and Cr retention in rats*, było zbadanie wpływu dodatku trzech różnych form chromu na stężenie hormonów zaangażowanych, bezpośrednio lub pośrednio, w regulację metabolizmu węglowodanowego oraz stężenie wybranych pierwiastków. Badania przeprowadzono na 56 samcach szczurów Wistar, wyrównanych pod względem masy ciała (w ośmiu grupach doświadczalnych, n=7), utrzymywanych w ujednoliconych warunkach środowiskowych, w klatkach metabolicznych i żywionych dietami: standardową oraz wysokotłuszczową, suplementowanymi trzema różnymi formami chromu, w dawce 0,3 mg/kg m.c. Określano stężenie chromu w dietach, wodzie pitnej, kale i moczu. Wyliczano wykorzystanie, strawność i wydalanie tego pierwiastka z moczem i kałem. W osoczu krwi oznaczano stężenie insuliny, glukagonu, leptyny, greliny, serotoniny, histaminy i noradrenaliny oraz koncentrację wapnia, magnezu, fosforu, żelaza i cynku.

Stwierdzono, m.in.: (1) zwiększenie stężenia insuliny w osoczu krwi szczurów otrzymujących dodatek Cr-Pic oraz brak wpływu stosowania Cr-Met i nanocząstek Cr

na koncentrację tego hormonu, (2) wysokie stężenie leptyny oraz niskie greliny w osoczu krwi szczurów będących na diecie wysokotłuszczowej, (3) zwiększone stężenie serotoniny w osoczu krwi szczurów, które otrzymywały dodatek Cr do diety niezależnie od zastosowanej formy, (4) zmniejszoną koncentrację noradrenaliny oraz zwiększone wydzielanie insuliny u szczurów otrzymujących dodatek Cr-Pic, (5) zmniejszoną koncentrację histaminy w osoczu krwi szczurów otrzymujących Cr, niezależnie od zastosowanej formy, (6) większą strawność oraz retencję Cr u szczurów otrzymujących dodatek organicznych form Cr, niż otrzymujących Cr-NPs, (7) obniżone stężenie fosforu w osoczu krwi szczurów otrzymujących chrom w formie Cr-Pic lub Cr-NPs.

Powyższe wyniki stanowiły istotną przesłankę do podjęcia badań, których wyniki opublikowano w pracy *Effect of chromium picolinate and chromium nanoparticles added to low- or high-fat diets on chromium biodistribution and the blood level of selected minerals in rats*. Ich celem było zbadanie czy chrom dodany do diety nisko- i wysokotłuszczowej, w postaci pikolinianu (Cr-Pic) lub nanocząstek (Cr-NPs) może kumulować się w wybranych narządach oraz czy wpływa na koncentrację innych pierwiastków (P, Ca, Fe, Cu i Zn) w osoczu krwi dorosłych szczurów. Eksperyment przeprowadzono na 48 samcach Wistar w dwóch etapach. W pierwszym, wszystkie zwierzęta karmione były dietą wysokotłuszczową (9 tygodni), a w okresie eksperymentalnym zwierzęta karmione były dietą niskotłuszczową lub wysokotłuszczową, suplementowanymi ww. formami chromu, w dawce 0,3 mg/kg m.c.

W badaniach wykazano m.in., że: (1) wydalanie tego mikroelementu z organizmu zależy od formy Cr zawartej w diecie (niezależnie od rodzaju diety) – chrom w formie Cr-NPs był w większym stopniu wydalany z organizmu szczura (z moczem i kałem) w porównaniu do formy z Cr-Pic, (2) chrom, niezależnie od formy i rodzaju diety, nie kumulował się w analizowanych narządach wewnętrznych, tj. mózgu, śledzionie, nerkach, wątrobie, kości udowej i mięśni udowym, (3) chrom dodawany do karmy wysokotłuszczowej, w postaci Cr-Pic, znacznie obniżał stężenie cynku, miedzi i fosforu w osoczu krwi, w porównaniu z koncentracją stwierdzoną u szczurów karmionych dietą niskotłuszczową, natomiast dodawany w postaci Cr-NPs, obniżał stężenie żelaza.

