



Prof. dr hab. n. farm. Maria Łuczkiwicz

Katedra i Zakład Farmakognozji z ORL

Wydział Farmaceutyczny

Gdański Uniwersytet Medyczny

al. gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

tel. (+58) 349 15 63

*mlucz@gumed.edu.pl*

Gdańsk, dn. 02.11.2023 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Topolewskiej**

**pt.: „Opracowanie jednolitej metodyki wyodrębniania, oczyszczania i oznaczania glikoalkaloidów steroidowych w materiale roślinnym i w żywności”, wykonanej pod kierunkiem Promotora – Pana dr hab. Łukasza Piotra Halińskiego, prof. UG**

Tematem badań przedłożonej rozprawy doktorskiej jest analiza glikoalkaloidów steroidowych w wybranych surowcach roślinnych oraz produktach spożywczych. Wspomniane metabolity wtórne, charakterystyczne dla rodziny roślin piankowatych (Solanaceae), są związkami o dużym znaczeniu toksykologicznym. Połączenia te wykazują znaczną toksyczność wobec komórek ssaków, zaś w organizmach roślin, jako specyficzne fitoaleksyny, pełnią funkcje obronne przed infekcjami oraz atakami szkodników. Cząsteczki glikoalkaloidów złożone są z aglikonu, będącego pochodną cholestanu, zawierającego heterocykliczny atom azotu, oraz części cukrowej. Z toksykologicznego punktu widzenia, istotna jest obecność wspomnianych połączeń w szeregu produktów spożywczych, takich jak: ziemniaki, pomidory oraz bakłażany. Wymienione rośliny zawierają zespoły glikoalkaloidów różniące się składem



jakościowym, przy czym kluczowa jest sumaryczna zawartość opisywanych związków w jadalnych matrycach roślinnych. Produkty bogate w omawiane metabolity mogą być źródłem zatruc, przejawiających się m.in. bólami głowy, wymiotami, a także biegunką. Z uwagi na powyższe, konieczne było ustalenie dopuszczalnych limitów stężeń tych związków w materiale roślinnym, oraz opracowanie metod, służących monitorowaniu zawartości glikoalkaloidów w żywności. W dostępnych danych literaturowych podkreśla się, że stosowana obecnie standardowa metoda oznaczania wspomnianych połączeń napotyka na liczne ograniczenia, związane z mnogością, zróżnicowanych pod względem morfologicznym, matryc roślinnych zawierających nie tylko glikoalkaloidy steroidowe, ale także wieloskładnikowe zespoły innych pierwotnych oraz wtórnych metabolitów, wpływających bezpośrednio na wyniki jakościowych oraz ilościowych analiz fitochemicznych wspomnianych alkaloidów.

W związku z powyższym oraz biorąc pod uwagę wyniki przeprowadzonej szczegółowo kwerendy literaturowej Pani mgr Anna Topolewska sformułowała podstawowy cel pracy, którym było zaprojektowanie ujednoliconej metody oznaczania glikoalkaloidów steroidowych w materiale roślinnym, a także wybranych produktach żywnościowych. W założeniu, zoptymalizowana metoda analityczna miała umożliwić wyodrębnienie, a także analizę jakościową i ilościową omawianych związków w próbkach różnego typu, obejmujących zarówno pierwotny surowiec roślinny (liście, bulwy i owoce) jak i przetworzony. Przedłożona praca ma tym samym duże znaczenie aplikacyjne, a także zawiera szereg elementów o charakterze nowości naukowej, w tym metodologicznej. Z jednej strony, opracowanie jednolitej metodyki oznaczania glikoalkaloidów, w zróżnicowanych matrycach roślinnych, wnosi nową jakość do analityki tych połączeń, z drugiej zaś, może znacząco usprawnić prowadzenie badań chemotaksonomicznych roślin z rodziny psiankowatych.

Podstawowy cel pracy Doktorantka zrealizowała w oparciu o szereg zadań szczegółowych, obejmujących:

- ocenę przydatności bezwodników halogenowanych do derywatywacji glikoalkaloidów, dla potrzeb analiz GC
- opracowanie metody analizy glikoalkaloidów techniką chromatografii gazowej, sprzężonej ze spektrometrią mas, i porównanie jej z chromatografią ciekłą (także w połączeniu ze spektrometrią mas)
- ocenę przydatności opracowanej metody do separacji i identyfikacji izomerycznych glikoalkaloidów
- zaprojektowanie i optymalizację procedury ekstrakcji badanych związków, z wykorzystaniem Metody Powierzchni Odpowiedzi (RSM)



- wykorzystanie opracowanych metod do analiz glikoalkaloidów steroidowych w wybranych próbkach żywności oraz w materiale roślinnym.

