

Łódź, dn. 11 07 2020 r.

Prof. dr hab. inż. Elżbieta Łodyga-Chruścińska

Politechnika Łódzka

Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej

**mgr Bayarmaa Erdenebayar**

**p.t.: „Badanie kompleksów inkluzyjnych wybranych fungicydów z  $\alpha$ - i  $\beta$ -  
cyklodekstrynami”**

wykonanej w Zakładzie Chemii Biofizycznej Uniwersytetu Łódzkiego

Promotor pracy: prof. dr hab. Bartłomiej Pałecz.

W Zespole Prof. Bartłomieja Pałecza od wielu lat prowadzone są badania termodynamiczne mające na celu ustalenie wzajemnych oddziaływań naturalnych cyklodekstryn z różnymi substancjami biologicznie czynnymi, znajdującymi zastosowanie w żywności i rolnictwie.

Zostało to udokumentowane w licznych publikacjach w renomowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports.

## **1. Przedmiot i zakres pracy**

Grzyby są przyczyną wielu chorób grzybiczych roślin, powodując straty w produkcji rolnej na całym świecie. Roślinne grzyby chorobotwórcze współewoluowały ze swoimi roślinami żywicielskimi i rozwinęły niezwykle skuteczne mechanizmy wywoływania infekcji, aby rosnąć, rozmnażać się i rozprzestrzeniać na żywych roślinach. Większość z tych patogenów roślinnych ma wyjątkowy potencjał rozmnażania się w roślinie żywicielskiej. Biorąc pod uwagę rozpowszechnienie, wszechobecność i zdolność grzybów do wywoływania epidemii w stosunkowo krótkim czasie, potrzebne są strategie zarządzania chorobami, aby zapewnić produktywność w dzisiejszym rolnictwie. Środki kontroli chemicznej są szczególnie powszechne w zwalczaniu chorób grzybiczych roślin, a większość z tych środków opiera się na stosowaniu fungicydów. Działanie fungicydów w chemioterapii roślin

uzależnione jest od wielu czynników, z których najważniejsze to pobranie, translokacja i rozmieszczenie fungicydu w roślinie, wrażliwość patogenu na fungicyd, jak i zastosowana dawka lub stężenie. Fungicydy przyczyniły się do pewnych znaczących korzyści w ochronie roślin oraz w skutecznym i ekonomicznym zwalczaniu niektórych chorób grzybiczych roślin. Pewnym problemem jest toksyczne działanie na środowisko preparatów komercyjnych zawierających fungicydy, z uwagi na obecność toksycznych rozpuszczalników organicznych. Zwiększenie rozpuszczalności fungicydów poprzez zastosowanie nietoksycznych substancji chemicznych mogłoby stanowić rozwiązanie tego problemu. Stąd też doktorantka w swojej pracy podjęła próbę otrzymania mieszanin cyklodekstrynowych z niektórymi fungicydami.

Doktorantka za objekty do swoich badań wybrała pięć fungicydów, które stosowane są do ochrony roślin przed grzybami strzępkowymi. Postawiła sobie za główny cel dysertacji poznanie mechanizmów tworzenia kompleksów inkluzyjnych  $\alpha$ -cyklodekstryny ( $\alpha$ -CD) i  $\beta$ -cyklodekstryny ( $\beta$ -CD) (jako receptorów) z pięcioma fungicydami: 1,4-dichlorobenzenem (1,4-DCB), tiabendazolem (TBZ), karbendazymem (CBZ), 4-fenylofenolem (4-FF), 2-fenylofenolem (2-FF) (jako ligandy).

Wyznaczyła stechiometrię powstałych kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z fungicydami, ich stałe trwałości i stałe tworzenia oraz parametry termodynamiczne opisujące mechanizmy ich tworzenia: zmiany entalpii ( $\Delta H$ ), entropii ( $\Delta S$ ) jak również zmiany entalpii swobodnej ( $\Delta G$ ).

Praca ma charakter doświadczalny. Parametry termodynamiczne charakteryzujące oddziaływanie  $\alpha$ -cyklodekstryny i  $\beta$ -cyklodekstryny z fungicydami w roztworach wodnych, dimetyloformamidowych, dimelosulfonatlenkowych oraz wodno-etanolowych wyznaczyła przeprowadzając serie miareczkowań kalorymetrycznych w izotermicznym kalorymetrze do miareczkowań MicroCal VP-ITC oraz serie pomiarów za pomocą różnicowego kalorymetru skaningowego DSC.

