



Gdański Uniwersytet Medyczny
KATEDRA BIOFARMACJI
I FARMAKODYNAMIKI

Medical University of Gdańsk
DEPARTMENT OF BIOPHARMACEUTICS
AND PHARMACODYNAMICS

Prof. dr hab. dr h.c. Roman Kaliszan, czł. rzecz. PAN, czł. koresp. PAU
tel. +48 58 3491493 fax: +48 58 3491962
ul. Gen. J. Hallera 107, PL 80-416 Gdańsk
e-mail: roman.kaliszan@gumed.edu.pl; web: kaliszan.gumed.edu.pl

Gdańsk, 2017-07-31

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Joanny Matys pt. „HS-SPME w ocenie jakości olejkodajnych materiałów roślinnych”

Oceniana praca doktorska została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie pod kierunkiem prof. dr. hab. Andrzeja L. Dawidowicza. Powołanie na recenzenta skierowała do mnie w imieniu Rady Wydziału Chemii UMCS p. Dziekan dr hab. Anna Deryło-Marczewska, prof. nadzw., wraz z maszynopisem dysertacji w formie zwięzłego opracowania oraz odpowiednimi formularzami administracyjnymi. Zakładam, że Doktorantka spełnia odpowiednie wymogi formalne pozwalające ubiegać się o stopień doktora nauk chemicznych. Przedstawiona do recenzji praca umożliwia ocenę merytoryczną, którą podaję poniżej. Przyznam jednak, że interesowałaby mnie też informacja o kierunku i miejscu ukończenia studiów magisterskich i potwierdzenie, że Doktorantka jest, jako J. Szewczyk, współautorką (drugą) trzech trójautorskich (A.L. Dawidowicz, J. Szewczyk i M.P. Dybowski) prac doświadczalnych objętych tematyką doktoratu, opublikowanych w latach 2016-2017 w wiodących międzynarodowych czasopismach analitycznych: *Talanta*, *Analytica Chimica Acta* i *Journal of Separation Science*.

Redakcja 133-stronicowej monografii doktorskiej jest „klasyczna. Po spisie treści następuje dwustronicowe wprowadzenie do problematyki olejków eterycznych. Jako przedstawiciel nauk farmaceutycznych muszę tutaj zauważyć, że zastosowanie tych substancji w ziołolecznictwie uzasadnia głównie wielowiekowa tradycja. Z kolei, przywoływana przez

Doktorantkę „aromaterapia” nie jest praktyką z zakresu współczesnej „medycyny opartej na dowodach” (*EBM – Evidence Based Medicine*). Zapachy mogą oddziaływać nie tyle na psychikę (jak leki psychotropowe), ile na „sferę duchową”, jak chce Autorka. Aromaterapia jest legalna, więc chemiczna ocena jakości stosowanych olejków jest ważna ekonomicznie i społecznie. Chyba ważniejsza jednak jest ona w kosmetologii i naukach o żywności. W każdym razie idea główna doktoratu, czyli opracowanie rzetelnej, dogodnej, nowoczesnej i „przyjaznej środowiskowo” procedury przygotowania próbki do analizy bez użycia rozpuszczalników organicznych, mikroekstrakcji do fazy stałej oraz oznaczania uniwersalną metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas zasługuje na uznanie.

Część teoretyczna dysertacji napisana jest w sposób klarowny, poglądowy. Dla chemika usystematyzowana informacja o roślinach olejkowych, strukturze prostych lotnych metabolitów wtórnych, ich właściwościach biologicznych, metodach otrzymywania oraz przygotowywania próbek do analizy będzie niewątpliwie interesująca a nawet fascynująca. Autorka wykazała się dobrą znajomością farmakognozji, nauczanej kompleksowo tylko na wydziałach farmaceutycznych. Może terminologia medyczna, zastosowana jest niekiedy nieprecyzyjnie, np. określenie „właściwości przeciwnowotworowe”. Na razie nie można mówić o właściwościach przeciwnowotworowych a jedynie cytotoksycznych niektórych składników olejków eterycznych, wykazywanych w testach *in vitro* na liniach komórkowych.

W dalszej części opisu teoretycznego Autorka omówiła metody przygotowania próbek roślinnych do analizy lotnych metabolitów, zwłaszcza do metody analizy składu gazowej fazy nadpowierzchniowej. Zwięźle lecz wyczerpująco przedstawiła też metodę mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME), której głównym odkrywcą jest Prof. Janusz Pawliszyn – absolwent Politechniki Gdańskiej, aktualnie pracujący na University of Waterloo w Kanadzie. Autorka wykazała się zwłaszcza dobrą znajomością procedur optymalizacji tej metody.