Celem kolejnych badań, których wyniki zamieszczono w pracy *Estimated intestinal absorption of phosphorus and its deposition in chosen tissues, bones and feathers of chickens receiving chromium picolinate or chromium nanoparticles in diet*, było określenie, czy ilość i forma Cr w diecie kurcząt wpływa na jego akumulację w tkankach oraz wchłanianie jelitowe i retencję tkankową fosforu. Doświadczenie przeprowadzono na 405 kurczętach linii Ross 308, w pięciu grupach: kontrolnej (zwierzęta karmione dietą bez dodatku chromu) oraz czterech grupach doświadczalnych (kurczęta karmione dietą zawierającą 3 lub 6 mg/kg chromu w formie pikolinianu (Cr-Pic) lub nanocząstek chromu (Cr-NPs). W 35 dniu życia pobierano krew i próbki narządów do badań. Wchłanianie fosforu w jelicie cienkim badano w warunkach *ex vivo*.

W badaniach wykazano m.in., że: (1) stosowanie większych dawek Cr w diecie kurcząt (3 lub 6 mg/kg) skutkuje zwiększoną kumulacją tego pierwiastka w jelicie krętym, wątrobie, mięśni piersiowym, kościach, skórze oraz piórach kurcząt i stwarza ryzyko obniżenia zawartości fosforu w kościach, (2) ilość Cr odkładanego w tkankach wzrasta wraz z jego zawartością w karmie, niezależnie od stosowanej formy chromu, (3) chrom zdeponowany w jelicie krętym kurcząt nie wpływa na oszacowane *ex vivo* wchłanianie jelitowe fosforu.

Na tym samym materiale wykonano badania, o wyraźnym charakterze aplikacyjnym, których wyniki opublikowano w pracy *The effect of chromium nanoparticles and chromium*

picolinate in broiler chicken diet on the performance, redox status and tissue histology. Ich celem było zbadanie, czy suplementacja paszy broilerów nanocząstkami chromu umożliwi redukcję otluszczenia brzuszego, nie pogarszając jednocześnie wskaźników produkcyjnych kurcząt. W trakcie eksperymentu, prowadzonego od 1 do 35 dnia życia, rejestrowano masę ciała, wyliczano średnie dzienne przyrosty, spożycie paszy i współczynnik konwersji. W 35 dniu pobrano krew oraz próbki narządów. Po uboju określano wydajność rzeźną oraz procentowy udział mięśni piersiowych, mięśni uda i podudzia, serca, wątroby, żołądka oraz tłuszczu brzuszego, w stosunku do masy ciała żywych kurcząt. W osoczu krwi oznaczano stężenie cholesterolu całkowitego, mocznika, białka całkowitego, albumin, glukozy, kreatyniny, CRP oraz aktywność aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej, fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy mleczanowej. Dodatkowo, analizie histologicznej poddano próbki trzustki, wątroby, dwunastnicy i jelita czczego. Status antyoksydacyjny określano na podstawie analizy stężenia wodoronadtlenków lipidów, dialdehydu malonowego, aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy glutationowej.

Stwierdzono m.in., że dodatek Cr w ilościach 3 i 6 mg/kg diety (niezależnie od zastosowanej formy) obniża zawartość brzusznej tkanki tłuszczowej, pobudza system obrony antyoksydacyjnej i zwiększa zawartość glukozy we krwi. Jednocześnie negatywnie wpływa na strukturę i funkcję wątroby i trzustki. Dodatek Cr w ilości 3 lub 6 mg/kg, zarówno w postaci Cr-Pic, jak i Cr-NPs, skutkowało zwiększeniem aktywności AST i ALP oraz zmniejszeniem aktywności ALT i LDH. W grupach otrzymujących dodatek 3 lub 6 mg/kg Cr-NPs wykazano znaczne przekrwienie tkanki wątroby z licznymi naciekami komórek jednojądrzastych oraz rozległe ogniska zwyrodnienia tłuszczowego. Dodatek Cr do diety kurcząt, niezależnie od formy, niekorzystnie wpływał na wzrost (niższa końcowa masa ciała) i dobowe spożycie paszy. Wysłunięto supozycję, że oczekując korzystnego wpływu chromu na wskaźniki produkcyjne i zdrowie broilerów, należy stosować mniejsze niż 3 mg/kg diety ilości tego pierwiastka, zarówno w przypadku form ekologicznych, jak i nanocząstek.