Natomiast efekty energetyczne towarzyszące procesom rozpuszczania i kompleksowania w cyklodekstrynach oceniła dwoma metodami, statycznej spektrofotometrii i dynamicznej techniki miareczkowania kalorymetrycznego.

Całość rozprawy stanowią 5 rozdziałów obejmujących: wprowadzenie i cel badań, część teoretyczną, część doświadczalną i omówienie wyników oraz posumowanie, streszczenie, załączniki zawierające zestawienia wyników w formie tabel i rysunków oraz cytowaną literaturę.

Rozdział I stanowi wprowadzenie w problematykę pracy. Autorka krótko uzasadnia celowość podjętych przez nią badań.

Rozdział II to przegląd literatury dotyczący aktualnego stanu wiedzy o obiektach, które są przedmiotem badań doktorantki a więc ogólnych właściwościach fizykochemicznych wody, rozpuszczalników organicznych a mianowicie: etanolu, DMF i DMSO, cyklodekstryn oraz wybranych fungicydów.

W części doświadczalnej pracy omówiono aparaturę i metodykę pomiarów. W tym rozdziale zostało również zawarte teoretyczne uzasadnienie wyboru zastosowanych metod obliczeniowych i pomiarowych w wyznaczeniu efektów energetycznych towarzyszących tworzeniu się kompleksów inkluzyjnych w układach zawierających cyklodekstryny i fungicydy oraz ich stechiometrii jak i wartości stałych tworzenia. Wykorzystując technikę DSC doktorantka określiła rodzaj przemian fazowych zachodzących w badanych przez nią substancjach podczas ogrzewania.

W Rozdziale 4, decydującym w dużym stopniu o wartości pracy, przedstawiono wyniki i ich interpretację. W tym rozdziale zabrakło pewnej dyskusji w odniesieniu do najnowszych informacji naukowych w zakresie problematyki będącej przedmiotem niniejszej rozprawy.

Na zakończenie przedstawiono podsumowanie i wnioski wynikające z badań. Pracę zamyka dorobek naukowy doktorantki w tym trzy artykuły, dwa z listy JCR oraz jej udziały w 18 konferencjach.

## **2. Ocena merytoryczna pracy – uwagi ogólne**

Problematyka badawcza pracy doktorskiej mgr Bayarmaa'y Erdenebayar dotyczy termodynamicznej charakterystyki analizowanych kompleksów inkluzyjnych cyklodekstryn z wybranymi fungicydami oraz wyznaczenia ich stechiometrii i trwałości w warunkach procesu badawczego.

Analiza wyznaczonych parametrów termodynamicznych jest poparta dobrze udokumentowanym materiałem doświadczalnym.

Parametry termodynamiczne charakteryzujące oddziaływania pomiędzy fungicydami a  $\alpha$ -cyklodekstryną ( $\alpha$ -CD) wyznaczone zostały w oparciu o serie pomiarów miareczkowań kalorymetrycznych. Wartości zmian entalpii, entropii i swobodnej entalpii świadczą o samorzutnym przebiegu procesu inkludowania. Wyliczone stosunki stechiometryczne powstałych kompleksów pozwalają przypuszczać, że jedna makrocząsteczka cyklodekstryny inkluduje w hydrofobowej wnęce jedną grupę niepolarną cząsteczki fungicydu (liganda).

W przypadku 4- i 2-fenylofenolu istnieje duże prawdopodobieństwo, że druga cząsteczka  $\alpha$ -cyklodekstryny może przyłączyć grupę fenolową cząsteczki tych fungicydów.

Analizę wyników uzyskanych ze spektrofotometrycznych badań rozpuszczalności fungicydów w wodzie w obecności cyklodekstryn przeprowadzono w oparciu o metodę Higuchi-Connorsa. Wyznaczone zależności wskazują, że obecność  $\beta$ -cyklodekstryny podnosi rozpuszczalność karbendazymu i tiabendazolu w wodzie, obecność  $\alpha$ -cyklodekstryny podnosi rozpuszczalność 4- i 2-fenylofenolu

Z uwagi na trudności eksperymentalne doktorantka przeprowadziła badania DSC jedynie dla układów karbendazymu z  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstrynami. Przeprowadzona analiza otrzymanych termogramów potwierdziła zainkludowanie hydrofobowej cząsteczki karbendazymu we wnękach makromolekuł obu cyklodekstryn.

