

Rzeszów, dnia 18 listopada 2019 r.

Dr hab. Ireneusz Kapusta, prof. UR  
Zakład Ogólnej Technologii Żywności i Żywienia  
Instytut Technologii Żywności i Żywienia  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski

## RECENZJA

### pracy doktorskiej mgr Dariusza Jędrejka

pt. "Związki fenolowe chmielu zwyczajnego (*Humulus lupulus* L.) – skład oraz zawartość w polskich i zagranicznych odmianach uprawnych" wykonanej pod kierunkiem: prof. dr hab. Anny Stochmal w Zakładzie Biochemii i Jakości Plonów Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost zainteresowania związkami polifenolowymi pochodzenia roślinnego, zarówno w zapobieganiu, jak i w terapii chorób cywilizacyjnych. Różnorodne właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne oraz ich wielokierunkowa aktywność biologiczna, wykazana w różnych modelach doświadczalnych prowadzonych na zwierzętach i ludziach, jest wynikiem bardzo zróżnicowanej struktury związków polifenolowych. Substancje te wykazują m.in aktywność przeciwutleniającą, antymutagenną, przeciwnowotworową i przeciwmiażdżycową. Ponadto związki te są zdolne do hamowania stanu zapalnego, który może prowadzić do transformacji nowotworowej, zwłaszcza przewlekły stan zapalny. Uwzględniając powszechne dążenie do poprawy stanu zdrowia oraz próby zapobiegania rozwojowi chorób przewlekłych coraz większym zainteresowaniem cieszy się żywność wzbogacona w bioaktywne składniki skomponowana na bazie ekstraktów roślinnych zawierających duże ilości związków polifenolowych. W tym aspekcie rośliną budzącą duże zainteresowanie jest chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.), wykorzystywany jako surowiec do produkcji piwa, który nadaje mu charakterystyczny smak.

Chmiel stanowi cenne źródło związków polifenolowych, które zostały sklasyfikowane w kilka grup strukturalnych, których podstawową grupę stanowią flawonoidy prenylowane.

Przeprowadzone do tej pory badania wskazują na chemoochronny potencjał chmielu zwyczajnego, który daje podstawę do dokładniejszych badań mogących zaowocować w przyszłości wprowadzeniem nowych terapii z wykorzystaniem związków występujących w ekstrakcie z szyszek chmielu, a także z wychmielin, będących surowcem odpadowym w procesie przerobu chmielu z wykorzystaniem ekstrakcji nadkrytycznej za pomocą CO<sub>2</sub>.

Wyniki badań przedstawione w niniejszej dysertacji dotyczące charakterystyki związków fenolowych w tym II-rzędowych związków polifenolowych stanowią doskonałe uzupełnienie istniejącej wiedzy dotyczącej unikalnego profilu metabolitów wtórnych, które przyszłości może stać się przyczynkiem pełniejszego wykorzystania tego surowca w projektowaniu żywności prozdrowotnej. Podjęcie tej tematyki przez Doktoranta uważam za celowe, ważne z punktu widzenia nauki, ale także i praktyki.

### **Formalny opis rozprawy**

Licząca aż 171 stron rozprawa została przygotowana w formie tradycyjnej i posiada układ typowy dla rozpraw doktorskich. Praca jest zredagowana w sposób bardzo staranny, napisana w zasadzie poprawną polszczyzną, aczkolwiek Doktorantowi nie udało się uniknąć szeregu mniej lub bardziej istotnych błędów stylistycznych i interpunkcyjnych oraz uchybień w nazewnictwie. To prawdę powiedziawszy nieuniknione, zwłaszcza przy opracowaniu tak obszernego dzieła. Rozprawa rozpoczyna się *Spisem treści* oraz *Wykazem stosowanych skrótów*, po których znajduje się liczący 37 stron *Wstęp* (zawierający 6 rycin i 5 tabel). Po sprecyzowaniu *Celu pracy* znajduje się liczący 12 stronicowy opis *Części doświadczalnej*. W tym rozdziale Autor umieścił 2 tabele. *Wyniki i dyskusja* liczą aż 58 stron i zawiera 14 rysunków i 32 tabele. Po tym rozdziale następuje *Podsumowanie*, w którym Doktorant w 10 punktach streścił swoje osiągnięcia. Kolejne części rozprawy to streszczenie (w języku polskim i angielskim), *Spis rysunków i tabel* oraz *Literatura*, na która składają się 182 pozycje literaturowe, w tym znaczna ich część to prace z ostatniej dekady, co świadczy o aktualności prowadzonych przez Doktoranta badań.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Tytuł dobrze oddaje zawartość pracy; streszczenie jest poprawnie zbudowane i zawiera niezbędne elementy. We Wstępie Autor dokonuje szczegółowej i w mojej ocenie kompleksowej charakterystyki chmielu zwyczajnego jako ważnej rośliny uprawowej oraz



