

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko: Paweł Stanisław Koniecznyński

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:

W 1992 roku ukończyłem studia na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Gdańsku (AMG), obecnie: Gdański Uniwersytet Medyczny, uzyskując dyplom magistra farmacji (6.10.1992). Natomiast w 1997 roku na podstawie przedłożonej pracy doktorskiej nt „Zawartość i wzajemne relacje pomiędzy wybranymi pierwiastkami w roślinnych surowcach leczniczych”, której promotorem był prof. dr hab. Marek Wesołowski, uzyskałem stopień doktora nauk farmaceutycznych (17.06.1997 r., Akademia Medyczna w Gdańsku, Wydział Farmaceutyczny).

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

W latach 1992-1997 pracowałem na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej Akademii Medycznej w Gdańsku. Po obronie doktoratu i powrocie ze stypendium długoterminowego (18-miesięcznego) w *Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica ed Analitica* w *Universita degli studi di Padova* we Włoszech, gdzie przebywałem w latach 1997-1999, kontynuowałem pracę w KiZ Chemii Analitycznej AMG na stanowisku adiunkta w latach 1997-2009. Od 2009 r. pracuję w tej samej katedrze na stanowisku starszego wykładowcy.

4. 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.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Formy chemiczne fosforu i wybranych pierwiastków oraz ich wzajemne relacje w ekstraktach z roślin leczniczych”

Łączny współczynnik oddziaływania **Impact Factor (IF)** 11 prac stanowiących osiągnięcie naukowe wynosi: **11,899**, a łączna punktacja MNiSW wynosi: **182** pkt.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa):

W skład osiągnięcia wchodzi cykl 11 publikacji, które związane są z analizą form chemicznych fosforu oraz ich relacji z rozpuszczalnymi w wodzie formami chemicznymi wybranych pierwiastków w roślinach leczniczych.

Wykaz publikacji wchodzących w skład cyklu:

H1) Koniecznyński Paweł, Wesółowski Marek, 2007, Total phosphorus and its extractable form in plant drugs. Interrelation with selected micro- and macroelements, Food Chemistry, 103, 210-216

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu części eksperymentalnej polegającej na oznaczeniu fosforu i innych pierwiastków, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 90%, Impact Factor : 3.052, punkty MNiSW: 24

H2) Koniecznyński Paweł, Wesółowski Marek, 2007, Fractionation of nitrogen and phosphorus compounds from medicinal plant samples, Chemia Analityczna (Warsaw), 52, 243-252

Opracowałem koncepcję pracy, zaplanowałem doświadczenia, wykonałem oznaczenia azotu, fosforu i ich nieorganicznych form ekstrahowanych wodą, opracowałem wyniki i dokonałem ich interpretacji, a także napisałem manuskryptu publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na 85%, Impact Factor: 0.529, punkty MNiSW: 10

H3) Koniecznyński Paweł, Wesółowski Marek, 2007, Determination of zinc, iron, nitrogen and phosphorus in several botanical species of medicinal plants, Polish Journal of Environmental Studies, 16, 785-790

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu cynku, żelaza, azotu i fosforu, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na 85%, Impact Factor: 0.627, punkty MNiSW: 10

H4) Koniecznyński Paweł, Wesółowski Marek, 2007, Bioavailable inorganic forms of nitrogen and phosphorus in extracts of herbs, flowers and bark of medicinal plants, Chemical Speciation and Bioavailability, 19, 109-115

Zaplanowałem koncepcję badań, wykonałem oznaczenia fosforu i azotu wraz z ich formami nieorganicznymi, opracowałem wyniki badań i je zinterpretowałem, a także napisałem manuskrypt publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 90%, Impact Factor: 0.733, punkty MNiSW: 15

H5) Koniecznyński Paweł, Wesółowski Marek, Radecka Iwona, 2009, Water-extractable species of nitrogen, phosphorus and iron in selected medicinal plants, Chemia Analityczna (Warsaw), 54, 215-229

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, ich zaplanowaniu, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu azotu, fosforu, żelaza i ich nieorganicznych form ekstrahowanych wodą, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 80%, Impact Factor: 0.702, punkty MNiSW: 13

H6) Koniecznyński Paweł, Wesolowski Marek, Radecka Iwona, Rafalski Piotr, 2011, Bioavailable inorganic forms of essential elements in medicinal plants from Northern Poland, Chemical Speciation and Bioavailability, 23, 61-70

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu pierwiastków i ich nieorganicznych form ekstrahowanych wodą, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na 75%, Impact Factor: 0.397, punkty MNiSW: 15

H7) Koniecznyński Paweł, Wesolowski Marek, 2011, Phosphorus and its water-extractable inorganic form in medicinal herb infusions, Phosphorus, Sulfur, and Silicon, and the Related Elements, 186, 1679-1687

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu fosforu i jego nieorganicznej formy ekstrahowanych wodą, oznaczeniu innych pierwiastków, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 85%, Impact Factor: 0.716, punkty MNiSW: 15

H8) Koniecznyński Paweł, 2013, Principal component analysis in interpretation of the results of HPLC-ELC, HPLC-DAD and essential elemental contents obtained for medicinal plant extracts, Central European Journal of Chemistry, 11, 519-526

Opracowałem koncepcję badań, wykonałem doświadczenia polegające na analizie ekstraktów roślinnych techniką HPLC, oznaczeniu pierwiastków, opracowałem wyniki i je zinterpretowałem, a także napisałem manuskrypt publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na 100%, Impact Factor: 1.329, punkty MNiSW: 25

H9) Koniecznyński Paweł, Wesolowski Marek, 2014, Phytate, inorganic and total phosphorus and their relations to selected trace and major elements, Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research, 71, 85-93

Zaplanowałem koncepcję pracy, wykonałem oznaczenia fosforu i jego form ekstrahowanych wodą, oznaczenia innych pierwiastków, opracowałem wyniki i poddałem je interpretacji, a także napisałem manuskrypt publikacji.

Mój udział procentowy szacuję na 90%, Impact Factor: 0.737, punkty MNiSW: 15

H10) Koniecznyński Paweł, Arceusz Agnieszka, Wesolowski Marek, 2015, Relationships between flavonoids and selected elements in infusions of medicinal herbs, Open Chemistry (kontynuacja Central European Journal of Chemistry), 13, 68-74

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu fosforu i innych pierwiastków, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 85%, Impact Factor: 1.329, punkty MNiSW: 25

H11) Koniecznyński Paweł, Arceusz Agnieszka, Wesolowski Marek, 2015, Essential elements and their relations to phenolic compounds in infusions of medicinal plants acquired from different European regions, Biological Trace Element Research, praca przyjęta do druku, DOI: 10.1007/s12011-015-0481-6

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji badań, wykonaniu doświadczeń polegających na oznaczeniu fosforu i innych pierwiastków, opracowaniu wyników i ich interpretacji, a także napisaniu manuskryptu publikacji.

Wkład w autorstwo szacuję na 85%, Impact Factor: 1.748, punkty MNiSW: 15

c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników:

Wstęp

Spośród wielu pierwiastków występujących w roślinach leczniczych, zarówno mikro-, jak i makroelementów, fosfor stanowi przykład pierwiastka niemetalicznego o szczególnie istotnym znaczeniu dla życia. W organizmie roślinnym fosfor może znajdować się w szerokim zakresie stężeń, od 120 mg/kg suchej masy (s.m.) do wartości sięgającej nawet 30 mg/g s.m. [1], zarówno w formie nieorganicznej, jak i organicznie związanej. Znaczącą frakcją formy nieorganicznej stanowi fosfor w postaci *orto*-fosforanów. Natomiast fosfor w postaci organicznej występuje w wielu istotnych dla metabolizmu związkach, np. w kwasach nukleinowych, białkach, fosfolipidach i polisacharydach. Fosfor wchodzi również w skład związków typu ATP i ADP.

Dotychczas podjęto się wielu badań nad składem pierwiastkowym surowców roślinnych wykorzystywanych w lecznictwie, a w szczególności analizowano zawartość pierwiastków metalicznych w suchej masie surowca, jak i w naparach [2-10]. Natomiast analiza form chemicznych fosforu w roślinach leczniczych nie była dotąd szerzej badana.

W związku z tym, w ramach badań, których celem jest rozpoznanie form chemicznych fosforu, azotu oraz ich relacji z rozpuszczalnymi w wodzie formami chemicznymi wybranych pierwiastków metalicznych w roślinach leczniczych, podjąłem się analizy postaci nieorganicznej fosforu rozpuszczalnej w wodzie w relacji do jego całkowitej postaci, jak również w stosunku do zawartości innych pierwiastków niezbędnych (N, Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, Mg, Na i K), czego efektem jest cykl publikacji stanowiących niniejsze osiągnięcie naukowe (H1-H11).