W pracy *The effect of chromium nanoparticles and chromium picolinate in the diet of chickens on levels of selected hormones and tissue antioxidant status*, przedstawiono wyniki badań nad wpływem dawki i formy chromu dodawanego do paszy kurcząt na stężenie wybranych hormonów (insuliny, glukagonu, serotoniny, dopaminy, histaminy, noradrenaliny, trijodotyrozyny i tyroksyny) oraz status antyoksydacyjny tkanek kurcząt (materiał badawczy jak w poprzednich 2 pracach). W próbkach krwi analizowano stężenie składników mineralnych (Ca, Mg, Fe, Cu i Zn) oraz koncentrację ww. hormonów. Zawartość Cr określano w paszy, wątrobie i mięśni piersiowym. W wątrobie i mięśni piersiowym kurcząt oznaczano ponadto aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy oraz nadtlenków lipidów i dialdehydu malonowego.

Wykazano, m.in., że: (1) dodatek Cr w ilości 3 mg/kg, niezależnie od zastosowanej formy, wpływa na profil hormonów zaangażowanych w regulację metabolizmu węglowodanów (m.in. zwiększa stężenie insuliny i zmniejsza koncentrację glukagonu), ale ma niekorzystny wpływ na stan antyoksydacyjny wątroby i mięśni piersiowych, (2) dodatek Cr do diety, zarówno w postaci Cr-Pic, jak i Cr-NPs, podwyższa stężenie serotoniny w osoczu krwi kurcząt, (3) chrom, niezależnie od zastosowanej dawki i formy, obniża koncentrację noradrenaliny we krwi, (4) kurczęta otrzymujące Cr-Pic w ilości 6 mg/kg, mają wyższe stężenie tyroksyny we krwi (5) chrom wywiera działanie prooksydacyjne.

Stwierdzam, że badania zrealizowane przez doktor Annę Stępniewską, których wyniki zostały przedstawione w wyżej omówionych pracach, stanowiących „osiągnięcie naukowe”, posiadają istotną wartość naukową, stanowią znaczny wkład Habilitantki w rozwój dyscypliny naukowej zootechnika i rybactwo i spełniają wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.).

2.3. Ocena pozostałych osiągnięć i aktywności naukowej

Badania doktor Anny Stępniewskiej, poza opisanymi w pracach wchodzących w skład „osiągnięcia naukowego”, dotyczą: (1) opracowania nowych metod oznaczania związków o działaniu potencjalnie antykancerogennym za pomocą metod elektrochemicznych, (2) wpływu nanocząstek metali na organizm kurcząt i indyków, (3) zastosowania produktów fermentowanych w żywieniu drobiu i trzody chlewnej, (4) wpływu stosowania antybiotyków i probiotyków na organizm kurcząt i indyków, (5) stosowania różnych proporcji argininy i metioniny w stosunku do lizyny w żywieniu indyków, (6) zastosowanie mączek z owadów w żywieniu drobiu.

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora Kandydatka, z racji wykształcenia, prowadziła badania o charakterze metodycznym. Dotyczyły one m.in. opracowania/doskonalenia metod oznaczania niskich stężeń kadmu na błonkowej elektrodzie ołowiowej oraz metod oznaczania innych pierwiastków toksycznych takich jak rtęć, tal oraz chrom, z wykorzystaniem metod elektrochemicznych głównie woltamperometrii, a także metody oznaczania organicznej formy rtęci (metylortęci - MeHg) - w obecności formy nieorganicznej.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora Habilitantka kontynuowała badania metodyczne, m.in. zoptymalizowała metodę oznaczania octanu etylu (ETTA), z wykorzystaniem błonkowej elektrody bizmutowej. We współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie opracowała procedurę oznaczania butanodionianu dietylu (substancji o działaniu antykarcyngenym potwierdzonym w badaniach na zwierzętach laboratoryjnych), z wykorzystaniem dwóch elektrod błonkowych, tj. elektrody z węgla szklistego modyfikowanej błonką bizmutu i elektrody z węgla szklistego modyfikowanej błonką ołowiu.

