

dr Mariola Samsonowicz

Politechnika Białostocka

Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska

Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii

ul Wiejska 45A

15-351 Białystok

Załącznik 2A

do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

AUTOREFERAT

w języku polskim

Białystok, 2019

Spis treści

1. Dane osobowe.....	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	3
3. Doświadczenie zawodowe w tym informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora.....	4
5. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz.u. Nr 65, poz. 595 ze zm).....	5
5.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	5
5.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia.....	5
5.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	7
5.3.1. Wprowadzenie, motywacja podjętego tematu oraz cel naukowy.....	8
5.3.2. Omówienie wyników badań.....	10
5.3.3. Podsumowanie.....	20
5.3.4. Literatura.....	21
6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych.....	24
7. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego.....	29

1. DANE OSOBOWE:

Imię i nazwisko: Mariola Samsonowicz

Adres służbowy

Politechnika Białostocka
Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii
ul. Wiejska 45A
15 – 351 Białystok

e-mail: m.samsonowicz@pb.edu.pl

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:

- 07.1997** doktor nauk technicznych w dyscyplinie Inżynieria Środowiska;
Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska
- 10.1987** magister chemii;
Uniwersytet Warszawski, Filia w Białymstoku, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy

3. Doświadczenie zawodowe**Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

- 1997 – obecnie** adiunkt
Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Katedra Chemii/Zakład Chemii/Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii
- 1989 - 1997** asystent
Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Zakład Chemii

Inne doświadczenia zawodowe

- 01–30.09.2014** Baranovich State University, Faculty of Engineering, Department of Agricultural sciences, Belarus – staż naukowy. W ramach stażu realizowałam badania dotyczące odpadów z przemysłu spożywczego i ich potencjalnego wykorzystania jako: dodatków do biopaliw oraz źródła biologicznie aktywnych związków o właściwościach przeciwnadciśnieniowych.

- 22.10. – 31.12.
2013 Staż w przedsiębiorstwie „Dary Natury” w wymiarze 350 godzin w ramach Projektu – „Wsparcie współpracy kadr nauki i biznesu województwa podlaskiego”; projekt finansowany w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Kapitał Ludzki, Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki, Działanie 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw; Koryciny, woj. podlaskie.
- 17 – 21.06.**2012** Wizyta studyjna w Szwecji na zaproszenie Rady Regionalnej Południowej Smalandii oraz Agencji Energetycznej South East w ramach projektu „Razem Ciepłej” Rozwój Warmińsko – Mazurskiego Klastra Ciepłowniczego współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, Program operacyjny – Rozwój Polski Wschodniej; Oś priorytetowa I Nowoczesna gospodarka, Działanie I.4 Promocja i współpraca; celem wizyty było zapoznanie z technologiami energetycznymi wykorzystującymi OZE oraz systemami ciepłowniczymi opalanymi biomasą ze szczególnym uwzględnieniem ochrony środowiska.
- 10.01.**2011**
– 06.30.**2012.** Szkolenie podnoszące znajomość języka angielskiego w ramach projektu „Podniesienie potencjału uczelni wyższych jako czynnik rozwoju gospodarki opartej na wiedzy” finansowanego w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007-2013, Priorytet IV Szkolnictwo wyższe i nauka, Działanie 4.1 - Wzmocnienie i rozwój potencjału dydaktycznego uczelni oraz zwiększenie liczby absolwentów kierunków o kluczowym znaczeniu dla gospodarki opartej na wiedzy, Poddziałanie 4.1.1 - Wzmocnienie potencjału dydaktycznego uczelni.
- 31.01-11.02.
2011 Warsztaty szkoleniowe pt.: „Komercjalizacja Nauk Innowacyjnych”; projekt finansowany w ramach Europejskiego Funduszu społecznego; Program Operacyjny Kapitał Ludzki, Priorytet IV Szkolnictwo wyższe i nauka, Działanie 4.2 Rozwój kwalifikacji kadr systemu B+R i wzrost świadomości roli nauki w rozwoju gospodarczym; Guzowy Piec, woj. warmińsko-mazurskie.

4. Działalność naukowa (po uzyskaniu stopnia doktora)

- Autorstwo lub współautorstwo **32** publikacji z listy filadelfijskiej,
- Autorstwo lub współautorstwo **5** publikacji w czasopismach naukowych nieposiadających współczynnika IF,
- Autorstwo lub współautorstwo **13** rozdziałów w monografii,
- Autorstwo lub współautorstwo **5** publikacji w uczelnianych zeszytach naukowych
- Autorstwo **6** pełnych artykułów w materiałach konferencyjnych,

- Autorstwo lub współautorstwo **35** komunikatów na konferencjach międzynarodowych,
- Autorstwo lub współautorstwo **25** komunikatów na konferencjach krajowych,
- Uczestnictwo w **11** projektach badawczych (grantach MNiSW lub NCN), w tym kierownictwo w **1** projekcie,
- Recenzowanie prac w czasopismach z listy filadelfijskiej – **15**,
- Promotor w **16** pracach (inżynierskich i magisterskich).

Sumaryczny impact factor według Journal Citation Reports **IF= 56,12**

(zgodnie z rokiem publikowania)

Całkowita liczba cytowań według Web of Science - **217** (bez autocytowań)

Indeks Hirscha według bazy Web of Science – **10**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW przyznana za publikacje – **807,33**

5. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

5.1. Tytuł Osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cykl dziesięciu publikacji naukowych pod wspólnym tytułem:

„WPŁYW KATIONÓW METALI NA WŁAŚCIWOŚCI WYBRANYCH BIOAKTYWNYCH SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI”

5.2. Zestawienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

O1

Samsonowicz M., Regulska E., Kalinowska M., Hydroxyflavone metal complexes - molecular structure, antioxidant activity and biological effects, *Chemico – Biological Interaction*, 273 (2017) 245 – 256

IF₂₀₁₇=3,296, MNI_{SW}₂₀₁₇=30 pkt, liczba cytowań wg WoS = 7

- O2 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Spectroscopic study of molecular structure, antioxidant activity and biological effects of metal hydroxyflavonol complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173 (2017) 757-771.

IF₂₀₁₇=2,88, MNI_{SW}₂₀₁₇=30 pkt, liczba cytowań wg WoS = 15

- O3 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Karpowicz D., Leśniewska B., Antioxidant properties of coffee substitutes rich in polyphenols and minerals, *Food Chemistry*, 278 (2019) 101-109.

IF₂₀₁₈=4,946, MNI_{SW}₂₀₁₈ = 40 pkt, liczba cytowań wg WoS = 0

- O4 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Porównanie składu i właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów siewek jęczmienia i pszenicy, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 539 (2018) 63 – 72.

IF₂₀₁₈=0, MNI_{SW}₂₀₁₈=13 pkt, liczba cytowań wg WoS = 0

- O5 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Evaluation of influence of selected metal cations on antioxidant activity of extracts from savory (*Satureja hortensis*), *Chemical Papers*, 70(6) (2016) 811 - 819.

IF₂₀₁₆ =1,258, MNI_{SW}₂₀₁₆ = 20 pkt, liczba cytowań wg WoS= 2

- O6 **Samsonowicz M.**, Kalinowska M., Wpływ jonów Al³⁺ na aktywność antyrodnikową ekstraktów z wybranych roślin przyprawowych w układach modelowych, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 595 (2018) 103 – 112.

IF₂₀₁₈=0, MNI_{SW}₂₀₁₈=13 pkt, liczba cytowań wg WoS = 0

- O7 **Samsonowicz M.**, Kamińska I., Kalinowska M., Lewandowski W., Alkali metal salts of rutin – synthesis, spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV-VIS), antioxidant and antimicrobial studies, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151 (2015) 926–938.

IF₂₀₁₅=2,129, MNI_{SW}₂₀₁₅=30 pkt, liczba cytowań wg WoS = 13

- O8 **Samsonowicz M.**, Kowczyk-Sadowy M., Piekut J., Regulska E., Lewandowski W., Spectroscopic characteristic (FT-IR, FT-Raman, UV, ¹H and ¹³C NMR), theoretical calculations and biological activity of alkali metal homovanillates, *Journal of Molecular Structure*, 1109 (2016) 1-12.

IF₂₀₁₆=1,753, MNI_{SW}₂₀₁₆=20 pkt, liczba cytowań wg WoS = 1

- O9 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Kowczyk-Sadowy M., Butarewicz A., Lewandowski W., Study on antioxidant, antimicrobial and spectroscopic

properties of 3-hydroxyphenylacetic acid and its alkali metal salts. *Journal of Molecular Structure*, 1146 (2017) 755-765.

IF₂₀₁₇=2,011, MNiSW₂₀₁₇ = 20 pkt, liczba cytowań wg WoS=3

- O10 **Samsonowicz M.**, Regulska E., Świśłocka R., Butarewicz A. (2018). Molecular structure and microbiological activity of alkali metal 3,4-dihydroxyphenylacetates, *Journal of Saudi Chemical Society*, 22(8) (2018) 896 – 907.

IF₂₀₁₇=2,456, MNiSW₂₀₁₈=30 pkt, liczba cytowań wg WoS = 1

Łącznie

- Sumaryczny impact factor publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według listy Journal Citation Reports **IF= 20,729** (zgodnie z rokiem publikowania)
- Sumaryczna liczba punktów za publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego według listy czasopism MNiSW – **246** (zgodnie z rokiem opublikowania)

Oświadczenia współautorów dotyczące ich indywidualnego wkładu w powstanie publikacji znajdują się w Załączniku 5.

5.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Jako kierownik i główny wykonawca grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2011/01/B/NZ9/06830 (NZ-9 Naukowe podstawy żywienia i badania żywności) pod tytułem: „Badania fizykochemiczne wybranych polifenoli oraz ich kompleksów z metalami. Poszukiwanie nowych preparatów antyoksydacyjnych jako dodatków do żywności”, przeprowadziłam wnikliwe studia literaturowe oraz wykonałam prace badawcze dotyczące zależności pomiędzy strukturą a właściwościami biologicznymi (przeciwdrobnoustrojowymi, antyoksydacyjnymi) wybranych związków występujących w żywności pochodzenia roślinnego (w tym związków fenolowych), produktów ich biodegradacji oraz ich kompleksów/soli z jonami metali. Uzyskane rezultaty, opublikowałam w postaci cyklu prac (**O7**, A.2., A.2., A.3., A.6., B.1. – B.4., B.14., B.15.) oraz komunikatów na konferencjach krajowych i międzynarodowych (w tym na konferencji poświęconej żywności - ICSAF 2014: International Conference on Sustainable Global Agriculture and Food Security). Podobnej tematyki dotyczą badania realizowane przeze mnie (jako wykonawcy) w ramach pracy statutowej (**O2**, **O4 – O6**), a także grantów KBN w sekcji N 312: Nauki o żywności i żywieniu: „Badania nowych, bezpiecznych dla człowieka i środowiska naturalnego substancji przeciwdrobnoustrojowych oraz przeciwutleniających pochodzenia naturalnego. Zależność między strukturą molekularną a właściwościami biologicznymi” (grant nr N N312 427639, kierownik prof. Włodzimierz Lewandowski) i grantach NCN (Sekcja NZ_9 Naukowe podstawy żywienia i badania żywności):

„Badania wpływu wybranych metali na zmianę właściwości antyoksydacyjnych związków naturalnych występujących w produktach żywnościowych pochodzenia roślinnego” (grant NCN nr 2015/17/B/NZ9/03581, kierownik prof. Włodzimierz Lewandowski) oraz grantie „Badanie zależności między aktywnością przeciwdrobnoustrojową a prooksydacyjną ekstraktów z jabłek oraz wybranych roślinnych związków fenolowych i ich pochodnych” (grant nr 2013/11/D/NZ9/02774, kierownik dr Monika Kalinowska). Badania, w których uczestniczyłam w ramach tych grantów zostały opublikowane w kilku artykułach naukowych (**O1, O3, O10**, A.8., A.9.).