Cel badań

Zasadniczym celem badań było określenie poziomu fosforu nieorganicznego ekstrahowanego wodą w stosunku do całkowitej zawartości tego niemetalu w roślinach leczniczych. Ponadto istotnym zagadnieniem badawczym było rozpoznanie relacji fosforu całkowitego, nieorganicznego i fitynowego do rozpuszczalnych w wodzie form chemicznych wybranych pierwiastków metalicznych w roślinach leczniczych. Jest to ważne zagadnienie z uwagi na fakt, że mogą one wchodzić we wzajemne interakcje, np. fosfor w postaci fitynianów może wiązać niektóre pierwiastki metaliczne (np. Fe, Mg) zmniejszając tym samym ich biodostępność dla organizmu człowieka. Celem pracy jest także określenie udziału fosforu nieorganicznego rozpuszczalnego w wodzie stanowiącej frakcję biodostępną tego pierwiastka w stosunku do norm zalecanego dziennego spożycia (*Recommended Dietary*

Allowances, RDA i Acceptable Daily Intakes, ADI) [11, 12]. Z powyższych względów badania nad biodostępną postacią fosforu mają znaczenie w aspekcie zaopatrzenia organizmu człowieka w pierwiastki niezbędne, szczególnie w przypadku analizy tej formy pierwiastka w roślinach leczniczych i wodnych preparatach (naparach, odwarach, herbatach) z nich przygotowywanych.

Omówienie wyników przeprowadzonych badań

Wyniki badań nad zawartością fosforu całkowitego i jego formy nieorganicznej w relacji do wybranych niezbędnych pierwiastków metalicznych zamieściłem w opracowaniu opublikowanym w *Food Chemistry* (**publikacja H1**). Określiłem w nich poziom fosforu całkowitego, jego formy nieorganicznej ekstrahowanej 2% roztworem kwasu octowego, a także zawartość takich pierwiastków metalicznych jak Ca, Mg, Na, K, Fe, Zn, Mn Cu w badanej grupie liści roślin leczniczych, stanowiących surowce lecznicze stosunkowo często stosowane w Polsce. Ekstrakcję przeprowadziłem za pomocą roztworu kwasu octowego, co miało na celu wyodrębnienie fosforu nieorganicznego (P_i) z puli fosforu całkowitego. Stwierdziłem, że średni poziom P_i stanowi 63.2% całkowitego fosforu, a współczynnik korelacji liniowej pomiędzy tymi formami fosforu wynosi 0.75, co stanowi dosyć wysoką wartość wskazującą na fakt powiązania ilości nieorganicznego fosforu z jego całkowitym stężeniem w analizowanym materiale roślinnym.

Fosfor całkowity i nieorganiczny oznaczyłem spektrofotometrycznie w oparciu o metodę tworzenia błękitu fosforo-molibdenowego [13], natomiast pierwiastki metaliczne oznaczyłem techniką płomieniową absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS) po uprzedniej mineralizacji próbek liści roślin leczniczych. Parametry walidacyjne zastosowanych metod analitycznych, szczególnie dokładność i precyzja oznaczeń, podane w formie tabeli w **publikacji H1**, są zadowalające.

W wyniku obliczeń uzyskałem statystycznie istotne korelacje nie tylko pomiędzy P całkowitym i nieorganicznym, ale również dla następujących par pierwiastków metalicznych: Ca-Mg, Ca-K, Ca-Fe, Mg-Fe, Cu-K, Cu-Zn i Mn-Zn. Może to wskazywać na ich współdziałanie w aktywacji niektórych enzymów związanych z metabolizmem roślin leczniczych. Ponadto, zastosowanie celem pełniejszej interpretacji uzyskanych danych pomiarowych jednej z metod rozpoznawania obrazów (*Pattern Recognition Methods*), analizy głównych składowych (*Principal Component Analysis, PCA*), umożliwiło stwierdzenie, że poziom fosforu całkowitego i nieorganicznego, a także pierwiastków metalicznych, może zależeć od ich przynależności do określonych gatunków botanicznych roślin leczniczych, z których pochodziły badane liście.

Analizując dość szeroki zakres frakcji fosforu nieorganicznego, oznaczony w granicach od 30 do 80% całkowitego fosforu w badanych próbkach liści roślin leczniczych (**publikacja H1**), można stwierdzić, że był on zróżnicowany biorąc pod uwagę fakt, iż analizowane liście pochodziły od różnych gatunków botanicznych roślin leczniczych (czynnik genetyczny). Wskazuje to też na fakt, że pozostała część fosforu całkowitego, przypuszczalnie występuje w postaci związanej organicznie i nie jest rozpuszczalna zarówno w wodzie, jak i roztworze kwasu octowego.

W **publikacji H2** podjąłem się próby oszacowania rozmieszczenia fosforu i azotu oraz ich form nieorganicznych ulegających ekstrakcji wodą w różnych częściach morfologicznych roślin leczniczych. Badany materiał stanowiło 11 próbek liści roślin leczniczych oraz również 11 próbek korzeni i kłaczy roślin stosowanych w lecznictwie. Jako rozpuszczalniki zostały użyte woda destylowana oraz 2% roztwór kwasu octowego, natomiast jako techniki oznaczania P i N metody spektrofotometrii UV/Vis.

Test *t*-Studenta nie wykazał istotnej różnicy pomiędzy wynikami oznaczenia całkowitego stężenia P i N pomiędzy liśćmi a korzeniami wraz z kłaczami. Podobne wnioski uzyskałem analizując różnice między formami rozpuszczalnymi w wodzie dla obu niemetalii, w związku z tym zaobserwowane różnice miały charakter przypadkowy. Jednakże w jednym przypadku test *t*-Studenta wykazał istotne statystycznie różnice: pomiędzy poziomem P_i w ekstraktach z korzeni i kłaczy z użyciem roztworu kwasu octowego, a wynikami oznaczenia P_i w ekstraktach wodnych.

Podobnie jak w przypadku **publikacji H1**, uzyskano istotną korelację pomiędzy całkowitą ilością P a jego formą nieorganiczną. Natomiast biorąc pod uwagę potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, czyli możliwości przekroczenia norm zawartości azotu w postaci azotanów(V), odniosłem wyniki oznaczenia azotu azotanowego(V) zawarte w **publikacji H2** do wartości ADI. Okazało się, że poziom tej formy azotu w żadnej z badanych próbek liści oraz korzeni z kłaczami nie przekraczał dozwolonego limitu.

Prace oznaczone jako **publikacje H3 i H6** dotyczą analizy zawartości fosforu, azotu, żelaza i cynku oraz ich form rozpuszczalnych w wodzie w roślinach leczniczych zebranych ze stanu naturalnego na obszarach Polski Północnej. W odróżnieniu od surowców zakupionych w aptekach i sklepach zielarskich, rośliny lecznicze pochodzące z kilkunastu stanowisk na terenie województw pomorskiego i warmińsko-mazurskiego (Rysunek 1), zebrałem wraz ze studentem Piotrem Rafalskim, działającym pod moją opieką w kole naukowym przy KiZ Chemii Analitycznej GUMed. Zebrane próbki roślin leczniczych pochodziły od czterech gatunków botanicznych – *Betula sp.*, *Urtica dioica*, *Achillea millefolium* i *Hypericum perforatum*, rosnących w stanie wolnym i stosowanych powszechnie w lecznictwie.

Metodyka badań obejmowała oprócz zbioru wymienionych wyżej roślin leczniczych, ich prawidłowe przygotowanie do analizy, czyli suszenie w temperaturze do 30°C, przechowywanie i zmielenie przed analizą ilościową P, N, Fe i Zn. Wybór pierwiastków metalicznych podyktowany został ich rolą w metabolizmie roślin, a także potencjalną interakcją z fosforem [14]. Techniki oznaczania badanych pierwiastków opierały się na metodach spektrofotometrii UV/Vis w przypadku obu niemetalu i ich rozpuszczalnych form, natomiast Fe i Zn oznaczyłem techniką FAAS. Parametry walidacyjne użytych technik analitycznych, zamieszczone w **publikacjach H3 i H6**, znajdują się na akceptowalnym poziomie.

