



Prof. dr hab. inż. Mikołaj Protasowicki

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr n. farm. Justyny Brzezicha-Cirockiej
pt. Ocena bromatologiczna i chemometryczna wybranych gatunków herbat
oraz ich naparów na podstawie ich składu mineralnego

Niniejszą ocenę wykonałem na podstawie uchwały Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego podjętej 11 kwietnia 2017 roku. Decyzję wraz z egzemplarzem rozprawy przesłano pismem DWF-481-D-351/100-2/2017 z dnia 11.04.2017 r.

Przedłożona do recenzji rozprawa została wykonana w Katedrze i Zakładzie Bromatologii, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod naukowym kierunkiem promotora prof. dr hab. n. farm. Piotra Szefera oraz promotora pomocniczego dr hab. n. farm. Małgorzaty Grembeckiej.

Badania były finansowane ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) przyznanych na podstawie decyzji nr MNiSW-DS-6002-4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r.

Wyniki badań wykonanych w ramach rozprawy zostały opublikowane w czterech artykułach zamieszczonych w latach 2016-2017, w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, a są to:

1. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Monitoring of essential and heavy metals in green tea from different geographical origins. *Environmental Monitoring and Assessment* 188:1–11. (IF 1,633; 25 pkt).
2. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Tomasz Ciesielski, Trond Peder Flaten, Piotr Szefer (2017). Evaluation of macro- and microelement levels in black tea in view of its geographical origin. *Biological Trace Element Research* 176:429–441. (IF 1,798; 15 pkt).
3. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Analytical assessment of bio- and toxic elements distribution in Pu-erh and fruit teas in view of chemometric approach. *Biological Trace Element Research* 174:240–250. (IF 1,798; 15 pkt).
4. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Oxalate, magnesium and calcium content in selected kinds of tea: impact on human health. *European Food Research and Technology* 242:383–389. (IF 1,433; 25 pkt).

Przyjęcie artykułów do publikacji w renomowanych czasopismach świadczy o uznaniu znaczenia i wartości merytorycznej badań. Należy zaznaczyć, że

sumaryczny IF tych czasopism wynosi 6,662, natomiast wartość punktowa wg kwalifikacji MNSW stanowi 80.

Artykuły przedstawione jako podstawa postępowania w przewodzie doktorskim mgr n. farm. Justyny Brzezicha-Cirockiej w mojej opinii spełniają wymagania merytoryczne, a także formalne.

We wszystkich artykułach Kandydatka jest pierwszym autorem, natomiast promotorzy występują w dalszej kolejności. Chociaż uważam, że w przypadku postępowania o nadanie stopnia doktora na podstawie publikacji poza doktorantem i promotorem(-ami) w zespole autorskim nie powinny występować inne osoby, to w tym konkretnym przypadku tylko w jednej na cztery prace warunek ten nie jest spełniony. W tym miejscu chcę podkreślić, że w załączonych dokumentach znajdują się oświadczenia wszystkich współautorów, z których wynika jednoznacznie wiodąca rola Doktorantki w badaniach i przygotowaniu materiałów do publikacji.

Rozprawa doktorska została przedstawiona w formie oprawionej, która wraz ze stroną tytułową obejmuje łącznie 113 stron. Kandydatka zawarła w niej następujące rozdziały: I. Wprowadzenie, II. Cel badań, III. Wyniki i dyskusja (z 4-ma podrozdziałami), IV. Wnioski, V. Literatura, VI. Dorobek naukowy, VII. Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy, VIII. Załączniki (odbitki ww. publikacji, IX. Oświadczenia współautorów, X. Streszczenie w języku polskim, XI. Streszczenie w języku angielskim.

Chociaż powyższy układ jest przejrzysty, to w mojej opinii, streszczenia (rozdziały X i XI) można było zamieścić za literaturą (rozdział V), natomiast dorobek naukowy (rozdział VI) na końcu za oświadczeniami współautorów.

