



Poznań, dnia 17.03.2020r.

## RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Olgi Wrony pt:

***„Pozyskiwanie i oznaczanie substancji biologicznie aktywnych z polskich roślin uprawnych z wykorzystaniem technik w stanie nadkrytycznym”  
(„Extraction and determination of biologically active compounds from Polish crops using supercritical techniques”)***

Recenzowana praca doktorska została wykonana pod kierunkiem Pana Prof. dr. hab. Bogusława Buszewskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu i leży w zakresie badań prowadzonych przez grupę badawczą promotora pracy. Działalność naukowo-badawcza, którą prowadzi profesor Bogusław Buszewski dotyczy zagadnień multi- i interdyscyplinarnych, głównie z pogranicza chemii fizycznej, medycznej, analitycznej, a nawet supramolekularnej czy kinetyki chemicznej. Różnorodność zastosowań szeroko rozumianej chemii związana jest z jednej strony z rozpoznaniem chemicznym cząsteczek na drodze metod separacyjnych (chromatografia, techniki elektromigracyjne), jak i opracowaniem metod przygotowania próbki do analizy: wydzielania, wzbogacania, rozdzielania i oznaczania różnych indywidualów w skomplikowanych mieszaninach. Prof. Bogusław Buszewski jest wybitnym badaczem w dziedzinie nauk chemicznych, którego wyróżniają szczególne osiągnięcia naukowe i w kształceniu kadr naukowych oraz ogromne zaangażowanie w integrację środowiska naukowego. Promotorem pomocniczym był dr inż. Cezary Możejki prof. INS.

Przedmiot pracy doktorskiej jest zakotwiczony jest w zakresie szeroko rozumianej chemii analitycznej, a dotyczy głównie nowych przyjaznych środowisku procedur separacji bioaktywnych składników zawartych w materiale roślinnym. Główną inspiracją do podjęcia przez Doktorantkę badań było duże zapotrzebowanie przemysłu na naturalne nośniki substancji aktywnych. Szczególną uwagę skupiła na technikach separacyjnych, do których należy ekstrakcja płynem nadkrytycznym ze szczególnym uwzględnieniem czystego ditlenku

węgla. Niniejszą pracę wykonano w ramach projektu *badawczego Preludium 15 o nr 2018/29/N/ST4/01464 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki oraz projektu BIOSTRATEG2/298205/9/NCBR/2016 PLANTARUM ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju*. Wyżej wymienione fakty pozwalają na pozytywną ocenę ważności tematyki dysertacji, w szczególności w aspektach aplikacyjnych.

Celem przedłożonej rozprawy Pani mgr Olgi Wrony była:

- ocena możliwości wykorzystania planu optymalizacyjnego *Box-Behnken design* (BBD) do przygotowania harmonogramu doświadczeń obejmujących cały zakres badanych parametrów procesu separacji z wykorzystaniem płynu w stanie nadkrytycznym;
- zbadanie możliwości powiększanie skali procesu ekstrakcji w stanie nadkrytycznym prowadzonego dla ekstrakcji nawłoci olbrzymiej;
- opracowanie analizy całkowitej zawartości polifenoli, flawonoidów, chlorofilu oraz lipidów z wykorzystaniem spektroskopii UV-Vis;
- dopracowanie metodyki chromatograficznego oznaczania zawartości kwasów tłuszczowych w ekstraktach roślinnych;
- opracowanie metodyki ilościowego oznaczania polifenoli (kwas salicylowy oraz ferulowy), jak również flawonoidów (apigenina, flavon oraz naringenina) z wykorzystaniem techniki analizy chromatograficznej wykorzystującej nadkrytyczny ditlenek węgla jako eluent (SFC).