Podstawowy cel projektu doktoranckiego określono w sposób jasny, a przedstawiony dodatkowo plan doświadczeń pozwala zorientować się w zakresie podjętych wyzwań naukowych.

Ogólnie ujmując, rozprawa doktorska Pani mgr A. Topolewskiej ma formę klasycznej dysertacji. Zawiera wszystkie elementy właściwe dla tego typu publikacji, tj. stronę tytułową, spis zastosowanych skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, część teoretyczną, cel pracy, opis metodyki badań, wyniki połączone z dyskusją, podsumowanie, w którego skład wchodzi główne osiągnięcia oraz wnioski, bibliografię, a także dorobek naukowy Doktorantki. Ogółem, omawiana rozprawa doktorska liczy 109 stron, a zagadnienia omawiane w poszczególnych rozdziałach wsparto 27 tabelami, 15 rycinami oraz 143 pozycjami literaturowymi.

We wprowadzeniu, opartym o bardzo starannie dobrane dane literaturowe, Autorka omówiła kluczowe zagadnienia, konieczne do uzasadnienia celu pracy, a także poszczególne założenia badawcze, które jak już wspomniałam zostały precyzyjnie określone wraz ze sposobami ich realizacji.

Przechodząc do recenzji szczegółowej doktoratu, część teoretyczna pracy została podzielona na podrozdziały, poświęcone ogólnej charakterystyce glikoalkaloidów steroidowych, z uwzględnieniem ich występowania, budowy chemicznej, biosyntezy, działania biologicznego i toksyczności, a także zagadnieniom związanym z ekstrakcją, identyfikacją oraz oznaczeniami ilościowymi wspomnianych połączeń. Tematyka omawianego rozdziału wiąże się bezpośrednio z badaniami wchodzącymi w zakres przedłożonej rozprawy doktorskiej. Dostępne dane literaturowe, w szczególności dotyczące szczegółowych badań fitochemicznych nad glikoalkaloidami, Doktorantka przeanalizowała z dużą starannością, a zarazem w sposób krytyczny, uwzględniający zalety, wady i ograniczenia poszczególnych technik. Omawiane podrozdziały oparte na około 120 publikacjach, głównie eksperymentalnych, pochodzących z ostatnich 15 lat, zostały napisane poprawną polszczyzną zarówno z uwagi na prawidłowe słownictwo fachowe, wolne od niepotrzebnych zapożyczeń z języka angielskiego, styl wypowiedzi, składnię zdań oraz interpunkcję. Ten godny podkreślenia fakt jest coraz rzadszy w przypadku rozpraw i publikacji przygotowanych w języku ojczystym i niejednokrotnie utrudnia, a nawet uniemożliwia prawidłowe zrozumienie tekstu. Omawiana część teoretyczna stanowi doskonale źródło wiedzy w zakresie szczegółowej charakterystyki glikoalkaloidów steroidowych, z uwzględnieniem ich budowy, własności fizykochemicznych, występowania,

aktywności biologicznej, w tym toksyczności oraz analityki na przykładzie wybranych surowców roślinnych. Kompilacja ta może być pomocną zarówno dla naukowców zajmujących się powyższą grupą wtórnych metabolitów roślinnych jak i wykładowców uniwersyteckich. Jednocześnie, opracowując omawianą część teoretyczną, Pani mgr A. Topolewska przygotowała się szczegółowo do realizacji kolejnych zadań eksperymentalnych projektu, a sformułowane przez Nią cele i tezy były ze wszech miar uzasadnione.

Część eksperymentalna pracy zawiera szczegółowe opisy użytych do badań materiałów roślinnych, odczynników oraz zastosowanych procedur analitycznych, z uwzględnieniem: sposobu przygotowania próbek, analiz chromatograficznych i technik detekcji, derywatywacji glikoalkaloidów, walidacji metod chromatograficznych, optymalizacji procesu ekstrakcji oraz wykorzystanych metod statystycznych. Ogólnie ujmując, w większości wypadków, powyższe procedury zostały przedstawione w sposób wyczerpujący i przejrzysty, nie budzący wątpliwości dotyczących metodyki przeprowadzenia doświadczeń, a także umożliwiającą powtórzenie eksperymentów.