Z tytułu rozprawy wynika, że jest ona poświęcona ocenie suszu różnych gatunków herbat i otrzymywanych z nich naparów na podstawie ich składu mineralnego. Problem jakości zdrowotnej herbat jest niezwykle istotny z punktu widzenia konsumenta zwłaszcza jeżeli weźmiemy pod uwagę wielkość spożycia tego napoju.

Związane z tym zagadnienia, w syntetycznej formie (5 str.), na tle dostępnego, najnowszego piśmiennictwa omawia Doktorantka we „Wprowadzeniu”, a ich rozwinięcie czytelnik może znaleźć w załącznikach – odbitkach publikacji, które stanowią podstawę postępowania. Doktorantka wskazuje na zróżnicowanie składu mineralnego herbat tego samego gatunku w zależności od rejonu ich pochodzenia.

Po wprowadzeniu został przedstawiony cel badań, który stanowi podsumowanie celów określonych w publikacjach. Generalnie celem pracy były:

1. Ocena zawartości wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w liściach herbaty dostępnych w sprzedaży na rynku krajowym.
2. Oszacowanie stopnia spożycia biopierwiastków oraz narażenia na metale toksyczne wskutek spożycia herbaty w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych.

3. Bromatologiczna ocena zawartości szczawianów i ich wpływu na zdrowie człowieka w wyniku konsumpcji wybranych rodzajów herbaty.
4. Analiza chemometryczna próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia geograficznego, konfekcji i typu.

Uważam, że w tym miejscu można było zamieścić krótką informację o materiałach i metodach, chociaż nie stanowi to żadnego problemu gdyż dane te są zawarte w części „Wyniki i dyskusja”. W tym rozdziale czytelnik znajduje pełną odpowiedź na pytanie jakie materiały były badane, jakie stosowano metody analityczne i jaka jest wiarygodność wyników, które były podstawą analizy chemometrycznej. Oczywiście pełna informacja znajduje się w oryginalnych publikacjach zamieszczonych w czterech załącznikach (część VIII. Załączniki).

Uważam, że materiał badawczy był bardzo bogaty i różnorodny, bowiem obejmował 191 produktów, wśród których wyróżniono 4 grupy, a były to:

1. 41 rodzajów herbaty zielonej, w tym 17 oryginalnych pochodzących z Chin, Indii, Japonii oraz 24 mieszanki handlowe,
2. 118 rodzajów herbaty czarnej, w tym 43 oryginalne pochodzące z Chin, Indii, Cejlonu, Kenii oraz 75 mieszanek handlowych,
3. 17 rodzajów herbaty ciemnej (Pu-erh) w formie sypkiej/liściastej oraz w torebkach,
4. 15 rodzajów herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców.

W tych materiałach analizowano stężenia biopierwiastków i metali toksycznych, łącznie 14 pierwiastków. Pierwiastki - Ca, K, Na, Mg, P, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cr, Co, Pb, Cd - były oznaczane również w naparach uzyskanych z badanych herbat, czyli w produkcie spożywanym bezpośrednio przez konsumenta. W herbatach oznaczono również zawartość szczawianów (substancja antyodżywcza) pod kątem wyboru rodzaju herbaty dla osób z grupy ryzyka rozwoju kamicy nerkowej.

Analizę pierwiastków, po mineralizacji materiału na sucho, prowadzono stosując metodę płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej oraz spektrometrii UV-Vis. Procedury analityczne, co należy podkreślić, były walidowane, a w tym celu użyto 3[~] certyfikowane materiały odniesienia: Tea (NCS ZC73014), Oriental Basma Tobacco Leaves (INCT-OBTL-5) oraz Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6). Badania potwierdziły bardzo dobrą dokładność (86-113%) oraz precyzję (0,02-10,3%) metod analitycznych. Wskazuje to na pełną wiarygodność wyników badań herbat.

