



UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA

Wydział Chemii

Katedra Chemii Środowiska i Bioanalityki

ul. Gagarina 7., 87 100 TORUŃ



Tel.: (+48) (56) 61 14 308 • Tel/fax: (+48) (56) 61 14 837 • e-mail: bbusz@chem.umk.pl

Kierownik Katedry: *prof. zw. dr hab. Bogusław Buszewski, dr h.c. mult.*

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Andrzeja CENDROWSKIEGO
pt: „Charakterystyka składu chemicznego płatków róży *Rosa rugosa* i ich przydatność technologiczna do produkcji konfitur i nalewek” wykonanej w Katedrze Technologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem prof. dr hab. Marty Mitek - promotor i dr inż. Ireny Ścibisz - promotor pomocniczy.

Rozwój nowoczesnych metod analitycznych, bazujących na zjawiskach fizykochemicznych i procesach przebiegających tak w środowisku naturalnym jak i w organizmach żywych, doprowadził do obniżenia poziomu detekcji i wzrostu precyzji pomiaru. Zakres stosowalności różnych technik analitycznych wiąże się nie tylko z właściwościami i rodzajem oznaczanych substancji, ale i z selektywnością, jak też odtwarzalnością metody umożliwiającą wyizolowanie i wzbogacenie analitu (tzw. etap przygotowania próbek). Współczesne metody analityczne pozwalają na precyzyjną i kompleksową analizę całej gamy związków występujących w różnych matrycach. Kompleksowe oznaczanie poszczególnych indywiduów uwzględnia wspomniane metody przygotowania próbek uzupełnione o pełną charakterystykę badanej matrycy, analitów i/czy substancji interferujących, tak by nie pominąć w procesie identyfikacji i walidacji żadnych z czynników mających wpływ na końcowy wynik oznaczenia. Aktualnie, w nowoczesnej analityce, do oznaczeniach substancji biologicznie aktywnych w preparatach np. roślinnych, wykorzystuje się techniki łączone (układy *off-line* lub *on-line*) w połączeniu z tzw. technikami sprzężonymi. Techniki te to chromatografia lub metody elektromigracyjne sprzężone szeregowo lub hybrydowo z różnego rodzaju specyficznymi detektorami, zwłaszcza spektrometrami mas.

Wszystkie te osiągnięcia technologiczne z powodzeniem wykorzystywane są w nowoczesnej analizie kontroli jakości produktów spożywczych (np. żywność, napoje), pasz czy surowców i komponentów do ich wytworzenia, zatem tam, gdzie oznaczenie jakościowe i ilościowe stanowi nadrzędny cel badań kontrolnych. Do jego realizacji szczególnie rekomendowane są wspomniane wcześniej techniki separacyjne uzupełnione o techniki przygotowania próbek. Każdy z realizowanych etapów oznaczeń podlega weryfikacji i ocenie błędów uzyskanych wyników tzw.

walidacji. Innym ważnym aspektem jest możliwość wykorzystania technik komputerowych, poprzez wprowadzenie wielowymiarowej informatyki, modelowania, wizualizacji jak również analizy statystycznej, co daje łatwe i proste połączenie danych eksperymentalnych z robiącą „zawrotną karierę” - *chemometrią*.

Tematyka badawcza, której podjął się Doktorant odnosząca się do analizy składu chemicznego płatków róży *Rosa rugosa*, a także przydatności zastosowania tego surowca w celu otrzymania produktów spożywczych jest w pełni aktualna. Zarówno róża jak i produkty spożywcze pozyskane z tego surowca cieszą się coraz większym zainteresowaniem konsumentów. Jak wynika z treści dysertacji inspiracją do badań nad poszukiwaniem związków biologicznie czynnych w surowcach naturalnych jest etnofarmakologia. Bazując na wiedzy ludowej poszukujemy takich surowców, które po włączeniu do diety człowieka będą również odpowiedzialne za kształtowanie zdrowia człowieka. W medycynie ludowej róża stosowana była jako środek leczniczy w walce z przeziębieniami, chorobami skóry, w leczeniu chorób stawów a nawet w walce przeciwko wścieklicznie. Tym bardziej interesujące jest kompleksowe, interdyscyplinarne podejście przedstawione przez Doktoranta, które miało na celu nie tylko oznaczyć profil jakościowy oraz ilościowy tego surowca, ale również jednoznacznie określić wpływ warunków procesu technologicznego na stabilność związków biologicznie czynnych o charakterze prozdrowotnym. Tego typu badania stanowią najwyższy stopień umiejętności łączenia osiągnięć teoretycznych z praktyką. Stąd, na szczególne wyróżnienie zasługuje kompromis w konfrontacji tych nieraz „niezrozumiałych dla siebie światów”. Słowa uznania należą się nie tylko Doktorantowi, ale przede wszystkim Promotorom, za trafne sformułowanie tematu i **celu rozprawy**, jak również konsekwentną jego realizację. W tym miejscu muszę stwierdzić iż, dzięki lekturze rozprawy miałem okazję wzbogacić swoją wiedzę w zakresie przygotowania konfitur i nalewek, zwłaszcza tego drugiego obiektu badań.