Drugi obszar zainteresowań naukowych Habilitantki stanowią badania nad wpływem nanocząstek srebra, miedzi, manganu i cynku na funkcjonowanie organizmu drobiu (kurcząt i indyków). Wpływ nanocząstek srebra badano w 3 doświadczeniach, w których czynnikami doświadczalnymi były zróżniowane dawki i rozmiary nanocząstek. Wyniki badań wykazały, że dodatek Ag-NPs do wody pitnej nie poprawia parametrów wzrostowych kurcząt broilerów oraz, że nanocząstki Ag, niezależnie od rozmiaru, mogą kumulować się w jelicie cienkim i wątrobie. Ag-NPs stymulowały układ odpornościowy i nasilały stres oksydacyjny. Wykazano również, że doustne podawanie Ag-NPs kurczętom wpływa na morfologię przewodu pokarmowego oraz parametry statusu immunologicznego i wykazuje zależność od dawki i rozmiarów nanocząstek. Wyższe dawki Ag-NP wykazywały działanie prozapalne.

W doświadczeniach na kurczętach broilerach prowadzono badania nad wpływem stosowania nanocząstek złota i nanocząstek miedzi na wchłanianie jelitowe pierwiastków. Wykazano m.in., że Ag-NPs dostarczane drogą pokarmową kumulują się w ścianie jelita, a złoto obecne w jelicie czczym negatywnie wpływa na wchłanianie wapnia, żelaza i potasu (badania *in vitro*). Również nanocząstki miedzi stosowane jako suplement diety dla drobiu kumulują się w jelicie cienkim i hamują wchłanianie wapnia i cynku (nie wpływają na wchłanianie jelitowe żelaza). Stwierdzono, że status antyoksydacyjny wątroby i mięśni piersiowych kurcząt można poprawić poprzez uzupełnienie standardowej diety zawierającej siarczan miedzi dodatkiem

nanocząstek Cu, jednak do poziomu nieprzekraczającego 25% zawartości miedzi zalecanej dla kurcząt brojlerów.

W doświadczeniach prowadzonych na indykach badano wpływ stosowania nanocząstek Mn w suplementacji diety (badano trzy dawki i dwie formy manganu) na wzrost, status antyoksydacyjny i immunologiczny ptaków. Stwierdzono m.in., że obniżenie poziomu Mn w diecie młodych indyków zwiększa koncentrację tego pierwiastka we krwi bez negatywnego wpływu na wzrost i czynność układu odpornościowego. Jednak zmniejszenie zawartości manganu w diecie zmniejsza strawność tego składnika i sprzyja jego gromadzeniu w wątrobie, mięśniach piersiowych i w skórze.

Prowadzono również badania nad wpływem łącznego podawania nanocząstek Cu, Zn i Mn w diecie, w celu oceny możliwości obniżenia zawartości tych pierwiastków w paszach dla indyków. Wykazano m.in., że dodatek Cu, Zn i Mn do pasz dla tych ptaków, zarówno w postaci nieorganicznej jak i nanocząsteczek, w ilościach pokrywających zaledwie 10% zalecanego zapotrzebowania, nie miał negatywnego wpływu na wzrost, potencjał antyoksydacyjny i obronę immunologiczną indyków.

Trzeci obszar zainteresowań naukowych Habilitantki dotyczy możliwości wykorzystania produktów fermentowanych w żywieniu zwierząt. Prowadzono badania nad wpływem trzech poziomów fermentowanej śruty sojowej (FSBM) na wzrost, morfologię jelit, wskaźniki metaboliczne i odporność indyków. Wykazano m.in., że dodanie sfermentowanej śruty sojowej do paszy dla indyków w ilości 7% korzystnie wpływa na morfologię jelita cienkiego, pobudza układ odpornościowy i antyoksydacyjny. Stwierdzono, że zastosowanie wyższego poziomu FSBM (10%) może negatywnie wpływać na czynność wątroby i nerek (wzrost aktywności aminotransferaz, zawartości kreatyniny we krwi) i działać prozapalnie.

Na trzodzie chlewnej przeprowadzono badania nad wpływem fermentowanej śruty rzepakowej (FRSM) podawanej ciężarnym lochom na status antyoksydacyjny i immunologiczny prosiąt. Stwierdzono, że dodatek FRSM do paszy dla loch istotnie stymuluje procesy antyoksydacyjne u matek (pierwiastek i wieloródek) oraz ich prosiąt.