Na str. 64-66 dysertacji Autorka przedstawiła cel pracy doktorskiej. Było nim opracowanie rzetelnych i dogodnych procedur analitycznych pozwalających na szybką ocenę wartości surowca roślinnego pod kątem ilości otrzymywanego olejku eterycznego oraz względnej zawartości poszczególnych składników. Zadaniem pracy było ominięcie uciążliwego etapu destylacji z parą wodną przy przygotowywaniu próbki do analizy. Autorka zamierzała zastosować nowoczesną oryginalną procedurę bezrozpuszczalnikową, konkretnie mikroekstrakcję do fazy stałej lotnych składników z fazy gazowej nad powierzchnią roztworów analitów (HS-SPME). W przypadku, gdyby nie udało się dobrać warunków analizy, które pozwoliłyby na uzyskanie takich samych ilościowych stosunków zawartości poszczególnych składników olejku w próbce, oznaczonych metodą HS-SPME, jak występujące w destylacie z parą wodną, Autorka zamierzała dobrać odpowiednie włókno sorpcyjne do SPME, aby adsorpcja na tym włóknie odzwierciedlała stosunki ilościowe składników w destylacie.

Doktorantka w przekonujący sposób opisuje swoją drogę do rozwiązania zasadniczego celu pracy. Najpierw wykazała, że możliwe jest ustalenie warunków HS-SPME dających takie same proporcje składników olejków jak w destylacie, kiedy zastosuje się zawieszinę próbki roślinnej w cieczy o podobnym charakterze fizykochemicznym jak pokrycie włókna SPME. Przeprowadzone pomiary fizykochemiczne potwierdziły racjonalne oczekiwania Autorki, gdy zastosowała zawieszinę próbki ziela tymianku w oleju silikonowym oraz standardowe włókno SPME pokryte polidimetylosiloksanem (PDMS).

Uzyskawszy układ analityczny umożliwiający odtworzenie dogodną metodą HS-SPME stosunków stężeń składników w próbce do analizy metodą farmakopealną oraz w produkcie pozyskiwanym na skalę przemysłową metodą destylacji z parą wodną, Doktorantka podjęła jeszcze próbę modyfikacji tego układu stosując inne komercyjnie dostępne włókno SPME, mianowicie Carbowax, i pokrywający je adsorbent polietylenoglikol (PEG), jako

ciecz, w której zawieszono próbki roślinne. Autorka uzasadnia ten wybór oczekiwaniem, że oddziaływania międzycząsteczkowe pomiędzy polarnymi składnikami olejków i polarnym PEG będą bliższe rzeczywistości niż ich oddziaływania z niepolarnym PDMS. Nie jestem przekonany, czy układ Carbowax/PEG był wart dodatkowych wysiłków, gdy układ włókno PDMS/olej silikonowy zapewniał realizację celu pracy, czyli opracowania dogodnej metody oznaczania składników sześciu uprawianych na Lubelszczyźnie gatunków roślin olejkowych. Owszem, w doświadczeniach z mieszaninami olejkowych pochodnych tlenowych potwierdziło się racjonalne oczekiwanie, że komponent międzycząsteczkowych oddziaływań specyficznych (polarnych) między analitami i PEG będzie istotny dla prężności par związków nad roztworem, w odróżnieniu od przeważających w układzie analit/PDMS oddziaływań dyspersyjnych. Mam pytanie na publiczną obronę doktoratu, jaka jest szczególna zaleta metody wykorzystującej włókno Carbowax, jeśli nie są na nim sorbowane niepolarne składniki olejków (str. 100)? Owszem, w przypadku polarnych analitów (ale tylko polarnych!) czas optymalizacji warunków HS-SPME na włóknie Carbowax może być krótszy. Z drugiej strony, Autorka zauważa (str. 110), że „nie jest możliwe znalezienie optymalnych warunków procedury HS-SPME w przypadku, gdy różnica w prężności par niskocząsteczkowych związków tlenowych w badanej mieszaninie jest zbyt duża”. Przyznam, że Rozdział 8.1 dysertacji nie jest dla mnie całkiem jasny. Chodzi zwłaszcza o pierwszy paragraf na str. 109 i stwierdzenie: „Uzyskany wynik (małe zróżnicowanie wyników metody bezpośredniego dozowania mieszanin i metody HS-SPME Carbowax/PEG – dopisek mój) można wytłumaczyć z jednej strony w oparciu o prawo Raoult’a, zgodnie z którym prężność pary składnika nad jego roztworem jest niższa niż nad czystym składnikiem. W konsekwencji różnica w prężności par pomiędzy składnikami nad ich roztworami jest mniejsza.” Przecież prężności parjalne składników się nie zmieniają ze stężeniem mieszaniny?

