

Poznań, dnia 14 listopada 2023 r.

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Joanna Suliburska  
Katedra Żywienia Człowieka i Dietetyki  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 31  
60-624 Poznań

### Recenzja


**rozprawy doktorskiej mgr Elwiry Koko pt. „Badanie pierwiastków toksycznych i fizjologicznych w ziołach. Procedury analityczne, zależności, analiza specjacyjna ołowiu i kadmu” wykonanej w Zakładzie Analizy Śladowej, na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem prof. dr hab. Danuty Barałkiewicz i dr hab. Adama Sajnoga.**

Recenzję wykonano na podstawie pisma nr L. dz. WCH/390/KZ/2023 Dziekana prof. dr hab. Macieja Kubickiego z dnia 29 września 2023 roku.

#### **1. Przedstawienie podstawowych danych o kandydacie**

Mgr Elwira Koko realizowała studia doktoranckie w latach 2018-2023 na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, w ramach projektu „HighChem-interdyscyplinarne i międzynarodowe studia doktoranckie z elementami współpracy międzysektorowej”. Na tym samym wydziale w roku 2018 uzyskała tytuł magistra chemii realizując pracę magisterską pt. „Wielopierwiastkowa analiza surowicy krwi metodą ICP-MS”. W latach 2021-2016 mgr Koko realizowała studia licencjackie o specjalności analityka chemiczna na Wydziale Chemii, UAM.

Doktorantka jest współautorem trzech publikacji naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: 1/ E. Koko, A. Sajnog, D. Barałkiewicz. Determination of 13 toxic and physiological elements in herbs originating from China by ICP-MS. Journal of Elementology, 2/ A. Sajnog, E. Koko, D. Kayzer, D. Barałkiewicz. Chemometric approach to find relationship between physiological elements and elements causing toxic effects in herb roots by ICP-MS.



Scientific Reports, 2021, 11, 20683. 3/A. Sajnog, E. Koko, K. Ptaszyńska, D. Baralkiewicz. Multielemental speciation analysis of Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Pb<sup>+</sup> in herb roots by HPLC/ICP-DRC-MS. Validation and application to real samples analysis. Talanta Open, 2022, 5, 100119.

Mgr Koko brała czynny udział w konferencjach krajowych (współautor pięciu doniesień naukowych) i międzynarodowych (współautor pięciu doniesień naukowych). Doktorantka była nagradzana za prezentacje na konferencjach naukowych. Ponadto była wykonawcą w projekcie naukowym OPUS-13 pt. "Wielopierwiastkowa analiza specjacyjna ciekłych i stałych próbek żywności zaawansowaną techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS. Nowe procedury analityczne dla oznaczania toksycznych form specjacyjnych pierwiastków: As, Pb, Cd, Cr i Sb", nr projektu: 2017/25/B/ST4/00374. Mgr Koko otrzymała stypendium naukowe od Rektora UAM oraz nagrodę zespołową III stopnia za osiągnięcia naukowe przyznawane przez Rektora UAM.

Doktorantka brała również udział w wielu kursach i warsztatach dotyczących analityki chemicznej i analizy specjacyjnej. Ponadto była członkiem Komitetów Organizacyjnych dwóch konferencji „Analiza specjacyjna-możliwości i kierunki rozwoju” oraz „Chemometria i Metrologia w Analityce”. Ponadto uczestniczyła w Szkole Letniej „International Summer School Analytical Science Metrology and Accreditation” w Litwie. Mgr Koko odbyła staż zawodowy i dwie praktyki studenckie.

Według bazy Scopus mgr Koko jest współautorem 3 publikacji, ma 8 cytowań i Index Hirscha 2 (na dzień 8.11.2023r.)

## **2. Ocena rozprawy doktorskiej**

### **Dobór i znaczenie tematu**

Skład roślin, w tym ziół zależy od wielu czynników, w tym składu gleby, wilgotności, nasłonecznienia i nawożenia oraz zanieczyszczenia środowiska. Zioła są źródłem wielu składników bioaktywnych, w tym zawierają liczne pierwiastki niezbędne dla organizmu ludzkiego, jak i niektóre pierwiastki toksyczne. Poznanie zawartości pierwiastków niezbędnych i toksycznych w ziołach jest ważne z uwagi na ocenę ich podaży z żywnością i narażenia na działanie szkodliwe (w przypadku pierwiastków toksycznych). W przypadku ziół, z których przygotowywane są napary, należy określić nie tylko zawartość składnika w surowcu, ale również ważny jest procent przejścia składnika z surowca do naparu. W celu oceny działania toksycznego istotne jest również określenie form specjacyjnych pierwiastków m.in. Cd i Pb.



W związku z powyższym uważam, że podjęcie przez Autorkę omawianego w niniejszej dysertacji tematu oraz próba rozwiązania przedstawionego problemu naukowego są właściwe i w pełni zasadne.

