

dr hab. Danuta Zielińska, prof. UWM  
Katedra Chemii  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Mariusza Banacha  
z tytułu

*„Wykorzystanie i optymalizacja zaawansowanych technik rozdzielczych do pozyskiwania  
i zatężania antocyjanów, jako składnika żywności funkcjonalnej”*

wykonanej w Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów Wydziału Chemii  
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem prof. dr hab. Wojciecha Kujawskiego

Recenzja przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej Pana mgr Mariusza Banacha składa się z oceny następujących elementów: dobór i znaczenie problemu badawczego, bibliografia i znajomość literatury, układ pracy, zastosowana metodyka badań, koncepcja rozwiązania problemu naukowego i aplikacyjnego oraz przedstawionych wyników i ocena końcowa. Praca ta powstała w wyniku realizacji programu „Doktorat wdrożeniowy” w ramach zatrudnienia w firmie Greenvit sp. z o.o.

### Ocena doboru i znaczenia problemu badawczego

Dane epidemiologiczne wskazują na bezpośrednią zależność między wielkością spożycia warzyw i owoców a redukcją ryzyka chorób degeneracyjnych, w szczególności nowotworów. Sposób żywienia współczesnego człowieka najczęściej nie dostarcza zalecanych ilości składników, do których należą również zawarte w żywności składniki nieodżywcze, takie jak witaminy, związki mineralne oraz roślinne polifenole, wśród których ważną grupę stanowią antocyjany. To właśnie te ostatnie związki wraz z witaminami przeciwutleniającymi odgrywają największą rolę w prozdrowotnym działaniu warzyw i owoców. Odpowiednia ilość polifenoli dostarczona do organizmu sprzyja stabilizacji genetycznej, a w szczególności zmniejsza poziom endogennych uszkodzeń oksydacyjnych DNA. Co prawda w ostatnich latach rośnie świadomość konsekwencji, do jakich może doprowadzić niewłaściwe odżywianie, ale „przyspieszony” tryb życia jest przyczyną zwiększonego spożycia najrozmaitszych suplementów diety, a zwłaszcza tych zawierających ekstrakty roślinne. W tym kontekście niezmiernie istotna jest świadomość, aby w postaci suplementów nie dostarczać organizmowi polifenoli w stężeniach wielokrotnie przekraczających stężenia w spożywanych owocach i warzywach, gdyż wtedy mogą one wpływać negatywnie na organizm. Sposoby konserwacji warzyw i owoców, które gwarantowałyby zachowanie jak największej zawartości obecnych w nich związków polifenolowych są obecnie przedmiotem dużego zainteresowania wśród naukowców. Do nowatorskich metod sposobu konserwacji owoców należy wytwarzanie ekstraktów suchych, tzw. suszonych proszków owocowych, bogatych zwłaszcza w antocyjany, które stanowią naturalne barwniki stosowane w przemyśle spożywczym jak i cenne składniki żywności funkcjonalnej. Podjęcie tematyki wykorzystania i optymalizacji zaawansowanych technik rozdzielczych do pozyskiwania i zatężania antocyjanów, jako składnika żywności funkcjonalnej w pracy doktorskiej mgr Mariusza Banacha uważam za trafne, ważne

i aktualne oraz uzasadnione ze względów poznawczych i aplikacyjnych. Przedstawiona do recenzji rozprawa znajduje się w nurcie bieżących zagadnień badawczych i jest kontynuacją prac naukowych realizowanych w Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

#### Ocena bibliografii i znajomości literatury

Wykaz literatury obejmuje 236 pozycji przedstawiających zagadnienia ściśle związane z tematem badań. Doktorant wykazał się pracowitością w gromadzeniu informacji ze światowej literatury. O aktualności dobranej literatury świadczy fakt, że aż 52 pozycje to publikacje z ostatnich pięciu lat. Recenzent nie ma zastrzeżeń odnośnie znajomości tematu, zakresu i sposobu wykorzystania przedstawionej literatury.

#### Ocena układu pracy

Recenzowana rozprawa została przedstawiona na 150 stronach w języku polskim. Tytuł rozprawy został sformułowany poprawnie i odpowiada przedstawionym w ramach pracy rezultatom badań. Rozprawa ma klasyczny układ prac eksperymentalnych i została podzielona na kolejne części: wprowadzenie, część literaturową, cel pracy, część eksperymentalną, uzyskane wyniki i dyskusję oraz wnioski końcowe. Do pracy został dołączony: spis tabel i rysunków, bibliografia, streszczenie, specyfikacje suchych ekstraktów oraz dorobek naukowy Doktoranta. Oceniana rozprawa doktorska jest bogato ilustrowana i zawiera 35 rysunków i 20 tabel, które zostały przygotowane w sposób profesjonalny i doskonale uzupełniają materiał informacyjny zawarty w tekście pracy.

