



Łódź, 08-04-2024 r.

Politechnika Łódzka

Instytut Surowców Naturalnych i Kosmetyków

Dr hab. inż. Radosław Bonikowski, prof. uczelni

Politechnika Łódzka

Instytut Surowców Naturalnych i Kosmetyków

ul. Stefanowskiego 2/22

90-537 Łódź

Tel. 42 631 34 20

e-mail: radoslaw.bonikowski@p.lodz.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgra inż. Andrzeja Kwaśnicy

pt. „Opracowanie procedur określania pochodzenia materiału roślinnego metodami chromatograficznymi i genetycznymi”, promotor: prof. dr hab. inż. Antoni Szumny,
opiekun pomocniczy: dr n med. Agnieszka Pilecka

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) oraz Uchwała nr 5.2024.TZZ Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 13 lutego 2024 r.

Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego

Celem recenzowanej rozprawy doktorskiej mgra inż. Andrzeja Kwaśnicy było poszukiwanie metod identyfikacji materiału roślinnego, które mogłyby być pomocne w określeniu źródła jego pochodzenia oraz tożsamości różnych jego próbek. Biorąc pod uwagę fakt, że w pracy skupiono się na analizie składu ziela konopi, które w zależności od zawartości Δ^9 -tetrahydrokannabinolu oraz kwasu tetrahydrokannabinolowego może podlegać pod Ustawę o Przeciwdziałaniu Narkomanii oraz z drugiej strony fakt, że uprawa i pozyskiwanie różnych produktów z konopi włóknistej są obecnie bardzo popularne należy uznać podjęty temat za aktualny.

Ponieważ mgr Kwaśnica w swojej rozprawie skupił się na ziele konopi i praktycznie nie omawia innego surowca roślinnego sugeruję, że temat rozprawy określony jest zbyt ogólnie i mógłby zostać uściślony.

Instytut Surowców Naturalnych i Kosmetyków
90-537 Łódź ul. Stefanowskiego 2/22, budynek A2
tel. 42 631-34-10, w5i52@adm.p.lodz.pl, www.binoz.p.lodz.pl
Adres do korespondencji:
90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116

Formalna ocena pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi połączenie trzech oryginalnych artykułów naukowych, których głównym autorem jest Doktorant (czasopisma Foods oraz Molecules) oraz opisu niepublikowanej części badań. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów widoczny jest znaczny wkład mgra Kwaśnicy w powstanie powyższych publikacji, a co najważniejsze bezspornie autorem koncepcji tych badań był Kandydat do stopnia naukowego doktora. Łącznie rozprawa liczy 185 stron. Wstęp oraz przegląd literatury wprowadzają czytelnika w opisywaną tematykę w sposób wyczerpujący. Autor cytuje 76 pozycji literaturowych, które stanowią głównie artykuły naukowe z liczących się czasopism opublikowane po 2010 roku. Te części rozprawy, w połączeniu ze wstępami do artykułów stanowiących część rozprawy pozwala stwierdzić, że oceniana rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Merytoryczna ocena pracy

Badania przeprowadzone przez mgra inż. Andrzeja Kwaśnicę prowadzone były w ramach programu Doktorat Wdrożeniowy we współpracy z firmą Lab4Tox sp. z o.o. W swoich badaniach Doktorant wykorzystuje przede wszystkim chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas, jądrowy rezonans magnetyczny, chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas oraz analizy genetyczne.

Pierwsza część pracy poświęcona omówieniu wyników opublikowanych, w mojej opinii mogłaby być bardziej rozbudowana, tak aby stanowiła wyczerpujący przewodnik do publikacji. W publikacji 1 pt. „Volatile Composition and Sensory Properties as Quality Attributes of Fresh and Dried Hemp Flowers (*Cannabis sativa* L.)” skupiono się na poszukiwaniu metody suszenia kwiatostanów ziela konopi odmiany Henola pozwalającej na uzyskanie surowca o najwyższej zawartości lotnych związków organicznych i zarazem o najbardziej zbliżonym profilu sensorycznym do ziela przed suszeniem. W tym celu wydzielono i zanalizowano olejek eteryczny z surowca przed suszeniem, który to stanowił materiał odniesienia dla produktów pozyskanych po suszeniu. Jak wykazano najlepsze rezultaty osiągnięto stosując suszenie mikrofalowe przy mocy mikrofal 240 W.