5.3.1. Wprowadzenie, motywacja podjętego tematu oraz cel naukowy

WPROWADZENIE

W ostatnich latach w wielu krajach dużo uwagi poświęca się problemowi bezpieczeństwa żywności. Krytyka dotycząca nadmiernej chemizacji żywności powoduje, że w przemyśle spożywczym dąży się do uzyskania produktów bezpiecznych i trwałych, a równocześnie smacznych i posiadających wysokie wartości odżywcze, ale także wpływających pozytywnie na organizm człowieka (żywność funkcjonalna). Pociąga to za sobą konieczność poszukiwania nowych substancji, przede wszystkim pochodzenia naturalnego (zwłaszcza roślinnego) wykazujących działanie hamujące rozwój drobnoustrojów w żywności lub/i przeciwdziałające jej utlenieniu oraz zmniejszające ilość wolnych rodników. Badania prowadzone na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat wykazały, iż jednym z kluczowych czynników ryzyka tzw. chorób cywilizacyjnych (nowotwory, cukrzyca, choroby serca, schorzenia neurodegeneracyjne) jest stres oksydacyjny, który jest wynikiem braku równowagi pomiędzy działaniem reaktywnych form tlenu, a możliwością ich usuwania przez organizm. Stres oksydacyjny prowadzi między innymi do utlenienia białek, lipidów i kwasów nukleinowych skutkującego modyfikacjami struktury i zaburzeniami ich funkcji. Zagrożenie związane z występowaniem chorób cywilizacyjnych powoduje wzrost zainteresowania (a) nowymi preparatami prozdrowotnymi (tzw. nutraceutykami), zawierającymi związki fenolowe, (b) metodami zwiększania aktywności biologicznej, w tym antyoksydacyjnej składników żywności, które mogłyby być stosowane na różnych etapach produkcji żywności.

Jak wynika z prac przeglądowych (**O1, O2**) wchodzących w skład prezentowanego **Osiągnięcia** naukowego związki fenolowe są ważną grupą roślinnych metabolitów wtórnych o udokumentowanych właściwościach biologicznych takich jak: aktywność przeciwutleniająca, przeciwdrobnoustrojowa, przeciwnowotworowa, przeciwzapalna, przeciwalergiczna i wiele innych. Polifenole zapobiegają chorobom układu sercowo - naczyniowego oraz przewodu pokarmowego. Wnikliwa analiza dostępnych danych literaturowych pozwoliła na stwierdzenie, że połączenia kompleksowe związków pochodzenia roślinnego, np. flawonoidów czy kwasów fenolowych z jonami metali wykazują również podobne właściwości antyoksydacyjne czy antybakteryjne jak same wyjściowe związki, a w niektórych przypadkach

nawet wyższe [1-6, **07**]. Wpływ jonów metali na właściwości antyoksydacyjne zależy od typu związku fenolowego (ligandu), obecności w jego strukturze określonych grup atomów (np. ugrupowania o-dihydroksy w strukturze pierścienia B flawonoidów), parametrów fizykochemicznych danego jonu metalu (np. ładunku jonu metalu, jego liczby koordynacyjnej) [**01**, **02**, 7,8]. Matale mogą wpływać na właściwości antyoksydacyjne ligandu np. poprzez zmianę potencjału redox ligandu [9], zmianę kinetyki i termodynamiki reakcji z wolnym rodnikiem, zmniejszenie możliwości udziału kompleksu (ligand – metal) w reakcjach związanych z przeniesieniem atomu wodoru na cząsteczkę rodnika. Jony metali mogą również wpływać na biodostępność związków fenolowych [10].

Zastosowanie związków fenolowych jako potencjalnych konserwantów, dezynfektantów czy antyoksydantów jest często ograniczone ich niską rozpuszczalnością w wodzie i słabą biodostępnością. Dlatego podjęłam się próby otrzymania syntetycznych pochodnych (soli/kompleksów) kwasów hydroksyfenolooctowych i rutyny (będących składnikami żywności pochodzenia roślinnego) o wyższej aktywności biologicznej i lepszej rozpuszczalności w wodzie.

Proces wdrażania nowych substancji jako dodatków do żywności musi być poprzedzony odpowiednimi badaniami, określającymi stabilność, reaktywność, czy też energię cząsteczki oraz wyjaśniającymi mechanizm ich działania. Przy czym szczególną uwagę należy zwrócić na budowę molekularną cząsteczki i zmiany następujące w jej strukturze (przede wszystkim w rozkładzie ładunku elektronowego) pod wpływem różnego typu podstawników czy też kationów metali. Konsekwencją tych zmian może być uzyskanie przez cząsteczkę określonych właściwości biologicznych.

Wiele ośrodków naukowych zajmuje się wyjaśnieniem mechanizmów działania związków chemicznych dodawanych do żywności, ale również tych, które są w niej obecne. Jest to bardzo złożony problem, który wymaga zastosowania skomplikowanych, komplementarnych metod, a także obliczeń teoretycznych wspomagających wnioskowanie na podstawie wyników doświadczeń z pogranicza różnych dziedzin. Uzyskane podczas takich badań dane mają zarówno cel poznawczy jak i aplikacyjny, który wiąże się z możliwością projektowania nowych, lepszych substancji, które: a) przedłużają trwałość produktów spożywczych, b) pozytywnie oddziałują na organizm człowieka (żywność funkcjonalna, suplementy diety). Badania te wpisują się w szeroko pojęte Nauki o żywności (Food Science), do których należy również technologia żywności. Jest to dziedzina, w której nauki chemiczne, biologiczne, fizyczne i inżynierskie wykorzystuje się do studiowania natury żywności i jej przemian.

W związku z powyższym hipoteza badawcza prac wchodzących w skład osiągnięcia brzmi następująco:

Obecność jonów metali wpływa na zmianę właściwości biologicznych (w tym antyoksydacyjnych i przeciwdrobnoustrojowych) związków fenolowych pochodzenia roślinnego, a przez to na możliwość ich zastosowania jako potencjalnych dodatków do żywności, tj. konserwantów czy antyoksydantów.

Cykl badań przedstawiony jako **Osiągnięcie** naukowe składa się z następujących głównych wątków:

1. Charakterystyka nowych substytutów kawy jako źródła składników kształtujących ich właściwości prozdrowotne.
2. Określenie zależności pomiędzy zawartością jonów metali i związków fenolowych w wybranych substytutach kawy i suplementach diety a ich właściwościami przeciwutleniającymi.
3. Określenie wpływu jonów metali dodawanych do ekstraktów roślin przyprawowych, traktowanych jako układy modelowe na ich właściwości antyoksydacyjne.
4. Ocena zmian w strukturze wybranych związków fenolowych będących składnikami żywności pochodzenia roślinnego pod wpływem jonów metali.
5. Ocena właściwości biologicznych nowo zsintezowanych soli ligandów pochodzenia roślinnego z jonami metali alkalicznych w celu określenia możliwości ich zastosowania jako potencjalnych związków o charakterze antyoksydantów/ konserwantów.

5.3.2. Omówienie wyników badań

1. Charakterystyka nowych substytutów kawy jako źródła składników decydujących o prozdrowotnych właściwościach żywności.

Kawa jest jednym z najczęściej spożywanych napojów na świecie ze względu na smak, aromat i właściwości pobudzające [11,12]. Oprócz pozytywnych aspektów konsumpcji kawy istnieje wiele niepokojących negatywnych skutków picia kawy, tj. ryzyko podwyższonego ciśnienia krwi, hipercholesterolemii czy zwiększenie ryzyka różnych nowotworów. Dlatego też poszukuje się nowych alternatywnych substytutów kawy bogatych w związki bioaktywne i przyjemny smak. Firma „Dary Natury” w Korycinach (w której w roku 2013 odbyłam staż w ramach Projektu – „Wsparcie współpracy kadr nauki i biznesu województwa podlaskiego”) jest producentem nowych substytutów kawy posiadających certyfikat żywności ekologicznej: kawa żółdziowa, kawa żółdziowa z dodatkiem żeń-szenia, kawa z topinamburu, kawa orkiszowa i kawa ziołowo-zbożowa. Kawy te poddano analizie, której wyniki przedstawiono w publikacji **O3**.

W ekstraktach wodnych (napojach kawowych) z ww. substytutów kaw, przygotowanych według przepisu producenta, oznaczano całkowitą zawartość związków fenolowych (TPC), flawonoidów (TFC) oraz kwasów fenolowych (PCA). Analizowano również zawartość związków fenolowych (kwasy fenolowe, flawonoidy) oraz wybranych składników mineralnych). Ocena potencjału przeciwutleniającego została dokonana w oparciu o zdolność do neutralizacji stabilnych rodników DPPH, kationorodników ABTS, rodników hydroksylowych oraz potencjał redukcyjny oznaczony metodą FRAP.

Do badań właściwości antyoksydacyjnych badanych napojów kawowych wybrano układy modelowe, w których stosuje się stabilne rodniki dodawane do tych układów lub w nich wytwarzane. Szczególnie istotne są badania, w których wykorzystuje się rodnik hydroksylowy ($\text{OH}^\cdot$). Rodnik ten może powodować uszkodzenie praktycznie wszystkich typów makrocząsteczek wchodzących w skład organizmu (węglowodany, białka, kwasy nukleinowe, lipidy). Z powodu bardzo krótkiego okresu półtrwania *in vivo* rodniki hydroksylowe są bardziej niebezpieczne dla organizmu w porównaniu z innymi wolnymi rodnikami [13]. Rodnik hydroksylowy może być generowany w wyniku przemian enzymatycznych, jak i nieenzymatycznych.