We wprowadzeniu literaturowym Doktorant przedstawił charakterystykę wybranych do badań owoców jagodowych aronii, bzu czarnego i borówki czarnej podając ich opis botaniczny, zawartość związków bioaktywnych oraz dostępne informacje na temat ich właściwości prozdrowotnych. W następnej kolejności Doktorant przedstawił zagadnienia dotyczące struktury i właściwości antocyjanów, a także obecnie stosowane metody jakościowej i ilościowej analizy tych związków. Autor omówił również chromatograficzne i membranowe metody separacji polifenoli stosowane w celu oczyszczenia ekstraktów głównie z mono- i disacharydów oraz kwasów organicznych. Dużo uwagi poświęcił również przedstawieniu możliwości wykorzystania do tego celu ciśnieniowych procesów membranowych z użyciem różnego rodzaju membran. Autor przedstawił także dane literaturowe dotyczące zastosowania procesów membranowych w przemyśle spożywczym oraz scharakteryzował suszenie rozpyłowe będące jedną z najbardziej powszechnych technik suszenia w przemyśle spożywczym.

Głównym celem badań niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie technologii produkcji suchych ekstraktów roślinnych z owoców jagodowych aronii, bzu czarnego oraz borówki czarnej, standaryzowanych na wysoką zawartość antocyjanów. Praca ma charakter wdrożeniowy i jej wyniki powinny znaleźć zastosowanie w opracowaniu żywności funkcjonalnej o wysokiej jakości do produkcji nowych suplementów diety oraz naturalnych barwników spożywczych.

#### Ocena zastosowanej metodyki badań

Na część eksperymentalną pracy składa się wyczerpujący i zarazem zwięzły opis metod analitycznych oznaczania antocyjanów i kwasów fenolowych w owocach aronii, bzu czarnego i borówki czarnej jak i oceny aktywności biologicznej pozyskanych z nich ekstraktów z wykorzystaniem linii komórkowych. Szczególnie starannie, zamieszczając dodatkowo rysunki ekstraktorów, Doktorant opisał ekstrakcję antocyjanów zarówno w skali laboratoryjnej jak i w skali produkcyjnej. Zastosowane

procedury analityczne były złożone i czasochłonne, wymagały dużych umiejętności i nakładu pracy, i w pełni pozwoliły zrealizować założony ambitny cel badań.

#### Ocena koncepcji rozwiązania problemu naukowego i aplikacyjnego oraz przedstawionych wyników

Rozdział Wyniki i dyskusja przedstawia szczegółowy opis wyników badań wraz z krytyczną i naukową dyskusją. Rozdział ten zawiera wszystkie informacje niezbędne do właściwego zrozumienia badań wykonanych przez Autora, które zostały dobrze przemyślane i wykonane.

W pierwszej kolejności Doktorant przeprowadził badania prowadzące do optymalizacji warunków ekstrakcji antocyjanów z różnych surowców, takich jak mrożone wytloki i owoce aronii, suszone wytloki i mrożone owoce bzu czarnego oraz mrożone owoce borówki czarnej. Analiza wyników badań dotyczących wpływu rozpuszczalnika na ekstrakcję antocyjanów, stosunku ekstrahenta do surowca oraz czasu ekstrakcji i temperatury została przeprowadzona starannie i każdorazowo uwzględniano możliwość utrzymania takich parametrów ekstrakcji w linii produkcyjnej. W dalszej kolejności Doktorant omówił wyniki badań dotyczące wyznaczenia optymalnych parametrów separacji chromatograficznej ekstraktów. Przeprowadził szereg testów adsorpcji i desorpcji antocyjanów na żywicach adsorpcyjnych z wykorzystaniem wytypowanych żywic o różnej strukturze chemicznej, różniących się wielkością porów a także powierzchnią właściwą. Ustalił optymalne parametry żywic adsorpcyjnych zapewniające wysoką, przekraczającą 25% zawartość antocyjanów w suchej masie.

Na szczególne uznanie zasługuje moim zdaniem podjęcie przez Doktoranta zbadania możliwości zastosowania ciśnieniowych technik membranowych z wykorzystaniem membran ceramicznych i polimerowych z zakresu mikrofiltracji, ultrafiltracji i nanofiltracji do separacji antocyjanów. W oparciu o badania własne poparte danymi literaturowymi, Autor szczegółowo wyjaśnił obserwowane zatrzymywanie antocyjanów i innych flawonoidów na niektórych membranach wskazując za przyczynę zjawiska kopigmentacji z innymi polifenolami oraz ich oddziaływanie z pektynami i z innymi polisacharydami. Następnie zbadał wpływ ciśnienia transmembranowego, temperatury, załężania ekstraktu oraz diafiltracji, na zawartość antocyjanów w suchej masie ekstraktu, biorąc pod uwagę możliwość utrzymywania ustalonych parametrów w skali produkcyjnej.

