



UNIwersytet
OPOLSKI

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Oleska 48, 45-052, Opole
tel. 077 452 71 00
fax 077 452 71 01
chemia@uni.opole.pl
www.chemia.uni.opole.pl

Prof. dr hab. inż. Piotr P. Wieczorek
e-mail: Piotr.Wieczorek@uni.opole.pl

Opole, 2022-08-07

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Sylwii KOWALSKIEJ

zatytułowanej

„Nowe procedury izotachforetycznego oznaczania tryptofanu, kwasu glutaminowego i witamin B₁, B₆, B₉ w żywności”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Sylwii Kowalskiej została wykonana w Katedrze Chemii Analitycznej i Spektroskopii Stosowanej Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem dr hab. Anety Jastrzębskiej, prof. UMK jako promotora. Przedmiotem ocenianej rozprawy doktorskiej są zagadnienia związane z opracowaniem nowych efektywnych procedur oznaczania ważnych składników żywności z wykorzystaniem jedno- i dwuwymiarowej izotachforezy kapilarnej (ITP) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) i leży w zakresie badań prowadzonych przez grupę badawczą promotora pracy. Dr hab. Aneta Jastrzębska od lat prowadzi badania związane z opracowaniem zarówno procedur oznaczania różnych związków zarówno *organicznych, jak i nieorganicznych, w żywności, a także opracowania metod przygotowania tych próbek do analizy i jest w tym zakresie uznanym specjalistą.*

Przedmiot ocenianej rozprawy jest zakotwiczony w zakresie szeroko rozumianej chemii analitycznej i dotyczy głównie nowych procedur oznaczania wybranych aminokwasów, tryptofanu i kwasu glutaminowego oraz witamin B₁, B₆ i B₉ w żywności z wykorzystaniem izotachforezy kapilarnej, jako metody komplementarnej do powszechnie stosowanych metod chromatograficznych. Warto podkreślić, że wybrane do analizy aminokwasy i witaminy z grupy B to związki uczestniczące w syntezie neuroprzekazników istotnych dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego człowieka. Ponieważ synteza

neuroprzekaźników w dużym stopniu zależy od spożywanej żywności, nieodpowiednio zbilansowana w pod kątem zawartości tych związków prowadzi do zaburzeń w ich syntezie. Efektem tego są problemy emocjonalne, trudności z pamięcią i koncentracją czy choroby psychiczne i neurodegeneracyjne. Z tego powodu konieczna jest znajomość poziomu tych związków w żywności. Wymienione wyżej fakty świadczą o ważności tematyki dysertacji, szczególnie w aspekcie aplikacyjnym.

Celem ocenianej rozprawy Pani mgr Sylwii Kowalskiej było zatem:

- opracowanie procedur ilościowej analizy tryptofanu i kwasu glutaminowego oraz witamin B₁, B₆ i B₉ za pomocą jedno- i dwukolumnowej izotachoforezy kapilarnej,
- walidacja opracowanych procedur
- weryfikacja wykorzystania klasycznych metod ekstrakcji i zaęzania analitów z próbek żywności.

Rozprawa mgr Sylwii Kowalskiej napisana została w klasycznym układzie rozdziałów i zawiera wszystkie elementy cechujące dobrze przygotowaną i napisaną rozprawę doktorską. Praca liczy 206 stron, zilustrowana jest 71 rysunkami i zawiera 44 tabele. Na przedstawioną do oceny pracę składają się obszerny i szczegółowy przegląd literatury (aż 335 cytowane pozycje literaturowe), cel pracy i część eksperymentalną zawierającą zarówno metodykę badań, jak i omówienie uzyskanych wyników, podsumowanie i wnioski. Na samym końcu umieszczono wymagane streszczenia, wykaz cytowanej literatury, spis rysunków i tabel, wykaz dorobku naukowego Autorki zawierający wykaz publikacji, komunikatów i posterów prezentowanych na konferencjach, projektów naukowych w których brała udział, odbyte staże naukowe, uzyskane nagrody, wyróżnienia i stypendia oraz materiały uzupełniające.

Część doświadczalna pracy została poprzedzona obszernym przeglądem literatury przedmiotu, w którym mgr Sylwia Kowalska bardzo rzetelnie przedstawiła najważniejsze zagadnienia związane z tematyką rozprawy. Część tę rozpoczęła od krótkiego przedstawienia znaczenia tematyki rozprawy, po czym opisała badane związki, ich budowę, właściwości, rolę w organizmie człowieka i wpływ na jego zdrowie oraz źródła zarówno wybranych aminokwasów jak i witamin w diecie. Opisała metody oznaczania aminokwasów w żywności oraz sposoby przygotowania próbek do analizy. Następnie przedstawiła metody oznaczania witamin z grupy B w żywności oraz sposoby przygotowania próbek żywności do analizy zwracając szczególną uwagę na witaminy B₁, B₆ i B₉, będące przedmiotem pracy. Po czym

opisała izotachoforezę kapilarną i jej warianty oraz procedury oznaczania związków chemicznych tą metodą. Na koniec przedstawiła problemy związane z analizą aminokwasów oraz witamin z grupy B, uzasadniając użyteczność i zalety niezbyt popularnej metody izotachoforezy kapilarnej do oznaczania tych substancji wskazując przede wszystkim na uproszczenie etapu przygotowania próbek żywności do analizy, stosunkowo krótki czas analizy, wysoką zdolność rozdzielczą, możliwość detekcji bez konieczności stosowania pochodnych oraz minimalne zużycie rozpuszczalników i odczynników, co jest istotne z punktu widzenia procedur zielonej chemii analitycznej. Ogólnie uważam, że część literaturowa jest ciekawa, a zakres i tematyka zostały trafnie dobrane, co pozwoliło Autorce na właściwe określenie celu pracy.