Wyniki przedstawione w **publikacjach H3 i H6** upoważniają do opracowania kilku istotnych wniosków. Po pierwsze, można stwierdzić, iż zawartości P, N, Fe i Zn różnią się statystycznie pomiędzy badanymi próbkami, wskazując bardziej na wpływ czynnika genetycznego, tj. faktu pochodzenia próbek od roślin należących do różnych gatunków botanicznych, niż ich pochodzenia z różnych miejsc zbioru. Z drugiej jednak strony wiadomo, że warunki środowiska, takie jak rodzaj gleby, intensywne działanie rolnicze, w tym nawożenie związkami fosforu i azotu, nasłonecznienie, opady atmosferyczne, a także inne czynniki antropogenne (stan zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi), także mają istotny wpływ na zawartość pierwiastków w roślinach leczniczych [15, 16]. Potwierdza ten wpływ przykład jednej z analizowanych próbek pokrzywy zebranej ze stanowiska położonego na Mierzei Wiślanej, w której odnotowano znacząco wyższe ilości Zn, Fe, ale także pierwiastków niemetalicznych – azotu i fosforu.

Ponadto w badaniach przedstawionych w **publikacji H6** poddałem analizie większą ilość próbek (44) zebranych z większej ilości stanowisk (8), niż w przypadku **pracy H3** (15 próbek, 4 stanowiska zbioru). Tak więc uzyskane w ten sposób wnioski mają większą moc statystyczną. Wynika z nich, że gatunkiem botanicznym rośliny leczniczej mającym zdolność do kumulacji cynku, okazała się brzoza, co potwierdzają rezultaty oznaczenia tego metalu we wszystkich próbkach liści tego gatunku, niezależnie od miejsca zbioru (**publikacja H6**). Z kolei najwyższym poziomem N, P i Fe charakteryzowały się wszystkie próbki pokrzywy, również niezależnie od miejsca zbioru.

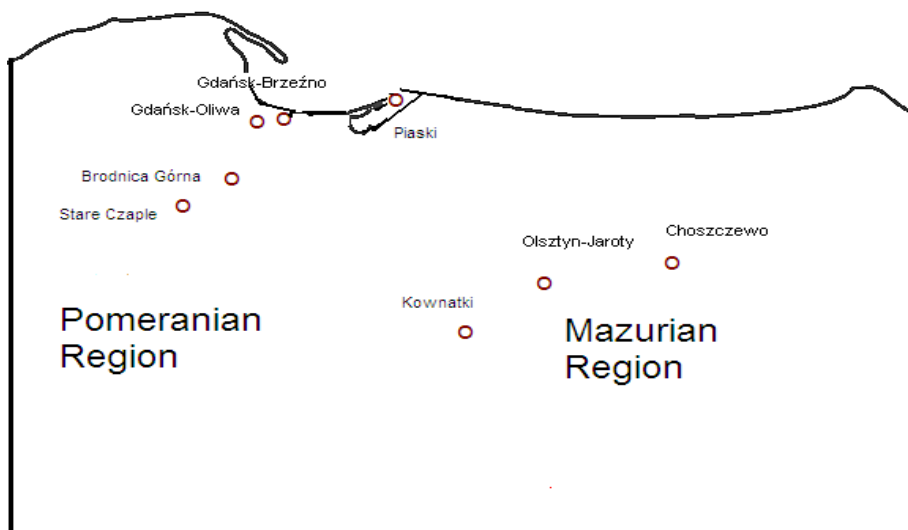
Rozpatrując natomiast potencjalny udział w suplementacji pierwiastkami niezbędnymi naparów sporządzanych z badanych roślin leczniczych, można stwierdzić, że w porównaniu z normami DRI, dostarczają one około 1% wymaganej ilości analizowanych pierwiastków. Jednakże, nawet te niewielkie ilości niezbędnych pierwiastków mogą mieć pozytywne znaczenie dla zdrowia osób często stosujących herbaty czy napary przygotowywane z badanych gatunków roślin leczniczych zebranych ze stanu naturalnego.

Kolejnym wnioskiem badań zawartych w **publikacji H6** jest także to, że stwierdzono występowanie 13 korelacji dla par badanych pierwiastków i ich rozpuszczalnych form. Wśród

nich odnotować warto 8 dodatnich relacji i 5 ujemnych, np. między Fe i P. Z kolei zastosowane PCA pozwoliło wyodrębnić dwa gatunki – *Betula sp* i *Urtica dioica* jako zawierające wysokie stężenia badanych pierwiastków oraz na identyfikację P i Zn całkowitego a także ich form ekstrahowanych wodą jako czynników mających największy wpływ na zróżnicowanie analizowanych próbek roślinnych.

Rys. 1.

Miejsca zbioru badanych roślin leczniczych (**publikacja H6**).



Celem kolejnej pracy (**publikacja H4**) była analiza porównawcza zawartości biodostępnej nieorganicznej frakcji fosforu i azotu w 58 surowcach: ziołach, kwiatach i korach roślin leczniczych, uzyskanych z kilku polskich firm zielarskich. Ważnym elementem badań było też odniesienie wyników oznaczeń P i N oraz ich form rozpuszczalnych w wodzie do norm ADI i RDA. Metodyka oznaczeń, podobnie jak we wcześniejszych pracach, oparta była na spektrofotometrii UV/Vis. Uzyskano wysoką korelację pomiędzy całkowitą zawartością fosforu i jego formą rozpuszczalną w wodzie dla kwiatów i dla kor badanych roślin leczniczych, podobnie jak w przypadku wysokiej korelacji pomiędzy całkowitym azotem i jego formą azotanową(V) w analizowanych korach. Warto odnotowania są znacząco wyższe poziomy N-NO₃ w próbkach kor w porównaniu do kwiatów i ziół, a z drugiej strony istotnie niższe ilości P-PO₄ w korach w stosunku do wartości oznaczonych w kwiatach i ziołach.

Należy jednak podkreślić, że stosunkowo wysokie stężenia formy azotanowej(V) azotu oznaczone w korach, po przeliczeniu ich na azotany(V) nie przekraczają norm WHO/FAO. Podsumowując badania przeprowadzone w ramach **publikacji H4** można stwierdzić, że wskazały one na istotnie różny od kwiatów i ziół skład chemiczny (reprezentowany przez P, N i ich formy rozpuszczalne w wodzie) kor roślin wykorzystywanych w lecznictwie.

Z kolei wyniki badań przedstawione w **publikacji H5** umożliwiły rozpoznanie zależności między całkowitą zawartością azotu, fosforu i żelaza w roślinach leczniczych, a ich formami ulegającymi ekstrakcji wodą. Wybór pierwiastków był podyktowany ich znaczeniem dla zdrowia człowieka, a także ich wzajemnymi relacjami w organizmach żywych. O roli fosforu wspomniano we wstępie, natomiast postać azotanowa(V) azotu jest ważna z tego względu, iż może ona ulec przemianie w organizmie do formy *N-nitrozo* związków, potencjalnych kancerogenów [17]. Z kolei fosfor w postaci *orto*-fosforanów może reagować ze związkami żelaza, powodując ograniczenie ich biodostępności dla organizmu człowieka [14].

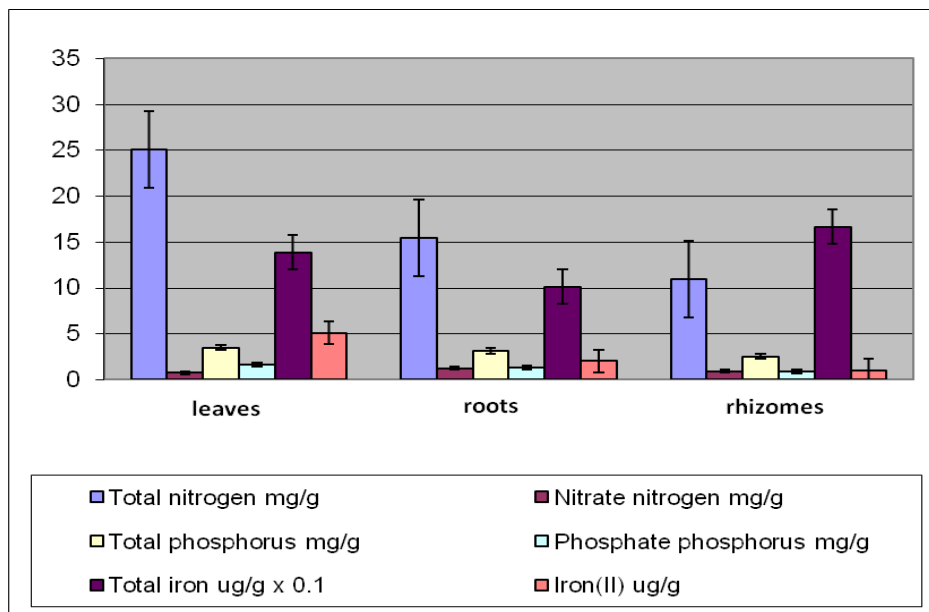
Badany materiał w **publikacji H5** reprezentowały próbki liści, korzeni oraz kłączy. Metodyka badań obejmowała ekstrakcję prostą z użyciem wody destylowanej, mineralizację, natomiast oznaczenia pierwiastków i ich form dokonałem stosując techniki spektrofotometryczne, czyli spektrofotometrię UV/Vis w przypadku pierwiastków niemetalicznych, oraz FAAS celem oznaczenia żelaza.

