

Olsztyn, 02.09.2022

Prof. dr hab. Ryszard Amarowicz
Zakład Chemicznych i Fizycznych Właściwości Żywności
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie

*Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Marleny Piast
pt. „Opracowanie nowych i modyfikacja stosowanych procedur oznaczania
biogennych amin w żywności”.*

*Praca wykonana została na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w
Toruniu pod kierunkiem Prof. dr. hab. Wojciecha Edwarda Szłyka, promotorem
pomocniczym był dr. hab. Anna Jastrzębska, prof. UMK*

*Praca doktorska realizowana była dzięki wsparciu przez Marszałka województwa
kujawsko pomorskiego („Krok w przyszłość – stypendia dla doktorantów”), przez
Narodowe Centrum Nauki (projekt w ramach konkursu „PRELUDIUM 9”) oraz
przez Wydział Chemii UMK w ramach Grantów Młodych dla uczestników Studiów
Doktoranckich*

Przedstawiona do oceny praca doktorska obejmuje 165 stron druku. Jej treść została poprawnie podzielona na 10 części/rozdziałów. Są to: *Wprowadzenie, Hipotezy badawcze i cel rozprawy, Wyniki badań i dyskusja, Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, Podsumowanie i wnioski, Literatura, Streszczenie, Summary, Dorobek naukowy, Oświadczenia współautorów.*

Zdaniem recenzenta w tytule pracy doktorskiej powinien znaleźć się termin „w żywności i w napojach alkoholowych” – cztery publikacje odnoszą się przecież właśnie do wina, a dwie do piwa.

Podany na początku Dysertacji wykaz nazw i skrótów stosowanych w pracy oraz użytej aparatury ułatwia czytanie pracy i zrozumienie zawartych w niej treści. Uważam, że w przypadku systemów HPLC i LC-MS warto było podać oprogramowanie komputerowe.

Dokumentację w Pracy stanowi 17 rysunków i 7 tabel, nie licząc tych, które zawarte są w publikacjach. Rysunki przygotowane są w profesjonalny sposób. Ich szata graficzna jest bardzo dobra. Rysunki w czytelny sposób przedstawiają uzyskane wyniki. Rysunek 17 w przejrzysty sposób przedstawia porównanie parametrów otrzymanych pochodnych i przygotowania prób do oznaczania amin biogennych Dans-Cl, CNBF, FNBT, i BPI.

We *Wprowadzeniu* Doktorantka we właściwy sposób przedstawia podstawowe informacje dotyczące tworzenia się biogennych amin (BA) w żywności i w napojach, podziału BA na grupy w oparciu o ich budowę chemiczną, toksykologii BA, lekarstw będących inhibitorami oksydaz aminowych, czynników technologicznych wpływających na zawartość BA w żywności i w napojach, metod analitycznych stosowanych do oznaczaniu BA.

Tabele 1, 2, 3, 4 w pełni charakteryzują metody stosowane do oznaczania BA w żywności i w napojach alkoholowych: chromatografię jonową, metody wykorzystujące sensory, metody elektroforetyczne, metodę magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Również forma tabeli 5 i 6, informujących o odczynnikach

użytych do syntezy pochodnych AB i metodach, w których zostały wykorzystanie wymaga tylko niewielkich korekt.

Uwagi krytyczne :

- Poprawniejsze byłoby podanie „jelita cienkiego”, a nie „układu pokarmowego”, jako miejsca przemian BA pod wpływem oksydaz aminowych.
- Raczej „MAO” a nie „Enzym MAO”.
- Drobnoustroje uczestniczą w procesie tworzenia BA. Nie można jednak uważać, że są one ich źródłem – uwaga ta dotyczy też str. 18.
- Termin „nieświeża żywność” nie jest raczej najtrafniejszy.
- Proponowałbym używanie w odniesieniu do żywności zwrotu „zawartość BA”, a nie „stężenie BA”.
- Poprawniej jest „przemiany BA w formy nietoksyczne, co katalizowane jest przez oksydazy aminowe: ...”.
- Zdania „poszukiwać reakcji lub innych cech, które będą modyfikować aminy” nie można uznać za poprawne.
- W tytule Tabeli 1, 2, 3, 4 powinno się znaleźć zdanie „charakterystyka metod”. Zwrot „wybrane wyniki oznaczania” dotyczy raczej zawartości BA.
- W tabeli 1, 2, 3 i 4 wartości LOD i LOQ nie powinny znajdować się w kolumnie zatytułowanej „krzywa”.
- Pod tabelą 6 powtórzono informację o RSD.
- Str. 13 – Wadą może być obarczona metoda syntezy, a nie sama reakcja.
- Str. 13 – Powinno być raczej „niska powtarzalność” – „brak powtarzalności” przekreśla bowiem możliwość stosowania syntezy jako etapu analitycznego.