Doktor Anna Stępniewska prowadzi również badania nad wpływem stosowania antybiotyków i probiotyków w żywieniu drobiu. Badano m.in. wpływ antybiotyku enrofloksacyny lub probiotyku zawierającego szczepy *Enterococcus faecium* i *Bacillus amyloliquefaciens* na funkcjonowanie organizmu kurcząt w pierwszym tygodniu życia. Stwierdzono, m.in., że zastosowanie tych dodatków korzystnie wpływa na morfologię jelit, zmniejsza występowanie stanów zapalnych i zmian oksydacyjnych w jelicie cienkim oraz wywiera istotny wpływ immunomodulujący.

Habilitantka prowadziła również badania nad wpływem fitobiotyku (preparatu zawierającego olejek cytronowy i kwas cytrynowy) dodawanego do wody pitnej dla kurcząt na mikrobiom jelita cienkiego. Stwierdzono, że dodatek ww. fitobiotyku (najkorzystniejsze okazało się podawanie 0,25 ml/L przez 42 dni) korzystnie modyfikuje mikrobiom i przebudowę morfologiczną jelita cienkiego, przyczyniając się do szybszego wzrostu i zwiększenia odporności kurcząt.

Istotną część badań Kandydatki dotyczy ustalenia optymalnych poziomów i proporcji lizyny, argininy i metioniny w mieszankach paszowych dla indyków rzeźnych, w celu optymalizacji wykorzystania potencjału wzrostowego tych ptaków oraz ograniczenia występowania zaburzeń metabolicznych.

Inne badania dr Anny Stępniewskiej dotyczą możliwości zastąpienia białka roślinnego stosowanego w żywieniu drobiu białkiem zwierzęcym, poprzez wykorzystanie w żywieniu mączek z owadów, jako dodatku paszowego. W badaniach, przeprowadzonych na indykach, którym do

diety podstawowej dodawano mączki otrzymane z owadów *Tenebrio molitor* (TM) lub *Hermetia illucens* (HI) wykazano działanie przeciwzapalne, immunostymulacyjne i antyoksydacyjne tych dodatków. Stwierdzono m.in., obniżenie zawartości cholesterolu całkowitego we krwi, zmniejszenie aktywności enzymatycznej mikrobiomu jelita ślepego oraz obniżenie stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w jelicie ślepym.

Badano także wpływ mączek z *Hermetia illucens* (HI) dodawanych w różnych ilościach do diety indyków. Stwierdzono m.in., że stosowanie 10% lub 15% dodatku HI w diecie młodych indyków, może negatywnie wpływać na gospodarkę lipidową, zwiększając poziom cholesterolu całkowitego we krwi, nasilając utlenianie lipidów i odkładanie tłuszczu w wątrobie. Autorzy wnioskują, że poziom mączki HI w diecie indyków nie powinien przekraczać 5%.

W innych badaniach wykazano, że włączenie *Hermetia illucens* (HI) do diety indyków powoduje zwiększenie zawartości suchej masy (DM) i lepkości treści jelita cienkiego. Zaobserwowano zmniejszanie stężenia TNF α i zwiększanie koncentracji IL-6 w tkance jelita cienkiego (działanie przeciwzapalne). Zwiększyła się również aktywność wybranych enzymów drobnoustrojów (α -galaktozydazy, β -glukozydazy i β -glukuronidazy).

Należy odnotować, że Habilitantka była ponadto włączona w badania, w których zajmowała się oznaczaniem różnych substancji w roślinach (pszenicy, jęczmieniu, grochu) w celu oceny wpływu sposobu uprawy na jakość i skład chemiczny ziarna oraz oznaczaniem naturalnych antyoksydantów i składników mineralnych w różnych odmianach dyni, winach wytworzonych z owoców jagodowych, hiszpańskich odmianach karczocha kulistego oraz w nasionach lnu.

Stwierdzam, że badania prowadzone przez dr Annę Stępniewską mają istotną wartość naukową, a wiele z nich ma również znaczenie aplikacyjne. Zostały zrealizowane w oparciu o poprawne założenia metodyczne, z wykorzystaniem właściwie dobranych technik eksperymentalnych i wysokospecjalistycznych metod analitycznych, co jest gwarantem uzyskania wiarygodnych wyników. Wyniki badań wnoszą nowe wartości do banku wiedzy i przyczyniają się do pełniejszego zrozumienia czynności organizmu.