Wywiązując się z obowiązku recenzenta konieczne jest w pierwszym rzędzie udzielenie odpowiedzi na standardowe pytanie; Czy opisana problematyka jest nowatorska i aktualna? Odpowiedź czytelnik znajdzie w poszczególnych rozdziałach niniejszej dysertacji. Rozprawa liczy aż (!) 296 stron maszynopisu, z czego 222 to zasadnicza część dysertacji zaś pozostałe 74 str. stanowi aneks, który zawiera stabelaryzowane wyniki eksperymentalne (83 tabele). Całość bogato dokumentowana jest rysunkami (59), tabelami (20) i aż 291 pozycjami cytatów literaturowych. Wykaz osiągnięć naukowych jak klamrą spina ocenianą zawartość. Zatem dokumentacja jest kompletna, co znakomicie ułatwia recenzentowi dokonać ocenę.

Nie wnoszę większych zastrzeżeń do układu niniejszego opracowania, jest on typowy, jednakże w tym miejscu muszę skomentować jego objętość. Materiału doświadczalnego w recenzowanej rozprawie wystarczyłoby na dwie a może i trzy

prace. Problem polega na jego odpowiednim pogrupowaniu i wykorzystaniu. Myślę, że przez tę objętość Doktorant jakby pogubił się. Odniosłem wrażenie, że główny wątek rozprawy trudno było mu ogarnąć. W konsekwencji, podczas opracowania wyników wieloletnich badań, Autor miał kłopoty w dokonaniu wyboru – *czy dużo to mało, czy mało to dużo?*

Jak w każdej recenzowanej pracy doszukać się można różnych uchybień i niejasności. Zadaniem recenzenta jest wyłowić je, poddać krytycznej ocenie i dyskusji. Jak wspomniałem wcześniej, ze względu na układ opracowanie w zasadzie podoba mi się. Tekst zawiera nieliczne błędy literowe, gramatyczne i stylistyczne. Ponadto w kilku przypadkach zauważyłem posługiwanie się językiem żargonowym. Nie mogę powstrzymać się od słów komentarza, a w zasadzie pytania „Czy zmiana elucji gradientowej na izokratyczną, w oznaczeniach HPLC, to aż tak wielkie osiągnięcie naukowe by pisać iż jest to adaptacja własna danej metody?” (str. 74). Wg mnie jest to dopasowanie istniejącej procedury z możliwością weryfikacji i wykazania korzyści ekonomicznych (obniżenie jednostkowego kosztu oznaczenia).

W *części teoretycznej* Doktorant przedstawił ogólną charakterystykę róż, podział na gatunki i zawartość ważnych substancji biologicznie aktywnych. Zwrócił uwagę na właściwości prozdrowotne gatunku *Rosa rugosa* jako znaczącego źródła witaminy C i innych ważnych biologicznie substancji i możliwość wykorzystania owoców i płatków oraz na osiągnięcia warszawskiej *Alma Mater* w tym zakresie. Opisał też czynniki takie jak pH, temperatura czy promieniowanie UV wpływające na stabilność np.: tanin, flawonoidów czy antocyjanów, które mogą prowadzić do tworzenia pochodnych niekoniecznie wykazujących właściwości prozdrowotne. Wydaje się, że jest to ciągle aktualny i ciekawy obiekt badań np. toksykologicznych czy antyżywnościowych. Kolejne rozdziały poświęcone są opisowi konfitur i nalewek, głównemu obiektowi badań, ich składowi chemicznemu i charakterystyce właściwości odżywczych i smakowych. Zagadnienia te wprowadzają czytelnika lektury w obszar zagadnień związanych z chemizmem przetrzymywania i przechowywania otrzymanych produktów oraz wpływie różnych czynników na właściwości odżywcze.

W *części eksperymentalnej* Doktorant stosunkowo precyzyjnie opisał metodyki i warunki przeprowadzonych operacji oraz zastosowane techniki pomiarowe. Zamieścił również wykaz odczynników i materiałów zastosowanych w badaniach. W tym miejscu należy podkreślić trafność zarówno wyboru użytych technik jak i programów komputerowych dzięki którym, według mojej opinii, wytyczony przez Promotorów i Doktoranta **cel został osiągnięty**. Za najważniejsze osiągnięcia Doktoranta należy uznać:

1. Uzyskanie pełnej charakterystyki składu chemicznego obiektu badań tj. płatków róży (*Rosa rugosa*) oraz produktów otrzymanych z tego surowca na drodze różnorodnych procesów technologicznych. Doktorant wskazał na

- labilność profilu jakościowego oraz ilościowego analizowanych próbek w zależności od sposobu ich przygotowania a także pochodzenia surowca (lokalizacja zbioru oraz rocznik). Uzyskane wyniki badań wskazują na wysoką zawartość związków polifenolowych takich jak: elagotaniny, pochodne flawonoli, kwas elagowy czy/ oraz flawan-3-ole odpowiedzialnych za potencjał przeciwutleniający.
2. Określenie parametrów procesu technologicznego produkcji konfitur, które umożliwią zachowanie pierwotnego składu chemicznego, czego konsekwencją jest maksymalny efekt leczniczy czy prozdrowotny. Doktorant porównywał proces otrzymywania dwóch rodzajów konfitur tj nisko- i wysokosłodzonych, a także wpływ czasookresu oraz warunków przechowywania na zawartość związków o charakterze przeciwutleniającym. Ponadto wykazał i dowiódł, iż jednym z parametrów wpływającym na zawartość związków o charakterze prozdrowotnym jest kwasowość, która nie powinna być wyższa niż 0.3%.
 3. Wybór sposobu otrzymywania konfitur wysokosłodzonych poprzez gotowanie w wyparce pod obniżonym ciśnieniem jako procedury warunkującej otrzymanie produktów o wysokiej zawartości antocyjanów i polifenoli.
 4. Określenie temperatury przechowywania otrzymanych produktów ($6^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), jako kluczowego parametru wpływającego na wysoką zawartość związków prozdrowotnych w przypadku konfitur niskosłodzonych.
 5. Wybór 65% wodnego roztworu alkoholu etylowego z dodatkiem kwasu cytrynowego, jako rozpuszczalnika do maceracji, warunkującego najwyższą zawartość polifenoli i antocyjanów w nalewkach uzyskanych na drodze procesu technologicznego.
 6. Określenie wpływu parametrów tj stężenie ekstraktu, kwasowość, temperatura procesu oraz czas ogrzewania na stabilność termiczną antocyjanów. Wykazanie znaczącej stabilności termicznej 3,5-di-O-glukozydu peonidyny, głównego monomeru antocyjanowego, która potęguje atrakcyjność surowca oraz dowodzi przydatności opracowanej technologii.

Podkreślając osiągnięcia Doktoranta mam jednak kilka wątpliwości i uwag dotyczących danych eksperymentalnych i uzyskanych wyników:

1. Doktorant posługuje się terminem UPLC-MS, jednak nigdzie nie zaznaczył jaki został zastosowany analizator. Dokładność wyników ujętych np. w tabeli 4.1 czy 4.2 wskazuje na zastosowanie wysokorozdzielczego analizatora sprzężonego z kwadrupolem, który nie tylko zapewnia wysoką czułość ale również badanie struktury związków dzięki przeprowadzanej fragmentacji jednak nie jest to nigdzie opisane. To jak to jest?
2. Na str. 66 oraz dalej w tabeli zestawiono parametry spektrometru masowego. W przypadku analiz dokonanych za pomocą GC-MS pisze Pan, iż stosował potencjał jonizacji 60 eV. Co było przyczyną wyboru takiej wartości? Standardowo bowiem wykorzystuje się potencjał 70 eV, który

umożliwia również zastosowanie ogólnodostępnych bibliotek widm masowych. Co dało zastosowanie obniżonego potencjału jonizacji? Ponadto wspomina Pan iż korzystał z biblioteki widm firmy Agilent (Hewlett-Packard) ChemStation tylko, która to była wersja?

3. Czym kierował się Pan zamieniając selektywny i czuły detektor ELSD na niskoczujący detektor RID w analizie cukrów?
4. Szkoda, że nie zamieścił Pan przykładowych chromatogramów, które dałyby pogląd na uzyskane wyniki. Pokazałyby też wpływ np. substancji interferujących, wyekstrahowanych z naczynek do przechowywania próbek wykonanych z materiałów polimerowych. A tak *à propos* z jakiego tworzywa wykonane były pojemniki? Czy wykonywał Pan przed pomiarami (kalibracją) tzw. ślepą próbę?
5. Dlaczego w przypadku chromatografii gazowej zastosowano tak długą kolumnę – 100 m? W tego typu oznaczeniach standardowo stosuje się kolumnę 30 m. Jest ona bowiem dedykowana do rozdzielania izomerów cis-, trans- estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
6. Czym wytłumaczyć taką różnorodność w stosowaniu aparatury pomiarowej, każde oznaczenie jest przeprowadzone z zastosowaniem innego urządzenia. Bardzo utrudnia to porównanie uzyskanych wyników.

Reasumując stwierdzam, że powyższe uwagi nie obniżają wartości merytorycznej ocenianej dysertacji, a większość z nich ma charakter dyskusyjny. Spodziewam się, że uzyskam na nie odpowiedź podczas publicznej obrony. Jednocześnie uważam, że w świetle obowiązujących przepisów (Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z uzupełnieniami*) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim i **wnoszę** do Rady Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie mgr inż. Andrzeja CENDROWSKIEGO do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk o żywności**.

Stary Toruń, 30 październik 2015 r.

KIEROWNIK
Katedry Chemii Środowiska i Bioanalizy

prof. dr hab. Bogusław Buszewski