W Rozdziale 2, wychodząc z treści zawartych we *Wstępie* Doktorantka formułuje hipotezy badawcze, a potem, w logiczny i klarowny sposób informuje o celach pracy oraz przedstawia zadania badawcze, dzięki którym cele zostaną osiągnięte. Nie mając uwag do celów i zadań, wątpliwości recenzenta budzi jedynie zapis hipotez badawczych. Przyjmuje się bowiem, że hipoteza jest zdaniem

oznajmującym, a nie pytającym. Na str. 18 znalazło się przejęzyczenie – do pomiarów fluorescencyjnych służy nie detektor UV tylko LFD.

Rozdział 3 „Wyniki badań doświadczalnych i dyskusja” podzielony został w logiczny sposób na pięć podrozdziałów, które odpowiadają oryginalnym publikacjom:

- Oznaczanie histaminy w żywności metodą izotachoforezy.
- Oznaczanie wybranych amin biogennych w próbkach napojów alkoholowych metoda izotachoforezy kapilarnej i wysokosprawnej chromatografii cieczowej.
- Nowa procedura oznaczania wybranych amin biogennych w winie metodą HPLC.
- Nowy odczynnik derywatyzujący do oznaczania amin biogennych w winach
- Zastosowanie izotiocyjanianu 3,5-bis-(trifluorometylo) fenylu do oznaczania wybranych amin biogennych metodą LC-MS/MS oraz ^{19}F NMR.

Zdaniem recenzenta w rozdziale tym w skróconej formie zostały zaprezentowane uzyskane wyniki, przedyskutowano je w odpowiedni sposób odnosząc się do danych literaturowych. Zawarte konkluzje nie budzą wątpliwości. Doktorantce udało się połączyć poszczególne badania w zwartą i poznawczo bardzo cenną całość. Z uznaniem odnoszę się do umiejętności Doktorantki przedstawiania i dyskusowania w skrótowy sposób wyników, co w czasopiśmie naukowym zajmuje często wiele stron.

Uwagi odnoszące się do Rozdziału 3:

Str. 22 – Poprawniej „... ponieważ związek ten działa ...”.

Str. 22 – Powinno być „którą można oznaczyć chromatograficznie”.

Str. 22 – Zdanie „Przegląd stanu badań w tematyce ...” należałoby przeredagować.

Str. 26 – Poprawniej „Wyniki uzyskana przy użyciu metody HPLC ...”.

Str. 26 – Powinno być „około 24 minut”.

Str. 26 – Porównując wyniki uzyskane metodą HPLC i ITP. ...

Str. 26 – Poprawniej „wykazywała pewne wady”.

Str.26 – Czy Doktorantka próbowała zastosować rozdział w systemie gradientowym?

Str. 33 – Powinno być „ANOVA”.

Str. 36 – Powinno być „Wyniki analizy wariancji (ANOVA) wskazują na ...”.

Str. 39 – Poprawniej „można było pominąć etap ...”.

Rozdział 4 stanowią kopie pięciu publikacji naukowych, których Doktorantka jest współautorką:

Jastrzębska A., Kurzawa M., **Piasta A.**, Szłyk E., *Determination of histamine in some foods by isotachophoretic method with simple sample preparation*. Food Analytical Methods, 2012, 5(5), 1079-1087.

IF = 1,969 (2012); IF = 3,366 (2021-2022)

Jastrzębska A., **Piasta A.**, Szłyk E. *Simultaneous determination of selected biogenic amines in alcoholic beverage samples by isotachophoretic and chromatographic methods*. Food Additives and Contaminants - Part A, 2014, 31(1), 83-92.

IF = 1,802 (2014); IF = 3,057 (2021-2022)

Piasta A.M., Jastrzebska A., Krzemiński M.P., Muzioł T.M., Szłyk, E. *New procedure of selected biogenic amines determination in wine samples by HPLC*. Analytica Chimica Acta, 2014, 834(1), pp. 58-66.

IF = 4,513 (2016); IF = 6,558 (2021-2022)

Jastrzebska A., **Piasta, A.**, Kowalska, S., Krzemiński, M., Szłyk, E. *A new derivatization reagent for determination of biogenic amines in wines*. Journal of Food Composition and Analysis, 2016, 48, 111-119.

IF = 2,752 (2016); IF = 4,556 (2021-2022)

Jastrzębska A., Piasta A., Krzemiński M., Szłyk E. *Application of 3,5-bis-(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate for the determination of selected biogenic amines by LC-tandem mass spectrometry and ¹⁹F NMR*. Food Chemistry, 2018, 239, 225-233.