Analizowane substytuty kawy różniły się zarówno jakościowym i ilościowym składem polifenoli, co wynika przede wszystkim z właściwości podstawowych surowców, z których zostały wyprodukowane. Napoje kawowe różniły się statystycznie istotnie pod względem całkowitej zawartości związków fenolowych i kwasów fenolowych, które maleją w szeregu: kawa żółdziowa > żółdziowa z żeń-szeniem > z topinamburu > ziołowo-zbożowa > orkiszowa. Natomiast w przypadku całkowitej zawartości flawonoidów szereg ten prezentuje się następująco: kawa żółdziowa > żółdziowa z żeń-szeniem > ziołowo-zbożowa > z topinamburu > orkiszowa. W badaniach wykazano, że analizowane substytuty kawy zawierają związki, które wykazują wielokierunkowe działania antyoksydacyjne: zdolność do neutralizacji rodników DPPH, ABTS i hydroksylowych oraz zdolności redukcyjne. Najwyższą aktywnością wobec wszystkich analizowanych rodników wykazywały napoje kawowe sporządzone z żółdzi i żółdzi z dodatkiem żeń-szenia, nieco niższą aktywnością charakteryzowały się te sporządzone z topinamburu. W przypadku kaw żółdziowych, za ich silne właściwości antyoksydacyjne odpowiadają przede wszystkim kwasy fenolowe: galusowy, elagowy i chlorogenowy. Dominującymi kwasami w kawie z topinamburu są kwasy: galusowy, o-kumarowy, chlorogenowy, 4-hydroksyfenylooctowy. Kawy zbożowe (orkiszowa i ziołowo-zbożowa) zawierały większe ilości kwasu chlorogenowego, nieco mniejsze kwasu 4-hydroksyfenylooctowego, rozmarynowego i o-kumarowego. Natomiast w kawie ziołowo-zbożowej występowały również duże ilości flawonoidów: kwercetyna i apigenin. Napoje kawowe otrzymane z żółdzi wykazywały się również najwyższym potencjałem redukcyjnym oznaczanym metodą FRAP, o 70 – 90% wyższym niż inne analizowane napoje z substytutów kawy. O sile redukcji decydowała całkowita zawartość związków fenolowych ($r=0,95$), kwasów fenolowych (PCA) ($r=0,94$) oraz kwasu galusowego ($r=0,96$).

Uzyskane wyniki wskazują, że wszystkie badane substytuty kawy są bogate w magnez, którego najwyższa zawartość występuje w kawie ziołowo-zbożowej i orkiszowej (około 1400 mg/kg), najniższa w kawie żółdziowej (272 mg/kg). Żelazo jest drugim pierwiastkiem pod względem ilości (spośród wszystkich analizowanych) w każdej kawie. Najwyższą zawartość Fe obserwuje się w kawie z topinamburu (366 mg/kg), najniższą w kawie orkiszowej (około 59 mg/kg). Zawartość Na we wszystkich kawach kształtowała się w granicach od około 15 do 146 mg/kg, najmniej odnotowano w przypadku kawy orkiszowej. Kawa ziołowo-zbożowa i z topinamburu zawierają, w stosunku do innych kaw, stosunkowo dużą ilość Al, około 100 mg/kg. Substytuty kawy ziołowo-zbożowej i orkiszowej zawierają około 55 mg/kg cynku, natomiast w przypadku innych kaw stężenie Zn jest co najmniej o 50% niższe. Wszystkie badane substytuty kawy zawierają podobne ilości Mn oraz Cu (za wyjątkiem kawy z topinamburu, która zawierała miedzi dwukrotnie więcej). Poza tym we wszystkich substytutach kawy stwierdzono śladowe ilości Ni, Cr i Co.

2. Określenie zależności pomiędzy zawartością jonów metali i związków fenolowych w wybranych substytutach kawy i suplementach diety a ich właściwościami przeciwutleniającymi.

Tematem dwóch prac (**O3** i **O4**) wchodzących w skład **Osiągnięcia** jest analiza zależności pomiędzy zawartością metali i związków polifenolowych a właściwościami przeciwutleniającymi wybranych ekstraktów roślinnych. W pracach tych badania przeprowadzono na ekstraktach z substytutów kawy oraz na ekstraktach z siewek jęczmienia i siewek pszenicy, które stanowią suplementy diety.

Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że właściwości antyoksydacyjne substytutów kawy wykazują silną korelację zarówno z całkowitą zawartością związków fenolowych (TPC) i kwasów fenolowych (PAC), jak również z zawartością kwasu galusowego i chlorogenowego. Szczególnie wysokie korelacje uzyskano pomiędzy zdolnością do redukcji oznaczoną metodą FRAP a zawartością kwasu galusowego ($r = 0,935$) oraz wartościami TPC w analizowanych napojach kawowych ($r=0,952$). Wykazano, że substytuty kawy zawierające mniejsze ilości metali charakteryzują się wyższymi właściwościami antyoksydacyjnymi niezależnie od użytego w badaniach rodnika. Np. zwiększenie zawartości magnezu w substytutach kawy spowodowało spadek wartości TPC i PAC, a także zawartości kwasu galusowego. Prawdopodobnym powodem takiej sytuacji może być diskutowany, w kilku pracach, wpływ metali na zmniejszenie biodostępności niektórych związków fenolowych, np. Mg wykazywał w niektórych badaniach negatywny wpływ na biodostępność karotenoidów [10]. Z drugiej strony magnez, tworząc dobrze rozpuszczalne połączenia z niektórymi związkami fenolowymi, może powodować wzrost biodostępności tych związków [14].

Jak wykazały badania (**O3**), jony metali mogą wywierać istotny wpływ na właściwości przeciwutleniające napojów otrzymywanych z substytutów kawy. Wykazano ujemną korelację pomiędzy zawartością jonów magnezu w substytutach kawy a ich zdolnością do neutralizacji

rodników OH[•] ($r=-0,90$), kationorodników ABTS ($r=-0,46$), potencjałem redukcyjnym ($r=-0,56$) i stężeniem kwasu galusowego ($r=-0,86$). Obecność jonów cynku zwiększa ich zdolność do neutralizacji rodników DPPH, natomiast zmniejsza zdolność do neutralizacji kationorodnika ABTS. Zauważono również, że kationy Al³⁺ zmniejszają właściwości przeciwutleniające badanych napojów.

Stwierdzono, istotną statystycznie, umiarkowaną dodatnią korelację pomiędzy zawartością Cu i Mn w analizowanych substytutach kawy. Korelacja ta może być ważna dla zdrowia ludzi, ponieważ są to pierwiastki będące składnikami endogennych przeciwutleniaczy takich jak dysmutaza ponadutlenkowa, zaangażowanych w antyoksydacyjny system obronny organizmów [15]. W przypadku ekstraktów wodnych i etanolowych siewek pszenicznych oraz jęczmiennych (**04**) również obserwowano taką korelację dla Cu i Mn ($r=0,87$), a także Cu i Zn ($r=0,93$).

Kontynuując temat wpływu jonów metali na właściwości przeciwutleniające wybranych ekstraktów roślinnych zainteresowałam się siewkami jęczmienia i pszenicy o udokumentowanych zdolnościach do neutralizacji wolnych rodników. Siewki jęczmienia i pszenicy (tzw. młody jęczmień i młoda pszenica) cieszą się obecnie dużym zainteresowaniem jako suplementy diety [16-18]. W różnych badaniach stwierdzono, że młody jęczmień (*Hordeum vulgare* L.) zawiera duże ilości glukozy, fruktozy, kwasu asparaginowego, glutaminowego, askorbinowego i ferulowego a całkowita zawartość polifenoli w jego ekstraktach wynosi według różnych źródeł od 0,9 – 36 g/kg_{s.m.} [19,20]. Głównymi przeciwutleniaczami w liściach jęczmienia są flawonoidy (głównie kwercytyna i kemferol, **04**), które mają silną zdolność wychwytywania wolnych rodników [21] oraz kwasy fenolowe (hydroksypochodne kwasu benzoowego, cynamonowego i fenylooctowego) (**04**). W badaniach przedstawionych w publikacji **04** wykazano, że te same związki fenolowe występują również w siewkach pszenicznych, ale w mniejszych ilościach, np. w siewkach jęczmienia stwierdzono dużą zawartość kwasu chlorogenowego, którego ilość jest 8-krotnie większa niż w siewkach pszenicy. Określono właściwości przeciwutleniające ekstraktów wodnych i etanolowych z obydwu siewek metodą z zastosowaniem rodnika DPPH i potencjał redukcyjny metodą FRAP, a także zdolność do chelatowania jonów Fe(II). Oznaczono również zawartość wybranych jonów metali zarówno w suchym surowcu jak i w ekstraktach wodnych i etanolowych. Wykazano dodatnią średnią korelację (statystycznie istotną) pomiędzy zawartością kwasu galusowego ($r=0,72$), kawowego ($r=0,70$) i chlorogenowego ($r=0,68$) a zdolnością do chelatowania jonów żelaza(II) oraz do neutralizacji rodnika DPPH. Siła redukcji ekstraktów zależała od użytego rozpuszczalnika i malała w następującym szeregu: ekstrakt etanolowy siewek jęczmiennych > ekstrakt wodny siewek jęczmiennych > ekstrakt etanolowy siewek pszenicznych > ekstrakt wodny siewek pszenicznych.

Wykazano również umiarkowaną dodatnią korelację, istotną statystycznie, pomiędzy właściwościami antyrodnikowymi ekstraktów a zawartością jonów Zn ($r=0,56$) oraz ujemne umiarkowane korelacje pomiędzy zawartością jonów Mn ($-0,72$), Mg ($-0,58$) i Fe ($r=0,70$) a

potencjałem redukcyjnym ekstraktów mierzonym metodą FRAP. Podobny wpływ jonów cynku obserwowano w przypadku substytutów kawy.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane ekstrakty oraz substytuty kawy zawierające mniejsze ilości (ogółem) jonów metali charakteryzowały się niższymi właściwościami przeciwutleniającymi.

3. Określenie wpływu jonów metali dodawanych do ekstraktów roślin przyprawowych, traktowanych jako układy modelowe na ich właściwości antyoksydacyjne.

Z przeprowadzonych badań wynika, że jony Mg, Al i Zn mogą w różny sposób wpływać na właściwości antyoksydacyjne ekstraktów roślinnych. Jony metali wybrane do badań: cynk, wapń, magnez pełnią ważną rolę w różnych systemach biologicznych. Natomiast glin jest metalem, który uważany jest za toksyczny, może mieć on kontakt z żywnością poprzez naczynia do przygotowania potraw, czy opakowanie (np. puszki z napojami). W związku z tym przeprowadzono badania mające na celu ustalenie czy i w jakich stężeniach jony magnezu, glinu, cynku, a także wapnia mogą powodować wzrost/spadek właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów roślinnych. W tym celu do analizowanych ekstraktów dodawano, w różnych stężeniach, jony badanych metali w postaci chlorków. W badaniach zastosowano ekstrakty (z użyciem różnych rozpuszczalników) roślin przyprawowych o udokumentowanych właściwościach antyoksydacyjnych [B.1., B.2., B.4., 22, 23], powszechnie konsumowane: cząber (*Satureja hortensis*), tymianek (*Thymus vulgaris*), oregano (*Origanum vulgare*) i bazylia (*Ocimum basilicum* L.), pochodzące z upraw ekologicznych. Badane rośliny przyprawowe zawierają zarówno kwasy fenolowe (kwas rozmarynowy, kwas kawowy, chlorogenowy, kumarowy) jak i flawonoidy, np. apigeninę, luteolinę czy mirycetynę [B.2.].