Stwierdziłem, że zawartość N, P i Fe różni się istotnie biorąc pod uwagę pochodzenie próbek od różnych organów morfologicznych roślin leczniczych (Rys. 2). Na przykład istotną statystycznie różnicę w zawartości azotu całkowitego zauważono pomiędzy liśćmi a korzeniami, także między liśćmi a kłączami, podobnie jak w zawartości P-PO₄ pomiędzy liśćmi a kłączami.

Ponadto stwierdziłem korelację między P całkowitym i N całkowitym, P-PO₄ i P całkowitym, Fe ekstrahowanym wodą i N całkowitym, a także między Fe ekstrahowanym wodą i P całkowitym. Metody wieloparametryczne, takie jak analiza skupień (*Cluster Analysis, CA*) oraz głównych składowych (*PCA*) pogrupowały próbki w klastery o zbliżonym poziomie analizowanych pierwiastków. Opierając się na porównaniu wyników uzyskanych w **publikacji H5** z normami żywieniowymi (*DRI*) i toksykologicznymi (*ADI*), żadna z badanych próbek nie przekraczała dopuszczalnych wartości. Można też stwierdzić, iż badane w ramach **pracy H5** rośliny lecznicze stanowią stosunkowo ubogie źródło biodostępnego fosforu i żelaza dla ludzi często pijących herbaty ziołowe.

Rys. 2.

Średnia zawartość badanych pierwiastków i ich form ekstrahowanych wodą w próbkach roślin leczniczych (**publikacja H5**).



Zastosowane w **publikacji H5** techniki statystyczne, czyli CA i PCA, nie tylko pozwoliły na klasyfikację próbek w oparciu o oznaczone formy P, N i Fe, ale wskazały na istotny wpływ (dzięki obliczeniom macierzy ładunków w PCA) całkowitych stężeń P i N, a w mniejszym stopniu Fe całkowitego, Fe ekstrahowanego wodą i azotu azotanowego(V) na zróżnicowanie badanych próbek.

W ramach badań przedstawionych w **publikacji H7**, zająłem się analizą współzależności pomiędzy formami fosforu (całkowitą i nieorganiczną ekstrahowaną wodą) w ziołach leczniczych, oraz wybranymi niezbędnymi pierwiastkami metalicznymi (Mg, Mn, Cu, Zn i Fe), zarówno ich całkowitą zawartością, jak i formami ekstrahowanymi wodą, podobnie jak w badaniach prezentowanych w **publikacji H1**. Badany materiał stanowiły 57 próbek roślin leczniczych pochodzących z 6 gatunków botanicznych roślin leczniczych (*Mentha piperita*, *Urtica dioica*, *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis*, *Tussilago farfara* i *Betula sp.*). Wszystkie analizowane próbki ziół pochodziły z jednej firmy zielarskiej – „Kawon-Hurt” i były uprawiane bądź zbierane, a następnie suszone i przechowywane zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej (*Good Manufacturing Practice, GMP*).

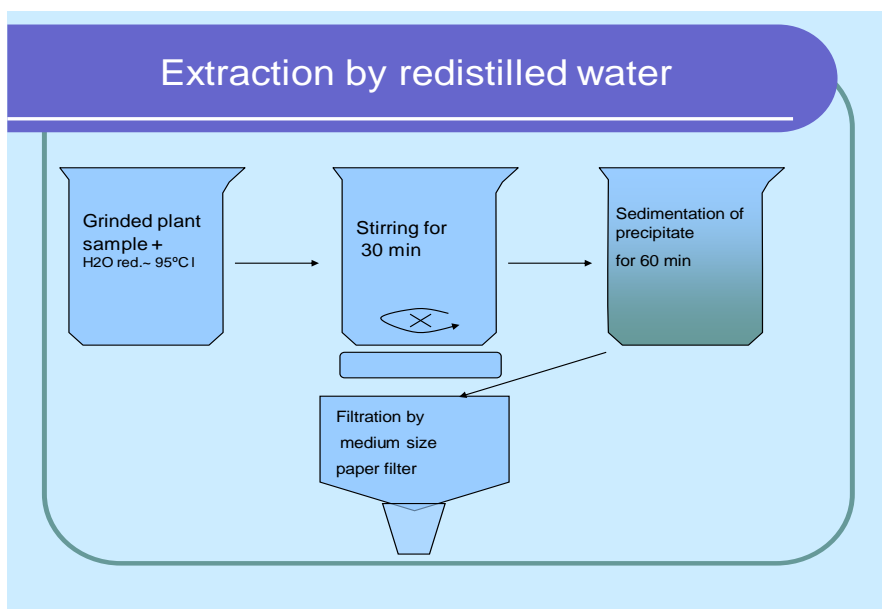
Metodyka badań oparta była na wykorzystaniu ekstrakcji prostej z użyciem wody destylowanej w przypadku przygotowania do analizy form rozpuszczalnych w wodzie (Rys. 3), oraz na mineralizacji mikrofalowej celem przygotowania próbek materiału roślinnego do

oznaczenia całkowitej zawartości badanych pierwiastków. Jako techniki oznaczenia ilościowego użyto zwalidowane uprzednio metody z zakresu spektrofotometrii UV/Vis i absorpcyjnej spektrometrii atomowej.

Wyniki analiz wykazały, że P_i występuje w zakresie od 31,4% w przypadku próbek *Tussilago farfara* do 67,4% P całkowitego dla liści uzyskanych z *Mentha piperita*. Ciekawe jest to, że fosfor nieorganiczny oznaczono w wyższych ilościach w próbkach roślin leczniczych należących do rodziny botanicznej *Labiatae*, co wskazuje na znaczne podobieństwo próbek liści mięty i szałwi pod względem zawartości tej formy fosforu.

Rys. 3.

Sposób przygotowania próbek roślin leczniczych do analizy form rozpuszczalnych pierwiastków metalicznych i fosforu nieorganicznego w wodzie wykorzystany w **publikacji H7**.



Potwierdził się też zaobserwowany wcześniej w badaniach zawartych w **publikacji H6** fakt, że liść brzozy wykazuje tendencję do akumulacji niektórych pierwiastków, np. Mn i Zn. Z kolei obliczenie współczynników korelacji liniowej w ramach interpretacji wyników w **publikacji H7** przyniosło odpowiedź na pytanie o wzajemne relacje między badanymi pierwiastkami niezbędnymi a ich formami rozpuszczalnymi w wodzie. Zaobserwowano w sumie 13 istotnych korelacji, z czego zwracają uwagę wysokie współczynniki korelacji pomiędzy następującymi parami: P całkowity – P-PO₄, Mg - P-PO₄, Mn – Zn, te ostatnie zarówno pomiędzy całkowitą zawartością obu metali, jak i ich formami rozpuszczalnymi w wodzie.

Zastosowanie podczas interpretacji wyników badań zamieszczonych w **publikacji H7** jednej z metod wieloparametrycznej analizy statystycznej – PCA, umożliwiło pogrupowanie badanych próbek na charakterystyczne klustery, wśród których wyróżniają się próbki należące do gatunków botanicznych *Urtica dioica*, *Tussilago farfara* i *Betula sp.* Wskazuje to ponownie na istotny wpływ czynnika genetycznego na zróżnicowanie się badanych ziół leczniczych pod względem zawartości biopierwiastków. Natomiast badając wpływ oznaczanych pierwiastków i ich form rozpuszczalnych w wodzie na zróżnicowanie analizowanych próbek, można stwierdzić, że największe znaczenie miały stężenia Mn i Zn.

