



UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU

WYDZIAŁ BIOLOGICZNO - CHEMICZNY

15-365 Białystok, ul. Pogodna 65
tel. (-48-85) 745 71 40(43), fax 747 01 14; e-mail: wbch-dz@uwb.edu.pl

Białystok, 09. 09. 2015

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Marty Hryniewickiej
pt. „Zastosowanie nowych technik ekstrakcyjnych do analizy wybranych związków
o działaniu hipolipemicznym”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Barbary Starczewskiej prof. Uniwersytetu w
Białymstoku

Przygotowanie próbki do analizy technikami instrumentalnymi jest krytycznym etapem całego procesu analitycznego. Od tego etapu zależy bowiem zarówno precyzja jak i wiarygodność uzyskanych końcowych wyników oznaczenia. Według prof. Adama Hulanickiego pobieranie i przygotowanie próbki generuje ok. 67% błędów. W dzisiejszych czasach, kiedy analiza chemiczna jest przede wszystkim analizą instrumentalną, staranne dopasowanie próbki do instrumentalnej techniki oznaczeń jest niezwykle istotne. Przygotowanie próbek do analizy ma na celu nie tylko wydzielenie bądź zateżenie oznaczanego związku, lecz również usunięcie substancji wpływających negatywnie na funkcjonowanie stosowanej aparatury pomiarowej. W związku z tym istnieje duża potrzeba projektowania szybkich, wydajnych i jednocześnie przyjaznych dla analityka i środowiska przyrodniczego procedur wydzielenia analitów z badanego materiału. Dodatkowo, nowoczesne procedury przygotowania próbek powinny spełniać zasady Zielonej chemii a w szczególności zasadę oszczędności materiałów i bezpieczeństwa zarówno analityka, jak też jego szeroko pojętego otoczenia.

Nowoczesne techniki ekstrakcyjne takie jak ekstrakcja do fazy stałej i jej modyfikacje, czy bezrozpuszczalnikowe metody izolacji analitów spełniają powyższe zasady. Jednak opracowanie nowej procedury wydzielenia oznaczanego materiału jest bardzo żmudne, wymagające od analityka cierpliwości, umiejętności oraz solidnej wiedzy dotyczącej badanej próbki, oznaczanych związków oraz wykorzystywanej techniki ekstrakcyjnej.

Zagadnienia, którymi zajmuje się w pracy Doktorantka dotyczą opracowania nowych procedur wydzielenia, wzbogacania i rozdzielania wybranych statyn oraz fitosteroli z próbek środowiskowych oraz ich ilościowego oznaczania metodami

spektrofotometrycznymi, HPLC-UV bądź LC-MS. Zrealizowany temat uważam za interesujący i ważny z punktu widzenia badacza, jak również potrzeb ochrony środowiska oraz badań żywności. Podjęty przez Doktorantkę problem jest nadzwyczaj aktualny i ambitny, o potencjalnie dużych wartościach aplikacyjnych.

Rozprawa doktorska mgr Marty Hryniewickiej posiada typowy układ, w którym można wyróżnić: Wstęp, Część literaturową, Cel i zakres pracy, Część doświadczalną, Podsumowanie i wnioski, Streszczenie i Bibliografię. Dodatkowo zamieszczone zostały spisy rysunków i tabel oraz wykaz stosowanych w pracy skrótów.

We wstępie Doktorantka nakreśliła problem związany z koniecznością starannego przygotowania próbek przed oznaczeniami realizowanymi technikami chromatograficznymi. Wiodącym tematem prezentowanej pracy jest opracowanie procedur wydzielania i oznaczania związków biologicznie aktywnych o charakterze hipolipemicznym – statyn i fitosteroli. Przedstawiła problem zanieczyszczenia ekosystemów wodnych pozostałościami farmaceutyków, który skłonił Ją do podjęcia badań nad obecnością statyn w wodach powierzchniowych.