Rozdział „Wyniki i dyskusja” jest istotą prezentacji osiągnięcia naukowego mgr n. farm. Justyny Brzezicha-Cirockiej. Doktorantka omawia swoje wyniki z zachowaniem porządku przyjętego w celu badań. Dowód przeprowadza na podstawie posiadanej wiedzy i najnowszych publikacji innych autorów. Wykazuje się przy tym bardzo dobrą znajomością problematyki związanej z tematem pracy. W autoreferacie, w celu zobrazowania wyników zawartych

w opublikowanych artykułach, przedstawiła je w formie rysunków, co ułatwia czytelnikowi śledzenie argumentacji.

W dyskusji zwrócono uwagę na zróżnicowanie składu mineralnego herbat oraz zawartości szczawianów w zależności od ich rodzaju i kraju pochodzenia. Autorka słusznie wiąże istnienie tych różnic z warunkami glebowymi w miejscu uprawy herbaty, zwraca też uwagę na możliwość przedostawania się niektórych metali na etapie produkcji, ze sprzętu i urządzeń. Ważnym z punktu widzenia konsumenta jest to, że w analizowanych rodzajach herbaty zawartość metali uznanych za jednoznacznie toksyczne nie przekraczała najwyższych dopuszczalnych stężeń. W tym względzie z uwagi na najmniejsze stężenia ołowiu zwracały uwagę czarne herbaty z Kenii, a kadmu - zielone herbaty z Indii.

Oczywiste jest, że zawartość makro i mikroelementów w suszu herbaty decyduje o ich stężeniu w naparze – środku spożywczym. Badania podjęte w tym kierunku są istotą pracy mgr n. farm. Justyny Brzezicha-Cirockiej. Doktorantka wykazała, że stopień ługowania poszczególnych pierwiastków jest istotnie zróżnicowany. Spośród analizowanych pierwiastków w wysokim stopniu (>50%) ekstrahowały się K, Na, Ni, Co, w umiarkowanym (20 – 50%) Mg, Mn, Cu, Zn, Cr, a w niewielkim (<20%) Ca, P, Fe, Pb, Cd. Szczególnie istotny dla konsumenta jest fakt słabego ługowania pierwiastków toksycznych - ołowiu i kadmu, co przy ich niewielkich stężeniach w suszu niweluje zagrożenie zdrowia konsumenta.

Spożycie 1 filiżanki herbaty (200 ml) w niewielkim stopniu pokrywa zalecane dzienne zapotrzebowanie (RDA) na większość makro i mikroelementów. Doktorantka wykazała, że wypicie 1 filiżanki herbaty w większości przypadków dostarcza maksymalnie do 1% RDA makro i mikroelementów. Niektóre rodzaje herbaty mogą być jednak istotnym źródłem chromu (herbata czarna i zielona pokrywa do 4% RDA) i kobaltu (herbata czarna pokrywa do 10% RDA). Jedynie stężenie Mn w naparach z różnych rodzajów herbat było na tyle duże, że można mówić o istotnym udziale herbaty w pokryciu zapotrzebowania organizmu człowieka na ten pierwiastek, nawet do 28% RDA.

Wiadomo, że herbata posiada silne właściwości antyoksydacyjne, co pozytywnie wpływa na organizm człowieka, ale z drugiej strony obecność szczawianów może być przyczyną powstawania kamicy nerkowej. Jednak ich obecność może też w znacznym stopniu ograniczyć pobieranie niektórych pierwiastków. Ten aspekt jest bardzo istotny w przypadku obecności pierwiastków toksycznych. Zagadnieniom tym została poświęcona część dyskusji, która w pełnej formie jest zawarta w opublikowanej pracy oryginalnej zamieszczonej jako załącznik 4.