Publikacja H8 jest efektem mojej wieloletniej współpracy z dr Güntherem Weberem z *Institute for Analytical Sciences (ISAS)* w Dortmundzie (Niemcy), trwającej od 2001 r., której efektem jest również wcześniejsza praca dotycząca badań nad specjacją Mg, Mn i Zn w wybranych roślinach leczniczych [18]. Tematem badań przedstawionych w **publikacji H8** jest próba powiązania analizy zawartości form pierwiastków niezbędnych (P, N, Fe i Cu) w ekstraktach wodnych otrzymanych z roślin leczniczych z wynikami badań tych samych próbek technikami HPLC-DAD i HPLC-ELC. Badany materiał stanowiły próbki pochodzące od gatunków roślin leczniczych charakteryzujących się wysoką zawartością flawonoidów - *Betula verrucosa* Ehrh., *Equisetum arvense* L., *Polygonum aviculare* L., *Viola tricolor* L., *Crataegus oxyacantha* L., *Sambucus nigra* L. oraz *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Techniki analityczne użyte do oznaczenia pierwiastków to metody spektrofotometrii UV/Vis w przypadku P i N, oraz FAAS dla Fe i Cu.

Wybór pierwiastków metalicznych do analizy został podyktowany tym, że zarówno Fe, jak i Cu wykazują wysoką zdolność do interakcji z flawonoidami [19], a także są elektroaktywne. Z kolei połączenie technik chromatograficznych z detekcją w zakresie UV/Vis i z użyciem metod elektrochemicznych (amperometria wykorzystująca jako elektrodę pracującą *boron-doped diamond electrode, BDDE*) pozwoliło na rejestrację niewielkich różnic pomiędzy badanymi ekstraktami roślinnymi na chromatogramach.

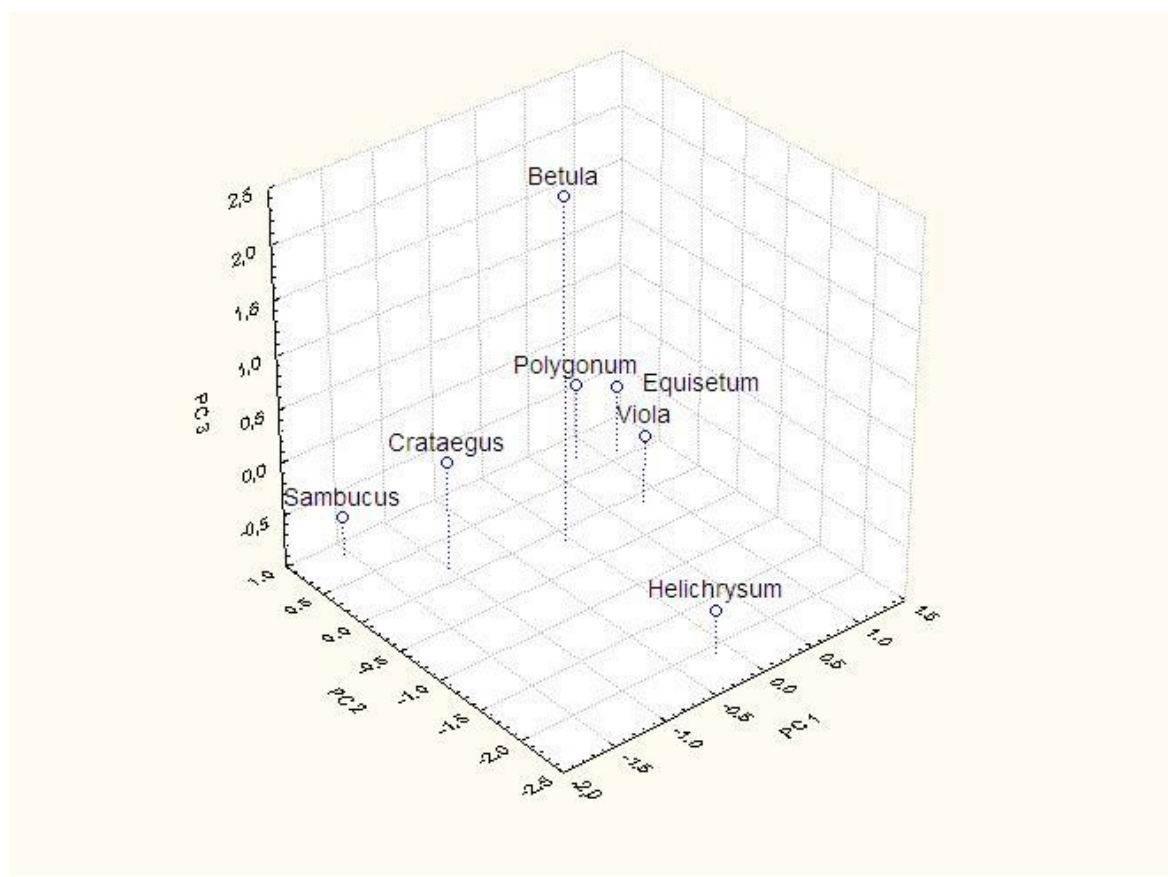
W związku z tym, celem oszacowania wyników badań, zostały użyte dwie metody rozpoznawania obrazów, CA i PCA. Powstałe bazy danych obejmowały 4 zbiory: 1) wyniki uzyskane stosując technikę HPLC-DAD, 2) wyniki uzyskane techniką HPLC-ELC, 3) wyniki oznaczeń pierwiastków, oraz 4) wszystkie dane doświadczalne zebrane razem. Zastosowanie CA i PCA pozwoliło sklasyfikować badane próbki w postaci 4 klasterów: 1) *Equisetum*, *Polygonum* i *Viola*, 2) *Crataegus*, *Sambucus*, 3) *Betula*, oraz 4) *Helichrysum*, zróżnicowanych na podstawie 3 typów analiz chemicznych.

Przyczyną powyższego zróżnicowania jest specyficzny skład chemiczny badanych próbek roślin leczniczych, odzwierciedlony dzięki użyciu odpowiednich technik statystycznych – CA i PCA. Na przykład próbki ekstraktów roślinnych pochodzących z trzech

gatunków roślin leczniczych - *Equisetum*, *Polygonum* i *Viola*, z reguły grupowały się razem na wykresach wartości PCA, uzyskanych zarówno dla wyników otrzymanych techniką HPLC-DAD, również techniką HPLC-ELC, czy traktując wszystkie dane łącznie, jak to zobrazowano na Rys. 4. Wskazuje to na ich wysokie podobieństwo składu reprezentowanego przez flawonoidy i biopierwiastki. Podobna sytuacja ma miejsce dla próbek ekstraktów otrzymanych z roślin gatunków *Crataegus* i *Sambucus*. Natomiast próbki pochodzące z gatunków *Betula*, oraz *Helichrysum* są zawsze oddzielone od pozostałych, co z kolei wskazuje na ich znaczną odrębność pod względem badanych analitów, w tym ekstrahowanych wodą form chemicznych P, N, Fe i Cu, a także związków flawonoidowych rozpuszczalnych w wodzie.

Rys. 4.

3-wymiarowy wykres PC1 vs PC2 vs PC3 otrzymany dla wszystkich danych uzyskanych stosując techniki HPLC-DAD, HPLC-ELC i wyniki oznaczeń P, N, Fe i Cu (**publikacja H8**).



Wyniki obliczeń statystycznych, przedstawione na 3-wymiarowym wykresie PC1 vs PC2 vs PC3 (Rysunek 4), pozwalają potwierdzić użyteczność tej metody (PCA) do interpretacji dużych zbiorów danych doświadczalnych, uzyskanych różnymi technikami

analitycznymi, takimi jak wysokosprawna chromatografia cieczowa z różnymi sposobami detekcji (*Diode Array Detection, DAD* i *Electrochemical, ELC*). Ponadto rozmieszczenie badanych próbek na Rysunku 4 uwidacznia odrębność składu chemicznego niektórych próbek roślin leczniczych, np. pochodzących z gatunku *Betula sp.* i *Helichrysum arenarium*. Potwierdza to fakt decydującego znaczenia czynnika genetycznego, innymi słowy przynależności gatunkowej (czynnika chemotaksonomicznego) na fakt zróżnicowania analizowanych ekstraktów roślinnych, co wykazałem również w poprzednich pracach (**publikacje H3 do H7**).

W ramach badań przedstawionych w **publikacji H9** podjąłem się analizy fosforu fitynowego i nieorganicznego w stosunku do całkowitej zawartości tego niemetalu w naparach otrzymanych z ziół leczniczych. Ponadto celem tej pracy była analiza wzajemnych relacji między oznaczanymi formami fosforu, a wybranymi pierwiastkami metalicznymi (Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn i Cu), istotnymi dla zdrowia człowieka. Fosfor fitynowy może stanowić znaczną część fosforu całkowitego w tkankach roślinnych, będąc formą zapasową dla rośliny [20]. Ponadto wchodząc w połączenia z niektórymi metalami (Fe, Mg), może zmniejszać ich biodostępność dla organizmu człowieka [21]. Z tego względu analiza fosforu fitynowego w roślinach leczniczych została podjęta przeze mnie w **pracy H9**.