### **Ocena formalna pracy**

Opracowanie składa się z 206 stron maszynopisu. Rozprawa ma układ typowy dla prac o charakterze badawczym. Treść rozprawy poprzedzona jest spisem treści i wykazem stosowanych akronimów. Główne części pracy doktorskiej to: wstęp, część literaturowa, cel pracy, część eksperymentalna (w tym wyniki i dyskusja, podsumowanie i wnioski), spis literatury, streszczenie w języku polskim i angielskim, *curriculum vitae* oraz spis dorobku naukowego. W pracy znajdują się wszystkie niezbędne elementy i są one właściwie przedstawione i opisane. Praca napisana jest poprawnie pod względem językowym i stylistycznym.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Wstęp przedstawiony w pracy stanowi właściwe wprowadzenie do omawianego tematu. Autorka zwróciła uwagę na problem zanieczyszczenia ziół pierwiastkami śladowymi, szczególnie kadmem i ołowiem i potrzebę oznaczania w żywności ich form specjacyjnych. Przedstawiono etapy badań oraz zastosowane analizy statystyczne. Wstęp stanowi krótkie uzasadnienie wyboru tematu oraz zastosowanych procedur w badaniach.

W części literaturowej Autorka zawarła wszystkie niezbędne zagadnienia związane z przedstawianym tematem, a mianowicie występowanie pierwiastków w żywności, badanie składu pierwiastkowego żywności, rolę pierwiastków niezbędnych i źródła pierwiastków toksycznych w żywności i ich wpływ na organizm. Przegląd literatury pomimo tego, że zawiera wszystkie treści niezbędne do zrozumienia tematu, ułożony jest nieskładnie. Wydaje się, że poszczególne punkty rozmieszczone są chaotycznie, treści następujących po sobie punktów nie są spójne. Zastanawia mnie w jakim celu Autorka opisała w osobnym punkcie żywność funkcjonalną. Dlaczego najpierw opisane są pierwiastki toksyczne, następnie pierwiastki fizjologiczne, po czym znów jest powrót do treści związanych z oceną narażenia na pierwiastki toksyczne oraz regulacji prawnych dotyczących pierwiastków toksycznych w żywności. Pomędzy tymi treściami jest nawiązanie do medycyny chińskiej i terapii ziołowych. W części literaturowej zdecydowanie brakuje uporządkowania i spójności.



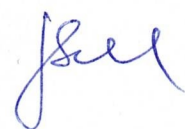
Cel pracy jest sformułowany odpowiednio. Autorka jako główny cel badań podała opracowanie nowych procedur analitycznych do:

1. Oznaczania całkowitej zawartości pierwiastków fizjologicznych, obojętnych i wywołujących efekty toksyczne w zioła pochodzenia chińskiego.
2. Oznaczania trzech form specjacyjnych:  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i  $(\text{CH}_3)_3\text{Pb}^+$  w korzeniach ziół.

Ważną i obszerną częścią pracy badawczej wykonanej przez Doktorantkę była również walidacja procedur pomiarowych.

Część eksperymentalną rozpoczyna opis aparatów i sprzętu laboratoryjnego oraz odczynników i materiałów odniesienia użytych w pracy badawczej. W przypadku, gdy celem badań jest opracowanie nowych procedur analitycznych, to dokładny opis użytych sprzętów i odczynników jest niezwykle ważny. Materiał badawczy został dobrze opisany, przedstawiony na zdjęciach oraz scharakteryzowany w tabelach. Brakuje mi jednak opisu regionu Chin, z których dane zioło pochodzi. Jest to o ważny element opisu, gdyż warto byłoby powiązać stopień zanieczyszczenia środowiska w obszarze pochodzenia surowca, ze stwierdzoną w surowcu zawartością pierwiastków toksycznych, co poszerzyłoby niewątpliwie dyskusję uzyskanych wyników. W dalszej części rozdziału Autorka dokładnie opisała przygotowanie roztworów wzorcowych oraz przygotowanie próbek do analizy. Opisana jest również ekstrakcja próbek roślinnych. To procesu przygotowania ekstraktów mam pytania: Czy ekstrakcję przygotowano według konkretnej receptury? Czy stężenie pierwiastków w tak przygotowanym ekstrakcie odpowiada stężeniu w spożywanych naparach? Dlaczego do sporządzenia ekstraktów z ziół zastosowano wodę o temperaturze  $100^\circ\text{C}$ ?

