

Prof. dr hab. Barbara Adomas
Katedra Chemii
Zespół Toksykologii Środowiska
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Uniwersytet Warmińsko Mazurski
w Olsztynie

Olsztyn, 18 maja 2016 roku

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr Magdaleny Jankowskiej

**pt. „Wpływ procesów technologicznych na poziom pozostałości środków ochrony roślin
w wybranych gatunkach owoców i warzyw”**

Przedstawiona do oceny dysertacja ma układ pracy doktorskiej powstałej na bazie spójnego tematycznie zbioru dziewięciu prac naukowych o dużej wartości merytorycznej. Pięć ukazało się w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym (*Desalination and Water Treatment, Environmental Monitoring and Assessment, Chemical Papers, Journal of Elementology, Environmental Science and Pollution Research*) i zostały ocenione przez międzynarodowych ekspertów. Trzy to oryginalne prace opublikowane w międzynarodowych materiałach konferencyjnych również ocenione przez zagranicznych recenzentów oraz jedna opublikowana przez Wydawnictwo Naukowe Polskie Towarzystwo Technologów Żywności oceniona przez recenzentów krajowych. Łączny IF = 7,516. Punktacja MNiSW = 120. Praca wpisuje się w nurt badań dotyczących wpływu procesów technologicznych na poziomy pozostałości środków ochrony roślin w żywności, prowadzonych przez Zespół Pani prof. dr hab. Bożeny Łozowickiej – promotora pracy.

Dokumentacja zawiera odbitki ksero dziewięciu publikacji opatrzonych streszczeniami, wstępami, materiałem i metodami, opisem wyników i ich dyskusją, wynikami, tabelami, rysunkami i spisem literatury. W ośmiu pracach Doktorantka jest drugim autorem, w jednej pierwszym. Jednak oświadczenia współautorów wyrażających zgodę na ich wykorzystanie w rozprawie doktorskiej - wskazują na wiodącą rolę Doktorantki w wykonaniu badań, przygotowaniu i redakcji artykułów.

We wstępie dołączonym do cyklu publikacji Doktorantka w oparciu o trafnie dobraną literaturę przedstawia problem badawczy, którym była ocena pozostałości substancji aktywnych środków ochrony roślin w wybranych gatunkach owoców i warzyw pochodzących z poletek doświadczalnych prowadzonych w kontrolowanych warunkach polowych i tunelowych, po zbiorze poddanych obróbce technologicznej. Szczególną uwagę Doktorantka zwróciła na poszukiwanie zależności między efektywnością procesu technologicznego, a wybranymi właściwościami fizyko-chemicznymi substancji czynnych i mechanizmem ich działania.

Cel pracy i zakres badań zostały przedstawione i rozpisane na sześć zagadnień, które obejmowały: pozyskanie surowców roślinnych (brokułów, pomidorów, porzeczek czarnych i truskawek) z poletek doświadczalnych prowadzonych w kontrolowanych warunkach polowych i tunelowych; przeprowadzenie obróbki technologicznej z zastosowaniem czynnika wodnego, mechanicznego i temperaturowego w zmiennych warunkach; ocena zmian stężeń i efektywności usuwania pozostałości środków ochrony roślin w wybranych gatunkach owoców i warzyw technikami chromatografii gazowej i cieczowej; wyznaczenie współczynników przetwarzania dla kombinacji surowiec roślinny/substancja czynna/proces technologiczny; określenie zależności między efektywnością procesu technologicznego a właściwościami fizyko-chemicznymi substancji czynnych i mechanizmem ich działania; zastosowanie współczynników przetwarzania do szacowania ryzyka narażenia konsumentów.

Założone cele pracy doktorskiej Doktorantka zrealizowała w dziewięciu publikacjach. Materiał i metody zastosowane i wykonane nie budzą żadnego zastrzeżenia natomiast świadczą o bardzo dobrym warsztacie naukowym Doktorantki oraz o przemyślanym i konsekwentnie realizowanym harmonogramie badań.