Praca składa się z ośmiu rozdziałów i napisana jest w języku polskim, w układzie typowym do prac przygotowanych na bazie cyklu publikacji. Licząca aż 34 stron część pierwsza rozprawy, opatrzona nazwą „*Problem badawczy*” to wstęp do przewodnika po tematycznie spójnych artykułach naukowych i zawiera dane literaturowe dotyczące aktualnego stanu wiedzy oraz metodykę badań. W kolejnej części przedstawiono cel pracy wraz z hipotezami badawczymi stanowiącymi swoistą siłę napędową do działań w ramach recenzowanej pracy. Kolejną część stanowią publikacje składające się na rozprawę doktorską, następnie wnioski końcowe oraz spis (imponujących z uwagi na młody wiek Doktorantki) osiągnięć naukowych w postaci: (i) wykazu wszystkich publikacji naukowych (9 publikacji z listy JCR oraz 3 innych), (ii) danych jednego patentu, którego jest współautorem; (iii) spisu komunikatów na konferencjach międzynarodowych (9) oraz krajowych (8), (iv) informacji o kierowaniu projektu NCN oraz (v) odbytych szkoleń. Ostatni rozdział zawiera oświadczenia współautorów. Całość poprzedzona została spisem skrótów stosowanych w pracy.

Tematyka rozprawy jest niezwykle aktualna, i to w wymiarze ogólnościowym, a Doktorantka wykazała się dużą umiejętnością prowadzenia złożonych, wielokierunkowych badań, co w efekcie pozwoliło na uzyskanie ważnych, z naukowego punktu widzenia, korelacji, a także merytorycznych uogólnień. Przedłożona do recenzji praca była już dogłębnie recenzowana przez recenzentów renomowanych czasopism naukowych i bez wątplenia wnosi wiele nowych elementów do wiedzy o efektywnym



sposobie ekstrakcji i metodach oznaczania składników aktywnych i innych substancji w roślinach.

Recenzowana rozprawa ma formę spójnego tematycznie cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych z listy Filadelfijskiego Instytutu Informacji Naukowej. Oparta jest na sześciu oryginalnych pracach, które ukazały się w: *Journal of AOAC International*, *Phytochemistry Letters*, *Przemysł Chemiczny*, *Industrial Crops and Products* (2x), *Molecules*. Sumaryczny współczynnik wpływu (Impact Factor) tych publikacji, według danych podanych przez Autorkę, wynosi 14,299, co daje średni IF przypadający na jedną pracę równy 2,38, zaś sumaryczna liczba punktów tzw. MNiSW to 530. Jej udział w pracach polegał zawsze m.in. na współtworzeniu koncepcji prac i planu eksperymentów oraz na wykonywaniu określonych badań naukowych. We wszystkich (z wyj. D2) pracach Pani mgr Olga Wrona jest pierwszym autorem, co potwierdza istotny wkład Doktorantki w ich przygotowanie.

Pierwsze trzy prace (D1-D3) są pracami przeglądowymi. W pierwszej z nich, niejako bazowej w cyklu publikacji, „Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plant materials” (*Journal of AOAC International* 2017, 6, 100, 1624-1635), Doktorantka dokonała przeglądu literaturowego związanego z zagadnieniem ekstrakcji nadkrytycznym ditlenkiem węgla materiałów roślinnych. W kolejnej pracy „Medicago sativa as a source of secondary metabolites for agriculture and pharmaceutical industry” (*Phytochemistry Letters* 2017, 20, 520-539) Pani mgr Olga Wrona przygotowała przegląd literatury na temat właściwości fizykochemicznych, możliwości pozyskiwania na drodze ekstrakcji oraz zawartości w matrycy roślinnej specyficznych klas związków aktywnych tj. flawonoidów oraz saponin. W trzeciej pracy „Ekstrakcja płynami w stanie nadkrytycznym jako technika izolowania związków biologicznie aktywnych z materiału roślinnego o znaczeniu przemysłowym” (*Przemysł Chemiczny* 2018, 8, 1246-1252) Doktorantka poczyniła przegląd literatury dotyczącej ekstrakcji nadkrytycznym ditlenkiem węgla, ze szczególnym uwzględnieniem metod jej optymalizacji.