Pewien niedosyt budzi natomiast charakterystyka surowców roślinnych, testowanych w projekcie. Po pierwsze, zgodnie z nomenklaturą botaniczną, nazwy własne roślin powinny być cytowane zarówno w języku polskim jak i po łacinie oraz obejmować pełną nazwę rodzajową, gatunkową oraz skrót od nazwiska naukowca umieszczającego je, w obowiązującym systemie taksonomicznym. Dotyczy to przypadku gdy roślina pojawia się w tekście po raz pierwszy, czyli przykładowo – *Solanum tuberosum* L. W dalszych cytowaniach, można już zastąpić nazwę rodzajową jedynie formą skrótową, a także ominąć nazwisko badacza. Zgodnie z obowiązującymi zasadami, reguła ta dotyczy oddzielnie tekstu oraz zestawień tabelarycznych i rycin. W ocenianym manuskrypcie, w omawianej kwestii, można zauważyć dużą dowolność, a fakt ten jest widoczny, poza częścią eksperymentalną, również w pozostałych sekcjach pracy.

W badaniach dotyczących matryc roślinnych, w części metodologicznej, niezbędne jest również podanie pochodzenia surowca, w tym warunków jego uprawy, terminu zbioru, sposobu przechowywania, a następnie przygotowania do prac fitochemicznych. Istotna jest także nazwa firmy, z której pochodzą produkty przetworzone. W tej kwestii, informacje podane przez Doktorantkę są zbyt lakoniczne lub nieprecyzyjne (np. „rośliny uprawiano w nieogrzewanej szklarni, w Gdańsku” – brak temperatury, fotoperiodu, wilgotności w pomieszczeniu itd.; „roślina ziemniaka hodowana w pomieszczeniu zamkniętym” – szklarnia jest również pomieszczeniem zamkniętym więc zachodzi konieczność wyjaśnienia szczegółów dotyczących upraw ziemniaków, które chyba nie pochodziły ze szklarni). W tym miejscu należy również dodać, że w przypadku namnażania roślin używamy określenia uprawa, zaś dla zwierząt –





hodowla. Terminy: roślina pomidora bądź roślina ziemniaka przewijające się w tekście i służące, jak mi nie wiadomo, do określenia liści także nie są właściwe. Używając terminu – roślina – mamy na myśli cały organizm, w którego skład wchodzi część wegetatywna (liście, łodygi, korzenie, bulwy itd.) oraz generatywna. Tymczasem Doktorantka badała: liście, owoce i bulwy.

Kolejnym problemem jest opis przygotowania surowców do badań fitochemicznych. Brak w tym względzie doprecyzowania czy suszenie materiału roślinnego odbywało się w urządzeniu z termoobiegiem bądź bez, oraz zważywszy, że procedura suszenia trwała tylko 3 h, istotne jest czy organy jadalne (bulwy i owoce) były przedtem dzielone na mniejsze fragmenty. W przypadku dalszego, po suszeniu, rozdrabniania surowców w moździerzu, nie podano danych odnośnie ujednoczenia biomas roślinnych co do rozmiaru poszczególnych fragmentów (wielkość sit). W związku z powyższym prosiłabym Panią mgr Annę Topolewską o doprecyzowanie tych szczegółów w toku obrony. Będą one również niezbędne podczas przygotowywania prac, opisujących poszczególne osiągnięcia projektowe, do druku.

W rozdziale poświęconym badaniom własnym, Doktorantka przeprowadziła krytyczną analizę uzyskanych wyników, porównując je z dostępnymi danymi literaturowymi. Realizacja celu pracy możliwa była dzięki wykonaniu kompleksowych badań, obejmujących optymalizację procesu przygotowania próbki i warunków analiz chromatograficznych. W pierwszej kolejności, mgr Anna Topolewska zoptymalizowała etap derywatywacji glikoalkaloidów steroidowych, ze względu na jego kluczowe znaczenie w prowadzeniu analiz wspomnianych połączeń metodą GC. Spośród trzech zastosowanych bezwodników kwasowych (PFPA, TFAA i CDFAA), do dalszych prac wybrano TFAA, zapewniający najwyższą dokładność i powtarzalność reakcji acylowania. Dalsza część badań obejmowała porównanie wybranych technik analitycznych w zakresie ich przydatności do prowadzenia analiz jakościowych i ilościowych glikoalkaloidów w testowanych matrycach roślinnych. Metody GC-FID, GC-MS, HPLC-UV/Vis i LC-MS poddano procedurze walidacji z użyciem substancji wzorcowych, a następnie porównano je wykorzystując ekstrakty z materiału roślinnego (liście pomidora, ziemniaka i bakłażana, owoce pomidora i bakłażana oraz bulwy ziemniaka). Wyniki analiz poddano krytycznej ocenie, zestawiając parametry walidacyjne poszczególnych metod, ich selektywność oraz efekty matrycowe (w przypadku technik GC-FID i LC-MS/MS). Stwierdzono, że najmniej przydatna w analizie glikoalkaloidów jest metoda HPLC-UV/Vis, nie nadająca się do oznaczania  $\alpha$ -tomatyny, tj. głównego metabolitu z oznaczanej grupy, obecnego zarówno w owocach jak i liściach pomidora. Znacznie większe możliwości w tym zakresie oferuje technika LC-MS/MS. Poza niskimi wartościami LOD i LOQ, do zalet powyższej metody należy brak konieczności hydrolizy glikoalkaloidów, i co za tym idzie, możliwość