Do badań właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów oraz ich mieszanin z jonami metali zastosowano metodę z wykorzystaniem rodnika DPPH. Zarejestrowano również widma w zakresie widzialnym ekstraktów cząbrku (**05**), tymianku, bazylii i oregano [B.3.] oraz ich mieszanin z solami metali. Wykazano, że dodatek kationów Al^{3+} , Zn^{2+} i Mg^{2+} powodował zmianę położenia maksimum absorpcji w widmach UV ekstraktów, co może świadczyć o zachodzących reakcjach kationów metali ze składnikami ekstraktu. Kationy metali mogą tworzyć kompleksy ze związkami fenolowymi obecnymi w materiale roślinnym lub mogą aktywować niektóre z grup funkcyjnych, a tym samym mogą zmieniać aktywność przeciwutleniającą ekstraktów.

Jak wynika z przeprowadzonych badań, obecność analizowanych jonów metali w ekstraktach w różny sposób wpływa na ich aktywność przeciwutleniającą, która zależy zarówno od zawartości ekstraktów w próbach, od rodzaju rozpuszczalnika, jak i od stężenia dodawanych soli metalu. Stwierdzono, że obecność jonów Zn^{2+} powoduje wzrost aktywności antyrodnikowej badanych ekstraktów, natomiast dodatek kationów Ca^{2+} i Mg^{2+} wzrost

właściwości antyoksydacyjnych acetonowych i alkoholowych ekstraktów cząbr, natomiast spadek w przypadku ekstraktów wodnych.

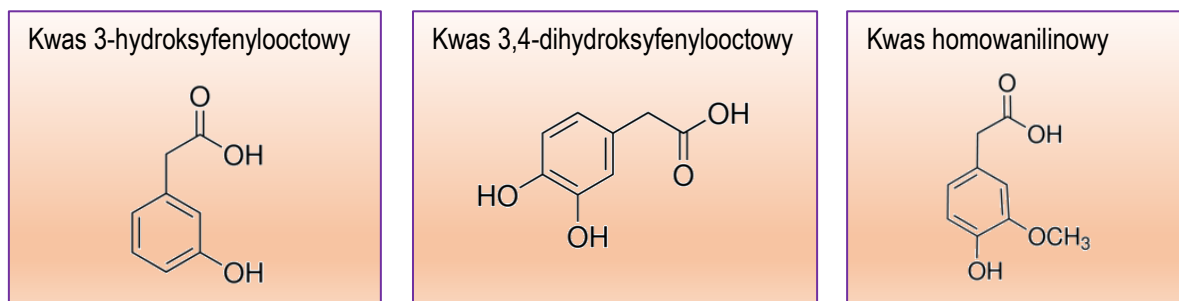
W publikacji **O6** wykazano, że dodatek jonów glinu do ekstraktów roślin przyprawowych powoduje zróżnicowane zmiany w ich aktywności antyutleniającej, zależne od: rodzaju ekstraktu i rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji, stężenia ekstraktu jak i stężenia dodanych jonów metalu. Jony Al^{3+} obecne w ekstraktach w niższych stężeniach powodowały spadek, a w wyższych wzrost aktywności antyrodnikowej ekstraktów oznaczanych metodą z zastosowaniem stabilnego rodnika DPPH (za wyjątkiem wodno-etanolowego ekstraktu z bazylii). Jony Al^{3+} o stężeniu 0,025 oraz 0,05 $mol \cdot dm^{-3}$ powodowały wzrost wartości EC_{50} (stężenie antyutleniacza powodujące 50% spadek ilości wolnych rodników) badanych ekstraktów, natomiast o stężeniu 0,125 $mol \cdot dm^{-3}$ spadek wartości EC_{50} . Przeprowadzona dodatkowo analiza skupień pozwoliła na dokonanie podziału wszystkich analizowanych ekstraktów na trzy grupy ze względu na zmiany wartości EC_{50} spowodowane obecnością dodanych jonów metalu.

Badania określające wpływ dodatku niektórych kationów do ekstraktów roślinnych na ich aktywność antyoksydacyjną mogą być przydatne w projektowaniu tzw. żywności wzbogaconej. Wprowadzanie określonych istotnych makro lub mikroelementów o określonym stężeniu może powodować również wzrost właściwości przeciwutleniających żywności pochodzenia roślinnego.

4. Ocena zmian w strukturze wybranych związków fenolowych będących składnikami żywności pochodzenia roślinnego pod wpływem jonów metali.

Wybór związków

Do badań wybrano rutynę jako przykład flawonolu, oraz pochodne kwasu fenylooctowego: kwas 3-hydroksyfenylooctowy, kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy, kwas 4-hydroxy-3-metoksyfenylooctowy (kwas homowanilinowy).

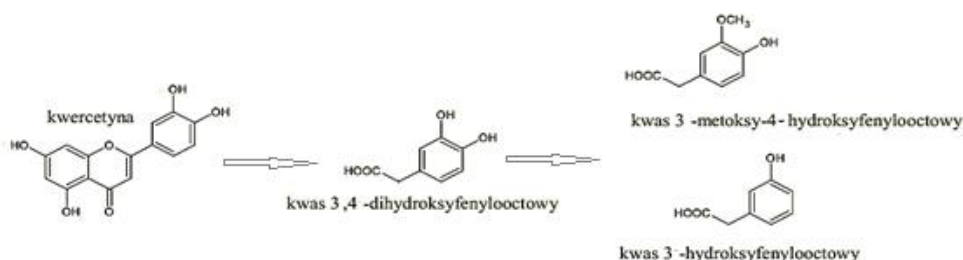


Obecność kwasu 3-hydroksy-fenylooctowego potwierdzono w liściach z czarnego bzu, skórkach i mięszu jabłek [24,25]. Obecność kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego została stwierdzona w substytutach kawy: kawie ziołowo-zbożowej oraz kawie orkiszowej (O3), natomiast w ekstraktach siewek jęczmiennych i pszenicznych (O4) zidentyfikowano małe ilości

kwasu 3-hydroksy-fenylooctowego. W związku z tym dalsze badania zostały przeprowadzone na tej grupie kwasów fenolowych, uzupełniając ją o kwas homowanilinowy, który w porównaniu z ww. kwasami zawiera dodatkową grupę funkcyjną: metoksy-. Obecność tego kwasu stwierdzono w piwie [26], miodach i miodach ziołowych oraz oliwie z oliwek [27,28].

Wymienione kwasy są produktami biodegradacji flawonoidów (np. rutyny i kwercetyny) oraz metabolitami przemian polifenoli pod wpływem działania jelitowej flory bakteryjnej [29]. Flawonole ulegają degradacji do kwasu fenylooctowego i kwasów hydroksyfenylooctowych (np. kwercetyna i rutyna), natomiast flawony i flawanony degradują się do kwasu hydroksyfenylopropionowego [30].

Na poniższym rysunku przedstawiono prawdopodobny szlak transformacji kwercetyny i rutyny przez bakterie jelitowe (opracowano na podstawie [30]).



Z dokonanego przeglądu literatury wynika, że często produkty przemian polifenoli są łatwiej przyswajalne niż one same [31]. Metabolity fenolowe mogą mieć różne właściwości fizjologiczne, które mogą odpowiadać za wiele biologicznych właściwości polifenoli obecnych w diecie [32]. Badania Jaganath i innych [33] wykazały, że w niektórych przypadkach, przeciwutleniające właściwości metabolitów bakteryjnych okazały się być wyższe niż związków macierzystych. Przykładowo kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy i 4-hydroksyfenylooctowy, w badaniach z zastosowaniem rodnika ABTS wykazywały większą aktywność antyoksydacyjną niż ich związki macierzyste.

Wybór metali do badań

W wielu pracach dotyczących wpływu jonów metali na strukturę związków biologicznie aktywnych oraz zmiany w ich właściwościach biologicznych stosuje się metale pierwszej grupy układu okresowego [34, 35]. Taki dobór metali do badań pozwala na śledzenie zmian w rozkładzie ładunku elektronowego badanych związków, w zależności od poszczególnych parametrów metali w logicznych seriach: $\text{Li} \rightarrow \text{Na} \rightarrow \text{K} \rightarrow \text{Rb} \rightarrow \text{Cs}$, (promień ulega systematycznej zmianie w serii, stopień utlenienia jest stały, a wiele parametrów charakteryzujących metale zmienia się w sposób systematyczny). Poza tym sole tych metali są łatwo rozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalnikach polarnych (co zwiększa ich szanse na praktyczne zastosowanie), łatwe do otrzymania i stabilne. Ta grupa metali została również wybrana ze względu na łatwość syntezy ich soli.

W celu oceny wpływu kationów metali na właściwości fizykochemiczne oraz rozkład ładunku elektronowego w ligandach i otrzymanych solach/kompleksach zastosowano badania spektroskopowe z wykorzystaniem kilku komplementarnych metod: absorpcyjną spektrofotometrię cząsteczkową (UV/Vis), spektroskopię w podczerwieni (FT-IR), spektroskopię ramanowską (FT-Raman), spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H , ^{13}C NMR). Stosowano również metody obliczeniowe z wykorzystaniem programu Gaussian 09W, wspomagające wnioskowanie oraz dostarczające wiele danych dotyczących aktywności związku. Zastosowanie różnych uzupełniających się technik badawczych pozwoliło na przeprowadzenie precyzyjnej i pełnej charakterystyki badanych połączeń. Dopiero zastosowanie kilku komplementarnych metod daje pełny obraz zmian zachodzących w cząsteczce związku bioaktywnego pod wpływem jonów metali.

Stwierdzono, że utworzenie soli kwasów hydroksyfenylooctowych z jonami metali alkalicznych powoduje znaczące zmiany w ich strukturze molekularnej. Największe zmiany parametrów geometrycznych (długości wiązań, wielkości kątów w cząsteczce), ładunków atomowych oraz przesunięcia pasm w widm FT-IR, FT-Raman dotyczą fragmentów cząsteczki, które bezpośrednio oddziałują z kationami metalu (tj. grupa karboksylowa oraz podstawniki przy pierścieniu aromatycznym: hydroksylowy $-\text{OH}$, metoksylowy $-\text{OCH}_3$). W widmach w podczerwieni (FT-IR) i ramanowskich (FT-Raman) soli i kompleksów z metalami istnieją widoczne przesunięcia niektórych pasm pochodzących od drgań pierścienia aromatycznego w porównaniu z odpowiednimi pasmami w widmach kwasów. Powszechnie wiadomo, że przesunięcia pasm drgań rozciągających w kierunku niższych liczb falowych w kompleksach metali w porównaniu do odpowiadających im pasm w widmie ligandu spowodowane jest spadkiem sił wiązań i spadkiem gęstości ładunku elektronowego wokół oscylujących atomów. Przeprowadzona analiza statystyczna wskazuje na istnienie zależności pomiędzy wartościami liczb falowych niektórych pasm obecnych w solach badanych ligandów a takimi parametrami metali jak: masa atomowa, elektroujemność, powinowactwo elektronowe, potencjał jonowy. Dla soli metali alkalicznych z kwasem homowanilinowym najlepsze współczynniki korelacji uzyskano dla zależności pomiędzy liczbami falowymi pasm a elektroujemnością, powinowactwem elektronowym i odwrotnością masy atomowej.