Publikacja nr 1. dotyczy "Effects of technological processing on levels of fungicide and insecticide residues in broccoli". Doktorantka przeprowadziła badania na plantacji brokułów w Sokółce na Podlasiu, gdzie w preparatach handlowych zastosowano chlorpirifos i iprodion do zwalczania owadów i grzybów chorobotwórczych. Badania dowiodły, że procesy technologiczne takie jak mycie, gotowanie i blanszowanie zmniejszą poziom pozostałości badanych substancji aktywnych s.o.r.. Mycie zmniejszyło pozostałości od 42 (chlorpirifosu) i do 49 % (iprodionu), blanszowanie było bardziej efektywnym procesem, ponieważ zmniejszyło poziom pozostałości chlorpirifosu do 52 %, zaś iprodionu do 67.5 %. Jednak to gotowanie w sposób najbardziej skuteczny zmniejszało pozostałości obu związków. Wysoka temperatura przyczyniła się do zmniejszenia zawartości iprodionu aż do 87,1 %. Jak

dowodzi Doktorantka polarny iprodion był bardziej efektywnie usuwany z brokułów, aniżeli związek niepolarny jakim jest chloropirifos, gdzie odnotowano do 61,6 % jego redukcji.

W publikacji nr 2. pt. "Investigations on fungicide removal from broccoli by various processing methods". Doktorantka analizowała procesy usuwania pięciu fungicydów z tkanek brokułów przy zastosowaniu czterech sposobów technologicznych. Analizy przeprowadzone za pomocą chromatografii gazowej wykazały, że brokuły po zbiorze zawierały od 0,16 do 4,34 mg/kg pozostałości. Mycie w wodzie chlorowanej i ozonowanej zmniejszało stężenia pozostałości odpowiednio od 45,9 do 49%. Ale to blanszowanie i gotowanie w większym stopniu eliminowało pozostałości fungicydów, bo odpowiednio od 50 do 87 %. Najbardziej skutecznym procesem w usuwaniu pozostałości analizowanych fungicydów było gotowanie, gdzie jak wnioskuje Doktorantka wysoka temperatura była istotnym czynnikiem. Wskazuje też, że to gotowanie ma duży potencjał w usuwaniu fungicydów z brokułów. W brokułach stężenia dziewięciu analizowanych związków zmniejszyły się w zakresie od 6% (PF=0,94; lambda-cyhalotryna) do 46% (PF=0,54; iprodion).

Publikacja nr 3. pt. „Removal of 16 pesticide residues from strawberries by washing with tap and ozone water, ultrasonic cleaning and boiling” dotyczy badań prowadzonych na plantacji truskawek, chronionych przy użyciu preparatów handlowych zawierających 16 substancji aktywnych środków ochrony roślin (10 fungicydów i 6 insektycydów), w fazie dojrzewania owoców, których stężenia oznaczono w owocach po ich zbiorze. Doktorantka stwierdziła, że mycie wspomagane ultradźwiękami istotnie wpłynęło na zmniejszenie stężeń szesnastu pestycydów obecnych w truskawkach i było skuteczniejszą metodą, niż mycie z wykorzystaniem wody chlorowanej i ozonowanej. Z kolei mycie wodą ozonowaną truskawek było bardziej efektywne w usuwaniu związków o niższej masie molowej, w porównaniu do związków o większej masie. Boskalid i acetamipryd ($M \leq 343,21$ g/mol) usunięto z efektywnością 60% (PFs=0,37), a tetrakonazol ($M=372,15$ g/mol) i trifloksystrobinę ($M=408,37$ g/mol) z efektywnością około 40% (PF=0,64 i PF=0,56, odpowiednio). Doktorantka dowodzi, że najbardziej skuteczne procesy technologiczne, chroniące zdrowie ludzi spożywających świeże owoce truskawek - to mycie wodą wspomaganą ultradźwiękami i gotowanie. Wnioski te formułuje na podstawie przeprowadzonych analiz chromatograficznych, obliczonych współczynników przetwarzania (ang. processing factor, PF) dla każdej z 16 s.a. i każdej techniki przetwarzania, obliczeń statystycznych oraz przeanalizowanych właściwości fizyko-chemicznych 16 s.a. ś.o.r.. Dowiodła, że rozpuszczalność i polarność danego związku oraz warunki procesu technologicznego także istotnie decydują o stopniu redukcji substancji czynnych ś.o.r.

Przeprowadzone badania potwierdziły wpływ mechanizmu działania pestycydów na efektywność ich usuwania. Wysoki stopień redukcji od 65% do 91%, uzyskano dla niesystemicznych pestycydów: alfa-cypermetryny, chloropiryfosu, deltametryny, folpetu i iprodionu. Bupirymat, acetamipryd, trifloksystrobina i cyprodinil, związki o działaniu systemicznym, usunięto z wydajnością poniżej 57% ($0,43 \leq PF \leq 0,48$). W badaniach tych Doktorantka oszacowała narażenie krótkoterminowe dla alfa-cypermetryny obecnej w truskawkach, owocach o relatywnie wysokim spożyciu. Oceniała, że pobranie tego związku kalkulowane bez uwzględnienia, jak i z korekcją uwzględniającą wyznaczony współczynnik przetwarzania, nie przekraczało bezpiecznego limitu, co jest bardzo istotne z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności. Mycie wspomagane ultradźwiękami skutkowało usunięciem pozostałości wszystkich szesnastu pestycydów w truskawkach w zakresie od 35% ($PF=0,65$; trifloksystrobina) do 91% ($PF=0,09$; alfa-cypermetryna).

W publikacji nr 4 nt. "Behaviour of selected pesticide residues in blackcurrants (*Ribes nigrum*) during technological processing monitored by liquid-chromatography tandem mass spectrometry" analizowane było zachowanie się 2 akarycydów, 3 insektycydów i 5 fungicydów po myciu, wyciskaniu soku i gotowaniu owoców czarnych porzeczek. Doktorantka zidentyfikowała cztery substancje o niskiej rozpuszczalności w wodzie ($\leq 0,102$ mg/l): alfa-cypermetryna, deltametryna, fenazachina i lambda-cyhalotryna, które pozostały na powierzchni skórki i w minimalnym stopniu przeniknęły do soku ($PF \leq 0,18$). Dlatego oznaczone stężenia siedmiu pestycydów w soku pozyskanym po wyciśnięciu owoców jagodowych czarnych porzeczek były o ponad połowę niższe, niż w surowcu wyjściowym. W wyniku gotowania owoców jagodowych uzyskano wyższe stężenia badanych związków w stosunku do wartości wyjściowych, bez względu na obecność lub nieobecność cieczy w układzie, zaś wyznaczone wartości współczynnika przetwarzania przewyższały wartość jednego, co świadczy o zagęszczeniu pozostałości. W porzeczkach czarnych mycie wodą chlorowaną zredukowało pozostałości jedenastu pestycydów w zakresie od 8% ($PF=0,92$; deltametryny i propargitu) do 71% ($PF=0,29$; tiofanatu metylu).

W publikacji nr 5. "Comparison of effects of technological water and thermal processing on pesticide removal in selected fruits and vegetables" Doktorantka skupiła się na porównaniu różnych technologii przetwarzania czarnych porzeczek, truskawek, pomidorów i brokułów rosnących w warunkach polowych i pod osłonami, traktowanych jedenastoma ś.o.r. o działaniu systemicznym (5) i niesystemicznym (6). Stwierdziła, że termiczne procesy technologiczne bardziej efektywnie usuwają z tkanek owoców i warzyw pozostałości, niż mycie wodą. Wysoka temperatura wrzenia powodowała obniżenie pozostałości nawet do 97

%, z wyjątkiem pyretroidów: alfa-cypermetryny, deltametryny i lambda-cyhalotryny, związków o bardzo niskiej rozpuszczalności w wodzie (poniżej 0,005 mg/l), bardzo wysokiej temperaturze wrzenia (od 498,9°C do 826°C) i słabej lotności (prężność par $\leq 0,124 \cdot 10^{-4}$ mPa) w porzeczkach czarnych gotowanych bez dodatku wody przez 20 minut oraz truskawkach gotowanych z dodatkiem wody przez 5 minut. Zastosowanie obróbki technologicznej na wybranych gatunkach przyniosło efekty znaczącego lub całkowitego zredukowania poziomu pozostałości większości badanych pestycydów.

W publikacja nr 6 pt. „Wpływ mycia wodą chlorowaną na pozostałości środków ochrony roślin w żywności pochodzenia roślinnego oraz ryzyko narażenia zdrowia konsumentów” – Autorka ocenia możliwość usuwania osiemnastu substancji aktywnych powszechnie stosowanych środków ochrony roślin (2 akarycydów, 11 fungicydów i 5 insektycydów) w dawce podwójnej przeznaczonych do ochrony brokułów, pomidorów, porzeczek czarnych i truskawek. Po zbiorze określiła w nich stężenie początkowe pozostałości środków ochrony roślin, a drugą analizę wykonała po obróbce technologicznej (mycie warzyw i owoców pod bieżącą wodą przez 2 minuty). Na podstawie uzyskanych wyników stężeń pozostałości testowanych s.a. ś.o.r. wyznaczony został współczynnik przetwarzania PF dla wszystkich kombinacji związków/asortyment. Tak uzyskane dane pozwoliły oszacować narażenie krótkoterminowe zdrowia dzieci w wieku od 2 do 4 lat oraz w stosunku do dorosłych od 14 do 80 lat spożywających warzywa i owoce zawierające na różnych poziomach pozostałości ś.o.r. Jak podaje Autorka mycie warzyw i owoców pod bieżącą wodą kranową okazało się skutecznym sposobem redukcji poziomów pozostałości ś.o.r., co poprawiło jakość i bezpieczeństwo zdrowotne badanych warzyw i owoców. Ryzyko narażenia zdrowia ludności ocenione na podstawie uzyskanych wyników nie stanowi zagrożenia zdrowia konsumentów, podobnie jak narażenie krótkoterminowe dzieci i dorosłych wynikające z pobrania z warzywami i owocami pozostałości ś.o.r. w stężeniach przekraczających najwyższe dopuszczalne poziomy - było nieznaczne. Wyjątek stanowił boskalid w brokułach, gdzie wartość ARfD przekroczyła 100% w przypadku dzieci. Jednak po uwzględnieniu w szacowaniu ryzyka wartości wyznaczonego eksperymentalnie współczynnika przetwarzania PF dla boskalidu, narażenie nie przekraczało dopuszczalnej wartości ARfD.