2.4. Współpraca naukowa

Doktor Anna Stępniewska odbyła 3-miesięczny staż naukowy w Faculty of Animal Science of the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy w Kownie (od 28 czerwca do 29 września 2019 roku), m.in. w zakresie wdrażania nowych metod badawczych z zakresu toksykologii. Ponadto, w tej Uczelni odbyła 3 wizyty studyjne, w czasie których, m.in. prowadziła zajęcia laboratoryjne ze studentami (2019–2022). Odbyła również szkolenie prowadzone przez Ghent University w Gandawie (Belgia, 02-06.12.2019) w ramach projektu MEN „Mistrzowie Dydaktyki” i prowadziła zajęcia ze studentami metodami tutoring. Habilitantka współpracuje także z krajowymi ośrodkami naukowymi, m.in. z Uniwersytetem Marii Curie Skłodowskiej oraz Uniwersytetem Medycznym w Lublinie.

2.5. Aktywność w pozyskiwaniu środków na badania naukowe

Doktor Anna Stępniewska jest wykonawcą dwóch projektów badawczych NCN OPUS (a) *Łagodzenie niekorzystnych efektów związanych ze spożywaniem diety wysokotłuszczowej poprzez zmianę sposobu żywienia i/lub suplementację różnymi formami chromu* (od 2021), (b) *Odpowiedź układu immunologicznego i systemu oksydoredukcyjnego indyków żywionych dietami z lub bez dodatku kocydiostatyku na wczesne podanie antybiotyków* (od 2021). Była

kierownikiem projektu NCN MINIATURA *Zastosowanie analizy stripingowej do oznaczania amin biogennych* (2018-2019) oraz wykonawcą projektu NCN OPUS *Antyoksydacyjne i immunostymulujące oddziaływanie zróżnicowanych poziomów i wzajemnego stosunku lizyny, argininy i metioniny w mieszankach dla indyków rzeźnych* (2017-2021).

Stwierdzam, że wartość dorobku naukowego oraz umiejętność pracy w różnych zespołach badawczych i kierowanie zespołami naukowymi, a także umiejętność pozyskiwania środków na badania, świadczą o dużej aktywności naukowej doktor Anny Stępniewskiej. Zatem uznaję, że wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) są spełnione.

3. OCENA OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH I POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

Doktor Anna Stępniewska jest kompetentnym nauczycielem akademickim. W ramach obowiązków dydaktycznych prowadzi/prowadziła zajęcia dla studentów wydziałów: Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Biologii Środowiskowej oraz Nauk o Żywności i Biotechnologii, na kierunkach: biokosmetologia, kryminalistyka w biogospodarce, ochrona środowiska, biologia, zootechnika, biologia sądowa, bezpieczeństwo i higiena pracy, dietetyka, aktywność fizyczna i agroturystyka kwalifikowana, bezpieczeństwo i certyfikacja żywności, biobezpieczeństwo i zarządzanie kryzysowe, z przedmiotów: *Chemia ogólna i analityczna, Chemia kosmetyczna, Biochemia, Toksykologia, Toksykologia żywności, Substancje zapachowe w biokosmetykach, Ekotoksykologia, Bioanalitka, Analiza i ocena zagrożeń, Ksenobiotyki w środowisku pracy, Problemy toksykologiczne w środowisku pracy, Podstawy analityki w ochronie środowiska, Analiza chromatograficzna, Chemia sądowa, Chemia toksykologiczna, Chemia analityczna, Biochemia z elementami biochemii wysiłku, Analitka laboratoryjna, Certyfikacja laboratorium*. Prowadziła również zajęcia dla studentów studiów podyplomowych, Analitka Laboratoryjna w Ochronie Środowiska oraz Analitka, Bezpieczeństwo i Certyfikacja Żywności z przedmiotów: *Analiza toksykologiczna żywności, Aspekty zdrowotne i nadzór nad jakością żywności, Metrologia chemiczna z elementami akredytacji laboratorium, Analitka Laboratoryjna w Ochronie Środowiska*

Habilitantka była promotorem 29 prac magisterskich, 14 prac inżynierskich oraz 3 prac licencjackich. Pełniła funkcję opiekuna roku studentów 3 kierunków: Bezpieczeństwo i higiena pracy, Ochrona środowiska oraz Biokosmetologia.