IF = 5,399 (2018); IF = 7,514 (2021-2022)

Prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z obszaru chemii analitycznej i nauki o żywności. Ponieważ przed akceptacją do druku złożone prace

podlegają bardzo wnikliwej ocenie kilku niezależnych recenzentów, nie odnoszę się wprost do samych publikacji. Pragnę jednak zaznaczyć, że dotyczyły one problematyki bardzo ważnej z analitycznego i praktycznego punktu widzenia. O ważkości podjętych celów badawczych i o sukcesie przy ich realizacji jednoznacznie świadczą ich cytowania w bazach danych Web of Science i SCOPUS.

Oświadczenia Doktorantki (str.20-21) oraz Współautorów (str. 159-165) jednoznacznie wskazują na istotny udział Doktorantki w zaplanowaniu badań, ich przeprowadzeniu oraz redagowaniu publikacji.

W Rozdziale 5 Doktorantka podsumowuje w dziesięciu punktach wyniki swojej pracy badawczej. Zdaniem recenzenta treści zawarte w *Podsumowaniu* są adekwatne do celów i zadań zgłoszonych przez Nią w rozdziale 2. Biorąc pod uwagę *Podsumowanie*, *Wnioski* oraz *Elementy nowości naukowych* bezdyskusyjnie wydaje się stwierdzenie, że Doktorantka odniosła sukces naukowy.

Spis *Literatury* (Rozdział 6) jest obszerny, jak na tę formę *Rozprawy doktorskiej*, i obejmuje 84 pozycje, zaktualizowane do 2021. Dobór publikacji jest odpowiedni, uwzględnia wszystkie znaczące prace odnoszące się do tematyki badawczej. W przypadku pozycji 55 tytuł czasopisma powinien być pisany dużą literą

Odnosząc się do Streszczenia/Summary, uważam, że zwrot „Znaczenie badań rozprawy dla nauki” wymaga poprawy. Zauważam w Streszczeniu brak informacji o ITP.

Oceniana Dysertacja poza częścią formalną zawiera również informacje o dorobku naukowym Doktorantki. Indeks Hirscha wynoszący 7 oraz ilość cytowań 136 (bez autocytowań 130) (wg bazy SCOPUS, 3.09.2022) należy uznać za wysoki, jak dla naukowca na tym etapie rozwoju. Doktorantka jest współautorem dziesięciu publikacji naukowych, w tym ośmiu publikacji z listy JCR (o aktualnych [2022] wartościach IF od 1,237 do 9,231), dwunastu komunikatów naukowych i dwudziestu jeden doniesień posterowych na zjazdach/sympozjach naukowych. Z przytoczonych

powyżej danych wynika, że Doktorantka jest bardzo aktywnym zawodowo naukowcem.

Wniosek końcowy

Reasumując swoją ocenę chciałbym zauważyć, że pomimo zgłoszonych uwag oceniana praca wyróżnia się wysokim poziomem naukowym, wykonana została przy wykorzystaniu nowoczesnych i różnorodnych metod badawczych, a uzyskane wyniki zostały przedstawione, przeanalizowane i zinterpretowane w sposób wnikliwy.

W podsumowaniu swojej oceny pragnę stwierdzić, że praca doktorska Pani mgr Anny Marleny Piast pt. „*Opracowanie nowych i modyfikacja stosowanych procedur oznaczania biogennych amin w żywności*” spełnia kryterium oryginalnego rozwiązania problemu naukowego, w oczywisty sposób wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w danej dyscyplinie naukowej oraz potwierdza Jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej – o tych kryteriach mówi Art. 187 ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późniejszymi zmianami). Z pełnym przekonaniem przedkładałam zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o dopuszczenie Pani mgr Anny Marleny Piast do publicznej obrony niniejszej pracy.

Jednocześnie jako recenzent składałam formalny wniosek do Wysokiej Rady o wyróżnienie Pani mgr Anny Marleny Piast stosowną nagrodą. Mój wniosek jest zasadny – poziom badań naukowych prowadzonych przez Doktorantkę był bardzo wysoki – przemawiają za tym publikacje w renomowanych czasopismach naukowych. Doktorantka w profesjonalny sposób rozwiązała ważne problemy analityczne. Znaczenie uzyskanych wyników jest istotne tak z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia. Doktorantka wniosła znaczący wkład w rozwój chemii analitycznej i analizy żywności odnoszący się do metod oznaczania zawartości biogennych amin w żywności i w napojach alkoholowych.

Prof. dr hab. Ryszard Amarowicz

