

Warszawa, 08.09.2023 r.

Dr hab. Ewa Ostrowska-Ligęza prof. SGGW

Katedra Chemii

Instytut Nauk o Żywności

SGGW w Warszawie

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Cędrowskiego pt. „Wpływ mikrootoczenia na mechanizm antyoksydacyjnego działania izotiocyjanianów”

wykonanej pod kierunkiem

Pana prof. dr hab. Grzegorza Litwinienki

Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Praca doktorska pana Jakuba Cędrowskiego dotyczyła poznania mechanizmów utleniania lipidów oraz analogów lipidowych w obecności antyoksydantów. Jako antyoksydanty zostały wybrane naturalne izotiocyjaniany w tym sulforafan i jego analogi. Praca ta została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego a promotorem pracy był prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko. Dysertacja doktorska zawierała rezultaty bardzo szerokich badań aktywności przeciwrodnikowej i przeciwutleniającej sulforafanu oraz erucyny, erysoliny, alisyny i izotiocyjanianu 2-oksoheksylu (analogów sulforafanu) w układach modelowych. Izotiocyjaniany nie zawierają typowych dla antyoksydantów grup funkcyjnych (fenolowej, aminowej czy sprzężonego układu wiązań podwójnych) ale mogą wykazywać bezpośrednie właściwości przeciwutleniające, redukujące reaktywne formy tlenu i azotu. Rezultaty dotyczące mechanizmu działania przeciwutleniającego izotiocyjanianów publikowane przez różne grupy badawcze nie są jednoznaczne. Mechanizm takiego działania nie został odpowiednio opisany i udokumentowany. Wyniki uzyskane przez doktoranta w pracy doktorskiej miały również doprowadzić do ustalenia molekularnego mechanizmu działania tych związków a także określenia związku struktury z reaktywnością w procesach rodnikowych. Część eksperymentalna dysertacji doktorskiej obejmowała syntezę izotiocyjanianów, badania kinetyki reakcji z rodnikiem difenylhydrazylowym (dpph•; technika *stopped flow*), pomiary szybkości inicjowanej autooksydacji w obecności

izotiocyjanianów (na podstawie zmiany ciśnienia tlenu w układzie) oraz zbadanie ich wpływu na stabilność oksydacyjną matryc lipidowych (kwasu linolenowego, oleju słonecznikowego oraz lecytyny sojowej) w warunkach utleniania nieizotermicznego przy użyciu skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Wykonano również obliczenia teoretyczne i zaproponowano mechanizm działania sulforafanu.

Szeroki zakres prowadzonych badań i ich nowatorski charakter świadczą o dużej wartości recenzowanej pracy.

Recenzowana praca doktorska ma klasyczny układ, w którym znajduje się: część literaturowa, część eksperymentalna z opisem procedur i metodyk doświadczalnych, prezentacja wyników, dyskusja wyników i wnioski końcowe.

W części literaturowej doktorant omawia najpierw zjawisko autooksydacji i antyoksydanty. Omawia ogólną charakterystykę autooksydacji oraz jej kinetyczny opis. Podaje również klasyfikację antyoksydantów. Istotną część przeglądu literatury stanowią mechanizmy działania antyoksydantów interwencyjnych oraz opis czynników decydujących o aktywności antyoksydacyjnej związków. Osobny podrozdział został poświęcony izotiocyjanianom, ich historii, metodom syntezy oraz reaktywności, aktywności biologicznej i właściwościom przeciwrodnikowym i antyoksydacyjnym.

Część literaturowa została napisana przez doktoranta w sposób przejrzysty z dokładnym uzasadnieniem przyjętego później zakresu i kolejności wykonywania prac eksperymentalnych.

Dokładna charakterystyka stosowanych metod doświadczalnych została przedstawiona przez doktoranta w kolejnej części pracy.

Niezwykłe ciekawymi częściami opisu metod eksperymentalnych są: obliczenia teoretyczne metodami DFT i CBS oraz modelowanie numeryczne kinetyki autooksydacji kumenu i analiza produktów termicznego rozkładu sulforafanu i erucyny. Na uwagę zasługuje również badanie kinetyki reakcji z rodnikiem  $dp\dot{p}h\bullet$  metodą *stopped flow* z użyciem wykonanego przez doktoranta aparatu.

Jest warto podkreślić, że Pan mgr Jakub Cędrowski umiejętnie połączył te techniki badawcze, co pozwoliło na wyciągnięcie szeregu ciekawych i interesujących wniosków.

Część dotycząca prezentacji wyników została wykonana niezwykle starannie i przejrzysto. W tej części doktorant dokonał prezentacji i omówienia imponującej liczby otrzymanych wyników.

Chciałabym podkreślić, że wykonano bardzo dużo badań dotyczących nieizotermicznej oksydacji trzech matryc lipidowych niedomieszkowanych oraz domieszkowanych sulforafanem i erucyną przy użyciu Skaningowej Kalorymetrii Różnicowej. Na początku

przeprowadzono eksperymenty dla kwasu linolenowego, drugą część stanowiły badania dla dostępnego komercyjnie oleju słonecznikowego natomiast w trzeciej części pomiarów badano stabilność oksydacyjną lecytyny sojowej. Następny etap badań stanowiły eksperymenty z trzema matrycami z dodatkiem sulforafanu i erucyny w trzech różnych stężeniach dla każdego z antyoksydantów.

W związku z tym chciałabym zapytać doktoranta: czym się kierował dobierając takie stężenia antyoksydantów?

Wprawdzie doktorant wyjaśnił w rozprawie doktorskiej jakie przesłanki wziął pod uwagę dobierając trzy matryce jako wzorce lipidów, ale w związku z tym chciałabym zapytać o dobór oleju słonecznikowego jako matrycy. Proszę Pana mgr Jakuba Cędrońskiego o dokładniejsze wyjaśnienia.