Część literaturową, przedstawioną na 66 stronach, opracowano na podstawie 230 anglojęzycznych artykułów naukowych. Ta część pracy jest napisana merytorycznie bardzo dobrze i wyczerpująco. Doktorantka nie tylko ukazuje obecny stan wiedzy dotyczący badanych związków, metod ich oznaczania lecz również wskazuje nowe trendy w zakresie ekstrakcyjnych metod wydzielania i zateżania analitów z próbek środowiskowych. Na uwagę zasługuje również sposób prezentacji danych w postaci tabel (24) i rysunków (12), co ogromnie ułatwiło czytanie. Świadczy to o dobrym przygotowaniu teoretycznym mgr Marty Hryniewickiej do prowadzenia badań w zakresie zawartym w pracy oraz o znakomitej orientacji w rozwiązywanych zagadnieniach.

Cel i zakres badań został przedstawiony przejrzysto, a uwagę zwraca różnorodność zrealizowanych prac. Doktorantka jako główne zadanie podjęła opracowanie nowych procedur wydzielania i zateżania czterech statyn oraz fitosteroli. Badania prowadziła wykorzystując pomiary spektrofotometryczne w zakresie UV/Vis oraz HPLC/UV i LC-MS.

Obszerną część rozprawy stanowi Część doświadczalna przedstawiona na 112 stronach. Obejmuje ona opis przeprowadzonych przez Doktorantkę badań związanych z doбором optymalnych warunków wydzielania pojedynczych związków bądź grupy związków z roztworów modelowych. Weryfikację uzyskanych wyników Doktorantka

proceedła za pomocą opracowanych przez siebie bądź zaadoptowanych do potrzeb rozprawy spektrofotometrycznych lub chromatograficznych metod oznaczania badanych związków. Wszystkie opracowane procedury analityczne zostały poddane szczegółowej walidacji i ocenie statystycznej. Wyznaczone zostały również współczynniki wzbogacenia. Ta część pracy jest opracowana ciekawie graficznie i widoczny jest bardzo duży nakład pracy eksperymentalnej, która obejmowała szerokie badania podstawowe a następnie aplikacje do próbek z bogatą i skomplikowaną matrycą (próbki wód powierzchniowych, ścieków, próbki żywności, suplementy diety).

Na podkreślenia zasługuje nowatorskie podejście Doktorantki do rozwiązywanych problemów. Związki powierzchniowo czynne wykorzystwała do opracowania procedury ekstrakcji micelarnej lub ekstrakcji micelarnej do punktu zmętnienia do wydzielania oznaczanych statyn. Mając na uwadze fakt, że w próbkach środowiskowych mogą występować różne związki z tej grupy leków, podjęła również próbę opracowania procedury jednoczesnego wydzielania i ilościowego oznaczania atorwastatyny, lowastatyny, fluwastatyny i rosuwastatyny. Do tego celu wykorzystwała wirujący element sorpcyjny. W części poświęconej badaniu żywności przedstawiła opracowaną przez siebie procedurę ekstrakcji do fazy stałej β -sitosterolu stosując nie wykorzystywany do tego celu sorbent SDB1. Bardzo ciekawy jest rozdział dotyczący nowych procedur mikroekstrakcji dyspersyjnej fitosteroli. Wykorzystanie mikroilości rozpuszczalnika organicznego pozwoliło na uzyskanie wysokich współczynników wzbogacenia zawartych w zakresie od 60 do 84. Dodatkowo przeprowadza analizę MS w celu identyfikacji steroli roślinnych obecnych w próbkach rzeczywistych i w uzyskanych ekstraktach.

W sumie Doktorantka opracowała jedenaście w pełni zwalidowanych procedur wydzielania i oznaczania badanych związków, co świadczy o jej pracowitości i staranności.

Omówione przeze mnie dokonania mgr Marty Hryniewickiej przyniosły bogaty, dobrze przygotowany i wykonany, a także dobrze opracowany materiał, który już częściowo został opublikowany w renomowanych czasopismach naukowych.

W krótkim rozdziale „Podsumowanie i wnioski” Autorka przedstawia w sposób syntetyczny swoje dokonania, porównuje zalety i wady opracowanych przez siebie procedur oraz podkreśla aplikacyjny charakter opracowanych procedur.