O zaburzeniach w strukturze ligandu zachodzących pod wpływem przyłączonego metalu świadczą również przesunięcia sygnałów w widmach ^1H i ^{13}C NMR w kierunku mniejszych wartości przesunięć chemicznych. W widmach zarówno protonowych jak i węglowych wszystkich analizowanych kwasów większość sygnałów zostało przesuniętych w stronę niższych wartości przesunięć chemicznych (σ).

Obliczenia z zastosowaniem programu Gaussian 09W ułatwiały interpretację wyników oraz analizę rozkładu ładunków w cząsteczkach ligandów, pozwalały na analizę nawet niewielkich zmian w strukturze ligandu. Otrzymano dobre korelacje pomiędzy danymi eksperymentalnymi a teoretycznymi dla większości badanych związków. Świadczy to o dobrym wyborze stosowanych parametrów obliczeniowych. Analizując parametry geometryczne (długość wiązań i wielkość kątów) zarówno ligandów jak i ich połączeń z

metalami alkalicznymi zaobserwowano systematyczne zmiany w szeregu kwas $\rightarrow$ sole Li $\rightarrow$ Na $\rightarrow$ K $\rightarrow$ Rb $\rightarrow$ Cs.

Jednym z parametrów charakteryzujących aktywność biologiczną i reaktywność cząsteczki jest różnica energii pomiędzy najwyższym obsadzonym orbitalem molekularnym (tzw. orbital HOMO) i najniższym nieobsadzonym orbitalem (LUMO). Energię orbitali HOMO i LUMO obliczono z zastosowaniem programu Gaussian 09W. Im mniejsza różnica energii pomiędzy tymi orbitalami, tym związek jest bardziej aktywny, jego cząsteczki są bardziej spolaryzowane. Wartość różnicy energii pomiędzy orbitalami HOMO i LUMO dla rutyny i jej połączeń z metalami alkalicznymi wskazuje na możliwy wzrost reaktywności i aktywności biologicznej soli w porównaniu z wolnym ligandem. Różnice pomiędzy orbitalami HOMO-LUMO wynoszą 3.627, 3.573, 3.563 i 3.536 eV odpowiednio dla rutyny i jej soli z litem, sodem i potasem. W przypadku połączeń kwasu homowanilinowego z tymi samymi metalami otrzymano odwrotną zależność. Na podstawie wartości omawianego parametru stwierdzono, że kwas homowanilinowy powinien charakteryzować się większą aktywnością biologiczną niż kwas 3-hydroksyfenylooctowy i 3,4-dihydroksyfenylooctowy, a sole sodowe wymienionych kwasów, powinny być bardziej reaktywne niż same kwasy.

Parametry uzyskane w badaniach spektroskopowych zostały skorelowane z aktywnością mikrobiologiczną ligandów.

5. Ocena właściwości biologicznych nowo zsyntezowanych soli ligandów pochodzenia roślinnego z jonami metali alkalicznych w celu określenia możliwości ich zastosowania jako potencjalnych związków o charakterze antyoksydantów/konserwantów.

Kolejnym etapem badań było określenie aktywności antyoksydacyjnej oraz przeciwdrobnoustrojowej wybranych kwasów hydroksyfenylooctowych, rutyny oraz ich soli z jonami sodu i potasu. Wyniki z tych badań przedstawiono w publikacjach **O7 – O10**.

Stwierdzono, że kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy wykazuje większą aktywność przeciwdrobnoustrojową w stosunku do rodników DPPH, posiada też większą zdolność do redukcji jonów żelaza(II) niż jego sole z metalami alkalicznymi. W przypadku rutyny, tylko sól z rubidem wykazuje wyższą zdolność do neutralizacji rodników DPPH i wyższą siłę redukcji niż sam ligand (rutyna).

Do badań potencjału przeciwdrobnoustrojowego rutyny (**O7**) i kwasów 3-hydroksy- i 3,4-dihydroksyfenylooctowego (**O9, O10**) wybrano sole sodowe i potasowe ze względu na fakt, że tradycyjne środki konserwujące stosowane w przetwórstwie żywności to właśnie sole sodowe i potasowe (azotan(V) sodu, benzoian sodu, sorbinian potasu, mleczan sodu). W przypadku kwasu homowanilinowego (**O8**) zastosowano wszystkie sole z metalami alkalicznymi (Li, Na, K, Rb, Cs).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa badanych związków oceniana była przy pomocy testów mikrobiologicznych na wybranych szczepach bakterii: *Pseudomonas aeruginosa*, (ATCC 27853) *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 10031), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) (rutyna, kwasy 3-hydroksyfenylooctowy i 3,4-dihydroksyfenylooctowy, homowanilinowy i ich sole), a także *Staphylococcus aureus* (PCM 2267) i grzybach *Candida albicans* (PCM 2021) (kwas homowanilinowy i jego sole).

Wykazano, że rutyna wykazuje silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* i *Bacillus subtilis* po 48 godzinach inkubacji (stopień zahamowania wzrostu > 90%). Wzrost *E. coli* był hamowany przez rutynę w mniejszym stopniu niż w przypadku wyżej wymienionych mikroorganizmów (stopień zahamowania wzrostu po 24 godzinach: 71%, 48 h: 61%). Sól sodowa rutyny wykazuje nieco niższe (ale również silne) właściwości przeciwdrobnoustrojowe w porównaniu do rutyny w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa* (inhibicja wzrostu na poziomie 82%) i *Bacillus subtilis* (inhibicja wzrostu na poziomie 96%) po 48 godz. inkubacji. Choć rutyna w badaniach wykazywała wyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową niż sól sodowa, to z punktu widzenia praktycznego zastosowania, największe nadzieje rokuje jednak lepiej rozpuszczalna sól sodowa.

Wykazano, że wszystkie badane kwasy wykazują większą efektywność w hamowaniu wzrostu mikroorganizmów niż ich sole. Najbardziej aktywny w stosunku do badanych drobnoustrojów, po 24 godzinnej inkubacji okazał się kwas 3-hydroksyfenylooctowy w stosunku do wszystkich analizowanych szczepów bakterii, stopień hamowania wzrostu bakterii kształtował się na poziomie 90 – 98%. Wartości te wzrosły po wydłużeniu czasu inkubacji do 48 godz. Kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy okazał się mniej skuteczny w hamowaniu wzrostu *Bacillus subtilis* (66%) i *Klebsiella oxytoca* (71%), natomiast w przypadku *E. coli* obserwowano działanie hamujące w 94%. Aktywność przeciwdrobnoustrojową tego kwasu w stosunku do bakterii Gram-ujemnych (np. *E. coli*) można wytłumaczyć przez jego wpływ na stabilność i przepuszczalność unikalnej błony zewnętrznej (OM). Aktywność przeciwdrobnoustrojowa kwasu opiera się po części na usuwaniu dwuwartościowych kationów stabilizujących OM, co zostało wykazane w pracach Alakomi i in. w badaniach z wykorzystaniem kilku szczepów *Salmonelli* [36]. Natomiast Cueva i in. wykazali słabe działanie kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego w odniesieniu do *Staphylococcus aureus* (EP167) (efekt hamujący na poziomie 34%)[37].

Wydłużenie czasu kontaktu tego kwasu z badanymi mikroorganizmami do 48 godz. powodowało wzrost właściwości bakteriobójczych (w przypadku *E. coli* obserwowano niewielki spadek). Kwas homowanilinowy stymulował wzrost większości analizowanych mikroorganizmów, tylko w przypadku *Bacillus subtilis* i *Candida albicans* obserwowano zahamowanie wzrostu, odpowiednio na poziomie 44% i 50% przy czasie inkubacji – 24 godz.

Wykazano, że analizowane sole sodowe i potasowe posiadają mniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe niż kwasy. Generalnie 3-hydroksyfenylooctany w większym stopniu hamowały wzrost bakterii niż sole innych kwasów. Stopień zahamowania wzrostu

drobnoustrojów po 24 godz. inkubacji był na poziomie 44 – 87% w przypadku soli sodowej tego kwasu i na poziomie 55 – 94% w przypadku soli potasowej. Oba związki najslabiej działały wobec *E. coli* i *Klebsiella oxytoca*.

W przypadku soli kwasu homowanilinowego, sól sodowa wykazywała bardzo silne działanie stymulujące po 24 i 48-godzinnej inkubacji w stosunku do prawie wszystkich badanych drobnoustrojów (z wyjątkiem *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa* po 48 godz. Inkubacji). Podczas, gdy sole litu, potasu, rubidu i cezu wykazywały słabe działanie hamujące przeciwko prawie wszystkim testowanym szczepom bakterii po 48-godzinnej inkubacji. W przypadku *Candida albicans* wszystkie sole oprócz soli sodowej hamowały jego wzrost po 24 godzinach inkubacji. W przypadku innych badanych bakterii stwierdzono słabe właściwości bakteriobójcze soli kwasu homowanilinowego po 24 godzinach inkubacji.

W badaniach opisanych w publikacjach **O8**, **O9** i **O10** wyznaczono zależności pomiędzy hamowaniem / stymulacją wzrostu mikroorganizmów pod wpływem badanych kwasów i ich soli a parametrami spektroskopowymi wynikającymi z widm w podczerwieni FT-IR tych kwasów. W oparciu o dane spektroskopowe (wartości liczb falowych w widmach FT-IR analizowanych związków) oraz parametry określające ich przeciwbakteryjną aktywność przeprowadzono analizę składowych głównych. W przypadku *Candida albicans* najsilniejszą korelację stwierdzono pomiędzy aktywnością biologiczną a położeniem pasm (widmo IR) pochodzących od drgań asymetrycznych anionu karboksylanowego i grupy metylowej. Natomiast w przypadku *Bacillus subtilis* silniejszy był związek pomiędzy położeniem pasm pochodzących od drgań asymetrycznych grupy $-OCH_3$. W przypadku soli kwasu homowanilinowego istotne korelacje, poza wymienionymi, wykazano również pomiędzy stopniem zaburzeń wzrostu *Bacillus subtilis* a położeniem pasm przypisanym niektórym drganiom pierścienia aromatycznego.

5.3.3. Podsumowanie

Wskazane jako **Osiągnięcie** prace mają zarówno charakter poznawczy jak i aplikacyjny

Główne osiągnięcia to:

-  Charakterystyka właściwości antyoksydacyjnych oraz składu nowych substytutów kawy.
-  Wykazanie, że dodatek jonów metali w pewnych stężeniach do ekstraktów roślinnych może powodować wzrost właściwości antyoksydacyjnych, co może być wskazówką do opracowania nowych preparatów o właściwościach prozdrowotnych (wprowadzane byłyby do organizmu nie tylko związki fenolowe, ale także biopierwiastki).
-  Określenie właściwości antyoksydacyjnych szeregu nowych związków chemicznych. Analizowane sole kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego wykazywały wprawdzie niższe właściwości antyoksydacyjne, ale ich lepsza rozpuszczalność w wodzie stwarza możliwość praktycznego ich zastosowania jako potencjalnych antyoksydantów.