Doktor Anna Stępniewska pełniła funkcję promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim mgr Roberta Chachaja (2020)

Wykonała 19 recenzji prac naukowych dla czasopism z listy JCR: Agriculture, Animals (5), Antioxidants, BMC Veterinary Research, Environmental Research, Foods, International Journal of Nanomedicine, International Journal of Vegetable Science, Molecules (2), Phytotherapy Research, Plants, PLOS ONE, Scientific Reports, Veterinary Sciences. Jest to dowód rozpoznawalności Habilitantki w międzynarodowym środowisku naukowym.

Doktor Anna Stępniewska od 2020 roku jest członkiem Polskiego Oddziału World Poultry Science Association. Od 2013 roku jest członkiem Rady Naukowej czasopisma: „Nauki Przyrodnicze i Medyczne” (organ Stowarzyszenia Młodych Naukowców, ISSN 2353-13-71). Była członkiem komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji studentów (1st International

PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland: Environment-Plant-Animal-Product, 2022) oraz członkiem komitetu naukowego dwóch konferencji: Forum Młodych Przyrodników – Rolnictwo, Żywność, Zdrowie, 2019 oraz Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Toksyny – przegląd i badania, 2022. Jest m.in.: członkiem Komisji ds. Organizacji i Rozwoju Wydziału i członkiem Rad Programowych 3 kierunków studiów: Biokosmetologia, Bezpieczeństwo i higiena pracy oraz Animal Science and Dairy Production. W latach 2019-2021 była członkiem Kolegium Wydziału Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki.

Habilitationka aktywnie popularyzuje naukę m.in. poprzez organizację projektów dla młodzieży w ramach Lubelskiego Festiwalu Nauki (od 2016), prowadzenie warsztatów dla uczniów reprezentujących województwo lubelskie w ramach Olimpiady Biologicznej (od 2017), a także współorganizację i udział w „Dniach Otwartych Uniwersytetu” (od 2018).

Doktor Anna Stępniewska jest beneficjentem, m.in. nagrody JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe w latach 2019-2021; Wyróżnienia Komitetu Nauk Zootechnicznych i Akwakultury PAN dla zespołu autorów publikacji „*Technologie pozwalające na istotne obniżenie emisji gazów cieplarnianych, azotu i fosforu do środowiska naturalnego bez negatywnego wpływu na wyniki produkcyjne drobiu*” (2021) oraz nagrody zespołowej KNZiA PAN za osiągnięcie naukowe „*Antyoksydacyjne i immunostymulujące oddziaływanie zróżnicowanych poziomów i wzajemnego stosunku lizyny, argininy i metioniny w mieszankach dla indyków rzeźnych*” (2022).

KONKLUZJA

Pozytywnie oceniam: (1) osiągnięcie naukowe dr Anny Stępniewskiej, które stanowi cykl powiązanych tematycznie pięciu publikacji naukowych pod wspólnym tytułem: *Poziom wybranych hormonów i składników mineralnych w organizmie szczura i kurcząt zależy jest od zastosowanej formy chromu w diecie*, (2) dotychczasowe osiągnięcia naukowo-badawcze, zarówno pod względem merytorycznym (aktualności tematyki badawczej, poprawności założeń metodycznych, jakości eksperymentów i procedur, wiarygodności metod analitycznych i obliczeń statystycznych oraz poprawności prowadzenia dyskusji i wnioskowania) jak i ilościowym (wysokie wskaźniki naukometryczne oraz istotnie zwiększony dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia naukowego doktora), (3) umiejętność pracy zespołowej, w tym: w realizacji projektów badawczych finansowanych w drodze konkursów, (4) wymierną współpracę naukową z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi, (5) osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę.

W związku z powyższym stwierdzam, że osiągnięcia naukowe Kandydatki odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) co stanowi uzasadnioną podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Na tej podstawie wnoszę do Komisji Habilitacyjnej o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dyscyplinie zootechnika i rybactwo Pani Annie Stępniewskiej.

Szczecin, dnia 28 lipca 2023 roku


Prof. dr hab. inż. Wiesław F. Skrzypczak