Przedstawiona przez mgr Joannę Matys dokumentacja dowodzi skutecznej realizacji celu pracy doktorskiej. Autorka zaproponowała oryginalną procedurę analityczną umożliwiającą dogodną analizę przesiewową wybranych surowców roślin olejkowych. Metoda HS-SPME z nadzwyczajną zawieszyną materiału roślinnego w PDMS z użyciem włókna PDMS jest nowatorska i uzasadniona teoretycznie. Po starannej walidacji może znaleźć zastosowanie praktyczne w przemyśle farmaceutycznym, zielarskim, kosmetycznym i spożywczym. Autorka wykorzystowała możliwość współpracy z doświadczonymi naukowcami oraz dostępu do nowoczesnych technik i procedur analitycznych w Zakładzie Metod Chromatograficznych UMCS. Wykazała się kreatywnym partnerstwem, na co wskazuje także współautorstwo trzech wartościowych publikacji w tematyce doktoratu.

Praca doktorska jest ogólnie dobrze napisana, gdyż Autorka posiadała zrozumienie przedstawianych zagadnień. Zdarzają się jednak usterki. Mam ogólną uwagę odnośnie do interpunkcji. Znalazłem sporo błędów wydruku. Na początku str. 9 brak nagłówka „Część teoretyczna”, na str.12 wiersz 5 od dołu jest „cząstek” zamiast „cząsteczek” a w wierszu 3 od dołu jest „syntetyzowane” zamiast „syntezowane”, na str. 15 wiersz 2 od dołu jest „p-cymene” zamiast „p-cymen”, na str. 23 i dalszych jest „nie mieszające” zamiast „niemieszające” oraz „nie zawierające” zamiast „niezawierające”, na str. 28 w Tabeli 3 niewłaściwy jest zapis zakresów lepkości, na str. 34 wiersz 5 jest „potrawom” zamiast „potraw”, na str. 37 wiersz 1 od dołu jest „stosowany” zamiast „stosowana”, na str. 48 wiersz 6 jest „w latach 70-tych” zamiast „w latach 1970-yh, na str. 49 wiersz 8 występuje błędna deklinacja, na str. 52 wiersz 13 jest „Arthtura” zamiast „Arthura”, na str. 64 wiersz 14 od dołu jest „badawcze” zamiast „badacze”, na str. 65 i dalszych jest „tych samych” zamiast „takich samych”, na str. 66 wiersz 2 opuszczono słowo „bazylia”, na str. 70 i dalszych jest „rozdział” zamiast „rozdzielenie”, na str. 71 zbędne jest słowo „wpływ”, na str. 74 wiersz 5 od dołu jest „bezpośrednia” zamiast „bezpośrednią”, na str. 81 Tabela 8 nie obejmuje Rys. 33 C, na str. 86

Tabela 9 zawiera angielskie słowa, na str. 92 w pozycji 21 jest „kamfor” zamiast „kamfora”, na str. 95 i innych jest skrót „Rys.” na początku zdania zamiast „Rysunek”, na str. 102 wiersz 8 od dołu jest „Rozdziale 7” zamiast „Rozdziale 7.1”, na str. 106 wiersz 6 od dołu jest „bezpośredniej” zamiast „bezpośrednie”, na str. 110 wiersz 2 od dołu zbędne jest słowo „mieszaniny”, na str. 117 wiersz 4 od dołu brakuje litery „w”, na str. 118 wiersz 3 brakuje słowa „się”, na str. 120 wiersz 2 brakuje słowa „in”. Niezgrabnie brzmią zapisy: „cieszy się olejek” na str. 18 wiersz 3 od dołu, „metody te nie licują” na str. 64 wiersz 4 od dołu czy „% pikowski” w Tabeli 7 na str. 78. Zapisując formy deklinacyjne nazwisk kończących się spółgłoską nie stosuje się apostrofu, czyli pisze się „Raoult’a”, Kovatś’a czy Clevengera. Dość liczne błędy wydruku i przypadki nieprzestrzegania obowiązujących reguł zapisu cytowanego piśmiennictwa znalazłem w spisie literatury a także w spisie akronimów.

Wskazane usterki świadczą o nadmiernym pośpiechu przy redakcji pracy. Z pewnością mgr Joanna Matys mogła je ograniczyć w imię naukowej staranności. Nie mogą one jednak przesłonić faktu, że zrealizowała jasno sformułowany cel pracy doktorskiej. W trakcie jej realizacji zostało zaproponowane oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, uzyskane zostały nowe wyniki badawcze, które znalazły się w obiegu międzynarodowym zaś Doktorantka wykazała się dobrą wiedzą w zakresie chemii oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Zatem mgr Joanna Matys spełnia wymogi ustawowe stawiane kandydatom do stopnia doktora nauk chemicznych.

Wnoszę do Pani Dziekan i Wysokiej Rady Wydziału Chemii UMCS w Lublinie o wyznaczenie terminu publicznej obrony tezy doktoratu.


Prof. dr hab. Roman Kaliszan