W publikacjach nr 7 i 8 nt. „Dissipation of six fungicides in greenhouse-grown tomatoes with processing and health risk. i “Dissipation, processing factors and risk assessment study of fungicide residues in greenhouse-grown tomatoes” Doktorantka oceniła ryzyko spożycia długoterminowego i krótkoterminowego dwóch odmian pomidorów uprawianych pod osłonami i traktowanych sześcioma fungicydami. Szacowania ryzyka dokonała poprzez

wykorzystanie oznaczonych pozostałości fungicydów w pomidorach dwóch odmian na początku i końcu eksperymentu z ustalonym dziennym pobraniem (ADI) i ostrej dawki referencyjnej (ARfD) dla dzieci i dorosłych, przy uwzględnieniu pięciu różnych procesów technologicznych (mycia, usuwania skórki, homogenizacji, pasteryzacji i konserwacji). Do oceny ryzyka wykorzystano dane dla populacji Brytyjczyków i Włochów, ponieważ dla populacji Polaków brak jest takich wyników. Określiła współczynniki PFs, które wynosiły odpowiednio: 0,57; 0,24; 0,17; 0,10 i 0,12, co oznacza obniżenie pozostałości s.a. w wyniku przetwarzania. Podane wartości nie zależały od badanej odmiany. Wykazała, że pomidory zawarte w diecie nie powodują istotnego zagrożenia dla konsumentów, dzieci i dorosłych. A koncentrat pomidorowy nie wpływa negatywnie na zdrowie ludzi, zwłaszcza zdrowie małych dzieci. Określiła kinetykę degradacji s.a. fungicydów i stwierdziła, że po 21 dniach ich zawartość w obu odmianach zmniejsza się aż o 99 %, a okres półtrwania dla (cyprodinilu) wynosi od 2,49 i 2,67 dni, zaś dla (chlorotalonilu) do 5,00 i 5,32 dni dla odmian Marissa i Harzfeuer, odpowiednio.

W publikacji nr 9 "The effect of technological processing on selected fungicide and insecticide residue levels in blackcurrants" Doktorantka dowodzi, że gotowanie świeżych owoców czarnej porzeczki przez 5 minut zwiększa usuwanie pozostałości pięciu s.a. fungicydów i trzech s.a. insektycydów w większym stopniu niż mycie. Podczas gdy pozostałości tiuramu były niższe aż o 98 %, to difenoconazolu tylko o 40 %. Natomiast proces gotowania zwiększył pozostałości insektycydów, a wyliczony wskaźnik przetwarzania dla alfa-cypermetyryny wynosi $PF=1,34$, dla deltametryny $PF=1,60$ zaś lambda-cyhalothryny $PF=1,45$. Zwiększenie stężenia wymienionych insektycydów nastąpiło prawdopodobnie na skutek wyparowania wody podczas gotowania. Substancje aktywne o większej rozpuszczalności jak tiuram i tiofanat-metylu były istotnie usuwane w przeciwieństwie do alfa-cypermetyryny, deltametryny i lambda-cyhalothryny - związków o mniejszej rozpuszczalności. Jak analizuje Doktorantka proces ten zależał od temperatury wrzenia każdego pestycydu. Im wyższa temperatura wrzenia związku tym niższa obserwowana była jego redukcja. Oznaczone pozostałości badanych s.a. w wodzie po gotowaniu były niższe niż 0,01 mg/kg.