Przeprowadzona przez Doktoranta systematyczna analiza chemiczna owoców aronii, bzu czarnego i borówki czarnej pozwoliła na identyfikację związków charakterystycznych dla tych owoców. Autor wskazał również na możliwość wykorzystania zidentyfikowanych profili chromatograficznych do potwierdzenia tożsamości badanych surowców roślinnych i ich ekstraktów. Bardzo cennych informacji dostarczają wyniki badań aktywności biologicznej otrzymanych ekstraktów z wykorzystaniem linii komórkowych. Najbardziej interesujący okazał się ekstrakt z owoców bzu czarnego, ponieważ hamował on proliferację wybranych komórek nowotworowych jaki również stymulował proliferację nienowotworowych, jednojądrzastych komórek krwi obwodowej.

Uzyskane wyniki badań otrzymanych w skali laboratoryjnej były podstawą opracowania metod wytwarzania ekstraktów z aronii, bzu czarnego i borówki czarnej standaryzowanych na co najmniej 25% antocyjanów. Opracowano również specyfikacje ekstraktów, które weszły już do oferty firmy Greenvit Sp. z o. o. Ponadto, niektóre opracowane metody, a mianowicie ekstrakcję i separację chromatograficzną antocyjanów wdrożono już do produkcji.

#### Ocena prawidłowości wnioskowania

Uważam, że na podstawie uzyskanych rezultatów badań Doktorant wyciągnął właściwe i konstruktywne wnioski. Według recenzenta, przeprowadzone do tej pory badania i sformułowane na

ich podstawie wnioski kładą odpowiednie akcenty na znaczenie poznawcze i aplikacyjne oraz są adekwatne do celów określonych w pracy.

#### Ocena końcowa

Oceniając merytorycznie przedłożoną do recenzji pracę doktorską Pana mgr Mariusza Banacha stwierdzam, że Autor wykazał się bardzo dobrą znajomością tematyki badań. Doktorant uzyskał wartościowe wyniki i okazał się sprawnym eksperymentatorem i analitykiem wykazując się umiejętnością posługiwania się nowoczesną aparaturą analityczną. Szczególnie chciałabym podkreślić wartość aplikacyjną rozprawy, albowiem opracowanie metod produkcji suchych ekstraktów standaryzowanych na co najmniej 25% antocyjanów w skali laboratoryjnej posłużyło do przygotowania odpowiednich protokołów ekstrakcji włączonych do oferty firmy Greenvit Sp. z o.o.

Dorobek naukowy Pana mgr Mariusza Banacha obejmuje 4 opublikowane artykuły naukowe w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wysokim współczynniku oddziaływania (sumaryczny IF=12,461), a także doniesienia prezentowane na konferencjach naukowych. Doktorant jest również współautorem jednego patentu i dwóch zgłoszeń patentowych.

Na podstawie oceny pracy doktorskiej Pana mgr Mariusza Banacha zatytułowanej „Wykorzystanie i optymalizacja zaawansowanych technik rozdzielczych do pozyskania i zateżania antocyjanów, jako składnika żywności funkcjonalnej” stwierdzam, że recenzowana rozprawa w pełni odpowiada wymogom art. 179 ust. 2 i 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisom wprowadzającym – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669), w zw. z art. 20 ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595 z póź. zm) stawianym pracom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie Pana mgr Mariusza Banacha do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoki poziom rozprawy doktorskiej, aktualność tematyki badawczej, całokształt wykonanych prac badawczych i przejrzyste przedstawionych w pracy, a także znaczący dorobek publikacyjny i aplikacyjny Doktoranta skłaniają mnie do zgłoszenia wniosku o jej wyróżnienie. Wartość ocenianej rozprawy doktorskiej oceniam bardzo wysoko. Skłaniają mnie do tego następujące przesłanki:

- interesująca i aktualna tematyka rozprawy, dobrze wkomponowana w światowy nurt badań nad funkcjonalnymi, prozdrowotnymi właściwościami żywności bogatej w bioaktywne związki fitochemiczne,
- wyznaczenie optymalnych parametrów etapu ekstrakcji oraz separacji antocyjanów, szczególnie metod z wykorzystaniem technik membranowych,
- w oparciu o wyniki badań otrzymanych w skali laboratoryjnej opracowanie metod produkcji suchych ekstraktów standaryzowanych na co najmniej 25% antocyjanów, które zostały dla ekstraktów z aronii i bzu czarnego włączone do oferty firmy Greenvit Sp. z o. o.

*K. Zielińska*