W rozdziale 'Wyniki i dyskusja' w osobnych podrozdziałach przedstawiono procedurę oznaczania całkowitej zawartości pierwiastków w ziołach metodą ICP-MS oraz procedurę oznaczania całkowitej zawartości pierwiastków w korzeniach metodą ICP-MS. Autorka skrupulatnie opisała optymalizację i kalibrację metod oraz walidację zastosowanych procedur. Zarówno dla ziół jak i dla korzeni zastosowano te same certyfikowane materiały odniesienia: mieszankę ziół polskich, liście jabłoni i liście szpinaku, uzyskując odpowiednią wartość odzysku. Wyniki oznaczenia wszystkich pierwiastków pokazano w tabelach. Moim zdaniem sposób zapisu wartości w tabelach powinien być ujednolicony z podaniem stałej liczby cyfr po przecinku. Zastanawia mnie również, dlaczego w ziołach i korzeniach nie oznaczano tych samych pierwiastków. W ziołach, mieszankach ziołowych i herbatach oznaczone były: Mg, V,



Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Cd, Ba, Pb a w korzeniach: Mg, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Cd, Ba, Pb. W ziołach nie oznaczano Fe, a w korzeniach nie ma oznaczonego Se.

Wszystkie przedstawione wyniki są dobrze opisane a dyskusja oparta jest o aktualną literaturę. Autorka rzetelnie i umiejętnie konfrontuje własne osiągnięcia i obserwacje z wynikami prac innych autorów. Powołując się na zagadnienia fizjologii roślin oraz występowanie pierwiastków w glebie wyjaśnia uzyskane wyniki i zaobserwowane zależności między pierwiastkami. Na zakończenie opisu każdej procedury opisane są wnioski, które potwierdzają, że zastosowana procedura umożliwia identyfikację i oznaczanie ilościowe 13 pierwiastków w analizowanym materiale roślinnym.

Analiza specjacyjna kadmu i ołowiu opisana została w osobnym rozdziale. Szczegółowo przedstawiono optymalizację metody oznaczania zawartości kadmu i ołowiu w ekstraktach wodnych z korzeni roślin, kalibrację metody i zastosowane parametry. Autorka opisała również dawkę pobrania kadmu i ołowiu w danym szlaku narażenia. W tabeli 33 Autorka przedstawiła dawkę pobraną dla Cd i Pb, interesuje mnie na jakiej podstawie określono zalecaną dawkę minimalną i maksymalną dla danego zioła oraz w jaki sposób obliczono dawkę pobraną? W pracy warto podać równanie, na podstawie którego dokonano obliczeń.

1830 11.11.2019 10:00:00

Tak jak wspomniałam wcześniej opis wszystkich procedur analitycznych jest kompleksowy i prawidłowy, jednak brakuje mi pokazania tych procedur na schematach.

W części dysertacji 'Podsumowanie i wnioski' Autorka przedstawia kilka punktów, które dobrze korespondują z celami pracy. Uzyskane wyniki i przedstawione wnioski mają dużą wartość praktyczną i stanowią niewątpliwą wkład w rozwój nauk chemicznych oraz przyczyniają się do rozwoju nauk o zdrowiu.

Na zakończenie dysertacji warto byłoby dodać opis ograniczeń prowadzonych badań oraz dalsze perspektywy rozwoju badań i wykorzystania praktycznego uzyskanych wyników.

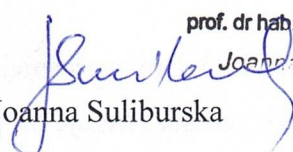
Przedstawioną mi do recenzji dysertację oceniam wysoko pod względem merytorycznym. Nadmienić należy, że Doktorantka jest współautorką trzech artykułów opublikowanych w wartościowych czasopismach naukowych. Przedstawione w nich badania są zbieżne z treściami zawartymi w dysertacji. Udział w publikacjach świadczy o dużym wkładzie Doktorantki w przedstawione badania, jej szerokim doświadczeniu analitycznym i dojrzałości naukowej. Zastanawia mnie, dlaczego zatem Doktorantka nie przedstawiła dysertacji w formie cyklu prac, co niewątpliwie podniosłoby wartość naukową Jej doktoratu.



Podsumowując moją recenzję stwierdzam, że zakres badań w prezentowanej dysertacji, dobór metod badawczych oraz sposób analizy i interpretacji wyników świadczą o dużej wiedzy, dojrzałości naukowej i umiejętnościach Autorki i zasługują na wysokie uznanie w sensie opanowana warsztatu naukowego. Dysertacja ma istotną wartość poznawczą i stanowi oryginalne, samodzielne rozwiązanie problemu naukowego. Uzyskane wyniki pozwalają na wytyczenie nowych kierunków badań dotyczących analizy pierwiastków niezbędnych i toksycznych w roślinach, ziołach, czy ogólnie pojętej żywności.

### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę wartość naukową dysertacji i zawarte w niej elementy nowości naukowej oraz wartość praktyczną, a także zakres wykonanych badań, stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa mgr Elwiry Koko spełnia wymagania ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. 2003, nr 65, poz. 595, ze zm.) w zakresie wymagań na stopień doktorski i wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

  
prof. dr hab. n. med. i n. o zdr.  
Joanna Suliburska  
Joanna Suliburska