cennego surowca dla przetwórstwa. W rozdziale tym podzielonym na sześć podrozdziałów, Doktorant opisał najważniejsze, jego zdaniem, informacje związane z tematem pracy. We wstępie opisane zostały następujące zagadnienia: taksonomia i charakterystyka botaniczna rodzaju *Humulus*, oraz chmielu zwyczajnego, historyczne i obecne zastosowanie chmielu zwyczajnego, uprawa oraz główne typy użytkowe i odmiany uprawne chmielu, skład chemiczny oraz metabolity wtórne szyszek chmielu zwyczajnego, aktywność biologiczna związków fenolowych chmielu. Szczególny nacisk położony został na skład chemiczny, w tym metabolity wtórne chmielu, które determinują cechy użytkowe tego surowca. Szczególnie wnikliwie zaprezentowane zostały grupy związków fenolowych występujące w unikalnym surowcu roślinnym jaki stanowią szyszki chmielowe. W oparciu o opis można wnioskować, że jego wiedza dotycząca tego zagadnienia jest wysoka. Na wyróżnienie zasługuje zamieszczenie tabel i schematów pomocnych w zrozumieniu zróżnicowania i klasyfikacji obszernego kompleksu fitoskładników chmielu. Część Wstępu została poświęcona również aktywności biologicznej związków fenolowych chmielu. Jakkolwiek zagadnienia te zostały opracowane doskonale, pewien niedosyt budzi pobieżne potraktowanie zagadnień związanych z technologią produkcji piwa, a w szczególności czynników kształtujących jakość piwa wynikającą z obecności polifenoli II-rzędowych.

Cel pracy oraz sposoby jego realizacji zostały jasno określone. Bardzo zwięźle Doktorant określił cel główny oraz określił siedem celów szczegółowych będących kolejnymi etapami pracy mającymi za zadanie dokonać pełnej charakterystyki fitochemicznej II-rzędowych związków polifenolowych chmielu. Cele te są sformułowane poprawnie i jednoznacznie, wskazując celowość podejmowanych przez niego badań.

Do realizacji tych zamierzeń Doktorant zastosował wiele różnorodnych technik badawczych, opisanych wyczerpująco w rozdziale Część doświadczalna. Ten rozdział rozpoczął od listy odczynników oraz aparatury wykorzystywanej w toku badań. Silną stroną jest dobre opisanie badanego surowca pod kątem rodzaju użytych organów chmielu, miejscu i roku zbioru, oraz typie użytkowym odmiany uprawnej. Głównym elementem badań przeprowadzonych przez Doktoranta była analiza profilu związków polifenolowych z uwzględnieniem analizy jakościowej i ilościowej. Muszę podkreślić, że metody analityczne zastosowane w tej pracy są na najwyższym poziomie naukowym. Analizę przeprowadzono przy użyciu bardzo zaawansowanej technologicznie aparatury obejmującej spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), ultrasprawną chromatografię cieczową sprzężoną z detektorem diodowym i tandemowym detektorem mas (UPLC-PDA-MS), wysokosprawną chromatografię cieczową zarówno w trybie analitycznym jak i

preparatywnym (HPLC). Ogólna ocena zastosowanych metod jest bardzo wysoka i można powiedzieć, że mamy do czynienia z umiejętnościami Doktoranta na najwyższym światowym poziomie.