Materiał badany stanowiły 59 próbek ziół leczniczych reprezentujących 12 całych ziół (*Herba*), 9 liści (*Folium*), 17 kwiatów, kwiatostanów i koszyczków (*Flos, Inflorescentia, Anthodium*), oraz 21 owoców i nasion (*Fructus et semen*). Jako techniki oznaczania wybrałem używane poprzednio techniki spektrofotometrii UV/Vis celem ilościowej analizy zawartości P, P_i oraz P fitynowego (odczynnik Wade'a), a także technikę FAAS celem oznaczenia pierwiastków metalicznych.

Okazało się, że analizowane próbki naparów uzyskanych z różnych części morfologicznych roślin leczniczych zawierały stosunkowo niskie stężenia P fitynowego, rzędu µg/mL. Wydajność ekstrakcji dla P fitynowego była najwyższa dla analizowanych liści roślin leczniczych w porównaniu z innymi organami morfologicznymi. Z kolei dla kwiatów wydajność ekstrakcji P fitynowego była na najniższym poziomie. Nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji między P fitynowym a P całkowitym i nieorganicznym. Podobnie nie odnotowano istotnych zależności pomiędzy P fitynowym a badanymi pierwiastkami metalicznymi. Jednakże, zawartość P nieorganicznego była skorelowana z formami rozpuszczalnymi niektórych metali, np. z K, Zn, co może wskazywać na interakcje tej formy fosforu z tymi pierwiastkami metalicznymi.

Z kolei zastosowanie PCA do interpretacji danych doświadczalnych otrzymanych w badaniach przedstawionych w **publikacji H9** pogrupowało badane próbki na klastery o zbliżonych poziomach analizowanych pierwiastków i ich form rozpuszczalnych w wodzie.

Analiza wykresu ładunków PCA wyodrębniła stężenia P nieorganicznego, oraz rozpuszczalnych w wodzie form Zn i Na, jako czynników wpływających w najsilniejszym stopniu na zróżnicowanie badanego materiału roślinnego.

Tematyka kolejnej z prac (**publikacja H10**, czasopismo *Open Chemistry*, stanowiące kontynuację dotychczasowego czasopisma *Central European Journal of Chemistry*, znajdującego się na tzw. liście filadelfijskiej) stanowiących niniejsze osiągnięcie naukowe, skupia się na powiązaniu wyników analiz na zawartość biopierwiastków, w tym P oraz metali: Ca, Mg, Fe, Mn, Zn i Cu, w naparach z roślin leczniczych, z wynikami oznaczenia w nich flawonoidów techniką HPLC.

Metodyka oznaczenia pierwiastków oparta była na spektroskopii UV/Vis dla fosforu całkowitego i nieorganicznego, natomiast pierwiastki metaliczne oznaczono stosując FAAS. Natomiast sumę flawonoidów oznaczono metodą spektrofotometryczną z zakresu UV/Vis [12], a poszczególne flawonoidy (rutyna, kwercetyna, mirycetyna i kemferol) techniką HPLC z detekcją UV/Vis. Badany materiał stanowiły 68 wodne ekstrakty otrzymane z ziół leczniczych o bogatej zawartości flawonoidów, pochodzące z takich gatunków roślin leczniczych, jak: *Viola tricoloris*, *Solidago virgaurea*, *Hypericum perforatum*, *Polygonum aviculare*, *Equisetum arvense*, *Betula sp.*, *Crataegus oxyvantha*, *Sambucus nigra*, *Tilia cordata*, *Helichrysum arenarium*, *Matricaria chamomilla* i *Sylibum marianum*.

W wyniku analizy danych otrzymanych w **publikacji H10** okazało się, że całkowita zawartość flawonoidów była skorelowana ze stężeniem kwercetyny i kemferolu, a także słabo z ekstrahowanymi wodą formami chemicznymi Cu i Ca. Ponadto odnotowano szereg istotnych korelacji między metalami, jak np. pomiędzy Cu, Ca, Mn, Zn i Fe, co potwierdziło ich wzajemne współzależności. Nie znaleziono istotnych korelacji między fosforem całkowitym ani nieorganicznym oraz pozostałymi analitami. Ponadto użycie CA i PCA pogrupowało badany materiał na klastery o zbliżonej zawartości badanych pierwiastków i flawonoidów oraz umożliwiło identyfikację kwercetyny, kemferolu, a także rozpuszczalnych w wodzie form chemicznych Cu i Fe jako czynników różnicujących badane napary z roślin leczniczych.

Tematyka badań zawartych w **publikacji H11** koncentruje się na porównaniu składu chemicznego ziół leczniczych pochodzących z różnych regionów Europy. W związku z tym oznaczono zawartość form chemicznych P, Fe, Mn, Zn, Cu ulegających ekstrakcji wodą, ponadto związków fenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej w naparach uzyskanych z 27 ziół leczniczych (z 7 gatunków botanicznych) zebranych na terenach Litwy, Serbii, Włoch i Portugalii. Zawartość P całkowitego i nieorganicznego oznaczono w ilości mg/L, formy pierwiastków metalicznych w µg/L w następującej kolejności: Fe > Mn > Zn > Cu, natomiast

aktywność przeciwutleniającą w zakresie od 29,4 do 217,8 mg/L ekwiwalentu Troloxu (TE). Z kolei stężenie sumy flawonoidów określono w zakresie od 20,5 do 95,1 mg/L. Zawartość związków fenolowych oznaczono techniką HPLC w ilościach rzędu mg/L naparu w następującej kolejności: rutyna > mirycetyna > kwercetyna > kemferol, oraz kwasy: chlorogenowy > ferulowy > *p*-kumarowy > kofeinowy > galusowy. Statystycznie istotne korelacje określono dla następujących par: P całkowity – P nieorganiczny, Zn – Mn, Mn – Cu, suma flawonoidów – aktywność przeciwutleniająca, oraz kwercetyna z kwasami kawowym i ferulowym. Ogólnie można stwierdzić, że analizowane napary z ziół leczniczych wykazywały istotne różnice w składzie chemicznym, w wysokim stopniu uzależnione od gatunku botanicznego rośliny leczniczej, niezależnie od pochodzenia z odległych obszarów zbioru w Europie. Z kolei PCA umożliwiła wyodrębnienie stężeń Cu, Mn, P całkowitego i nieorganicznego, jako czynników powodujących zróżnicowanie badanego materiału. Ponadto, napary przygotowane z *Hyperici herba* i *Helichrysi inflorescentia* zawierały znaczące ilości form chemicznych Mn i Fe, w stosunku do norm *Dietary Reference Intakes*.

Podsumowanie

Biorąc pod uwagę założone cele badań podjętych w ramach osiągnięcia habilitacyjnego, można je podzielić na kilka kategorii. Po pierwsze, określono poziom fosforu całkowitego w roślinnych surowcach leczniczych, rzędu kilku-kilkunastu mg/g s.m., co potwierdzają wyniki zawarte w **publikacjach H1-H11**. Zawartość fosforu całkowitego oraz P nieorganicznego była z jednej strony uzależniona od organu morfologicznego analizowanej rośliny leczniczej (**publikacje H2, H4 i H5**), a drugiej w wysokim stopniu od faktu pochodzenia surowca roślinnego od rośliny z danego gatunku botanicznego (czynnik genetyczny), co potwierdzają wyniki oznaczenia P całkowitego opisane w **publikacjach H1-H7**. Ponadto we wszystkich badaniach opisanych w osiągnięciu habilitacyjnym stwierdzono wysoką korelację pomiędzy poziomem fosforu całkowitego, a jego formą nieorganiczną ulegającą ekstrakcji wodą.

Kolejnym problemem rozwiązany w ramach osiągnięcia jest stwierdzenie, w jakim zakresie fosfor nieorganiczny ulegający ekstrakcji wodą występuje w surowcach stosowanych w lecznictwie, ponieważ właśnie ta forma pierwiastka jest dostarczana do organizmu człowieka, stanowiąc jego formę biodostępną. Celem porównania uzyskanych wyników oznaczenia P nieorganicznego do ekstrakcji użyto również 2% roztwór kwasu octowego. Wiąże się z tym zagadnieniem rozstrzygnięcie pytania, jaki jest udział P nieorganicznego ekstrahowanego wodą destylowaną w zawartości fosforu całkowitego w roślinnych surowcach leczniczych. Okazało się, że frakcja P nieorganicznego obejmuje szeroki zakres wartości udziału w P całkowitym, od 30 do 80%, jak wykazałem w wynikach opisanych w **publikacjach H1-H11**.