oznaczania mieszanin glikozydów, stanowiących połączenia cukru z tym samym aglikonem. Wykorzystanie tej techniki wymaga jednak zastosowania wzorców poszczególnych analitów, co jest problematyczne przy braku dostępności na rynku standardów niektórych z glikoalkaloidów sterydowych. Metoda LC-MS/MS okazała się jednocześnie wrażliwa na efekty matrycowe. Spośród technik opartych na chromatografii gazowej, GC-FID była niewystarczająco selektywna dla potrzeb analiz glikoalkaloidów w złożonych matrycach roślinnych. Dużo większe możliwości w tym względzie oferowała technika GC-MS, która pomimo występowania efektów matrycowych, okazała się być skuteczna w analizie niecelowanej. Charakteryzowała się ona wysoką rozdzielczością, umożliwiając rozdzielenie i identyfikację związków o zbliżonej strukturze. Z uwagi na przedstawione zalety, technika ta została wybrana przez Doktorantkę do określenia składu frakcji glikoalkaloidów steroidowych w częściach zielonych szeregu gatunków pomidora, z uwzględnieniem zarówno roślin dzikich, jak i uprawnych. Analizy GC-MS pozwoliły także na wykrycie w liściach pomidora nowego glikoalkaloidu steroidowego, stanowiącego połączenie solasodyny z lykotetralem, nazwanego przez Panią mgr Annę Topolewską, dehydrofilotomatyną. Strukturę wspomnianego związku potwierdzono w zespole metabolitów z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF-MS. Metoda ta pozwala na określenie budowy wielu związków naturalnych z dużą precyzją, jednak w przypadku połączeń nowych, niezidentyfikowanych dotychczas w świecie roślin bądź w testowanym taksonie, bezpieczniej jest opierać się w badaniach strukturalnych na pogłębionej analizie spektroskopowej (odpowiednio dobrane eksperymenty NMR) metabolitów wyizolowanych w postaci czystej, stąd ważne jest przedyskutowanie tego problemu w części dyskusyjnej manuskryptu czego nie znalazłam. Jako, że opisywane osiągnięcie jest jednym z istotniejszych w projekcie doktoranckim, mającym jednocześnie dużą wartość poznawczą, w odniesieniu do profilu metabolicznego liści pomidora, zachęcam Doktorantkę do przedstawienia nazwy chemicznej wspomnianej struktury, w prezentacji, podczas obrony.

W dalszej części rozprawy, mgr Anna Topolewska opisała wyniki badań z zakresu opracowania jednolitego protokołu izolacji glikoalkaloidów z materiału roślinnego. Doświadczenia te obejmowały identyfikację czynników wpływających na wydajność wspomnianego procesu, oraz optymalizację procedury ekstrakcji z wybranych matryc (części jadalne oraz wegetatywne ziemniaka, pomidora i bakłażana) z wykorzystaniem centralnego planu kompozycyjnego. Eksperymenty wykazały, że największe znaczenie dla wydajności ekstrakcji ma stosunek objętości rozpuszczalnika (roztwór kwasu octowego) do masy próbki, a także temperatura procesu. Wyniki doświadczeń, wykonanych w ramach centralnego planu kompozycyjnego, pozwoliły na opracowanie wykresów powierzchni odpowiedzi dla