Kolejne prace (D4-D6) są pracami oryginalnymi. W pierwszej z nich „Supercritical carbon dioxide extraction of *Solidago gigantea* Ait.: optimization at quarter-technical scale and scale up the process to half-technical plant” (*Industrial Crops and Products* 2019, 130, 316 – 32) zaplanowano plan eksperymentów (*Box-Behnken Design*) oraz przeprowadzono ekstrakcje nadkrytycznym ditlenkiem węgla matrycy roślinnej *Solidago gigantea* w skali ćwierci i półtechnicznej a także oceniono wpływ ciśnienia, temperatury oraz natężenia przepływu rozpuszczalnika na ww. technologię. Wykonano także analizę całkowitej zawartości polifenoli, lipidów oraz chlorofili we wszystkich pozyskanych ekstraktach z nawłoci. W kolejnej pracy „Optimization and upscaling of the supercritical carbon dioxide extraction of *Solidago gigantea*



Ait. of an industrial relevance” (*Industrial Crops and Products* 2019, 142, 111787) zweryfikowano poprawność optymalizacji powtarzając proces w dobranych wcześniej warunkach. Ponadto, opracowano metodę analizy estrów metyloowych kwasów tłuszczowych za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz przeprowadzono analizę wszystkich otrzymanych ekstraktów. W ostatniej oryginalnej pracy „Extraction at quarter-technical plant and determination of polar bioactive compounds from alfalfa (*Medicago sativa* L.) using supercritical techniques” (*Molecules* 2019, 24, 4608) przeprowadzono ekstrakcje *Medicago sativa* w skali ćwierć-technicznej. Oznaczono całkowitą zawartość związków polifenolowych oraz flawonoidów w ekstraktach z lucerny, przeprowadzono analizę matematyczno-statystyczną otrzymanych rezultatów. Ponadto, opracowano metody oznaczania polarnych związków bioaktywnych z wykorzystaniem chromatografii w stanie nadkrytycznym.

Obowiązkiem recenzenta jest wskazanie pewnych niedokładności, błędnych sformułowań, kolokwializmów oraz przede wszystkim ocena merytoryczna, która ma wskazać pewne niejasności czy sugestie. Do tej części pracy mam kilka uwag i pytań, które stawiam w celu doprecyzowania pewnych fragmentów:

1. Proszę o komentarz czy Doktorantka porównywała swoje wyniki ekstrakcji nadkrytycznej z danymi literaturowymi (np. cytowane w D4 prace: Kraujaliene, V., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., 2017. Biorefining of goldenrod (*Solidago virgaurea* L.) leaves by supercritical fluid and pressurized liquid extraction and evaluation of antioxidant properties and main phytochemicals in the fractions and plant material. *J. Func. Foods* 37, 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.049>)
2. Mimo bardzo pozytywnej oceny doboru technik badawczych, uważam za przydatne zastosowanie w przyszłości spektroskopii fluorescencyjnej zamiast spektroskopii UV-Vis do analizy lipidów.
3. Jakie związki chemiczne mogłyby stanowić efektywne modyfikatory ekstrakcji nadkrytycznym ditlenkiem węgla? Jak jest zdanie Autorki w tej kwestii?

Podsumowując, cel pracy został osiągnięty, praca posiada elementy nowości naukowej, a Autorka wykazała, iż jest dobrym eksperymentatorem i potrafi interpretować otrzymane wyniki w sposób właściwy. Na koniec należy podkreślić, iż nie tylko recenzowana praca jest wartościowym materiałem badawczym, ale także dorobek naukowy Pani mgr Olgi Wrony wykracza poza zwyczajowo przyjęte osiągnięcia naukowe (opis powyżej).

*Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Olgi Wrony zgodnie z art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz z rozporządzeniem MNiSW z dnia 26 września 2016 r. (Dz. U. z 2016 r., poz.1586 z późniejszymi zmianami) w pełni odpowiada wymogom określonym przez wyżej wymienione ustawy. Recenzowana rozprawa reprezentuje bardzo dobry poziom naukowy, zawiera elementy nowości naukowej, a wymienione powyżej uwagi polemiczne i pytania nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy. Doktorantka uzyskała szereg ciekawych rezultatów, które*



zostały już opublikowane w licznych pracach naukowych. *Wobec powyższego wnioskuję o przyjęcie pracy i dopuszczenie mgr Olgi Wrony do dalszych etapów przewodu doktorskiego.*

*Ponadto, biorąc pod uwagę wysoki poziom recenzowanej pracy oraz wszystkie jej walory wymienione w recenzji wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej w stosownym trybie.*

Prof. dr hab. Izabela Nowak

Wpłynęło dnia 2.04.2020

dr Katarzyna Białowicz

Podpis K. Białowicz