



Prof. dr hab. Antoni Szumny

Wrocław, 2023-09-30

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

Pani mgr inż. Moniki Anny Marcinkowskiej pt.:

*„Lotne produkty degradacji glukozyolanów jako związki sensorycznie
aktywne w warzywach kapustowatych”*

wykonanej w Pracowni Badania Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie Katedry
Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

promotor prof. dr hab. Henryk Jeleń

Uwagi ogólne na temat przedstawiony w dysertacji

Tematyka kształtowania i analizy profilu jakościowego i ilościowego związków lotnych, kształtujących profil zapachowy produktów spożywczych jest przedmiotem co najmniej kilkuset (wg bazy Scholar) publikacji rocznie. Dostępne bazy danych, coraz bardziej zaawansowana aparatura analityczna jak również dostępność gotowych not aplikacyjnych dostarczanych przez producentów aparatury, powodują że wiele zespołów naukowych niemal rutynowo wykonuje tego typu badania. Pewnym nierozpoznanym w pełni obszarem jest aromat roślin bogatych w glukozyolany. Analiza ich aromatów jest bardzo trudnym wyzwaniem – albowiem tworzący się aromat jest wypadkową wielu czynników, w tym obecności pierwotnych lotnych metabolitów, tempa degradacji glukozyolanów, możliwe przemiany termiczne (w tym na detektorze aparatu). W mojej ocenie brak było publikacji w pełni ilościowo, jakościowo i sensorycznie określających skład lotnych metabolitów wtórnych roślin z rodziny kapustowatych. Doktorantka podjęła się uzupełnienia powyższej luki w sposób kompleksowy, stosując wymienione powyżej podejścia. Z tego powodu uznaję wybór tematyki dysertacji - przez jeden z największych krajowych



autorytetów w obszarze badań ilościowych aromatów produktów spożywczych - prof. *Henryka Jelenia* i jego realizację przez Doktorantkę za wszech miar słuszny.

Ocena celu pracy i metodologii badań, służących rozwiązaniu

podjętych problemów i wyników

W przedstawionej dysertacji składającej się z cyklu 4 powiązanych tematycznie publikacji Autorka podjęła się uzupełnienia stanu wiedzy w podejściu nad powstawaniem i analizą aromatu na przykładzie modelowej rośliny – kalarepy (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes*). Autorka zaplanowała następujące cele pracy:

- a) przegląd literaturowy dot. Związków sensorycznie aktywnych w warzywach;
- b) zbadanie cech sensorycznych wybranych izotiocyjanianów oraz współczynników podziału gaz-ciecz warunkujących ich progi wyczuwalności sensorycznej i uwalnianie w różnych matrycach;
- c) optymalizacja blokowania aktywności myrozynaz solami nieorganicznymi;
- d) identyfikację izolację oznaczenie ilościowe i charakterystykę sensoryczną aktywnych zapachowo związków obecnych w kalarepie surowej oraz gotowanej.
- e) profilową analizę sensoryczną otrzymanych kompozycji zapachowych.

Świadczy to nie tylko o bardzo dobrze zorganizowanym warsztacie badawczym, ale też o wielkim nakładzie pracy eksperymentalnej, którą Autorka wymienionej dysertacji musiała wykonać. Przy tak licznej grupie badawczej oraz wykonanych powtórzeniach, szacowana przeze mnie ilość analiz chromatograficznych (GC-MS) prezentowanych w dysertacji wynosi kilkaset, więc czas włożony w precyzyjną i szczegółową interpretację musiał być naprawdę olbrzymi. Nawet dla piszącego te słowa jedna tylko przedstawiona w części doświadczalnej tabela ze składem to niekiedy nawet kilka dni pracy. Z wielkim uznaniem podkreślam tu precyzję wykonanych pomiarów, o czym świadczą m.in. zaprezentowane w publikacjach odchylenia standardowe w oznaczeniach ilościowych.