- ✚ Określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych szeregu nowych związków chemicznych (sole kwasów hydroksyfenylooctowych i rutyny), co stwarza możliwość praktycznego ich zastosowania jako potencjalnych konserwantów. Wśród substancji o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych największe nadzieje rokują sole kwasu 3-hydroksyfenylooctowego (sól sodowa i potasowa) w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa*.
- ✚ Określenie wpływu jonów metali na właściwości antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe badanych związków fenolowych.
- ✚ Uzyskanie szeregu danych spektroskopowych, obliczeniowych oraz parametrów określających aktywność biologiczną.

Uzyskane wyniki dostarczają nowej oraz pogłębiają już istniejącą wiedzę

5.3.4. Literatura

1. R. Ravichandran, M. Rajendran, D. Devapiriam, Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method, Food Chem. 146 (2014) 472–478.
2. G. Dehghan, Z. Khoshkam, Tin(II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity, Food Chem. 131 (2012) 422–426.
3. S. Roy, S. Mallick, T. Chakraborty, N. Ghosh, A.K. Singh, S. Manna, et al., Synthesis, characterisation and antioxidant activity of luteolin–vanadium(II) complex, Food Chem. 173 (2015) 1172–1178.
4. M. Kopacz, E. Woznicka, J. Gruszecka, Antibacterial activity of morin and its complexes with La(III), Gd(III) and Lu(III) ions, Acta Pol. Pharm. 62 (2005) 65–67,
5. Q.K. Panhwar, S. Memon, Synthesis and evaluation of antioxidant and antibacterial properties of morin complexes, J. Coord. Chem. 64 (2011) 2117–2129.
6. A.F. Santos, D.F. Brotto, L.R.V. Favarin, N.A. Cabeza, G.R. Andrade, M. Batistote, et al., Study of the antimicrobial activity of metal complexes and their ligands through bioassays applied to plant extracts, Rev. Bras. Farmacogn. 24 (2014) 309–315.
7. G.V. Ferrari, M. Paulina Montaña, F.C.D. Dimarco, N.B. Debattista, N.B. Pappano, W.A. Massad, N.A. García, A comparative photochemical study on the behavior of 3,3'-dihydroxyflavone and its complex with La(III) as generators and quenchers of reactive oxygen species, J. Photochem. Photobiol. B, 124 (2013), 42-49.
8. M. Říha, J. Karlíčková, T. Filipský, K. Macáková, L. Rocha, P. Bovicelli, I.P. Silvestri, L. Saso, L. Jahodář, R. Hrdina, P. Mladěnka, In vitro evaluation of copper-chelating properties of flavonoids, RSC Adv., 4 (2014), 32628-32638,
9. J. Ezzati, Nazhad Dolatabadi, A. Mokhtarzadeh, M. Seyed Ghareghoran, Gholamreza Dehghan, Synthesis, characterization and antioxidant property of quercetin-Tb(III) complex, Adv Pharm Bull., 4(2) (2014) 101–104, doi:10.5681/apb.2014.016.
10. J. Corte-Real, C. Desmarchelier, P. Borel, E. Richling, L. Hoffmann, T. Bohn, Magnesium affects spinach carotenoid bioaccessibility in vitro depending on intestinal bile and pancreatic enzyme concentrations. Food chemistry, 239, (2018) 751-759.

11. P. Górnaś, K. Dwiecki, A. Siger, J. Tomaszewska Gras, M. Michalak, K. Polewski, Contribution of phenolic acids isolated from green and roasted boiled type coffee brews to total coffee antioxidant capacity. *European Food Research and Technology*, 242, (2016) 641-653.
12. M. Oliveira, S. Casal, S. Morais, C. Alves, F. Dias, S. Ramos, E. Mendes, C. Delerue-Matos, P.P. Oliveira, Intra- and interspecific mineral composition variability of commercial instant coffees and coffee substitutes: Contribution to mineral intake. *Food Chemistry*, 130, (2012) 702-709.
13. L. Tabrizi, D.Q. Dao, T.A. Vu, Experimental and theoretical evaluation on the antioxidant activity of a copper (II) complex based on lidocaine and ibuprofen amide-phenanthroline agents, *RSC Adv.*, 9 (2019) 3320-3335.
14. T. Bohn, Magnesium Absorption in Humans, [doctoral dissertation]. Zurich: Swiss, Federal School of Technology Zurich; 2003.
15. M. Jeszka-Skowron, E. Stanisz, M. Paz De Peña, Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee, *LWT-Food Science and Technology*, 73 (2016) 243-250.
16. H. Kim, H.D. Hong, K.S. Shin, Structure elucidation of an immunostimulatory arabinoxylan-typepolysaccharide prepared from young barley leaves (*Hordeum vulgare* L.). *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 282–293.,
17. S. Žilić, Phenolic Compounds of Wheat. Their Content, Antioxidant Capacity and Bioaccessibility, *MOJ Food Process Technol.* 2(3) (2016): 00037.,
18. Kawka K., Lemieszek M.K., 2017. Prozdrowotne właściwości młodego jęczmienia. *MONZ* 23, 7-12.].
19. I. Paulickova, J. Ehrenbergerova, V. Fiedlerova, D. Gabrovska, P. Havlova, M. Holasova, J. Kopacek, J. Ouhrabkova, J. Pinkrova, J. Rysova, K. Vaculova and, R. Winterova, Evaluation of Barley Grass as a Potential Source of Some Nutritional Substances, *Czech J. Food Sci.* 25, (2007) 65–72.
20. A. Czerwinka, K. Kawka, K. Cykier, M.K. Lemieszek, W. Rzeski, Evaluation of anticancer activity of water and juice extracts of young *Hordeum vulgare* in human cancer cell lines HT-29 and A549. *Ann. Agr. Env. Med.* 24 (2017) 345–349.
21. D. Brauch, A. Porzel, E. Schumann, K. Pillen, H.P. Mock, Changes in isovitexin-O-glycosylation during the development of young barley plants, *Phytochemistry* 148 (2018) 11-20.
22. E. Hać-Szymańczuk, A. Cegiełka, E. Lipińska, S. Czapska, Analiza składu chemicznego i aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów wodnych z wybranych roślin przyprawowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 582 (2015) 3-11.
23. Z. Ashraf, A. Muhammad, M. Imran, A. Tareq, In vitro antibacterial and antifungal activity of methanol, chloroform and aqueous extracts of *Origanum vulgare* and their comparative analysis. *Int. J. Org. Chem.* 1 (2011) 257-261.)
24. G.T.T. Ho, E.T. Kase, H. Wangenstein, H. Barsett, Effect of phenolic compounds, from elderflowers on glucose- and fatty acid uptake in human myotubes and HepG2-cells, *Molecules* 22(90) (2017) 1-15.
25. J. Lee, B. Lee, S. Chan, A.E. Mitchell, Identification/quantification of free and bound phenolic acids in peel and pulp of apples (*Malus domestica*) using high resolution mass spectrometry (HRMS), *Food Chem.* 215 (2017) 301-310.
26. L. Montanari, G. Perretti, F. Natella, A. Guidi, P. Fantozzi, Organic and phenolic acids in beer, *LWT - Food Science and Technology*, 32 (1999) 535-539.

27. V.A. Isidorov, R. Bagan, S. Bakier, I. Swiecicka, Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herbhoney, *Food Chem.*, 171, 2015 84-88;
28. N. Kalogeropoulos, A. Mylona, A. Chiou, M.S. Ioannou, N.K. Andrikopoulos Retention and distribution of natural antioxidants (alpha-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. *LWT - Food Science and Technology* 40, 2007, 1008-1017.
29. A. Amić, Z. Marković, J.M. Dimitrić Marković, S. Jeremić, B. Lučić, D. Amić, Free radical scavenging and COX-2 inhibition by simple colon metabolites of polyphenols: a theoretical approach, *Comput. Biol. Chem.* 65 (2016) 45-53.
30. A. Duda-Chodak, T. Tarko, P. Satora, P. Sroka, Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review, *Eur J Nutr*, 54(3) 2015 325-41.
31. S. Sadeghi Ekbatan, L. Sleno, K. Sabally, J. Khairallah, B. Azadi, L. Rodes, S. Prakash, D.J. Donnelly, S. Kubow, Biotransformation of polyphenols in a dynamic multistage gastrointestinal model, *Food Chem.*, 204, 2016, 453-462.
32. T. Tarko, A. Duda-Chodak, N. Zajac, Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by in vitro simulation methods. A review, *Rocz Panstw Zakl Hig*, 64(2) (2013), 79–84.
33. I.B. Jaganath, W. Mullen, M.E. Lean, C.A. Edwards, A. Crozier In vitro catabolism of rutin by human fecal bacteria and the antioxidant capacity of its catabolites, *Free Radical Biology & Medicine*, 47(8), 2009 1180–1189.
34. M. Kalinowska, J. Piekut, W. Lewandowski, Relationship between chemical structure and biological activity of alkali metal o-, m- and p-anisates. FT-IR and microbiological studies, *Spectrochim. Acta Part A*, 85, 2011, 432-436.
35. M. Kalinowska, R. Świsłocka, M. Borawska, J. Piekut, W. Lewandowski, Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV) and microbiological studies of di-substituted benzoates of alkali metals, *Spectrochim. Acta Part A*, 70(1) (2008) 126 -135.
36. H.L. Alakomi, R. Puupponen-Pimia, A.M. Aura, I.M. Helander, L. Nohynek, K.M. Oksman-Caldentey, M. Saarela, Weakening of Salmonella with selected microbial metabolites of berry-derived phenolic compounds and organic acids, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 3905–3912.
37. C. Cueva, M.V. Moreno-Arribas, P.J. Martí'n-Alvarez, G. Bills, M.F. Vicente, A. Basilio, C.L. Rivas, T. Requena, J.M. Rodriguez, B. Bartolome, Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria, *Res. Microbiol.* 161 (2010) 372–382.

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

W 1987 roku obroniłam pracę magisterską na temat „Oznaczanie wapnia i magnezu w materiale biologicznym metodą atomowej spektroskopii absorpcyjnej” na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym Uniwersytetu Warszawskiego Filii w Białymstoku, której promotorem był prof. dr hab. Adam Hulanicki.

Po rozpoczęciu pracy w Politechnice Białostockiej rozpoczęłam badania pod kierunkiem Prof. dr hab. Haliny Sikorskiej - Tomickiej, dotyczące związków biologicznie aktywnych tzw. tiozwiązków, o dość szerokim i różnorodnym zastosowaniu między innymi w medycynie jako leki o działaniu cytostatycznym (6-tiopuryna), tuberkulostatycznym (etionamid), uspokajającym i nasennym (kwas barbiturowy). Konsekwencją tych badań było sprecyzowanie tematu i obrona pracy doktorskiej na temat: „Wpływ tioamidów na wybrane wskaźniki sumarycznych zanieczyszczeń wód i ścieków oraz próby ich biodegradacji”.

