



Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny
Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej
90-924 Łódź, ul. Żeromskiego 116
tel. +48 42 631-30-91, fax +48 42 631-31-28

prof. dr hab. inż. Joanna Kałużna-Czaplińska

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Moniki Joanny Turkowicz zatytułowanej
*„Zastosowanie reakcji derywatywacji do opracowania nowych procedur
oznaczania kwasu liponowego”*

wykonanej w Pracowni Chemii Środowiska Katedry Chemii Analitycznej
Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku
Promotorem pracy doktorskiej jest
Prof. dr hab. Joanna Karpińska

a

Promotorem pomocniczym dr Marta Hryniewicka

Wstęp

Badania naukowe prowadzone na całym świecie pokazują, że choroby cywilizacyjne określane jako choroby XXI wieku są ściśle związane z rozwojem ekonomicznym, technicznym, zanieczyszczeniem środowiska, ale także z niezdrowym trybem życia (dieta, używki, brak ruchu), zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych. Przyczyn nasilenia występowania chorób cywilizacyjnych takich jak: cukrzyca, otyłość, choroby układu krążenia, czy układu nerwowego (w tym choroba Parkinsona, Alzheimer) jest wiele, a pośród nich wymienia się stres oksydacyjny, czyli zaburzenia równowagi pomiędzy działaniem wolnych rodników a zdolnością organizmu do ich wygaszania i eliminowania. Jedną z przyczyn stresu oksydacyjnego może być niewłaściwa dieta, dlatego tak ważne jest dla prawidłowego funkcjonowania ludzkiego organizmu korygowanie niedoborów żywieniowych oraz poszukiwanie nowych składników, które dostarczane wraz z dietą pozwolą na ich uzupełnienie. Jednym z takich wielofunkcyjnych związków może być kwas liponowy, określany mianem antyutleniacza, który w ludzkim organizmie jest produkowany, ale w niewielkich ilościach. Uzupełnienie wraz z dietą jego potencjalnych niedoborów wymaga

jednak poznania zawartości tego składnika w różnych produktach spożywczych (np. warzywa) i suplementach diety. Do tego celu niezbędne są odpowiednie metody oznaczania kwasu liponowego w różnych próbkach.

Tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej przez mgr Monikę Joannę Turkowicz dobrze wpisuje się w ten obszar badań naukowych. Dotyczy bowiem opracowania nowych procedur analitycznych oznaczania kwasu liponowego w różnych produktach spożywczych (m.in.: ziemniaki, brokuły, szpinak) oraz w dwóch suplementach diety, które w swoim składzie zawierają kwas liponowy. Do wykonania oznaczeń końcowych użyto chromatografu cieczowego z detektorem UV oraz chromatografu gazowego ze spektrometrem mas. Należy zwrócić uwagę, że w rozprawie doktorskiej główna uwaga została jednak skupiona na wykorzystaniu nowych reakcji konwersji analitów w pochodne (derywatywacji) wraz z identyfikacją otrzymanych produktów reakcji otrzymanych z przekształcania analitów w pochodne z zastosowaniem metod analizy spektralnej. W tym miejscu, pragnę zaznaczyć, że przedstawione w rozprawie doktorskiej wyniki są ważne i aktualne tematycznie. Wiem dobrze, jak wiele wysiłku i pracy wymagało od Doktorantki opracowanie nowych, precyzyjnych i dokładnych metod analitycznych.

Struktura i treść rozprawy doktorskiej

Recenzowana praca mgr Moniki Joanny Turkowicz jest przykładem rozprawy doktorskiej zaprezentowanej w klasycznej formie. W dysertacji można wyróżnić zasadniczo dwie części teoretyczną (literaturową) i eksperymentalną. Część literaturowa obejmuje: wydzielony Wstęp, następnie najważniejsze informacje dotyczące obiektu badań, czyli kwasu liponowego, z uwzględnieniem jego właściwości fizykochemicznych oraz funkcji biologicznych. Ponadto, opis metod wydzielenia kwasu liponowego oraz techniki stosowane do jego rozdzielania. Są także informacje dotyczące konwersji analitów w pochodne. Całość stanowi 56 stron. W pracy, w osobnej części oznaczonej cyfrą rzymską III został sprecyzowany cel i zakres prowadzonych badań. W moim odczuciu dobrze, że ta część została wydzielona przez Doktorantkę jako kluczowy element rozprawy. Opis wyników, ich dyskusja oraz wnioski dotyczące otrzymanych rezultatów z powołaniem się na odpowiednie odnośniki literaturowe nie budzą zasadniczo moich wątpliwości. Cytowana literatura obejmuje aż 217 pozycji naukowych polskich i zagranicznych, z przewagą tych drugich. Ponadto, w przedstawionym do recenzji materiale, znalazły się naukowe osiągnięcia Doktorantki: publikacje i wystąpienia konferencyjne prezentowane w formie komunikatów i posterów oraz udział w grantie Preludium, w roli kierownika projektu w latach 2011-2016, co zasługuje na specjalne podkreślenie. Wystąpienia konferencyjne (11 konferencji krajowych) pokazują naukową aktywność Doktorantki w Polsce, szkoda, że nie ma Doktorantka wystąpień konferencyjnych zagranicznych. Przedstawione publikacje naukowe potwierdzają wkład pani mgr Moniki Joanny Turkowicz w badania. Doktorantka w kilku pracach jest pierwszym współautorem. Wykaz załączonego dorobku naukowego Doktorantki, w mojej opinii jest dobry. Wskazuje na zaangażowanie w pracę naukową i

