



UNIwersytet Jagielloński
Wydział Chemii
30-387 KRAKÓW, ul. Gronostajowa 2
tel. (48-12) 633-2412

Ocena

pracy doktorskiej Pani mgr chemii Katarzyny Bernacik pt. „Transformacja rutyny w procesie jej ekstrakcji i przetwarzania surowców roślinnych”

**wykonanej w Zakładzie Metod Chromatograficznych Wydziału
Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja L. Dawidowicza**

Rośliny od zarania ludzkości były istotnym składnikiem żywności, środków leczniczych i trucizn. Większość głównych składników roślin została stosunkowo dobrze poznana. W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się metabolitom wtórnym roślin i ich aktywności biologicznej. Innym istotnym problemem jest możliwość zmiany struktury chemicznej naturalnie występujących w roślinie związków w czasie ich wyizolowywania czy w czasie obróbki technologicznej. Często metodą izolacji składników biologicznie aktywnych z różnych części roślin jest ekstrakcja. Proces ten jest prowadzony za pomocą różnego typu związków ekstrahujących mogących wchodzić w reakcję z składnikami rośliny, poza tym wielokrotnie proces ekstrakcji materiału roślinnego prowadzony jest w podwyższonej temperaturze mogącej zmieniać strukturę naturalnie występujących związków. Ze względu na możliwość różnorodnego działania związków powstałych w czasie ekstrakcji istotna jest znajomość czy są one naturalnymi składnikami rośliny czy powstają w wyniku procesów technologicznych. Badania przeprowadzone w ramach

pracy doktorskiej Pani Katarzyny Bernacik w pełni wpisują się w rozwiązywanie tego istotnego zagadnienia poznawczego i aplikacyjnego

W części teoretycznej pracy (32 strony) Autorka wykazała się wiedzą nie tylko analityczną, ale i farmakognostyczną przedstawiając najważniejszą informację dotyczące metabolitów wtórnych, a następnie związków polifenolowych występujących w roślinach ze szczególnym uwzględnieniem rutyny. Na następnych stronach znajdują się informacje o technikach ekstrakcyjnych wyosabniania związków chemicznych z materiału biologicznego. Obok powszechnie znanych metod ekstrakcyjnych jak: ekstrakcja pod chłodnicą zwrotną czy w aparacie Soxhleta omówiła również mniej popularne metody wyosabniania związków organicznych z materiału roślinnego jak ekstrakcja w stanie podkrytycznym, nadkrytycznym, ekstrakcja z wykorzystaniem pulsującego pola elektrycznego czy dyspersja matrycy za pomocą piasku (Sea Sand Disruption Method – SSDM) . Część teoretyczna jest bardzo dobrym wprowadzeniem do przeprowadzonych badań eksperymentalnych

Cel pracy sformułowany jest poprawnie, uważam jednak, że uzasadnianie poszczególnych etapów badań nie było konieczne szczególnie w świetle bardzo jasno i profesjonalnie napisanego wstępu.

Część doświadczalna pracy ze względu na szeroki zakres badań została podzielona na kilka części. W początkowej części tak jak w większości eksperymentalnych prac doktorskich opisane zostały materiał, odczynniki , sprzęt i aparatura. Następnie przedstawiona została procedura ekstrakcji pod chłodnicą zwrotną z wykorzystaniem metanolu i etanolu oraz ich mieszanin z wodą w różnych stosunkach objętościowych lub buforem fosforanowym o różnych pH (myślę, że Autorka mogła pominąć dokładny opis przygotowania buforów). Ekstrakcja ta dotyczyła próbek przygotowanych przez doktorantkę („symulowana ekstrakcja”), jak

i materiału roślinnego – „ekstrakcja rzeczywista”. Pani Katarzyna Bernacik badała również przygotowane przez siebie nalewki z różnych roślin zawierających rutynę oraz „dżem” z aronii czarnej. Opis zastosowanej (ale nie własnej) metody chromatografii cieczowej sprzężonej z spektrometrią mas LC-ESI-MS/MS oraz HRMS z takim samym źródłem jonizacji i ze spektrometrem Orbitrap. Opis zastosowanej metody jest bardzo dobry i w pełni wystarczający.

Wyniki zostały przedstawione bardzo dobrze i są ilustrowane wieloma starannie przygotowanymi rycinami. Omawiane wyniki zostały podzielone na 3 grupy. Pierwszy to transformacja rutyny w czasie „symulowanej ekstrakcji”, część druga to transformacja w czasie ekstrakcji materiału roślinnego (kwiaty i owoce, bzu czarnego, owoce aronii czarnej, ziele dziurawca zwyczajnego oraz liści podbiału) i część ostatnia dotyczyła transformacji rutyny w czasie przechowywania surowców roślinnych

Zakres przeprowadzonych badań świadczy o dobrym przygotowaniu analitycznym oraz pracowitości Autorki.

Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie które związki znajdujące się w ekstraktach metanolowych czy etanolowych pochodzą z materiału roślinnego, a które są wynikiem reakcji składników roślinnych z ekstrahentem. Ciekawe wyniki uzyskano wykorzystując metodę SSDM do wyizolowania badanych związków. Brak podwyższonej temperatury spowodował prawdopodobnie, brak przebiegu reakcji metylacji czy etylacji. W tym kontekście zastanawiające jest dlaczego wyniki tej części badań nie znalazły się w podsumowaniu.

Praca pod względem merytorycznym nie budzi zastrzeżeń, natomiast podczas czytania nasunęły mi się pytania. Interpretując początkowy wzrost a potem spadek ilości niektórych izolowanych związków Autorka tłumaczy to tym, że po wstępnym



tworzeniu następuje rozpad (np. strona 144) – czy zastosowane metody analityczne (chromatografia sprzężona ze spektrometrią mas nie pozwalały na identyfikację produktów rozpadu? W podsumowaniu na stronie 159 znajduje się stwierdzenie „dodatek cukru do układu ekstrakcyjnego tłumi tempo transformacji rutyny” – czy należy to rozumieć, że przedłużenie czasu ekstrakcji spowodowało by dalszy przebieg reakcji?. A pracy zacytowanych jest wiele prac z międzynarodowych czasopism natomiast nie znajduje to odbicia w rozdziale *Wyniki i Dyskusja*.

Pracę kończy poprawnie napisane podsumowanie w języku polskim i angielskim.

Brak jest natomiast wyraźnie sprecyzowanych wniosków podkreślających nowe informacje otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań.

Jak wcześniej wspomniałem cytowane piśmiennictwo naukowe pochodzi w większości z bardzo dobrych czasopism o zasięgu międzynarodowym i zostało dobrane prawidłowo.

Pod względem edytorskim praca jest przygotowana poprawnie i zawiera tylko kilka niezręczności językowych.

Przedstawione w pracy, badania zostały przeprowadzone zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną świadczą o dużych umiejętnościach analitycznych Pani magister Katarzyny Bernacik a. interpretacja uzyskane wyników wykazuje na dobre przygotowanie do pracy naukowej.

Przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania wymienione w art. 13 Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi modyfikacjami.

W związku z powyższym składam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o przyjęcie pracy i dopuszczeniem Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na bardzo dobre zaplanowanie i przeprowadzenie badań oraz uzyskanie wyników o znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym wnoszę o wyróżnienie pracy.

Kraków, 22 sierpnia 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Piekoszewski', written in a cursive style.

Prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski