



Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej

prof. dr hab. inż. Małgorzata Iwona Szynkowska-Jóźwik

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Elwiry Koko pt. „Badanie pierwiastków toksycznych i fizjologicznych w ziołach. Procedury analityczne, zależności, analiza specjacyjna ołowiu i kadmu” wykonanej w Zakładzie Analizy Śladowej, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem pracy doktorskiej jest prof. dr hab. Danuta Barańkiewicz, a promotorem pomocniczym dr hab. Adam Sajnog.

Recenzja została opracowana zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM na zlecenie Dziekana prof. dr hab. Macieja Kubickiego (L. dz. WCH/390/KZ/2023).

WSTĘP

Praca doktorska autorstwa Pani mgr Elwiry Koko wpisuje się w nurt badań naukowych ukierunkowanych na opracowanie procedur oznaczania pierwiastków toksycznych i fizjologicznych, w tym specjacji ołowiu i kadmu w różnego rodzaju ziołach oraz ekstraktach ziołowych przy wykorzystaniu zaawansowanych technik analitycznych. Cenne właściwości lecznicze ziół powodują, że stanowią one ważną z medycznego punktu widzenia grupę roślin i są uprawiane w wielu państwach na dużą skalę. Ich skład oraz charakterystyczne właściwości zależą od wielu czynników, między innymi od rodzaju i składu podłoża, stosowanych nawozów, czasu i miejsca wzrostu, zanieczyszczenia środowiska. Badanie poziomów zawartości pierwiastków obecnych w ziołach, szczególnie tych toksycznych, jest niezwykle ważne ze względu na ocenę ich jakości oraz zabezpieczenie przed narażeniem na ich szkodliwe działanie.

W ostatnich latach bardzo istotnym jest również trend, w którym naukowcy skupiają się na opracowaniu procedur dotyczących określenia zawartości rzeczywistej formy chemicznej pierwiastka, a nie jego całkowitego stężenia, czyli analizy specjacyjnej. Analiza ta, szeroko rozwijana w wielu aspektach, jest

szczególnie istotna w przypadku badań związanych z oznaczaniem toksyczności wybranych pierwiastków oraz kontrolą jakości produktów spożywczych. W świetle tych informacji tematyka badawcza podjęta w rozprawie doktorskiej mgr Elwiry Koko jest jak najbardziej uzasadniona i aktualna. Zagadnienia poruszone w dysertacji są domeną naukową Zespołu Badawczego Pani prof. Danuty Barańkiewicz.

STRUKTURA ORAZ TREŚĆ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Recenzowana praca Pani mgr Elwiry Koko, o objętości 206 stron, składa się z wykazu stosowanych akronimów, wstępu, części literaturowej – 66 stron, celu pracy oraz części eksperymentalnej (99 stron) obejmującej opis aparatury, metod badawczych stosowanych w pracy, analizę wyników oraz dyskusję, podsumowanie i wnioski końcowe, wykaz 200 cytowanych odnośników literaturowych, streszczenie w języku polskim i angielskim, curriculum vitae oraz dorobek naukowy Doktorantki. Rozprawa zawiera 60 rysunków i 38 tabel, jest napisana poprawnie językowo i stylistycznie.

W **części literaturowej** Autorka omówiła źródła i znaczenie pierwiastków w żywności, żywność funkcjonalną, metody pozyskiwania składników aktywnych z roślin, specjację, zanieczyszczenie środowiska oraz zanieczyszczenie gleb w Chinach, uprawę roślin na terenach zanieczyszczonych, losy pierwiastków wywołujących efekty toksyczne w organizmach, pierwiastki wywołujące efekty toksyczne i ich wpływ na organizmy, działanie toksyczne kadmu i ołowiu, pierwiastki fizjologiczne, mechanizmy obronne roślin, ocenę narażenia, przeciwdziałanie i leczenie, korelacje występujące między pierwiastkami, medycynę chińską i terapie ziołowe, uregulowania prawne dotyczące pierwiastków toksycznych w żywności, badanie składu pierwiastkowego żywności oraz etapy procedury analitycznej (przygotowanie próbki, mineralizacja, ekstrakcja, techniki analityczne, oznaczenie całkowitej zawartości pierwiastków, specjacja).

Tę część pracy oceniam bardzo pozytywnie, jest ona napisana w kompetentny sposób, z właściwie dobraną literaturą przedmiotu. Jedyne wątpliwość budzi kolejność rozdziałów, gdyż bardziej logiczne byłoby powiązanie rozdziałów opisujących toksyczność pierwiastków, efekty toksyczne oraz narażenie na pierwiastki toksyczne z uregulowaniami prawnymi dotyczącymi pierwiastków toksycznych w żywności.

Cel badań został poprawnie sformułowany. Autorka postawiła sobie ambitny cel polegający na opracowaniu nowych procedur analitycznych:

- oznaczania całkowitej zawartości pierwiastków fizjologicznych, obojętnych i wywołujących efekty toksyczne w ziołach pochodzenia chińskiego;
- oznaczania trzech form specjacyjnych: Cd^{2+} , Pb^{2+} i $(CH_3)_3Pb^+$ w korzeniach ziół.

Dodatkowym celem było zbadane zależności między pierwiastkami (oddziaływania o charakterze antagonistycznym lub synergistycznym) z zastosowaniem metod chemometrycznych (analiza głównych składowych PCA; metody wielowymiarowe: analiza zmiennych kanonicznych CVA, analiza regresji wielokrotnej). Zamierzeniem opiniowanej rozprawy była również walidacja zastosowanych procedur analitycznych i zapewnienie spójności pomiarowej wyników pomiarów. W pracy Doktorantka zastosowała nowoczesne techniki analityczne: spektrometrię mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie z oktopolową komorą reakcyjną (ICP-ORS-MS), spektrometrię mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie z dynamiczną komorą reakcyjną ICP-DRC-MS oraz technikę łączoną HPLC/ICP-DRC-MS.

W części eksperymentalnej rozprawy został przedstawiony opis m.in. aparatury, sprzętu laboratoryjnego, odczynników, materiałów odniesienia oraz materiału badawczego, który stanowiły mieszanki ziół, herbaty oraz części ziół pochodzenia chińskiego (tj. korzenie, kłącze, łodygi, owoce i liście), jak również metody przygotowania próbek do analizy i metodykę badań.

Doktorantka podzieliła badania na kilka etapów. Pierwszy z nich polegał na oznaczeniu całkowitej zawartości 13 wybranych pierwiastków w mieszankach ziołowych i herbatach oraz w różnych częściach morfologicznych ziół i określeniu obecności pierwiastków toksycznych (As, Cd, Ni, Pb), fizjologicznych (Co, Cu, Mg, Mn, Se, V, Zn) oraz obojętnych (Sr, Ba), które zostały zakumulowane przez rośliny. Następne badania polegały na analizie zawartości pierwiastków w korzeniach 26 ziół stosowanych w tradycyjnej medycynie chińskiej pochodzących z dwóch partii zakupionych w 2020 i 2021 roku. Ważnym celem tych badań było przedstawienie zależności międzypierwiastkowych z wykorzystaniem metod chemometrycznych. W kolejnym etapie przeprowadzono ekstrakcję i oznaczenie wybranych pierwiastków w ekstraktach oraz obliczono wydajności ekstrakcji. Uzyskane wyniki umożliwiły dokonanie oceny stopnia narażenia osób spożywających napary ziołowe na działanie pierwiastków powodujących efekty toksyczne, dzięki oszacowaniu dawki pobranej w danym szlaku narażenia. Ostatni etap badań polegał na optymalizacji warunków oznaczania form specyjalnych kadmu i ołowiu (Cd^{2+} , Pb^{2+} i $(\text{CH}_3)_3\text{Pb}^+$) za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (HPLC/ICP-DRC-MS) i opracowania procedury, która następnie została zastosowana do analizy ekstraktów ziół.

Należy podkreślić, że każdy etap badań poddany był walidacji, z wyznaczeniem istotnych parametrów walidacyjnych takich jak: zakres roboczy, liniowość, granice wykrywalności

i oznaczalności, precyzję i poprawność. Spójność pomiarowa była zapewniona dzięki wykorzystaniu trzech certyfikowanych materiałów odniesienia: mieszankę ziół polskich (INCT- MPH-2), liście jabłoni (1515 NIST) i liście szpinaku (1570a NIST).

OCENA MERYTORYCZNEJ STRONY ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Analiza pracy wskazuje na zasadność podjęcia problemu badawczego, prawidłowy dobór technik analitycznych, trafność interpretacji uzyskanych wyników oraz ich dyskusję w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy. Oceniając merytorycznie **wyniki i dyskusję rozprawy** za najbardziej wartościowe w przedstawionej pracy uznaję:

- Opracowanie procedur analitycznych oznaczania całkowitej zawartości 13 pierwiastków w ziołach, mieszankach ziół i herbatach oraz w korzeniach ziół (pochodzących z dwóch partii) za pomocą ICP-MS;
- Wykazanie zależności między pierwiastkami oznaczonymi w próbkach ziół: Mg – Sr, V – Pb, As – Ba, Mn – Pb, Fe – As, Fe – Ba, Co – Ni, Co – Sr, Cu – Pb, Cd – As, Zn – Pb, As – Ba;
- Oznaczenie całkowitej zawartości kadmu i ołowiu w ekstraktach z korzeni za pomocą ICP-MS, określenie wydajności ekstrakcji (dla Cd średnio 23%, a dla Pb – średnio 5%) oraz dawki pobrania kadmu i ołowiu w danym szlaku narażenia;
- Opracowanie procedury analitycznej identyfikacji form specjacyjnych Cd^{2+} , Pb^{2+} i $(CH_3)_3Pb^+$ przy zastosowaniu techniki sprzężonej HPLC/ICP-DRC-MS;
- Zastosowanie opracowanej procedury do analizy form specjacyjnych w dziesięciu rzeczywistych próbkach ekstraktów korzeni. Stwierdzenie braku obecności formy chemicznej $(CH_3)_3Pb^+$;
- Przeprowadzenie procesu walidacji oraz zapewnienia spójności pomiarowej wyników pomiarów dla opracowanych procedur analitycznych.

Autorka wykazała się wiedzą w tematyce będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej oraz umiejętnościami pozwalającymi opracować zaplanowane procedury oznaczeń pierwiastków w sposób, który pozwala na jednoznaczną interpretację uzyskanych wyników. Należy podkreślić tutaj ogrom pracy analitycznej. Doktorantka posługuje się nowoczesnymi technikami badawczymi (ICP-ORS-MS, ICP-DRC-MS, HPLC/ICP-DRC-MS), opanowała umiejętność interpretacji uzyskanych wyników oraz ich dyskusji i krytycznej konfrontacji z danymi literaturowymi.

UWAGI

Praca doktorska Pani mgr Elwiry Koko jest przygotowana starannie i napisana poprawnie językowo i stylistycznie. Z obowiązku recenzenta muszę jednak nadmienić, że Doktorantka

nie ustrzegła się pewnych drobnych błędów, choć są one nieliczne. Autorka stosuje w pracy zapis wyników w tabelach z różną liczbą cyfr znaczących oraz zamiennie oznaczenie litra jako L i l (str.170, 181), gdzie jednakowe oznaczenie byłoby wskazane.

Powyższe, zauważone przeze mnie usterki w tekście rozprawy nie mają wpływu na moją bardzo pozytywną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej.

Praca doktorska nasuwa mi pytania:

1. Czy można powiązać stopień zanieczyszczenia środowiska, z którego pochodziły badane próbki, z uzyskanym w nich poziomem zawartości metali toksycznych?
2. Porównując w pracy zbadane pierwiastki nasuwa się pytanie dlaczego w próbkach ziół i herbat nie oznaczono Fe, a w próbkach korzeni Se? W założeniu była podana analiza tych samych pierwiastków.
3. Jakie są interakcje między pierwiastkami w organizmie człowieka? Czy różnią się od przedstawionych w pracy interakcji w organizmach roślinnych i zwierzęcych?
4. Prawidłowe parzenie zielonej herbaty odbywa się w temperaturze od 70°C do 80°C, czy w ocenie Doktorantki zastosowanie temperatury ekstrakcji 100°C może wpłynąć na inny poziom uwalniania się pierwiastków do naparu?
5. Jaka jest opinia Doktorantki dotycząca potencjalnego zastosowania wyników uzyskanych w rozprawie oraz kierunku kontynuacji badań?

PODSUMOWANIE RECENZJI

Oceniając dysertację Pani mgr Elwiry Koko stwierdzam, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie postawionego problemu naukowego oraz pokazuje dojrzałość naukowo-badawczą Autorki. Cel pracy został w pełni zrealizowany, a otrzymane wyniki wnoszą elementy nowości oraz istotny wkład w rozwój chemii analitycznej. Opracowane procedury analityczne mają potencjał aplikacyjny w ocenie bezpieczeństwa i jakości ziół, produktów żywnościowych oraz poszerzają wiedzę o specjacji kadmu i ołowiu.

Doktorantka jest współautorką 3. artykułów opublikowanych w czasopismach z listy JCR – *Journal of Elementology* (2020), *Scientific Reports* (2021), *Talanta Open* (2022) oraz 10. wystąpień konferencyjnych o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Była wykonawcą w projekcie OPUS-13 (2017/25/B/ST4/00374) 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”. Odbyła liczne kursy, warsztaty i szkolenia z obszaru analityki chemicznej oraz specjacji. Brała aktywny udział w organizacji XIII Konferencji „Analiza specjacyjna – możliwości i kierunki rozwoju” oraz VII Konferencji „Chemometria i Metrologia

w Analityce”. Uzyskała stypendium naukowe (2022/2023) oraz nagrodę zespołową III stopnia za osiągnięcia naukowe (2021) przyznane przez Rektora UAM, jak również nagrodę za najlepszą prezentację ustną na V Konferencji Młodych Chemików Sądowych w Krakowie (2021).

WNIOSEK KOŃCOWY

Wyrażam przekonanie, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Elwiry Koko pt. „Badanie pierwiastków toksycznych i fizjologicznych w ziołach. Procedury analityczne, zależności, analiza specjacyjna ołowiu i kadmu” wykonana w Zakładzie Analizy Śladowej, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu spełnia całkowicie wymogi stawiane pracom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. *o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemicznej UAM o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. inż. Małgorzata Iwona Szynkowska-Jóźwik