W rozdziale Wyniki badań i dyskusja przedstawione zostały uzyskane wyniki badań, jak również ich interpretacja statystyczna oraz przedyskutowano je z dostępną literaturą. Szczegółowe omówienie osiągnięć Doktoranta, zawartych w ocenianej dysertacji, jest bardzo trudne z uwagi na ogromną ilość uzyskanych danych. Ogólnie można stwierdzić, że z szyszek kultywaru Marynaka oraz kwiatostanów męskich wyizolował przy użyciu technik chromatografii preparatywnej łącznie 42 związki fenolowe, których struktury chemiczne zostały określone przy użyciu metod spektralnych (NMR i MS). Wśród wyizolowanych i zidentyfikowanych związków znalazło się 35 flawonoidów oraz 7 nieflawonoidowych związków fenolowych. Analiza ta jest bardzo pogłębiona, gdyż obejmuje nie tylko główne związki z poszczególnych klas, ale także ich pochodne. Dodatkowo w organach generatywnych i wegetatywnych chmielu zwyczajowo zidentyfikowano, na podstawie analiz chromatograficznych 48 innych związków, wśród których, jak wynika z danych literaturowych, znalazły się struktury, których występowania w organach chmielu jak dotąd nie potwierdzono. Doktorant w ramach opracowanej autorskiej metody UPLC-PDA-MS przedstawił profil ilościowy 39 polifenoli II-rzędowych, w wyciągach z szyszek należących do sześciu odmian uprawnych chmielu oraz chmielu europejskiego. W wyciągach z organów generatywnych (kwiatostany i szyszki) oraz wegetatywnych (korzenie, kłącza, łodygi oraz liście) odmiany uprawnej Marynaka oraz męskiej i żeńskiej formy uprawnej chmielu europejskiego dokonano charakterystyki profilu jakościowego i ilościowego 7 grup II-rzędowych polifenoli – łącznie 57 związków, która pozwoliła stwierdzić istotne różnice w profilach fitochemicznych zarówno poszczególnych częściach i organach jak również analizowanych formach. Dużą zaletą ocenianej dysertacji jest uwzględnienie w badaniach zmienności odmianowej uprawianych odmian chmielu co jest istotnym czynnikiem wpływającym na profil związków polifenolowych. Autor wyznaczył dendrogramy dzięki czemu ustalił podobieństwa między badanymi odmianami chmielu oraz II-rzędowymi związkami fenolowymi występującymi w szyszkach chmielowych. Dodatkowo zastosowanie analizy głównych składowych pozwoliło na dokładniejsze ustalenie wzajemnych korelacji pomiędzy analizowanymi odmianami a zidentyfikowanymi II-rzędowymi pochodnymi polifenoli. Badania te przyniosły ogromna ilość szczegółowych danych. Szczególnie uderza wysoki poziom rozważań nad budową zidentyfikowanych polifenoli, w tekście rozprawy omówiono szczegółowo uzasadnienie każdej dokonanej identyfikacji i uzasadnienie dla



przyjętej struktury chemicznej każdej z wykrytych pochodnych. Jest to ogromna ilość szczegółowych danych, bardzo solidnie omówionych z odniesieniami do literatury światowej.

Kończącą część dysertacji stanowią Podsumowanie i wnioski, w których Doktorant w 10 punktach zawarł główne rezultaty swojej pracy korespondujące z celem pracy. Niemniej jednak w mojej ocenie większość wniosków jest zbyt rozbudowana i powinna zostać skrócona. Jednocześnie warto podkreślić, że przedstawione wnioski potwierdzają poznawczy charakter przedstawionej do oceny dysertacji.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując, przedstawiona rozprawę doktorską oceniam wysoko. Moim zdaniem wykonane badania oraz uzyskane wyniki spełniają zamierzone cele naukowe. Doktorant zastosował szereg metod, którymi biegle się posługiwał. Otrzymane wyniki są wartościowe i z punktu widzenia poznawczego i praktycznego. Moim zdaniem, te wyniki mogą i powinny być opublikowane w czasopiśmie naukowym o wysokim rankingu. Doktorant zastosował szereg metod, którymi biegle się posługiwał. Moje uwagi zawarte w recenzji nie mają charakteru jednoznacznie krytycznego, tylko są zachętą do dyskusji. Nie obniżają one wartości tej rozprawy.

Dlatego też stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). Zwracam się więc do Wysokiej Rady Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach o dopuszczenie Pana mgr Dariusza Jędrejka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę zarówno szeroki zakres wykonanych badań, ciekawą metodykę oraz dojrzałą analizę wyników, wnioskuję o stosowne wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Dr hab. Ireneusz Kapusta, prof. UR