Publikacja 2 „Analysis of Changes in the Amount of Phytosterols after the Bleaching Process of Hemp Oils” opisuje zmiany w składzie fitosteroli w oleju konopnym uzyskanym w procesie tłoczenia na zimno i na gorąco nasion konopi odmian Finola, Earlina 8FC oraz S.Jubileu, który następnie poddano procesowi bielenia. Jak wynika z uzyskanych wyników proces ten nie ma znaczącego wpływu na zawartość fitosteroli, a co ważniejsze pozwala stwierdzić, że fitosterole nie mogą stanowić markerów pozwalających na rozróżnienie materiału badawczego.

Publikacja 3 „Effect of Drying Methods on Chemical and Sensory Properties of *Cannabis sativa* Leaves” poświęcona jest analizie związków lotnych, kannabinoidów oraz fitosteroli wydzielonych z liści konopi odmiany Henola i opis zmian składu powyżej wymienionych grup związków w zależności od metody suszenia surowca roślinnego – suszenie konwekcyjne i mikrofalowo-próżniowe. Jak wykazano nie ma statystycznie istotnych różnic w składzie fitosteroli i kannabinoidów niezależnie od zastosowanej metody suszenia. Wyniki te w odniesieniu do kannabinoidów są sprzeczne z licznymi doniesieniami sugerującymi przekształcanie form kwasowych do neutralnych w wyniku termicznej dekarboksylacji. Jednakże, zgodnie z opisanymi wynikami w temperaturze do 70°C nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stosunku do zawartości poszczególnych kannabinoidów w surowcu nie poddanym suszeniu. Jest to wynik zaskakujący, ale zarazem bardzo cenny.

Wyniki nieopublikowane to:

- analiza profilu kannabinoidów w próbkach ziela odmian Futura, Santhica, Finola, Carmagnola w próbkach z lat 2018-2022, z których wnioskiem jest, że z uwagi na duże zróżnicowanie w ramach jednej odmiany zarówno profilu związków lotnych, jak i profilu kannabinoidów nie jest możliwe jednoznaczne określenie źródła pochodzenia próbki. Ten rozdział to głównie tabelaryczne zestawienie wyników, brak jest bardziej szczegółowego ich opisu, np. liczbowego opisu zaobserwowanych zmian zawartości poszczególnych kannabinoidów w badanych odmianach konopi włóknistej. Poproszę o dokonanie takiej analizy podczas publicznej obrony.
- Badanie wpływu rozpuszczalnika na skład wyciągu z konopi, analiza profilu związków lotnych próbek pobranych metodą mikroekstrakcji do fazy stałej z ziela 5 odmian konopi włóknistej. Analizowano wpływ na ekstrakcję kannabinoidów z zastosowaniem: acetonu, eteru dietylowego, etanolu w 20 i - 45°C, izopropanolu w 20 i - 45°C, metanolu, n-heksanu oraz n-heksanu z późniejszą winteryzacją. Jak

wskazuje mgr Kwaśnica ekstrakt metanolowy jest najbogatszy pod względem swojego składu określonego metodą LC-MS i tak właśnie pozyskana próbka mogłaby stanowić podstawę do badań tożsamościowych. Jednocześnie można zauważyć, że metanol cechuje się najwyższą spośród badanych rozpuszczalników efektywnością ekstrakcji kannabinoidów z surowca roślinnego. Poproszę autora o komentarz i dyskusję w tym temacie. Jaki rozpuszczalnik i dlaczego polecałby do zastosowania celem uzyskania próbki z konopi, która miałaby być później analizowana pod kątem zawartości kannabinoidów? Bardzo zbliżoną efektywność ekstrakcji osiągnięto również stosując etanol w temperaturze 20 stopni Celsjusza.

- Kolejny aspekt to analiza zmian profilu lotnych związków organicznych w czasie przechowywania próbek konopi włóknistych. Ten rozdział to ponownie głównie dane przedstawione w bardzo obszernej tabeli oraz wykresach uzyskanych w wyniku analizy statystycznej. Pan mgr Andrzej Kwaśnica podsumowuje ten rozdział stwierdzeniem, że czas i warunki przechowywania ziela konopi mają ogromne znaczenie na skład lotnych związków organicznych. Poproszę o wyjaśnienie stwierdzenia „związki lotne konopi zmieniając się z czasem jej przechowywania i nabierają cech indywidualnych”. Czy to związki nabierają tych cech, czy surowiec roślinny? Jakie są to cechy?
- Ostatnia gałąź opisanych badań to analizy genetyczne ponad stu próbek konopi pochodzących z różnych źródeł. Z tej części badań, choć dość obszernej nie udało się wysnuć pozytywnych wniosków, prawdopodobnie z uwagi na dużą zmienność genetyczną w obrębie jednej odmiany, co również samo w sobie jest cennym spostrzeżeniem.