Podstawowym celem mojej rozprawy doktorskiej było opracowanie czułych, szybkich i prostych metod do oznaczania wybranych tioamidów w wodach i ściekach, w tym: w płynach poprodukcyjnych [B.29., B.31., B.33., B.34.]. Zbadałam możliwości biodegradacji badanych związków ze ścieków metodą osadu czynnego oraz określiłam ich wpływ na jego biocenozę wodną [B.25. – B.28.]. Stwierdziłam, że tiozwiązki, zawarte w ściekach (w stężeniu powyżej 5mg/dm³), przy krótkich czasach napowietrzania powodują drastyczne zmiany w składzie i strukturze osadu czynnego. Badania nad toksycznością ostrą badanych związków w stosunku do wybranych organizmów wskaźnikowych: *Daphnia magna*, *Pseudomonas fluorescens*, larwy ochotki *Chironomus* doprowadziły do potwierdzenia wpływu tiozwiązków na biocenozę osadu czynnego. Stwierdziłam, że etionamid jest związkiem średnio toksycznym w stosunku do badanego szczepu bakterii *Pseudomonas fluorescens*. Pozostałe dwa przebadane tioamidy okazały się słabo toksyczne. W stosunku do innych zastosowanych organizmów (*Daphnia magna* i larwy ochotki) wszystkie przebadane związki są słabo toksyczne.

Po przejściu Pani Prof. dr hab. Haliny Sikorskiej-Tomickiej na emeryturę kierownictwo Katedry Chemii objął Prof. dr hab. Włodzimierz Lewandowski. Jako członek Jego zespołu brałam udział w badaniach dotyczących (a) struktury ważnych biologicznie ligandów oraz określenia zmian w strukturze cząsteczki ligandu spowodowanych miejscem i rodzajem podstawnika oraz przyłączonym jonem metalu [A.24.], (b) fizykochemicznych i spektroskopowych badań związków biologicznie aktywnych, głównie pochodnych kwasu benzoowego pod kątem ich przydatności w ochronie środowiska w medycynie i przemyśle spożywczym jako potencjalnych dezynfektantów i konserwantów [A.9. – A.17., A.19., A.21 – A.23].

Badania polegały na:

- a) syntezie oraz określeniu struktury nowych soli/kompleksów kwasu nikotynowego, izonikotynowego oraz pochodnych kwasu benzoowego: kwasu aminobenzoowego i nitrobenzoowego, z zastosowaniem kilku komplementarnych metod spektroskopowych (FT-IR, NMR, FT-Raman, UV-VIS)

- b) ocenie wpływu rodzaju podstawników, ich ilości oraz miejsca podstawienia w pierścieniu aromatycznym na zaburzenia układu elektronowego kwasu benzooesowego.
- c) analizie wpływu podstawionego metalu na właściwości fizykochemiczne ligandu oraz rozkład ładunku elektronowego

W pracy **A.24.** zbadano zależność pomiędzy podstawowymi parametrami charakteryzującymi metale (np. potencjał jonowy, elektroujemność, masa atomowa) a rozkładem ładunku atomowego w cząsteczce kwasu nikotynowego i izonikotynowego, które różnią się miejscem atomu azotu w pierścieniu aromatycznym. Kwas nikotynowy jest ważnym biologicznie ligandem, jego amid jest prekursorem NAD i NADP, wchodzi w skład enzymów z klasy oksyreduktaz, natomiast kwas izonikotynowy jest czynnikiem aktywnym niektórych leków. Do badań została wybrana logiczna seria metali: $\text{Li} \rightarrow \text{Na} \rightarrow \text{K} \rightarrow \text{Rb} \rightarrow \text{Cs}$ (taki sam stopień utlenienia, ale maleje potencjał jonowy, rośnie promień atomu i masa kationu w serii). W pracy analizowano zmiany parametrów spektralnych ligandu będące wynikiem wpływu metalu, bądź zmiany położenia atomu azotu w pierścieniu aromatycznym związku. Wszystkie badane metale zaburzały rozkład ładunku atomowego w cząsteczce ligandu. Analiza statystyczna potwierdziła, że zaburzenie rozkład ładunku elektronowego zależy od właściwości metalu, a najsilniej od potencjału jonowego metalu. Zmiana położenia azotu w pierścieniu aromatycznym powoduje znaczące zmiany w strukturze anionu karboksylanowego. Badania wykonano w ramach grantu KBN nr 6 PO6T 085 21 – „Badanie wpływu wybranych pochodnych kwasu benzooesowego na rozwój niektórych grup drobnoustrojów występujących w produktach spożywczych”, w którym byłam wykonawcą. Dzięki uczestnictwie w ww. grantie mogłam udoskonalić swoje dotychczasowe umiejętności badawcze, zapoznałam się z nowymi metodami analizy spektroskopowej, które mogłam wykorzystać realizując własne zainteresowania naukowe.

Tematyka poszukiwania nowych związków o właściwościach biologicznych była realizowana w kilku innych grantach, których również byłam wykonawcą:

1. Fizykochemiczne (spektroskopowe i strukturalne) badania wybranych kwasów karboksylowych pochodzenia naturalnego oraz ich kompleksów i soli z metalami. Poszukiwania nowych związków przeciwdrobnoustrojowych mających zastosowanie w technologii żywności, medycynie i ochronie środowiska - grant nr N N305 267534, okres realizacji: 2008 – 2010; kierownik: prof. Włodzimierz Lewandowski,
2. Badanie właściwości fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych pochodnych wybranych aromatycznych kwasów karboksylowych. Poszukiwanie nowych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych w farmacji, medycynie oraz produkcji żywności - wykonawca grantu nr 2 PO5F 024 28, okres realizacji: 2005-2008, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku; kierownik: prof. Maria Borawska,
3. Poszukiwanie nowych środków dezynfekujących i konserwujących oraz sprawdzenie skuteczności działania wybranych dezynfektantów w ochronie środowiska - główny

wykonawca grantu nr 3 T09D 025 27, okres realizacji: 2004-2007; kierownik: prof. Włodzimierz Lewandowski,

4. oraz w kilku pracach statutowych i własnych pracowników Katedry Chemii, Biologii i Biotechnologii: S/IIŚ/24/04, S/IIŚ/21/07, W/IIŚ/31/03, W/IIŚ/36/06.

Motywacją do tych badań były następujące fakty: wzrastająca odporność drobnoustrojów na obecnie stosowane dezynfektanty czy konserwanty żywności oraz coraz częściej występujące reakcje alergiczne i stany chorobowe związane z kontaktem z ww. substancjami.

W trakcie realizacji wyżej wymienionych grantów przeprowadzono kompleksowe badania z zastosowaniem wielu komplementarnych metod spektroskopowych oraz teoretycznych obliczeń kwantowo-mechanicznych dotyczących wpływu struktury molekularnej ligandów będących pochodnymi kwasu benzoowego i ich połączeń z metalami oraz rozkładu ładunku elektronowego w cząsteczce na ich aktywność biologiczną. Analizowano również wpływ metali (podstawionych w miejsce kationu wodoru grupy karboksylowej) oraz ilości i rodzaju podstawników oraz miejsca ich podstawienia w pierścieniu aromatycznym na rozkład ładunku elektronowego ligandu organicznego.

W ww. grantach zajmowałam się, wraz z zespołem badawczym, do którego należałam, badaniami kwasu amino- i nitrobenzoowych oraz ich soli z metalami alkalicznymi. Zastosowane metale stanowiły logiczną serię $\text{Li} \rightarrow \text{Na} \rightarrow \text{K} \rightarrow \text{Rb} \rightarrow \text{Cs}$, o zmieniających się (wzrastających lub malejących) wraz z masą atomową parametrach jak np. potencjał jonowy, czy elektroujemność. Wybierając te pierwiastki do badań kierowano się również takimi aspektami jak mała szkodliwość dla ludzi i środowiska naturalnego, czy możliwością praktycznego zastosowania (związki tych metali są dobrze rozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalnikach polarnych). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że pozycja podstawnika wpływa na rozkład ładunku elektronowego w cząsteczkach analizowanych kwasów oraz ich soli. Obserwowano wzrost zaburzenia układu elektronowego w szeregu $m \rightarrow p \rightarrow o$ – podstawionych kwasów karboksylowych. Metale alkaliczne również wpływają na układ aromatyczny analizowanych kwasów, ale wpływ pozycji grupy zarówno nitrowej jak i aminowej jest jednak silniejszy. Najbardziej wyraźny wpływ kationów metali był obserwowany w przypadku izomeru orto kwasu aminobenzoowego oraz meta kwasu nitrobenzoowego.

Wyniki tych badań były prezentowane na wielu konferencjach krajowych i międzynarodowych oraz publikowane w czasopismach z bazy JCR [**A.9. – A.17., A.19., A.21 – A.23**] oraz jako rozdziały w monografiach [**B.17., B.18.**].

W następnych latach uczestniczyłam jako wykonawca w realizacji czterech grantów:

1. Badanie zależności między strukturą molekularną a właściwościami mikrobiologicznymi wybranych związków pochodzenia naturalnego oraz ich syntetycznych analogów. Opracowanie nowych preparatów przeciwbakteryjnych. – grant nr N N312 111838, okres realizacji: 2010-2013, kierownik dr hab. Renata Świśłocka, Politechnika Białostocka.

2. Nowe bezpieczne dla człowieka i środowiska naturalnego substancje przeciwdrobnoustrojowe uzyskane z ekstraktów jabłek odmian Gold Milenium i Melfree. Badania fizykochemiczne i mikrobiologiczne. – grant nr N N305 38 4538, okres realizacji: 2010-2013, kierownik dr Monika Kalinowska, Politechnika Białostocka
3. Badania nowych, bezpiecznych dla człowieka i środowiska naturalnego substancji przeciwdrobnoustrojowych oraz przeciwutleniających pochodzenia naturalnego. Zależność między strukturą molekularną a właściwościami biologicznymi. – grant nr N N312 427639, okres realizacji: 2010-2013, kierownik Prof. Włodzimierz Lewandowski, Politechnika Białostocka.
4. Badanie zależności między aktywnością przeciwdrobnoustrojową a prooksydacyjną ekstraktów z jabłek oraz wybranych roślinnych związków fenolowych i ich pochodnych. – gran NCN nr 2013/11/D/NZ9/02774, okres realizacji: 2014-2017, kierownik dr Monika Kalinowska, Politechnika Białostocka. W ramach realizacji tego grantu powstały publikacje: **O1** i **O10**.
5. Badania wpływu wybranych metali na zmianę właściwości antyoksydacyjnych związków naturalnych występujących w produktach żywnościowych pochodzenia roślinnego”, grant NCN nr 2015/17/B/NZ9/03581, okres realizacji: 2015 – 2018, kierownik prof. W. Lewandowski, W wyniku realizacji tego grantu powstała publikacja **O3**.