Otrzymane rezultaty znacząco poszerzają wiedzę na temat właściwości antyoksydacyjnych trzech izotiocyjanianów, sulforafanu, erucyny i erysoliny w chemii żywności i chemii wolnych rodników oraz antyoksydantów.

Do szczególnych osiągnięć recenzowanej pracy doktorskiej zaliczam:

- udowodnienie, że badane izotiocyjaniany są zdolne do redukcji rodnika 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylowego (dpph•),
- określenie aktywności przeciwutleniającej trzech wybranych izotiocyjanianów,
- udowodnienie, że aktywność antyrodnikowa zależy od polarności rozpuszczalnika, co świadczy o możliwej zmianie mechanizmu reakcji utleniania,
- przeprowadzone pomiary autooksydacji kumenu w obecności trzech badanych izotiocyjanianów: sulforafanu, erucyny i erysoliny wraz z analizą numeryczną uzyskanych krzywych pochłaniania tlenu potwierdziły zdolność tych związków do reakcji z rodnikami alkilohydroperoksydowym (LOO•). Jednak w układzie modelowym zastosowanym przez doktoranta związki te nie mogły efektywnie przerywać propagacji w sposób typowy dla antyoksydantów interwencyjnych,
- efekt inhibicyjny badanych izotiocyjanianów podczas nieizotermicznej autooksydacji jest zależny od temperatury, w której przebiega proces utleniania,
- doktorant zaproponował mechanizm autooksydacyjnego działania sulforafanu i erucyny podczas utleniania oleju słonecznikowego i lecytyny sojowej.

Lektura rozprawy doktorskiej Pana mgr Jakuba Cędrońskiego pozwoliła mi stwierdzić, że praca ta stanowi bardzo ciekawe i istotne kompendium wiedzy na temat właściwości antyoksydacyjnych izotiocyjanianów. Bardzo duże wrażenie wywarła na mnie ilość wyników

zgrupowanych przez doktoranta podczas realizacji rozprawy doktorskiej. Praca została napisana starannie i poprawnie pod względem edytorskim bez istotnych błędów.

Ciekawym zagadnieniem byłoby poruszenie aspektu czy uzyskane rezultaty można wykorzystać w praktyce przemysłowej, szczególnie w technologii żywności. To bardzo interesujące zagadnienie, które może zostać poruszone w dyskusji podczas obrony rozprawy doktorskiej.

## WNIOSEK KOŃCOWY

Uzyskane przez Pana mgr Jakuba Cędrawskiego rezultaty badań stanowią duży wkład w dziedzinę Nauk Chemicznych.

Podsumowując moją recenzję stwierdzam, że przedstawiona mi do opinii dysertacja doktorska Pana mgr Jakuba Cędrawskiego spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z dnia 14.03.2003 Dz. U. Nr 65.Poz. 595 z późniejszymi zmianami w odniesieniu do wniosków o stopień naukowy doktora i wobec tego wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie Pana mgr Jakuba Cędrawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Ewa Ostrowska-Tygiel*

Warszawa, 08.09.2023 r.

Dr hab. Ewa Ostrowska-Ligęza prof. SGGW

Katedra Chemii

Instytut Nauk o Żywności

SGGW w Warszawie

### WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE

Rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Cędrońskiego pt. „Wpływ mikrootoczenia na mechanizm antyoksydacyjnego działania izotiocyjanianów”

wykonanej pod kierunkiem

Pana prof. dr hab. Grzegorza Litwinienki

Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Biorąc pod uwagę jakość przedstawionej dysertacji doktorskiej Pana mgr Jakuba Cędrońskiego oraz oryginalność uzyskanych rezultatów zwracam się z wnioskiem wyróżnienie rozprawy.

Uzasadnienie:

Istotnym i nowatorskim osiągnięciem jest odkrycie bezpośredniej aktywności antyoksydacyjnej izotiocyjanianów w podwyższonych temperaturach oraz wyjaśnienie tego zjawiska za pomocą mechanizmu termicznej aktywacji substancji, które w niższych temperaturach takich właściwości nie mają. Mgr Jakub Cędroński zauważył ten efekt, dokonał interpretacji i wskazał w jakich układach i w jakich warunkach fizykochemicznych taka aktywacja następuje. Osiągnięcie to zostało opublikowane w bardzo dobrych periodykach (Antioxidants oraz Food Chemistry, obydwa czasopisma o współczynniku oddziaływania powyżej 7 a jedno z nich ma najwyższą punktację ministerialną) oraz jako rozdział w monografii.

Dodatkowym atutem pracy jest bardzo szeroki zakres badań - z uzyskanych rezultatów mogłyby powstać dwie rozprawy doktorskie. Praca obejmuje zarówno syntezę izotiocyjanianów oraz bardzo obszerne i wielowątkowe badania kinetyki w różnych układach: badanie właściwości antyrodnikowych w reakcjach z rodnikiem syntetycznym, opis mechanizmu reakcji z przeniesieniem elektronu poparty obliczeniami teoretycznymi, badanie

wpływu polarności środowiska na ten mechanizm, pomiary kinetyki reakcji z rodnikami peroksyłowymi w układach niepolarnych, a następnie pomiary metodami analizy termicznej w układach zbliżonych do warunków w jakich substancje te są używane. Jest to pierwsze tak obszerne opracowanie tematu i stanowi bardzo istotny wkład do wiedzy na temat właściwości naturalnych izotiocyjanianów i ich właściwości antyoksydacyjnych. Praca jest wielowątkowa i w doskonały sposób łączy chemię podstawową, chemię rodników i antyoksydantów, związków naturalnych oraz chemię żywności.

*Endo Antnowska-Ligza*