przemysłane dobranie czasopism naukowych, pod kątem prezentowanych wyników badań. W załączonym wykazie są 3 artykuły, które ukazały się w bardzo dobrych czasopismach naukowych: *Food Chemistry (Elsevier)*, *BioFactors (Wiley)* oraz *Journal of Mass spectrometry (Wiley)*.

W części Wstęp Autorka omówiła aktualne zagadnienia dotyczące roli kwasu liponowego jako antyutleniacza i zwróciła uwagę na jego rolę w ludzkim organizmie. Zabrakło mi jednak w tym miejscu informacji na temat jego obecności w produktach żywnościowych i jego potencjalnej roli w samej diecie. Te informacje znalazły się w dalszych rozdziałach dysertacji.

Cel badań został sformułowany dość czytelnie. Dotyczył zastosowania nowych reakcji przekształcania analitów w pochodne (derywatywacji) do oznaczania kwasu liponowego oraz opracowania nowych, precyzyjnych, dokładnych metod analitycznych z wykorzystaniem chromatografu cieczowego z detektorem UV oraz chromatografu gazowego ze spektrometrem mas, które umożliwią oznaczenie kwasu liponowego w produktach spożywczych i suplementach diety komercyjnie dostępnych. Jednak uważam, że ten cel główny został za słabo wyeksponowany, warto byłoby także jasno wskazać cele pomocnicze (dodatkowe). Pragnę zauważyć, że cel i zakres pracy to nie jest to samo, a takie wrażenie można odnieść czytając zamieszczone informacje na str. 58 rozprawy doktorskiej. W tym miejscu chciałbym wyraźnie podkreślić, że realizacja założonego celu głównego i poszczególnych zadań badawczych, ze szczególnym uwzględnieniem specyficznego charakteru prowadzonych reakcji konwersji analitu w pochodną (derywatywacji), wymaga dużego eksperymentalnego wkładu pracy Doktorantki.

W części pracy dotyczącej opisu prowadzonych eksperymentów, szczególną uwagę zwrócono na: opracowanie odpowiednich procedur analitycznych, które umożliwią oznaczenia kwasu liponowego w produktach spożywczych (głównie warzywa oraz piwo), suplementów diety z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną oraz chromatografii gazowej ze spektrometrią mas. W przyszłych eksperymentach może warto także zwrócić uwagę na aspekt środowiskowy prowadzonych badań, czyli weryfikację użytych odczynników chemicznych i wykorzystanie odczynników, które mają minimalny, negatywny wpływ na środowisko naturalne i zdrowie człowieka. (Np. DMAP- 4-metyloamonopirydyna ma stosunkowo wysoką toksyczność i jest szczególnie niebezpieczna ze względu na jej zdolność do wchłaniania przez skórę).

Przedstawiony w rozprawie doktorskiej przez mgr Monikę Joannę Turkowicz materiał doświadczalny wskazuje na Jej dobre opanowanie i planowanie eksperymentów poprzedzających końcowe oznaczenie analitów. Podjęcie się trudu opracowania nowych reakcji derywatywacji oraz zwalidowania opracowanych metod analitycznych przed ich wykorzystaniem do oznaczeń kwasu liponowego, wskazuje także na dojrzałość Doktorantki w prowadzeniu badań eksperymentalnych.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Za najbardziej wartościowe w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej uważam:

- zastosowanie nowych odczynników do derywatywacji: jodku 2-chloro-1-metylopirydyniowego, 2,4'-dibromoacetofenonu, tetrafluoroboranu 2-chloro-1-metylocholinoliny i alkoholu 4-metoksybenzylowego. Etap optymalizacji warunków przekształcania analitów w pochodne obejmował dobranie odpowiedniego stężenia odczynnika derywatyżującego, temperatury, czasu oraz pH środowiska reakcji;
- identyfikację produktów reakcji derywatywacji z zastosowaniem ^1H NMR, IR, UV i MS;
- opracowanie nowych procedur analitycznych umożliwiających oznaczenie poziomu stężeń kwasu liponowego w produktach spożywczych i komercyjnie dostępnych suplementach diety.