W pracy zabrakło, zaczerpniętych z literatury światowej, danych dotyczących kompleksów inkluzyjnych fungicydów z cyklodekstrynami.

Zagadnienie to stanowi ważny poznawczo cel badawczy, przede wszystkim z uwagi na fakt, że grzybobójcze preparaty komercyjne poprzez zastosowanie mieszaniny wodno – cyklodekstrynowych będą pozbawione toksycznych rozpuszczalników organicznych.

Z satysfakcją stwierdzam, że doktorantka zrealizowała postawione cele pracy, a uzyskane wyniki należy uznać za wkład w lepsze poznanie i zrozumienie specyfiki oddziaływań w jakich biorą udział fungicydy i cyklodekstryny.

Uważam, że zarówno cele pracy jak i sposoby ich realizacji oraz zakres pracy odpowiadają poziomowi pracy doktorskiej.

### **3. Ocena formalna pracy – uwagi szczegółowe i pytania do Doktorantki**

Układ pracy, wybór rysunków, wykresów i tabel oraz sposób w jaki zostały zrealizowane jest poprawny. Doktorantka doskonale wywiązała się z zadań badawczych, które przed nią stały. Praca napisana jest poprawną polszczyzną chociaż drobne błędy, literówki występują w kilku miejscach, np. str. 9: opryskiyw, preparatyw i wiele innych wyrazów, w których występuje litera „ó”.

Jednak nie uniknęła pewnych błędów i niedociągnięć związanych z analizą swoich wyników. Moje zastrzeżenia i pytania są następujące:

- W pracy zabrakło w cz. teoretycznej krótkiego rozdziału poświęconego informacjom dlaczego takie a nie inne fungicydy stanowiły obiekty do badań a w podsumowaniu powiązania charakteru hydrofobowo-hydrofilowego z tymi właściwościami.
- W Cz. Teoretycznej, rozdziale dotyczącym rozpuszczalników brak jest podsumowania dotyczącego wybranych do badań rozpuszczalników, tzn. jakie występują między nimi podobieństwa i różnice, jak mogą wpływać na właściwości fungicydów i cyklodekstryn jeśli stosowane są w mieszaninach.
- Jeżeli selektywność substratowa jest związana ze stereoselektywnością to jak można powiązać budowę przestrzenną badanych fungicydów z mechanizmem ich oddziaływań z cyklodekstrynami ?
- Czy rzeczywiście rozpuszczalniki DMF i DMSO są nietoksyczne? Od czego zależą takie ich właściwości
- Bardzo pozytywnie oceniam krytyczne podejście doktorantki do otrzymanych wyników badań. Stwierdziła między innymi, że niektóre wartości wyznaczonych funkcji termodynamicznych obarczone są dużym błędem, co uniemożliwiło racjonalną interpretację wyników. Szkoda tylko, że doktorantka nie podała, które to fungicydy i nie wyjaśniła jak ich struktura chemiczna może zaburzać proces inkluzji.

#### **4. Wniosek końcowy**

Opiniowana rozprawa doktorska mgr Bayarmaa Erdenebayar p.t.: „Badanie kompleksów inkluzyjnych wybranych fungicydów z  $\alpha$ - i  $\beta$ -cyklodekstrynami” stanowi oryginalne opracowanie złożonego zagadnienia i wnosi uzupełnienie wiedzy w zakresie mechanizmów towarzyszącym procesom inkluzji w cyklodekstrynach. Jednocześnie uzyskane wyniki mogą posłużyć do wykorzystania mieszanin wodno-dekstrynowych w grzybobójczych preparatach komercyjnych, w których wyeliminowane będą toksyczne rozpuszczalniki organiczne.

Doktorantka osiągnęła zamierzony cel, a sposób jego realizacji – pomimo uwag krytycznych, wskazuje na umiejętność prowadzenia prac badawczych i analizy wyników badań. Doktorantka wykazała się znajomością różnych technik badawczych oraz ogólną wiedzą w zakresie fizykochemii układów złożonych z fungicydów i cyklodekstryn. W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Bayarmaa Erdenebayar spełnia warunki określone w ustawie. o tytułach i stopniach naukowych i stawiam wniosek do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni

naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne o przyjęcie i dopuszczenie Autorki pracy do publicznej obrony.

*E. Łodyga-Chmielewska*