Podsumowaniem badań opisanych w rozprawie mgra Andrzeja Kwaśnicy jest 9 dobrze sformułowanych wniosków oraz co ważne pod względem użyteczności pracy 3 procedury analityczne zaimplementowane do praktyki w firmie Lab4Tox stanowiące załącznik do rozprawy.

Do obowiązków recenzenta należy również wskazanie uchybień i błędów językowych wychwyconych w rozprawie. Zaliczyć do nich należy:

Niestosowanie rosnącej numeracji pozycji literaturowych, np. po pozycji 9 pojawia się 62, a na stronie 15 nawet 4913, podczas gdy w spisie literatury wymienionych jest 76 pozycji.

W tabeli na stronie 12 powinno być seskwiterpenoidowe oraz kannabidiol.

Zamiast myrcen powinna być stosowana przyjęta polska nazwa mircen (m.in. str. 14).

Strona 15 – niejasne jest zdanie „Wolne fitosterole są związkami o polarności do kannabinoidów”

Strona 20, zamiast słowa derywatów lepiej użyć polskiego pochodnych.

Strona 22 powinno być użyciem zamiast użycie światła UV.

Strona 24 – zamiast sformułowania wyłączeniem urządzenia z ruchu w odniesieniu do detektora spektrometru ruchliwości jonów lepiej byłoby napisać np. wyłączeniem urządzenia z użycia.

Strona 26 powinno być żadne znane laboratorium **nie** prowadzi rutynowo takich badań.

Strona 30 powinno być metoda stosowana **w** praktyce w wyjątkowych przypadkach.

Widma NMR raczej się uzyskuje, a nie sporządza, powinno być Dużą wadą tej techniki jest... natomiast jest Dużą wadę tej techniki jest..., powinno być analiz typu Fingerprint zamiast analiz typu Fingerprint.

Strona 107 jest n-hekse, powinno być n-heksan.

Tytuł rozdziału IV.4 powinien brzmieć Analizy genetyczne – jest Analiza genetyczne.

Strona 108 powinna być użyta polska nazwa tetrahydrokannabinol. Natomiast w przypadku ekstrakcji wykonywanej celem oznaczenia jakiejś grupy związków zależy nam raczej na wydzielaniu, niż na usuwaniu tych związków, tym samym powinno być efektywność wydzielania fitokannabinoidów.

Strona 112 – jest Cele było, powinno być Celem było.

Strona 115 – powinno być w n-heksanie zamiast w n-heksanu, W wyniku przeprowadzonych badań zamiast Wyniku przeprowadzonych badań oraz zróżnicowanym zamiast zróżnicowym.

Strona 126 – niejasne jest sformułowanie związku lotne konopi zmieniając z czasem jej przechowywania i nabierają cech indywidualnych.

Strona 131 jest wpływ na tej proce, powinno być wpływ na ten proces.

Strona 134 we wniosku 5 powinno być np. profil lotnych związków organicznych kwiatostanów, zamiast profil kwiatostanów.

Pod linkiem zamieszczonym w pracy i kierującym do uzyskanych wyników omawianych, ale nie zawartych w pracy widnieje pusty folder co uniemożliwia zapoznanie się z tym materiałem.

Wniosek końcowy

Reasumując należy stwierdzić, że rozprawa doktorska mgra inż. Andrzeja Kwaśnicy pt. „Opracowanie procedur określania pochodzenia materiału roślinnego metodami chromatograficznymi i genetycznymi” wykonana pod opieką prof. dr hab. inż. Antoniego Szumnego oraz dr n med. Agnieszki Pileckiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej. Dorobek naukowy Kandydata do stopnia naukowego doktora to 6 oryginalnych artykułów naukowych o łącznym współczynniku wpływu Impact Factor 28,3, 24 opinie biegłego, co w połączeniu z zaprezentowanym w rozprawie warsztatem badawczym świadczy o jego umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgra inż. Andrzeja Kwaśnicy spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020, poz 85 ze zm.). I proszę Wysoką Radę Naukową Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie mgra inż. Andrzeja Kwaśnicy do publicznej obrony.

Dr hab. inż. Radosław Bonikowski, prof. uczelni