Niewątpliwie, na wysoką ocenę zasługuje aplikacyjny charakter opracowanych metod analitycznych oraz prawidłowe dobranie warunków rozdzielania chromatograficznego, które stanowi drugi, które obok przygotowania próbki do analizy, kluczowy etap procedury analitycznej warunkujący wiarygodność uzyskiwanych wyników.

Uwagi

Recenzent poza oczywistym podkreśleniem walorów i zalet rozprawy doktorskiej ma także obowiązek wskazania pewnych błędów, uwag i postawienia pytań do dyskusji, co poniżej czynię. Praca mgr Moniki Joanny Turkowicz jest przygotowana starannie, tabele, rysunki, schematy i znajdujące się opisy są najczęściej czytelne, choć zdarzają się błędy w samym tekście rozprawy. Na przykład: „zakres liniowości w zakresie” (str. 53), raczej użyjemy nazwy manganian (VII) potasu (str. 54), „środowisko procesu” ,chyba chodziło o środowisko reakcji (str. 113), tekst na str. 84 (w moim odczuciu) jest napisany językiem zupełnie dla analityka nieczytelnym, co to znaczy np. „Temperatura pieca ... zwiększana z przyrostem”, co znaczy „technika chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem mas”, w tym drugim przypadku raczej powiemy technika chromatografii gazowej sprzężonej (łączonej) ze spektrometrią mas albo chromatograf gazowy łączony ze spektrometrem mas.

Ponadto, są stosowane wyrażenia, które mnie jako analityka rażą. W całej pracy jest użyte sformułowanie „techniki rozdziału”, raczej powiemy techniki rozdzielania, ewentualnie separacji (np. str. 38, 47, 101), rozdzielanie składników ma miejsce w kolumnie chromatografu a nie na kolumnie (np. str. 42), używamy pojęcia odważka analityczna od słowa odważyć, a nie naważka analityczna (np. str. 65), ponadto mylnie i niestety wymiennie używane są w pracy pojęcia technika i aparat, które nie są tożsame (np. str. 41, 44), mylone są pojęcia analiza i oznaczenie (np. str. 49), pragnę zauważyć, że analizuje (bada) się próbkę w celu wykonania oznaczenia, na przykład kwasu liponowego, mówimy procedura oznaczania a nie „procedura analizy zawartości” (np. str. 51).

Wśród innych niedociągnięć w pracy, uwag dyskusyjnych i merytorycznych trzeba wymienić:

- Nieczytelne są zapisy zachodzących reakcji na str. 21, zdecydowanie lepszy byłby na przykład schemat,
- Str. 24, ostateczne zdanie na tej stronie dotyczy przemian metabolicznych kwasu liponowego u kogo?,
- Proszę o wyjaśnienie zdania ze str. 27, pierwszy akapit „Ze względu na swój amfifilowy charakter z łatwością pokonuje barierę krew-mózg”,
- Tabela 2 na str. 49 i 50, czy to jest ta sama tabela? Ma inne nagłówki, np. na str. 49 jest rodzaj detekcji, a na str. 50 metoda analityczna, pragnę zauważyć, że to nie są pojęcia tożsame,
- Co rozumie pani przez sformułowanie „temperatura źródła uderzenia elektronów” (str. 84),
- Proszę o komentarz/wyjaśnienie do wyników zawartych w tabeli 9 (str. 85) dotyczące powtarzalności wyników (kolumna druga w tabeli),
- W tekście na str. 91, pod tabelą 11 warto byłoby wskazać, że chodzi o rysunek 27, ponadto, na następnej stronie znalazł się błędny opis właśnie rysunku 27,
- W tabeli 14 (str. 95) występuje pojęcie optymalne środowisko, czyli jakie? Czy chodzi tu o pH?
- W tabeli na str. 17 podane są średnie błędy oznaczenia, proszę o wyjaśnienie, jak były obliczone i dlaczego w tekście pod tabelą mamy zapis „błąd oznaczenia poniżej 1%”, a w samej tabeli błędy są zdecydowanie wyższe,
- Proszę o rozwinięcie zagadnienia na str. 108 (Tabela 21) dotyczące odzysków dla ekstrakcji ciec-ciało stałe,
- Chciałbym aby Pani wyjaśniła termin – współczynnik determinacji (np. str. 105, Tabela 20)

Podsumowanie recenzji

Stwierdzam, że mgr **Monika Joanna Turkowicz** wykazała się wiedzą w aktualnej tematyce będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej. Wskazane w recenzji błędy i uwagi nie umniejszają wartości dysertacji.

Praca spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. z 2003 r., nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami).

Wniosek końcowy

Podsumowując, recenzowana rozprawa mgr Moniki Joanny Turkowicz zatytułowana „Zastosowanie reakcji derywatacji do opracowania nowych procedur oznaczania kwasu liponowego” spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, zatem wnoszę o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Joanna Kotwicka-Czaplińska

Łódź, 24 sierpnia 2020 rok