Wszystkie wnioski dotyczące zróżnicowania składu mineralnego herbat i ich naparów w zależności od rodzaju, sposobu konfekcjonowania i kraju pochodzenia zostały potwierdzone w publikacjach na podstawie wykonanej analizy chemometrycznej. Analiza ta pozwala również potwierdzić autentyczność gatunków herbat w oparciu o porównywanie ich składu

mineralnego ze znanym wzorcem, którego pochodzenie nie budzi żadnych wątpliwości.

Rozdział autoreferatu zatytułowany „Wnioski” jest krótkim siedmipunktowym podsumowaniem wyników badań opublikowanych w czterech wymienionych na wstępie publikacjach.

W tej części Doktorantka stwierdza, co następuje:

1. Na podstawie analizy 1300 próbek herbaty określono zawartość analizowanych makro- i mikropierwiastków w badanych gatunkach herbaty.
2. Stwierdzono znaczne zróżnicowanie stężeń pierwiastków chemicznych jak również w zawartości szczawianów w analizowanych herbatach zielonych, czarnych, Pu-erh oraz owocowych.
3. Napary herbaciane charakteryzowały się spośród oznaczanych makropierwiastków najwyższymi poziomami K oraz znaczącymi poziomami Mn, przez co mogą stanowić istotne źródło tych składników mineralnych.
4. Najmniejszym stopniem zanieczyszczenia Pb odznaczały się próbki herbaty pochodzącej z Kenii oraz herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców. Natomiast najmniejszą zawartość Cd stwierdzono w próbkach indyjskiej herbaty zielonej. Wykazano, że spożywanie naparu badanych gatunków herbaty nie stanowi zagrożenia dla zdrowia człowieka w świetle oszacowanego tolerowanego tygodniowego pobrania (PTWI).
5. Na podstawie oceny zawartości szczawianów w poszczególnych rodzajach herbaty, stwierdzono, że osoby o podwyższonym ryzyku wystąpienia kamicy nerkowej powinny spożywać herbatę zieloną z dodatkiem mleka.
6. Dzięki optymalnej liczebności analizowanych próbek, możliwe było efektywne przetworzenie statystyczne danych analitycznych przy użyciu takich wielowariancyjnych technik komputerowych jak FA i CA.
7. Zastosowanie ww. technik chemometrycznych pozwoliło na ocenę próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia, konfekcji, deklaracji producenta (typu), a także jakości zdrowotnej spożywanego produktu, co jest istotne w zachowaniu dobrego stanu zdrowia człowieka.

Uważam, że wszystkie stwierdzenia są w pełni udokumentowane i nie budzą żadnych wątpliwości.

Literatura (92 poz.), która została przywołana w autoreferacie jest ściśle związana z tematyką rozprawy i generalnie obejmuje pozycje cytowane w opublikowanych pracach oryginalnych, które stanowią podstawę postępowania.

Streszczenie, zarówno w języku polskim jak i angielskim, w pełni odzwierciedla zakres, metody i wyniki badań.

Zamieszczenie w opracionych materiałach oświadczeń współautorów publikacji pomaga w ocenie dokonań Doktorantki. Uważam natomiast, że nie

jest konieczne zamieszczanie wykazu dorobku naukowego chociaż zależy to od stanowiska władz wydziału. Niewątpliwie jest to przydatne przy ogólnej ocenie osiągnięć naukowych Doktorantki.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Uważam, że mgr n. farm. Justyna Brzezicha-Cirocka wykonała interesujące badania, które pozwoliły zrealizować nakreślone cele. Wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia prac, dobrą znajomością warsztatu badawczego oraz głęboką wiedzą w zakresie podjętej problematyki. Badania wnoszą nowe informacje do tematyki związanej z bromatologią.

W mojej opinii mgr n. farm. Justyna Brzezicha-Cirocka spełniła wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r. Na tej podstawie występuję do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie mgr n. farm. Justyny Brzezicha-Cirockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, dnia 28 kwiecień 2017 r.



Prof. dr hab. inż. Mikołaj Protasowicki