Odrębnym zagadnieniem, jest kwestia udziału fosforu nieorganicznego i innych pierwiastków istotnych dla życia zawartych w ekstraktach wodnych (naparach) sporządzonych z ziół leczniczych w zalecanych normach dotyczących dostarczania pierwiastków do organizmu człowieka, czyli tzw. norm zalecanego dziennego spożycia (*Recommended Dietary Allowances* i *Acceptable Daily Intakes*). Opierając się na wynikach badań i obliczeniach wykazanych np. w **publikacjach H2, H5**, można stwierdzić, że poziom P oraz N nie przekraczał dopuszczalnych wartości. Analizując natomiast wyniki uzyskane np. dla naparów z *Hyperici herba* i *Helichrysi inflorescentia* zamieszczone w **publikacji H11** okazało się, że zawierały one znaczące stężenia form chemicznych Mn i Fe ekstrahowanych wodą w stosunku do zalecanych norm Dietary Reference Intakes.

Oprócz analizy całkowitej zawartości fosforu i jego formy nieorganicznej ulegającej ekstrakcji wodą, oznaczyłem również fosfor w postaci fitynianów (**publikacja H9**), z uwagi na potencjalną zdolność do wiązania się niektórych pierwiastków metalicznych istotnych dla zdrowia człowieka z tą formą fosforu. Okazało się jednak, że napary uzyskane z różnych

części morfologicznych roślin leczniczych zawierały stosunkowo niskie stężenia P fitynowego, rzędu $\mu\text{g/mL}$, a wydajność ekstrakcji była najwyższa dla liści roślin leczniczych w porównaniu z innymi częściami morfologicznymi roślin. Nie stwierdzono natomiast żadnych istotnych statystycznie korelacji pomiędzy P fitynowym i P całkowitym, a także między P fitynowym i nieorganicznym.

Następnym zagadnieniem, zbadanym w ramach niniejszego osiągnięcia (**publikacje H1-H11**), jest problem analizy wzajemnych zależności pomiędzy fosforem, jego postaciami nieorganiczną i fitynową, a innymi pierwiastkami niezbędnymi, czyli azotem i wybranymi pierwiastkami metalicznymi. W wyniku obliczeń uzyskałem statystycznie istotne korelacje nie tylko pomiędzy P całkowitym i nieorganicznym, ale również dla następujących par pierwiastków metalicznych: Ca-Mg, Ca-K, Ca-Fe, Mg-Fe, Cu-K, Cu-Zn i Mn-Zn. Może to wskazywać na ich współdziałanie w aktywacji niektórych enzymów związanych z metabolizmem roślin leczniczych.

Istotnym problemem podjętym w ramach badań opisanych w publikacjach **H8**, **H10** i **H11**, jest powiązanie analiz na zawartość pierwiastków niezbędnych, takich jak P, N oraz pierwiastki metaliczne, z wynikami oznaczenia związków fenolowych, czyli flawonoidów i kwasów fenolowych w naparach z ziół leczniczych. Okazało się, że całkowita zawartość flawonoidów jest skorelowana ze stężeniem kwercetyny i kemferolu (**publikacja H10**), natomiast suma flawonoidów z aktywnością przeciwutleniającą, a kwercetyna z kwasami kawowym i ferulowym (**publikacja H11**).

Ponadto, ważnym zagadnieniem rozwiniętym w ramach badań stanowiących niniejsze osiągnięcie habilitacyjne, jest fakt wykazania przydatności zaawansowanych metod wieloparametrycznych służących do interpretacji dużych baz danych doświadczalnych, czyli CA i PCA. Praktycznie we wszystkich publikacjach, od **H1** do **H11** zastosowano wspomniane wyżej metody interpretacji danych wykazując, że z jednej strony umożliwiły one redukcję danych doświadczalnych i wskazanie na istotne czynniki mające wpływ na zróżnicowanie badanych próbek (PCA), takie jak P całkowity, P nieorganiczny, N całkowity, N azotanowy(V), oraz metale – Zn, Fe i Cu, a także ich grupowanie (CA) ze względu na podobieństwa i różnice w ich składzie chemicznym (pierwiastki niemetaliczne, metaliczne i związki fenolowe).

Wnioski

Do najważniejszych osiągnięć naukowo-badawczych zaliczam:

- 1) Określenie poziomów fosforu nieorganicznego, fitynowego i całkowitego w roślinach leczniczych,
- 2) Określenie wzajemnych relacji pomiędzy formami chemicznymi fosforu i azotu oraz pierwiastkami metalicznymi w ziołach leczniczych i wodnych ekstraktach z nich otrzymywanych,
- 3) Wykazanie istotnego wpływu gatunku rośliny leczniczej na zawartość fosforu, azotu, oraz pierwiastków metalicznych niezbędnych dla życia, a także organu morfologicznego rośliny na poziom analizowanych pierwiastków,
- 4) Potwierdzenie przydatności wielowymiarowych metod analizy statystycznej (CA, PCA) do interpretacji dużych baz danych doświadczalnych powstałych w wyniku analizy roślin leczniczych pod względem zawartości pierwiastków niezbędnych i innych analitów (np. flawonoidów),
- 5) Określenie czynników, które w najwyższym stopniu wpływają na zróżnicowanie analizowanych próbek roślinnych. Wśród nich znalazły się stężenia następujących pierwiastków i ich form rozpuszczalnych w wodzie: P całkowity, P nieorganiczny, N całkowity, N azotanowy(V), oraz metale – Zn, Fe i Cu, zarówno ich całkowita zawartość, jak i forma rozpuszczalna w wodzie.

Piśmiennictwo

1. P. Koniecznyński, Formy chemiczne wybranych pierwiastków w roślinach, surowcach leczniczych i ekstraktach roślinnych, *Wiad. Chem.* 2008, 62, 97-114.
2. I. Juranovic Cindric, M. Zeiner, E. Glamuzina, G. Stingeder, Elemental characterization of the medical herbs *Salvia officinalis* L. and *Teucrium montanum* L. grown in Croatia, *Microchem. J.*, 2013, 107, 185-189.
3. I. Juranovic Cindric, M. Zeiner, D. Mihajlov Konanov, G. Stingeder, Metal characterization of white hawthorn organs and infusions, *J Agric. Food Chem.*, 2015, 63, DOI: 10.1021/jf504474t
4. M. Salahinejad, Aflaki F., Toxic and essential mineral elements content of black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2010, 134, 109-117.
5. S. Basgel, S. Erdemoglu, Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey, *Sci. Total Environ.*, 2006, 359, 82-89.
6. O.O. Olujimi , O. Bamgbose, T. Arowolo, W. Goessler, Elemental profiles of herbal plants commonly used for cancer therapy in Ogun State, Nigeria, Part I, *Microchem. J.*, 2014, 117, 233-241.
7. H. Chahdoura, P. Morales, J.C.M. Barreira, L. Barros, V. Fernandez-Ruiz, I.C.F.R. Ferreira, L. Achour, Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.), *Lebens. Wiss. Technol.*, 2015, 64, DOI: 10.1016/j.lwt.2015.05.011
8. E. Lemberkovics, E. Czinner, K. Szentmihalyi, A. Balazs, E. Szoke, Comparative evaluation of *Helichrysi flos* herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements, *Food Chem.*, 2002, 78, 119-127.
9. Razic S., S. Dogo, L. Slavkovic, A. Popovic, Inorganic analysis of herbal drugs. Part I. Metal determination in herbal drugs originating from medicinal plants of the family *Lamiaceae*, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2005, 70, 1347-1355.
10. Razic S., S. Dogo, L. Slavkovic, Investigation on bioavailability of some essential and toxic elements in medicinal herbs, *J. Nat. Med.*, 2008, 62, 340-344.
11. National Academy of Sciences, 2004, Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Elements. Available from <http://www.nap.edu> (data dostępu: wrzesień, 2014).
12. Forty-four report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Evaluation of certain food additives and contaminants, 1995, Geneva, 32-34.
13. J. Murphy, J.P. Riley, A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 1962, 27, 31-36.
14. A. Duhan, N. Khetarpaul, S. Bishnoi, Content of phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron as affected by various domestic processing and cooking methods, *Food Chem.*, 2002, 78, 9-14.
15. S. Tokalioglu, Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis, *Food Chem.*, 2012, 134, 2504-2508.

