

Prof. dr hab. Maria Bretner

Warszawa 02.12. 2019

Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków

Wydział Chemiczny Politechnika Warszawska

Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Beaty Szmigiel-Merena
„Zastosowanie biotransformacji do syntezy antyoksydantów”
wykonanej w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki
Wrocławskiej.

Poszukiwanie nowych metod otrzymywania użytecznych związków jest ciągle jednym z najważniejszych celów badawczych chemików. Wśród szeregu metod stosowanych w tym celu, te oparte na biokatalizie zajmują poczesne miejsce i stanowią niejednokrotnie atrakcyjną alternatywę dla typowych metod chemicznych. Kultury mikroorganizmów czy roślin jak i wyizolowane z nich enzymy są wysoce regio- i enancjoselektywne. Biokatalizatory mają wiele atrakcyjnych cech w kontekście zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju, pozwalają na uniknięcie stosowania wysokich temperatur, toksycznych rozpuszczalników czy metali szlachetnych, które mogą zanieczyszczać produkt i utrudniają jego odzyskanie. Biotransformacje przeprowadza się na ogół w warunkach wodnych w temperaturze otoczenia i pod ciśnieniem atmosferycznym, co zapewnia że procesy te są uważane za bardziej energooszczędne i opłacalne pod względem ekonomicznym.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Beaty Szmigiel-Merena została wykonana w zespole Pani prof. dr hab. inż. Ewy Żymańczyk-Dudy z Zakładu Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej i dotyczy syntezy związków polifenolowych o aktywności antyoksydacyjnej.

Rozprawa wydana jest w formie książkowej i liczy 163 strony. Układ pracy jest typowy dla eksperymentalnych prac doktorskich.

W części „Wstęp” liczącej 60 stron Doktorantka nakreśliła wagę problemu wynikającego z powstawania wolnych rodników i skutków ich działania na organizm ludzki. Omówiła również naturalne mechanizmy obronne oraz antyoksydanty roślinne. Kolejnym zagadnieniem przedstawionym w części teoretycznej były metody otrzymywania związków o aktywności antyoksydacyjnej zarówno chemiczne jak i z zastosowaniem biokatalizy. Lektura

części teoretycznej daje mi podstawę do stwierdzenia, że przeprowadzone przegląd literaturowy był solidnym fundamentem do realizacji badań.

Następne dwa rozdziały dotyczą materiałów i metod zastosowanych w badanych własnych. W opisie dotyczącym odczynników warto byłoby podać czystość zastosowanych odczynników, gdyż niejednokrotnie ma ona wpływ na uzyskane rezultaty.

W części metody doktorantka obszernie omówiła metodykę stosowaną w badaniach, jednak z obowiązku recenzenta pozwolę sobie na podanie niektórych wątpliwości dotyczących tej części.

W tabeli 1.2 nie podano wartości pH dla podłoża ziemniaczanego i podłoża stałego ziemniaczanego.

W punkcie 1.3 nie podano jak określano przyrost biomasy, czy ważono biomasę moką czy suchą, bardziej wiarygodna jest metoda ważenia biomasy suchej.

Przy niektórych eksperymentach zabrakło informacji czy były wykonywane tylko raz, czy kilkakrotnie, dla wielu wykresów i rysunków brak jest informacji o ilości powtórzeń i wielkości odchyień, np. rys 38, rys. 45, tabela 4, 5, 6, 7, 8.

Celem pracy doktorskiej było opracowanie metody otrzymywania niskocząsteczkowych polifenoli o aktywności antyutleniającej przy wykorzystaniu grzybów pleśniowych a także optymalizacja procesu.

Rozdział zatytułowany „Badania własne” liczący 38 stron to najważniejsza i jednocześnie najciekawsza część rozprawy doktorskiej. Substratem do otrzymywania cennych antyoksydantów, stosowanych w profilaktyce i leczeniu wielu chorób był tani substrat – fenyletanol. Doktorantka badała możliwość zastosowania różnych grzybów strzępkowych, form katalizatora, warunków procesu oraz rodzaju reaktora.

Badania rozpoczęła od formy spoczynkowej *A. niger* uzyskując najlepszą wydajność hydroksytyrozolu (1,4mg/50 mL z 15 mg /50mL substratu) przy zastosowaniu medium reakcyjnego zawierającego 13mM glukozę. Użycie formy wegetatywnej (mycelium) jako biokatalizatora prowadziło do otrzymania mieszaniny dwu przeciwutleniaczy – kwasu 4-hydroksyfenylooctowego i hydroksytyrozolu. Najwyższa wydajność czystego kwasu 4-hydroksyfenylooctowego 18% doktorantka uzyskała w warunkach hodowli mikroorganizmu na pożywce wzbogaconej o substrat – 2-fenyletanol.

Kolejnym etapem badań była próba zwiększenia stabilności biokatalizatora poprzez unieruchomienie grzybni *A.niger* na piankach poliuretanowych co pozwoliło na uzyskanie wyższej wydajności procesu. Natomiast zastosowanie wolnej grzybni w napowietrzonym

bioreaktorze okresowym prowadziło do otrzymania cennego produktu S-1-fenyloetan-1,2-diolu z wysoką wydajnością - 65% co zostało objęte zgłoszeniem patentowym.

Doktorantka zbadała również możliwość zastosowania innych mikroorganizmów jako biokatalizatorów *Rhizopus oryzae*, *Beauveria bassiana* oraz *Beauveria brongniartii* przy czym tylko zastosowanie *R. oryzae* okazało się korzystne, prowadziło jednak do otrzymania innych niż poprzednio produktów – tyrozolu i 1-fenyloetan-1,2-diolu.

Rozprawę kończą podsumowanie i wnioski. Doktorantka wykazała biegłość w zastosowanych technikach badawczych i umiejętność odpowiedniej interpretacji wyników. Rozprawa jest jasno napisana i Autorka podkreśliła w niej znaczenie przeprowadzonych badań.

Wyniki badan doktorantki zostały opublikowane w 5 pracach, dwie dalsze prace znajdują się w recenzji, ponadto co warte podkreślenia stały się przedmiotem trzech zgłoszeń patentowych, były też prezentowane na konferencjach.

Stwierdzam, że ta praca spełnia wszystkie ustawowe i zwyczajowe wymogi stawiane pracom doktorskim i wnioskuję o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie do publicznej obrony.

dyrektor