Łącznie Doktorantka przebadła 24 substancje czynne ś.o.r. w tym 16 fungicydów, 6 insektycydów i 2 akarycydy – związków należących do 19 grup chemicznych zalecanych do ochrony truskawek, porzeczek czarnych, brokułów i pomidorów poddanych wybranym procesom technologicznym. Każda z przedstawionych publikacji zawiera streszczenie, wstęp,

materiał i metody, wyniki, dyskusję i najnowszą bardzo dobrze dobraną literaturę z którą ze swobodą dyskutuje kładąc nacisk i uwypuklając problemy badawcze nad którymi pracowała.

Oceny pozostałości s.a. ś.o.r. łącznie z metodykami przygotowania prób do analiz dokonała przy użyciu własnych akredytowanych metod analitycznych zgodnie z obowiązującymi normami. Do oceny zależności pomiędzy właściwościami fizyko-chemicznymi, a efektywnością procesu technologicznego wykorzystała analizę statystyczną: analizę skupień oraz wielowymiarową analizę głównych składowych

Wszystkie artykuły dotyczą oceny stężeń pozostałości s.a. ś.o.r., procesów technologicznych ich usuwania oraz wyznaczania wskaźników bezpieczeństwa dla konsumentów, dlatego spełniony został ustawowy wymóg dotyczący spójności tematycznej artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Streszczenie w języku polskim i angielskim dołączone do cyklu publikacji precyzyjnie opisuje badany problem oraz jego wagę - zostało starannie wykonane, a dokumenty wzorowo przygotowane.

Autorka sformułowała wnioski, które odpowiadają na postawione cele i obrazują dużą wartość merytoryczną pracy. Dowiodła, że zastosowanie wybranych procesów technologicznych znacząco wpłynęło lub całkowicie zredukowało stężenia dwudziestu jeden substancji czynnych w brokułach, pomidorach, porzeczkach czarnych i truskawkach. W owocach jagodowych, pod wpływem wysokich temperatur, pyretroidy wykazały współczynniki przetwarzania powyżej jednego. Stwierdziła, że termiczna obróbka skutecznie redukuje poziomy pozostałości s.a. ś.o.r. obecnych w badanych gatunkach owoców i warzyw. Aby odzwierciedlić wpływ zmienności skutków przetwarzania na wielkość pozostałości pestycydu określiła zależności między efektywnością procesu technologicznego, a wybranymi właściwościami fizyko-chemicznymi substancji czynnych i mechanizmem ich działania. Na podstawie wielowymiarowych analiz statystycznych (analizy skupień i analizy głównych składowych) wykazała, że cechami istotnie wpływającymi na obniżenie poziomu pozostałości są: rozpuszczalność i polarność oraz sposób penetracji substancji czynnej. Związki wykazujące wysoką polarność (np. acetamipryd, pirymikarb), dobrze rozpuszczalne w wodzie (np. metalaksyl, tiofanat metylu), oraz o działaniu powierzchniowym (np. tiuram) były bardziej podatne na eliminację w trakcie obróbki.

Podsumowując stwierdzam, że:

- praca doktorska oparta na ośmiu publikacjach anglojęzycznych i jednej polskiej została bardzo dobrze zaplanowana i zrealizowana oraz uprzednio zrecenzowana przez edytorów zagranicznych, co zwiększa jej wiarygodność;

- Autorka zrealizowała zaplanowane cele badawcze przy użyciu prawidłowych metod polowych, laboratoryjnych i statystycznych. Wyniki badań wzorcowo przedstawiła w przejrzystych tabelach i rysunkach oraz trafnie je zinterpretowała;
- logicznie sformułowane wnioski wzbogaciły piśmiennictwo w nową oryginalną wiedzę dotyczącą bezpieczeństwa żywności chronionej chemicznymi środkami ochrony roślin oraz sprawdzonymi metodami ich usuwania;
- recenzowana rozprawa prezentuje wysoki poziom wiedzy i spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 18 marca 2011 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 84, poz. 455).

Wniosek

Stawiam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin - Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Magdaleny Jankowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej ze względu na jej dużą wartość naukową i użyteczną, ponieważ stanowi kompleksową ocenę jakości zebranych owoców i warzyw chronionych chemicznymi środkami ochrony roślin na terenach województwa podlaskiego, określa ich stężenia i związane z tym ryzyko narażenia zdrowia konsumentów, analizuje procesy technologicznego ich usuwania, wskazuje najbardziej skuteczne, podaje współczynniki przetwarzania celem zapewnienia bezpieczeństwa żywności. Wyniki te mogą być wykorzystane przez decydentów zajmujących się szeroko rozumianą ochroną roślin i bezpieczeństwem żywności.

B. Adomas

Olsztyn, 18 maja 2016 rok

Prof. dr hab. Barbara Adomas