Metodyka analityczna stosowana w trakcie realizacji pracy doktorskiej była ponadstandardowa dla tego typu badań. Pani Monika Marcinkowska posłużyła się techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem masowym (GC-MS) w tym dwuwymiarowym w technice *time of flight*. Do rozdziału została wybrana kolumna niepolarna domieszkowana SPB-5 lub HP-5 oraz polarna Supelcowax. Co bardzo istotne, oznaczenie ilościowe frakcji aromatycznych było oparte o standardy znakowane izotopowo, co nie pozostawia wątpliwości do rzetelności otrzymanych wyników, w przeciwieństwie do innych oznaczeń wykonywanych np. z jednym wzorcem wewnętrznym. Wyniki badań zostały przedstawione w 3 publikacjach w czasopiśmie o zarówno wysokim współczynniku wpływu jak i punktach Ministerstwa Edukacji i Nauki. Wymienione publikacje to:

PI. Marcinkowska, M. A., & Jeleń, H. H. (2022). Role of sulfur compounds in vegetable and mushroom aroma. *Molecules*, 27(18), 6116 (praca przeglądowa);

PII. Marcinkowska, M., & Jeleń, H. H. (2020). Determination of the odor threshold concentrations and partition coefficients of isothiocyanates from Brassica vegetables in aqueous solution. *LWT*, 131, 109793;

PIII. Marcinkowska, M., & Jeleń, H. H. (2020). Inactivation of thioglucosidase from *Sinapis alba* (White Mustard) seed by metal salts. *Molecules*, 25(19), 4363;

oraz

PIV. Marcinkowska, M., Frank, S., Steinhaus, M., & Jelen, H. H. (2021). Key odorants of raw and cooked green kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(41), 12270-12277.

Publikacje te stanowią zwarty, logiczny ciąg badań nad zagadnieniami kształtowaniem się zapachu kalarepki. I chociaż zostały one gruntownie zrecenzowane to moje drobne uwagi i wątpliwości odnoszą się np. do następujących fragmentów:

- a) Dlaczego w publikacji nr PI strukturę w Tabeli 1 nazwano benzenometanotiolem i jednocześnie nazwą synonimiczną fenylometanotiolem)? Ta druga, biorąc pod uwagę budowę grupy benzyłowej i fenyłowej wydaje się być nieuprawniona;



- b) Co oznacza na Fig. 1 słowo „Bases”, zasady? Autorka miała na myśli aminy?
- c) Czy faktycznie w żywności występują aż 154 halogenki? Jest to liczba dosyć przeszacowana w mojej ocenie;
- d) W **PI**, za schemacie 5, dla epitionitrylu brakuje informacji że $n = 1-3$;
- e) W **PI** przedstawiona na schemacie 5 struktura to 2-tiono-oxazolodyna;
- f) Czy Autorkę nie zastanawia fakt wyższego czasu retencji izotiocyjanianu *etylu* (6,89 min) w stosunku do *izopropyloizotiocyjanianu* (6,49 min) w **PII** Tabela 3?
- g) Podobnie do p-ktu powyżej, czy Autorkę nie zastanawia fakt wyższego czasu retencji izotiocyjanianu *metylu* (6,79 min) w stosunku do *izopropyloizotiocyjanianu* (6,49 min) w **PII** Tabela 3?
- h) Jak Autorka tłumaczy niemal 20-krotnie niższą wartość współczynnika podziału w przypadku ludzkiej śliny dla izotiocyjanianu fenylu w stosunku do izotiocyjanianu cykloheksylu (**PII** Tabela 3)?
- i) Czy różnica literaturowych i wyznaczonych eksperymentalnie indeksów retencji dla 5-metylosulfanylopentanonitrylu wynosząca niemal 60 nie jest dla Autorki zaskoczeniem (**PIII** Tabela 1)?
- j) Jak mogła wyglądać wydajna homogenizacja próbki kalarepki z bezwodnym siarczanem sodu (**PIII** Rys. 4)?
- k) Spoglądając na Rys. 4 w **PIII**, wialka nr (e) mogę przypuszczać, że dochodziło tam już do fotochemicznej przemiany związków srebra. Czy Autorka wzięła również możliwe oddziaływania matrycy kalarepki z tymi produktami?
- l) Wartość wyznaczonego indeksu retencji 2-heptanonu różni się o 142 od literaturowej (**PIII** Tabela 2). Uwzględniając specyfikę wartości indeksów retencji wyznaczanych na kolumnach polarnych, czy nie doszło tu jednak do pomyłki?
- m) Czy autorkę nie zastanawia, że w kontroli nieobecne były np. typowy dla roślin (*Z*)-heks-3-en-1-ol, podczas gry dodatek chlorku wapnia powodował jego pojawianie się? Podobnie jak np. (*E*)-heks-2-enal po dodatku bezwodnego siarczanu sodu (**PIII** Tabela 2). Związki te nie są bezpośrednim produktem działania myrozynaz.