16. M. Özcan, Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey, *Food Chem.*, 2004, 84, 437-440.
17. B. Haghighi, A. Tavasoli, Flow-injection analysis of nitrate by reduction to nitrite and gas-phase molecular absorption spectrometry, *Fres. J. Anal. Chem.*, 2001, 371, 1113-1118.
18. G. Weber, P. Koniecznyński, Speciation of Mg, Mn and Zn in extracts of medicinal plants, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, 375, 1067-1073.
19. G. Weber, G. Neumann, V. Römheld, Speciation of iron coordinated by phytosiderophores by use of HPLC with pulsed amperometric detection and AAS, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, 373, 767-771.
20. D. Thavarajah, P. Thavarajah, C.T. See, A. Vandenberg, Phytic acid and Fe and Zn concentration in lentil (*Lens culinaris* L.) seeds is influenced by temperature during seed filling period, *Food Chem.*, 2010, 122, 254-259.
21. D. Malesev, Kuntic V., Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2007, 72, 921-939.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych (artystycznych)

a) udział w projektach i grantach badawczych

Kierownik badań własnych W-41:

1999-2001:

„Zawartość i rozmieszczenie wybranych pierwiastków w roślinnych surowcach leczniczych z uwzględnieniem różnic międzygatunkowych i wynikających z pochodzenia surowca”

2002-2004:

„Analiza specyjna wybranych pierwiastków w roślinnych surowcach leczniczych”

b) współpraca naukowa

1. **Dr Günther Weber z Institut for Analytical Sciences (ISAS) w Dortmundzie (Niemcy)**, w zakresie analizy form pierwiastków metalicznych w roślinnych surowcach leczniczych oraz zastosowaniu metod elektrochemicznych w analizie ekstraktów z roślin leczniczych, która zaowocowała trzema publikacjami:

- Weber Günther, Koniecznyński Paweł, 2003, Speciation of Mg, Mn and Zn in extracts of medicinal plants, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375, 1067-1073,

- Koniecznyński Paweł, 2013, Principal component analysis in interpretation of the results of HPLC-ELC, HPLC-DAD and essential elemental contents obtained for medicinal plant extracts, *Central European Journal of Chemistry*, 11, 519-526,

- Koniecznyński Paweł, 2015, Electrochemical fingerprint studies of selected medicinal plants rich in flavonoids, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Analysis*, 2015, 4, 655-661.

2. **Prof. Edenir Rodrigues z Departamento de Quimica, Centro de Ciencias Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de Sao Carlos – UFSCar, stan Sao Paulo (Brazylia)**, polegająca na zastosowaniu techniki LIBS do analizy wielopierwiastkowej surowców stosowanych w lecznictwie (pobyt naukowy w lutym 2014, ponadto planowany wyjazd krótkoterminowy w 2016 r. celem realizacji badań w ramach przyznanego wniosku KNOW Wydziału Farmaceutycznego z OML Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego).

c) nagrody i wyróżnienia

- **Zespołowa Nagroda Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej RP** za cykl prac na temat badań nad oceną jakości i trwałości substancji wykorzystywanych w lecznictwie oraz rozmieszczeniem przestrzennym i wgłębnym pierwiastków metalicznych w osadach dennych południowego Bałtyku, 1996.

- **Zespołowe nagrody naukowe Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku (Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego):**

1. 1999, II stopnia, za prace dotyczące analizy składu i oceny trwałości substancji o złożonym składzie, wykorzystywanych w lecznictwie.
2. 2001, I stopnia, za badania termoanalityczne roślinnych surowców leczniczych oraz wybranych substancji organicznych.
3. 2003, I stopnia, za cykl prac dotyczących metod termoanalitycznych i sztucznych sieci neuronowych w ocenie jakości surowców roślinnych i olejów spożywczych.
4. 2005, I stopnia, za badania nad technikami wielowymiarowymi w analizie substancji leczniczych, surowców roślinnych i olejów spożywczych.
5. 2008, II stopnia, za badania nad biodostępnością form azotu, fosforu i wybranych pierwiastków metalicznych.
6. 2004, Nagroda Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku za prace w Komisjach Rekrutacyjnych.

d) analiza bibliometryczna

Całkowity dorobek: 46 publikacji pełnotekstowych, w tym 24 z *Impact Factor*, o **sumarycznym IF = 24,813**, **suma punktów MNiSW = 382,000**.

(punktacja uwzględnia pracę w *Open Chemistry*, będącą kontynuacją *Central European Journal of Chemistry*, dla której przyjęto dotychczasowy IF = 1,329)

Sumaryczna wartość **IF** za prace, w których jestem **pierwszym autorem = 13,946**

Przed uzyskaniem stopnia doktora: 4 publikacje pełnotekstowe, w tym 1 publikacja z *Impact Factor*, łączny **IF = 0.503**

Liczba cytowań wg bazy Web of Science: 128 (bez autocytowań 86)

Indeks Hirscha wg bazy Web of Science: 6

Liczba cytowań wg bazy Scopus: 125 (bez autocytowań 90)

Indeks Hirscha wg bazy Scopus: 7

e) działalność dydaktyczna:

- prowadzenie zajęć dydaktycznych dla studentów II roku kierunku Farmacja oraz I roku kierunku Analityka Medyczna w zakresie chemii analitycznej (ćwiczenia laboratoryjne obejmujące metody chemiczne i instrumentalne oraz seminaria z obliczeń chemicznych),
- opieka merytoryczna nad studentami kierunku Farmacja działającymi w kole naukowym przy Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej (tematyka prac studentów dotyczy analizy pierwiastków niezbędnych w roślinach leczniczych, a także w herbatach),
- opieka nad ponad 30-toma pracami magisterskimi w KiZ Chemii Analitycznej (tematyka prac magisterskich związana jest z analizą form chemicznych pierwiastków niezbędnych w roślinach leczniczych, a także w postaciach leku z nich przygotowywanych, takich jak napary),
- prowadzenie zajęć fakultatywnych dla studentów kierunków farmacja i analityka medyczna (tematyka zajęć związana z analizą form chemicznych pierwiastków niezbędnych i szkodliwych, zagadnieniami specjacji i analizy specjacyjnej pierwiastków, oraz przykładów zastosowania analizy specjacyjnej w badaniach naukowych),
- opieka nad działalnością naukową studentów zagranicznych, m.in. z Egiptu, Ghany, Portugalii, Hiszpanii, Czech i Serbii, przebywającymi na Wydziale Farmaceutycznym GUMed w ramach programu wymiany letniej organizowanej przez sekcję Młodej Farmacji działającej przy PTFarm.,
- popularyzacja osiągnięć naukowych i tematyki zajęć dydaktycznych wśród uczniów szkół średnich, np. prowadziłem lekcję chemii nt. specjacji chemicznej w I Akademickim Liceum Ogólnokształcącym w Gdyni,
- wielokrotnie prezentowałem uczniom szkół średnich, kandydatom na studia farmaceutyczne, Katedrę i Zakład Chemii Analitycznej w ramach tzw. Dni Otwartych Uczelni,
- prowadzenie zajęć na studiach podyplomowych dla kierunku Farmacja Przemysłowa (tematyka zajęć skoncentrowana jest na analizie leku technikami spektroskopowymi i elektroanalitycznymi, w tym woltamperometrii),
- kształcenie słuchaczy kierunku technik farmaceutyczny (zajęcia z analizy leku metodami chemicznymi i instrumentalnymi) w Wojewódzkim Zespole Szkół Policealnych nr 2 w Gdańsku.

- zastępca opiekuna II roku kier. Farmacja, od roku 2007 i obecnie.

f) działalność organizacyjna:

Moja działalność organizacyjna na rzecz Uczelni obejmowała:

- udział w pracach Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej na studia w latach 2003-2005

(pełniłem funkcję zastępcy kierownika biura),

- udział w pracach Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej GUMed w latach 1999-2008 (jako przedstawiciel nauczycieli akademickich nieposiadających stopnia doktora habilitowanego), 3 kadencje, lata 1999-2008,

- przewodniczenie Komisji Rewizyjnej Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Oddział Gdańsk, od 2009 i obecnie,

- udział w wyborach przedstawicieli do Rady Głównej Nauki i Szkolnictwa Wyższego w Warszawie, 2005,

- pracę w Komitecie organizacyjnym dwóch Ogólnopolskich Sympozjów Naukowych poświęconych badaniom leku w fazie stałej (Gdańsk, 2008, 2011), w których licznie uczestniczyli pracownicy naukowcy z uczelni i praktycy z przemysłu farmaceutycznego.

Paweł Konieczny