poszczególnych matryc. Stworzony model poddano walidacji: zaproponowane warunki optymalne, dla wymienionych wcześniej surowców, zostały porównane z wyznaczonymi eksperymentalnie zawartościami glikoalkaloidów. W efekcie, wykazano bardzo dobrą dokładność modelu dla ziemniaka i pomidora, w przypadku bakłażana zaś uzyskane wyniki były niezadowalające. W dalszej części badań z zakresu ekstrakcji glikoalkaloidów, Doktorantka skupiła się na maksymalizacji skuteczności powyższej procedury. Autorka manuskryptu wykazała, że podwyższenie stosunku objętości rozpuszczalnika do masy surowca, pozwala wydatnie podnieść wydajność procedury izolacji glikoalkaloidów z matrycy roślinnej. Efektem przeprowadzonych doświadczeń było zoptymalizowanie warunków wyczerpującej ekstrakcji analitów ze wspomnianych wcześniej surowców. Opracowana procedura została dodatkowo porównana ze standardową metodą AOAC, a także jej modyfikacjami, wykorzystywanymi powszechnie w analizach zawartości glikoalkaloidów w żywności. Autorka pracy wykazała, że zaprojektowany w toku badań protokół izolacji zapewnia wyraźnie wyższe odzyski glikoalkaloidów, co świadczy o jego przewadze nad metodą stosowaną oficjalnie.

Zoptymalizowana, po wieloetapowych badaniach, metoda izolacji badanych związków została wykorzystana przez Doktorantkę w analizie zawartości glikoalkaloidów steroidowych w żywności i materiale roślinnym. Wykazała ona, że w żadnej z badanych próbek stężenie alkaloidów nie przekraczało wartości 20 mg/100 g, uznawanej za bezpieczną. Rezultaty analiz pokazują jednak, że produkty zawierające suszone, gotowane bądź marynowane pomidory, charakteryzują się wyższymi poziomami glikoalkaloidów, w porównaniu do surowca świeżego. Uwagę zwraca ponadto wysoka zawartość tych połączeń w zielonych pomidorach, mogąca osiągać wartości zbliżone do wspomnianej wcześniej granicy.

Podsumowując część rozprawy poświęconą wynikom i wnioskowi należy stwierdzić, że przedłożona praca zawiera elementy nowości naukowej, a zarazem posiada wysoką wartość aplikacyjną. Nowością naukową stanowi niezaprzeczalnie odkrycie w roślinie pomidora nowego glikoalkaloidu steroidowego, nazwanego dehydrofilotomatyną, oraz oznaczenie jego zawartości (a także stężeń znanych związków z tej grupy) w częściach wegetatywnych szeregu gatunków pomidora. Uzyskane wyniki mają duże znaczenie poznawcze, i rozszerzają w istotny sposób wiedzę dotyczącą chemotaksonomii roślin z rodziny Solanaceae. Na uwagę zasługuje ponadto porównanie przez Doktorantkę szeregu technik chromatograficznych, oraz ocena ich przydatności w analizie glikoalkaloidów steroidowych. Jakkolwiek wykorzystane w toku badań metody były wcześniej stosowane do oznaczania wspomnianych połączeń, to jednak w żadnej z prac nie porównano ich w sposób tak kompleksowy, jak w przedłożonej rozprawie. Pani mgr

Anna Topolewska wyznaczyła parametry walidacyjne metod: CG-FID, GC-MS, LC-MS i HPLC-UV/Vis, a następnie przedyskutowała zaobserwowane pomiędzy nimi różnice, i oceniła możliwość wykorzystania wymienionych technik do oznaczeń jakościowych i ilościowych glikoalkaloidów. Co istotne, Doktorantka wykazała, że zawartości omawianych związków w materiałach roślinnych różnią się wyraźnie w zależności od zastosowanej techniki oznaczeń. Część metodyczna opisywanych badań nie budzi większych zastrzeżeń. Zwraca jednak uwagę fakt, że w ramach procedury walidacji nie wyznaczano parametru precyzji pośredniej (międzydniowej), co wymaga wyjaśnienia. Nie jest również jasne, czy Doktorantka rozwijała od podstaw wykorzystywane w badaniach metody chromatograficzne, czy też bazowały one na opracowanych wcześniej dla glikoalkaloidów steroidowych protokołach analitycznych. W odpowiednich akapitach, obejmujących opisy technik chromatograficznych w części eksperymentalnej pracy, a także w rozdziale poświęconym wynikom i dyskusji, nie ma bowiem odniesień do wcześniejszych badań. Uważam również, że w manuskrypcie powinny znaleźć się przykładowe chromatogramy HPLC, obrazujące rozdzielenia zespołu wzorców alkaloidowych oraz badanych ekstraktów. Prosiłabym więc Doktorantkę o uzupełnienie prezentacji, podczas obrony, o stosowne ryciny.