- n) Zaskakuje również niemal „sterylny” obraz chromatograficzny dla zastosowania soli srebra (Tabela 2 PIII);
- o) Czy przedstawiony w Tabeli 1 **PIV** 2-fenoksyetanol może być antropogenicznym artefaktem chromatograficznym?
- p) Czy 12-metylotridekanal w Tabeli 1 **PIV** może być również artefaktem? Widma MS rozgałęzionych aldehydów często są bardzo podobne do siebie, jak również do liniowych pochodnych.
- q) Przedstawione OT wielu związków np. izotiocyjnianu benzylu (**PII** Tabela 2 i **PIV** Tabela 2) różną się. Jaka jest przyczyna takiego doboru tych wartości?

Opisane powyższe wątpliwości nie powinny wpłynąć na bardzo pozytywny odbiór ocenianej dysertacji. Są to bardzo drobne uwagi, które zawsze przy publikowaniu tego typu prac można odnaleźć. Przedstawione wyniki badań w publikacjach PI do PIV stanowią bardzo sensowny zbiór założonych doświadczeń, wykonanych w sposób prawidłowy. Otrzymane tam wyniki oceniam za bardzo wiarygodnie. Dodatkowo mogę tu stwierdzić, że poziom powyższych prac może być obiektem naśladowania przez przyszłych badaczy aromatów roślin z rodzaju kapustowate.

Techniczna i edytorska ocena rozprawy

Przedstawiona dysertacja posiada typową strukturę. Składa się ze 134 numerowanych stron – przewodnika po tematyce załączonych publikacjach i samych publikacji. Znajdujemy również krótkie podsumowanie dorobku naukowego Doktorantki. Pierwsza część – *Wstęp* wprowadza czytelnika w zagadnienia opisane w dysertacji. Jest to według mojej opinii dobra część pracy. Autorka w sposób przejrzysty wprowadziła czytelnika w zagadnienia poruszane w trakcie realizacji pracy doktorskiej. Została opisana m.in. tematyka chemii naturalnych, lotnych związków siarki jak również mechanizmy ich powstawania. Część *Hipoteza i cel pracy* został zarysowany klarownie, czytelnik nie ma wątpliwości co do zamierzeń, jakie Doktorantka obrała. Jako hipotezę Doktorantka przedstawia słuszne (i chyba oczywiste dla każdego) stwierdzenie, że na aromat warzyw kapustowatych w znacznym stopniu wpływają lotne produkty glukozynolanów. Rozdział *Omówienie wyników pracy przeglądowej i badań* jest syntetycznym przedstawieniem stosownych



części cyklu publikacyjnego. Część *Wnioski* stanowią zestawienie 4 kluczowych rezultatów badań otrzymanych w trakcie realizacji doktoratu.

Wnioski końcowe

Wymienione powyżej drobne uwagi krytyczne mają charakter marginalny i nie wpływają na wysoką jakość przedstawionej do recenzji pracy. Bardzo dobrze zaplanowany cel pracy został **zrealizowany**, a przedstawione wyniki nie budzą wątpliwości.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Moniki Anny Marcinkowskiej posiada **niebagatelną wartość merytoryczną** zawiera bogaty materiał badawczy i metodologiczny w obszarze analizy aromatów roślin z rodzaju kapustowate. Uzupełnia dotychczasową lukę w badaniach nad aromatem kalarepy, ale też wskazuje na metodykę badań nad innymi roślinami z tej rodziny.

W mojej opinii dysertacja **spełnia** wszelkie kryteria **ustawowe i zwyczajowe** stawiane rozprawom doktorskim i z pełnym przekonaniem składam do Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Pani prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej wniosek o **dopuszczenie rozprawy** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, za stworzenie zwartego, cyklu bardzo dobrych publikacji, przedstawiających w sposób kompleksowy i wyczerpujący zagadnienia aromatów kalarepy (i potencjalnie dowolnej rośliny z tej rodziny) jak również za wskazanie wzorcowej metodyki w ich przeprowadzeniu wnoszę o **wyróżnienie** przedstawionej mi **dysertacji**.