Granty te dotyczyły innej grupy związków aktywnych biologicznie pochodzenia naturalnego – fenolokwasów. Należą do nich pochodne kwasów: benzoesowego, fenylooctowego i cynamonowego, różniące się liczbą atomów węgla w łańcuchu bocznym pierścienia benzenowego. Fenolokwasy wykazują bardzo zróżnicowaną aktywność biologiczną w organizmie ludzkim. Zaliczane są do naturalnych składników żywnościowych o charakterze antyoksydantów. Aktywność antyoksydacyjna tych związków polega m.in. na neutralizacji reaktywnych form tlenu, blokowaniu wolnych rodników, hamowaniu enzymów biorących udział w reakcjach utlenienia (z grupy oksydaz) oraz na chelatowaniu różnych jonów metali. Posiadają one również szereg udokumentowanych właściwości przeciwdrobnoustrojowych, wykazują działanie bakteriostatyczne, bakteriobójcze lub grzybobójcze.

Uzyskane podczas realizacji grantów doświadczenie naukowe oraz zdobyta gruntowna wiedza pozwoliły mi na wypracowanie własnego warsztatu badawczego i zainteresowanie się kwasami hydroksyfenylooctowymi, czego wynikiem było kierownictwo projektem badawczym: „Badania fizykochemiczne wybranych polifenoli oraz ich kompleksów z kationami metali. Poszukiwanie nowych preparatów antyoksydacyjnych jako dodatków do żywności” (grant NCN nr 2011/01/B/NZ9/06830). W tym projekcie badawczym realizowałam interesującą mnie tematykę dotyczącą wpływu metali na rozkład ładunku elektronowego w cząsteczce badanych ligandów, którymi są pochodne kwasu fenylooctowego oraz flawonoidy występujące w ziołach i roślinach przyprawowych oraz na ich właściwości przeciwutleniające a także zdolność do neutralizacji wolnych rodników.

W ramach projektu:

1. zbadano właściwości fizykochemiczne, spektroskopowe, przeciwutleniające oraz mikrobiologiczne pojedynczych związków fenolowych (kwas galusowy, homowanilinowy, fenylooctowy, rutyna) oraz ich soli i kompleksów z metalami, a także ekstraktów uzyskanych z wybranych roślin przyprawowych. Związki te różnią się rodzajem i ilością grup funkcyjnych. W trakcie badań fizykochemicznych uzyskano wiele danych na drodze obliczeń kwantowo-mechanicznych oraz pomiarów spektroskopowych z zastosowaniem komplementarnych metod FT-IR, FT-Raman, ^1H i ^{13}C NMR, UV-VIS dotyczących molekularnej struktury ligandów i ich połączeń z metalami. Stwierdzono, że rozmieszczenie ładunku elektronowego w cząsteczce powiązane jest z właściwościami makroskopowymi związku chemicznego, w tym również z jego aktywnością biologiczną.

2. określono właściwości przeciwrodnikowe i przeciwutleniające ekstraktów z wybranych roślin przyprawowych w zależności od rodzaju ekstrahenta oraz stężenia ekstraktu stosując metodę z użyciem rodnika DPPH oraz metodę FRAP. Przeanalizowano wpływ niektórych metali na właściwości antyoksydacyjne wybranych kwasów fenolowych i flawonoidów oraz ekstraktów roślinnych. Stwierdzono, że na te właściwości mają wpływ zarówno użyty rozpuszczalnik jak i stężenie metalu i ekstraktu w badanych układach modelowych.

3. przeprowadzono badania aktywności biologicznej ekstraktów oraz związków fenolowych i ich kompleksów z metalami w stosunku do wybranych szczepów bakterii: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus subtilis* i grzybów: *Candida albicans*.

Wyniki uzyskane podczas realizacji grantu były publikowane w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej [A.2., A.3., A.6.] i innych [B.10., B.11.], również jako rozdziały w monografii [B.14, B.15.], były także prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Kontynuacją tematyki poruszanej we własnym grantie były dalsze badania, dotyczące analizy zależności pomiędzy zawartością jonów metali obecnych w ekstraktach roślinnych, np. ekstraktach z siewek jęczmienia i pszenicy czy też ekstraktach substytutów kawy, a ich właściwościami antyoksydacyjnymi. Analizowałam również wpływ dodatku jonów metali do ekstraktów roślin przyprawowych (układy modelowe), w celu ustalenia takiego stężenia jonów dodanych jonów, które powodowało by wzrost/spadek właściwości antyoksydacyjnych [B.1 – B.3.]. Szukałam również powiązań pomiędzy parametrami spektroskopowymi, odczytanymi z widm uzyskanych różnymi metodami a parametrami określającymi aktywność przeciwdrobnoustrojową analizowanych ligandów i ich połączeń z metalami. Wyniki badań prezentowałam w publikacjach wskazanych jako Osiągnięcie Naukowe.

Podsumowując, w okresie zatrudnienia w Politechnice Białostockiej na stanowisku adiunkta prowadzone przeze mnie badania dotyczyły następujących zagadnień:

- Opracowanie metod syntezy nowych połączeń kationów metali z wybranymi pochodnymi kwasu benzoowego, fenoksyoctowego i fenylooctowego oraz analiza

ich struktury i właściwości fizyko-chemicznych z wykorzystaniem komplementarnych metod spektroskopowych (UV-VIS, FT-IR, FT-Raman, NMR) oraz obliczeń kwantowo-mechanicznych;

- Analiza wpływu kationów metali na aktywność biologiczną (przeciwdrobnoustrojową oraz przeciwutleniającą) wybranej grupy związków pochodzenia roślinnego (pochodnych kwasu fenyllooctowego) pod kątem ich potencjalnego zastosowania jako dodatków do żywności (konserwantów, antyoksydantów) czy też dezynfektantów;
- Analiza wybranych ekstraktów roślinnych (substytuty kawy, suplementy diety, rośliny przyprawowe w celu określenia związków pomiędzy zawartością wybranych jonów metali w ekstraktach roślinnych (albo dodanych do tych ekstraktów) a ich właściwościami antyoksydacyjnymi.

Ważnym elementem mojej pracy zawodowej jest realizowanie procesu dydaktycznego, prowadzę zajęcia z Enzymologii i Biochemii na kierunku Biotechnologia oraz Analizy fizyko-chemicznej produktów rolno - spożywczych na kierunku Inżynieria Rolno – Spożywcza i Leśna, a także Chemii na wielu kierunkach studiów na Politechnice Białostockiej. Jestem współautorem dwóch skryptów: „Podstawy chemii. Ćwiczenia laboratoryjne” oraz Ćwiczenia laboratoryjne z chemii”

7. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego

Mój łączny dorobek naukowy stanowi 136 pozycji:

- 50 oryginalnych prac twórczych (42 po uzyskaniu stopnia doktora), w tym 32 prace w czasopiśmie indeksowanych przez Journal Citation Reports (JCR),
- 14 rozdziałów w monografii (13 po uzyskaniu stopnia doktora),
- 7 pełnych publikacji w materiałach konferencyjnych (6 po uzyskaniu stopnia doktora),
- 35 komunikatów naukowych na konferencje międzynarodowe (po uzyskaniu stopnia doktora),
- 30 komunikatów naukowych na konferencje krajowe (25 po uzyskaniu stopnia doktora).

a. Wskaźniki dokonań naukowych

- Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (zgodnie z rokiem opublikowania) - **IF= 56,12**
- Całkowita liczba cytowań opublikowanych prac według Web of Science - **217** (bez autocytowań)
- Indeks Hirscha według bazy Web of Science - **10**
- Sumaryczna ilość punktów MNiSW przyznana za publikacje – **807,33**.

b. Zestawienie czasopism, w których opublikowano prace naukowe

czasopismo	Liczba publikacji	IF ^a	IF łącznie	Punkty MNiSW ^a	Suma punktów
Czasopisma znajdujące się w bazie JCR					
Food Chemistry	1	4,946	4,946	40	40
Journal of Saudi Chemical Society	1	2,456	2,456	30	30
Journal of Molecular Structure	1	2,011	17,172	20	190
	1	1,753		20	
	2	1,404		20	
	1	1,551		15	
	2	1,594		15	
	1	1,486		20	
	1	1,495		15	
	2	1,44		15	
Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,	1	2,88	15,982	30	197
	1	2,129		30	
	2	2,653		30	
	1	2,129		25	
	1	2,098		27	
	1	1,44		25	
Chemico – Biological Interaction	1	3,296	3,296	30	30
Chemical Papers	1	1,258	1,258	20	20
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry	1	1,953	1,953	20	20
Spectroscopy-An International Journal	2	0,53	1,06	20	40
Spectroscopy	1	0,932	0,932	13	13
Polyhedron	1	2,207	2,207	24	24
International Journal of Quantum Chemistry	1	1,368	1,368	32	32
Journal of Physical Organic Chemistry	1	1,594	1,594	20	20
Polish Journal of Environmental Studies	1	0,353	0,98	15	28
	1	0,627		13	

Vibrational Spectroscopy	1	1,308	1,308	27	27
Publikacje naukowe w czasopismach wymienionych w części B wykazu czasopism MNiSW					
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	2	-	-	13	26
Aparatura badawcza i dydaktyczna	3	-	-	6	18
Czasopisma nieujęte w wykazie czasopism MNiSW					
Zeszyty Naukowe Politechniki Białostockiej	13			1	1
Rozdziały w monografii	12			4	51,33
	1			3,33	
	1	-	-	-	
Publikacje w materiałach konferencyjnych	6	-	-	-	-
Komunikaty naukowe prezentowane na konferencjach	65	-	-	-	-
Suma			56,512		807,33

^a zgodnie z rokiem opublikowania

c. Liczbowe zestawienie publikacji pod względem autorstwa (po doktoracie)

Rodzaj publikacji	samodzielne	pierwszy autor	drugi autor	trzeci autor	czwarty lub dalszy autor	łącznie
Oryginalne prace twórcze	5	26	13	7	3	54
W tym:						
z bazy JCR:	2	16	7	5	2	32
inne:	3	10	6	2	1	22
Prace w materiałach konferencyjnych	0	2	2	2	0	6
Komunikaty i postery na konferencjach	5	29	13	6	6	59
Łącznie	10	57	28	15	8	118

d. Nagrody i wyróżnienia

1. Nagroda zespołowa III stopnia JM Rektora Politechniki Białostockiej za wyróżniającą się działalność naukową, dydaktyczną i organizacyjną, 2016 r.,
2. Nagroda zespołowa II stopnia JM Rektora Politechniki Białostockiej za wyróżniającą się działalność naukową, 2015 r.,
3. Nagroda zespołowa II stopnia JM Rektora Politechniki Białostockiej za wyróżniającą się działalność naukową, 2013 r.,
4. Nagroda zespołowa III stopnia JM Rektora PB za wyróżniającą się działalność naukową, dydaktyczną i organizacyjną, 2008 r.,
5. Nagroda indywidualna II stopnia JM Rektora PB za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych – 1997 r.

e. Odznaczenia

1. Medal Komisji Edukacji Narodowej – 2014,
2. Brązowy Medal Za Wieloletnią Służbę nadany przez Prezydenta RP – 2008.

Mariola Samsonowicz