Rozdział, zatytułowany „Część eksperymentalna” to oprócz opisu metodyki pracy, wykazu stosowanych skrótów, odczynników, materiałów i aparatury, uzyskanych wyników i ich dyskusji oraz podsumowania i wniosków zawiera również streszczenia, bibliografię, wykaz dorobku naukowego Autorki i załączniki. Taki podział treści jest niestandardowy, w związku z czym jest niezbyt czytelny. Moim zdaniem lepiej byłoby podzielić go na część doświadczalną, omówienie wyników z dyskusją i wnioskami oraz dodatki, co ułatwiłoby analizę i ocenę monografii.

W ramach tej części pracy Pani mgr Sylwia Kowalska w szczególności podjęła się:

1. Opracowania nowych procedur oznaczania zarówno wybranych aminokwasów, jak i witamin z grupy B z wykorzystaniem izotachoforezy, a także zbadania wpływu takich czynników jak rodzaj przeciwnionów, stężenia jonów wiodących i kończących oraz hydroksycelulozy na proces rozdziału.
2. Przeprowadzenie pełnej walidacji opracowanych procedur analitycznych i porównanie otrzymanych wyników dla próbek żywności z wynikami uzyskanymi za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.
3. Opracowanie warunków i sposobu przygotowanie próbek żywności, zarówno ciekłych jak i stałych, do analizy wymienionych związków za pomocą opracowanej i zwalidowanej procedury.

4. Wykorzystanie opracowanych procedur do oznaczania tryptofanu, kwasu glutaminowego i wybranych witamin z grupy B w próbkach napojów i różnego rodzaju mąk.

Do najważniejszego osiągnięcia przedstawionego w pracy mgr Sylwii Kowalskiej zaliczam wykazanie możliwości zastosowania izotachoforezy kapilarnej do oznaczania aminokwasów i witamin w analizie żywności z czułością, dokładnością i powtarzalnością porównywalną z metodami chromatograficznymi. Metodę tę bowiem charakteryzuje łatwość przygotowania próbki do analizy, niewielkie objętości próbek (do 30 μ L), krótki czas analizy, niewielkie zużycie rozpuszczalników, w większości są to bowiem roztwory wodne soli nieorganicznych lub organicznych, co pozwala ją zaliczyć do technik zielonej chemii oraz niski koszt analizy. Jest to efektem szczegółowych badań dotyczących opracowania uproszczonych procedur przygotowania próbek żywnościowych o skomplikowanym składzie oraz opracowania i walidacji nowych procedur ilościowej analizy tych związków z wykorzystaniem jedno- i dwukolumnowej izotachoforezy kapilarnej.

Na uwagę zasługuje fakt, iż rozprawa jest napisana bardzo dobrze i ładną polszczyzną, co sprawia że czyta się ją z przyjemnością. Treści zawarte w poszczególnych częściach rozprawy podane są we właściwych proporcjach i są zgodne z zakresem podjętych badań. Zarówno pod względem merytorycznym, jak i edytorskim praca nie budzi zastrzeżeń. Drobne błędy redakcyjne dostrzeżone przez recenzenta, że wymienię tylko przykładowe, gdzie powinno być: str. 111 (substancje wykazujące), str. 118 (brzeczce) czy str. 119 (pseudo-zbóż) a jest ich naprawdę mało biorąc pod uwagę fakt iż praca liczy 206 stron, nie wpływają na moją wysoką ocenę rozprawy.

Pomimo mojej wysokiej oceny recenzowanej rozprawy mam do niej kilka uwag i pytań:

1. Omawiane na stronie 101 wyniki precyzji oraz precyzji pośredniej pomiarów aminokwasów, w której uzyskane wyniki mieściły się w zakresie 1,4 -7,1% są gorsze od wyników uzyskanych przez innych autorów wymagają dyskusji i uzasadnienia.
2. Proszę o ustosunkowanie się do komentarza dotyczącego analizy wyników zawartości witamin, zarówno własnych jak i literaturowych, a szczególnie ich rozbieżności w kontekście wykazanego podczas walidacji procedury braku wpływu matrycy na wyniki analiz. (str. 117-118).

3. Dlaczego opracowując metody przygotowania próbek mąk do analizy witamin z grupy B wybrano mąkę dyniową, podczas gdy do analizy aminokwasów mąkę grochową.
4. Proszę o wyjaśnienie dlaczego dla mąki pszennej długości stref witaminy B₉ znajdowały się poniżej granicy oznaczalności.
5. Dlaczego sporządzając krzywe wzorcowe dla witamin przygotowano wyjściowe roztwory podstawowe o różnych stężeniach (str. 146).

Podsumowując chciałbym stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016, poz. 882). Zakres badań, zawarte w niej wyniki doświadczalne, sposób interpretacji oraz wnioskowania wskazują, że mgr Sylwia Kowalska wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych i wniosła istotny wkład w rozwój badań dotyczących opracowania skutecznych metod analitycznych użytecznych w analizie aminokwasów i witamin w żywności. Po zapoznaniu się z rozprawą mgr Sylwii Kowalskiej **stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia wszelkie wymagania stawiane w Ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych rozprawom doktorskim i wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

T. Wlięgorch