Część pracy doktorskiej poświęcona zaprojektowaniu metody ekstrakcji glikoalkaloidów ma przede wszystkim wymiar praktyczny. Doświadczenia przeprowadzone przez Panią mgr Annę Topolewską pozwoliły na zidentyfikowanie czynników kluczowych dla procesu izolacji analitów z materiału roślinnego, a także optymalizację procedury ekstrakcji tych połączeń z użyciem metody odpowiedzi powierzchni. W efekcie przeprowadzonych doświadczeń, Doktorantka opracowała protokoły ekstrakcji glikoalkaloidów dla sześciu rodzajów matryc roślinnych (liści i owoców pomidora, liści i bulw ziemniaka oraz liści i owoców bakłazana), określające optymalne stężenie używanego do ekstrakcji kwasu octowego, stosunek objętości rozpuszczalnika do masy surowca oraz temperaturę. Co istotne, zaprojektowane metody izolacji okazały się być wydajniejsze od oficjalnej metody AOAC, jak również jej modyfikacji. Uzyskane wyniki mają tym samym duże znaczenie z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności. Biorąc pod uwagę fakt, że korzystanie z oficjalnej metody AOAC może prowadzić do zaniżonych wyników oznaczeń zawartości glikoalkaloidów, celowe jest podjęcie szerszej dyskusji na temat konieczności wprowadzenia zmian w stosowanych powszechnie protokołach analiz tych połączeń.

Nie mam zastrzeżeń do strony redakcyjnej pracy. Rozprawa została przygotowana w sposób bardzo staranny i uporządkowany. Lekturę pracy ułatwiają liczne tabele i ryciny. Obecne są jedynie nieliczne błędy interpunkcyjne i merytoryczne. Na stronie 65 błędnie podano





odniesienie do rysunku 8, podczas gdy w rzeczywistości chodzi o rycinę 9, przedstawiającą widmo MALDI-TOF-MS, uzyskane w wyniku analizy ekstraktu z liści pomidora. Dodatkowo, na str. 51, zamiast terminu zsyntezować użyto starszej wersji tego określenia, obecnie nie stosowanej – zsyntetyzować.

Nie mam do Doktorantki dalszych pytań dotyczących tematyki badawczej rozprawy, ponieważ jest ona tak dobrze przygotowana pod względem merytorycznym, że w trakcie jej czytania mogłam znaleźć odpowiedzi na wszystkie nurtujące mnie pytania. Pozostałe uwagi umieściłam w tekście recenzji.

Podczas obrony chciałabym poprosić Panią mgr Annę Topolewską o przedyskutowanie zagadnienia związanego z zastosowaniem w jakościowej oraz ilościowej analizie glikoalkaloidów steroidowych chromatografii cienkowarstwowej, w tym również HPTLC na tle metod wykorzystywanych w projekcie doktoranckim (GC i HPLC).

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr Anny Topolewskiej zawiera elementy nowości naukowej o charakterze poznawczym, a także aplikacyjnym. Tematyka pracy jest aktualna, zaś uzyskane wyniki wnoszą istotny wkład do wiedzy z zakresu chemii roślin z rodziny Solanaceae. Doktorantka wykazała się szeroką wiedzą teoretyczną w reprezentowanej dyscyplinie naukowej, a także umiejętnością prowadzenia eksperymentów oraz interpretacji wyników badań.

Tym samym niniejsza rozprawa, zatytułowana: „Opracowanie jednolitej metodyki wyodrębniania, oczyszczania i oznaczania glikoalkaloidów steroidowych w materiale roślinnym i w żywności”, w pełni spełnia wymagania ustawowe. Przedstawiam zatem Radzie Nauk Chemicznych Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Anny Topolewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Przedstawiony doktorat charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym, aktualnością oraz trafnością podjętej tematyki badawczej. Zarówno zakres jak i sposób wykonania doświadczeń oraz poprawność i znaczenie uzyskanych wyników, z uwagi na ich walory poznawcze, a także aplikacyjne, zasługują na duże uznanie. Z tego względu składam również, do Wysokiej Rady Nauk Chemicznych Uniwersytetu Gdańskiego, wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Katedra i Zakład Farmakognozji  
z Ogrodem Roślin Leczniczych  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
  
prof. dr hab. n. farm. Maria Łuczkiwicz  
tel +58 349 15 63