Praca napisana jest bardzo starannie, ładnym naukowym językiem. Otrzymane wyniki zostały przedstawione bardzo przejrzysto w formie tabel (52) i wykresów (45).

Przy tak obszernej pracy nie sposób jest uniknąć błędów i stąd uwagi do dyskusji:

1. W części eksperymentalnej dotyczącej opracowania procedur wydzielenia statyn mam zastrzeżenia do wniosków podsumowujących poszczególne rozdziały (rozdziały 5-9). W mojej opinii zabrakło krytycznej oceny możliwości wykorzystania opracowanych procedur do oznaczania zawartości tych związków w próbkach wód powierzchniowych w odniesieniu do literaturowych doniesień dotyczących oznaczonych stężeń tych leków w wodach rzecznych czy w ściekach.
2. W rozdziale 9 dotyczącym opracowania metody SBSE-LC-MS jednoczesnego wydzielenia i oznaczania statyn (str 140) autorka podaje, że wykryła obecność atorwastytyny w ściekach surowych na poziomie $2,5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/mL}$ co jest wartością 10-krotnie niższą niż wyznaczona granica oznaczalności ($2,3 \cdot 10^{-2} \mu\text{g/mL}$). Być może ta rozbieżność jest spowodowana zastosowaniem nieodpowiedniej metody wyznaczania granic wykrywalności i oznaczalności.
3. Szkoda, że zabrakło szczegółowego przykładowej procedury wyznaczania współczynników wzbogacenia.
4. W tabeli 46 nie zostały podane równania krzywych kalibracyjnych.
5. Tak jak wspomniałam wcześniej, praca jest przygotowana bardzo starannie. Jednak w prezentacji wyników zabrakło pewnej konsekwencji. Na ogół Doktorantka podawała zakresy liniowości oraz granice oznaczalności i wykrywalności zarówno w mol/L oraz w $\mu\text{g/mL}$. Niestety w niektórych przypadkach zabrakło tej konsekwencji (np. tabela 27, tabela 70).
6. Inne drobne usterki takie jak np. pomyłka w skrócie UA-DLLME zamiast USA-DLLME, benzofenol zamiast benzofenon, pewne niezbyt fortunne sformułowania czy też nieliczne potknięcia stylistyczne nie są warte szczegółowego omawiania. Zwróciłam na nie uwagę w bezpośredniej dyskusji z Doktorantką.

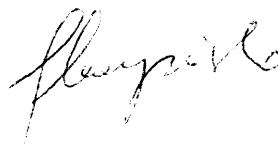
Uwzględniając objętość rozprawy i nakład pracy, wymienione wyżej usterki nie zmieniają mojej ogólnej oceny pracy, która nie budzi wątpliwości merytorycznych. Dobrze zaplanowane eksperymenty doprowadziły Autorkę do realizacji wszystkich założeń pracy. Mgr Hryniewicka wykazała się licznymi praktycznymi umiejętnościami i opanowała szeroki zakres informacji na temat oznaczanych przez nią związków oraz nowoczesnych technik ekstrakcji. Wykazała się również umiejętnością krytycznej analizy

danych literaturowych pozwalającą na wskazanie nowych trendów w badanym obszarze oraz luk, w które mogły wpisać się Jej zainteresowania naukowe.

Mgr Marta Hryniewicka jest współautorką 8 publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania 6,726, 4 publikacji w monografiach pokonferencyjnych i współautorką 14 doniesień konferencyjnych.

Powyższe fakty, a w szczególności wyniki badań upoważniają mnie do stwierdzenia, że praca spełnia wszystkie wymagania formalne i merytoryczne, w tym oryginalne rozwiązania naukowe, stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r., Dz. Ustaw nr 65, poz. 595). W związku z tym wnoszę do Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie pracy. Jako uzasadnienie chciałabym podkreślić dużą wartość naukową pracy, różnorodność zaproponowanych w pracy nowatorskich rozwiązań oraz pozytywną ocenę wyników badań, również przez recenzentów czasopism naukowych, w których wyniki opublikowano.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Hryniewicka'.