Digitális Állampolgárként elektronikusan aláírta:
DR. FODOR PÉTER OSZKÁR

Bírálat

Móricz Ágnes

„Vákonyrétegkromatográfiás csatolások a növényi bioaktív vegyületek felfedezésében”

című rövid formátumú akadémiai doktori értekezéséről

Az értekezés követi az MTA rövid formátumú értekezésekkel szembeni követelményeket, 37 oldalban +204 darabos irodalomjegyzékben foglalja össze a biológiai aktivitással rendelkező vegyületek kimutatatását és jellemzését, a (HP)TLC csatolások előnyeit, a kutatás célkitűzéseit, az alkalmazott vizsgálati módszereket, és a kutatás eredményeit, melyeket így csoportosított:

új mikroorganizmusok bevezetése direkt bioautográfiás alkalmazásra és az enzimtesztek továbbfejlesztésére (M1-M10 publikációk)

TLC csatolások bioaktív komponensek kimutatására és jellemzésére (M11-M19 publikációk)

OPLC csatolások bioaktív vegyületek vizsgálatára (M5, M16, M20 publikációk)

TLC csatolásokkal segített bioaktivitás irányította izolálás (M2,M4,M7-M9,M19, M21-M27 publikációk).

A kitekintés –fejezetben zárja a kutatást, majd csatolja 27 publikációját ezzel eleget téve a rövid formátumú doktori értekezés formai követelményeinek. Ha már a formai követelményeket említem, a dolgozat formailag szép, a mondatok többsége magyaros (az anglicizmusok szinte elkerülhetetlenek a szakmában), az ábrák érthetőek, jól szemléltetik a szerző állításait. A szerző 204 irodalmi hivatkozással bizonyítja, hogy a dolgozatára vonatkozó irodalmat ismeri. Összefoglalóan megállapítható, hogy a dolgozat megfelel az MTA formai követelményeinek és a 27 csatolt rendkívül magas színvonalú, a tézispontokhoz közvetlenül kapcsolódó közlemény, melyeknek nagyobb felében a jelölt első szerző, igazolja, hogy a dolgozat hiteles adatokat tartalmaz, újdonságértékű és így a tézispontok alapján vizsgálható szakmai értéke.

A dolgozat eredményeit a Szerző „Új tudományos eredmények” logikájában és sorrendjében értékelem.

A jelölt:

1. TLC direkt bioautográfiás módszert dolgozott ki, melynél a mikroorganizmus szuszpenziót agar réteg nélkül viszik fel az adszorbensre, így az elválasztott komponensek közvetlenül érintkeznek a mikroorganizmussal, így nincs diffuzió az agarba. A jelölt a módszert tovább fejlesztette és elsőként dolgozta ki a technikát több mikrooganizmusra. Az találta, hogy a Gram-negatív baktériumok között is, a Gram-pozitív baktériumok között is, sőt a probiotikus Garm-pozitív baktériumok között is vannak olyanok, melyek alkalmasak növényi bioaktív komponensek elválasztására. Igazolta, hogy létezik olyan génmódosított világító baktérium, mely alkalmas arra, hogy az elválasztás után vitális festék nélkül is látható az elválasztás eredménye, így kiküszöböli a derivatizáció hibaforrásait.

2. A jelölt továbbfejlesztette a TLC enzimgátló tesztet egy korábban nem alkalmazott szubsztrát (CNP-G3) alkalmazásával, ahol a sárga háttérrel szemben világos zónák jelzik az enzimgátló aktivitást és nem kell egy újabb lépésben láthatóvá tenni a bioautogramot. A korábbi kolinészteráz tesztet úgy gyorsította fel a Jelölt, hogy pufferben oldott szusztrátba meritette a kromatogramot, majd az enzim oldatot airbrush-al permetezte, mellyel egy gyorsabb és gazdaságosabb módszert dolgozott ki. Talán itt rögtön kritikaként említeném, hogy a dolgozatban említett airbrush (Ravel, Bünde, Germany) egy festékszóró pisztoly, a cég sok féle kivitelben és nyomáson készíti, feltehetően bármilyen jól működő porlasztóval (jó lenne tudni a cseppméretet a reprodukálhatóság érdekében) elérhető a hatás. Megjegyzésem nem rontja az eredményt, de talán segít a további alkalmazásban.
3. A jelölt munkájának nagyon jelentős része a kétdimenziós TLC továbbfejlesztése. A kétdimenziós TLC nem csak olyan lehetőségeket ad az analitikusnak, mint az MS/MS, vagyis a felbontóképesség jelentős növelése, de lehetőséget ad a minta komponenseinek a második kifejlesztés előtti derivatizációjára. Ezt kihasználva a Jelölt a biológiai építőkövek kimutatására in situ savas hidrolizist, célcentrikus acetonitriles mosást, jódos derivatizálást dolgozott ki, növelve a csatolások specifitását. A módszert étrendkiegészitők magnolol és honokiol tartalmának és stabilitás vizsgálatára kiváló analitikai paraméterekkel alkalmazta.
4. Módszereket dolgozott ki a TLC off-line és on-line csatolására oszlopkromatográfiás technikákkal és különböző detektorokkal, bizonyítva, hogy a csatolt technikák olyan izomereket is képesek kimutatni, melyeket a szokásos csatolások nem látnak.
5. Igazolta, hogy a bizonyos növénykivonatok bioaktív komponenseinek hatása –antioxidáns, antimikrobiális vagy enzimgátló-csak az egymástól szignifikánsan eltérő ionizációs technikájú MS módszerek (ESI és DART (ez utóbbi a nyitott terű metastabil ütközéses gerjesztés technikája)) együttes használata teszi lehetővé
6. Különféle megoldásokkal igazolta, hogy a növényi kivonatok bioaktív komponenseinek elválasztására és frakcionálására az OPLC flexibilitása lehetőségeket ad, így elválasztotta
   a.)gilisztaűző varádics hét bioaktív komponensét infúziós OPLC-vel
   b.)kakukkfű illóolaj komponenseit infúziós-transzfúziós félpreparatív on-lineOPLC-direkt technikával
   c.)Kombinálva a két technikát kamilla virág bioaktív komponenseit választotta el

7. A jelölt TLC/OPLC alapú analitikai munkamenetet dolgozott ki a növényi bioaktív komponensek keresésére, izolálására és azonosítására és különböző növényi kivonatokon igazolta a módszer hatását:

   a.)Egy özönnövény levélkivonatát optimalizált túlnyomásos oszlopkromatográfiás (flash) frakcióból RP-HPLC-vel izolálta, majd NMR-el azonosította a gátló hatást kifejtő komponenst

   b.) Napraforgó levél etil-acetátos kivonatában antibakteriális és kolinészteráz gátló zónákat detektált és elsőként kimutatta, mely baktériumokkal szembeni gátló hatással társítható a bioaktivitás

   c.)Mirigyes bálványfa kérgéből korábban nem ismert antibakteriális vegyületeket izolált

   d.)Számos aranyvessző izolátumból először azonosított a technikával egy sor antimikrobiális hatású vegyületet és bizonyította az antibakteriális és/vagy gombagátló hatásukat.

e.)Fehér akác kérgéből kilenc antibakteriális vegyületet izolált, öt kaffeát észtert először írt le a Robinia nemzetségben és további három kaffeát, új természetes vegyületnek bizonyult.

Összefoglalóan megállapítható, hogy a jelölt rendkívül sokoldalúan vizsgálta a vékonyréteg kromatográfia kapcsolási lehetőségeit és bizonyította, hogy a különböző kapcsolások széles körét nyitják az alkalmazási lehetőségeknek. Ilyen kapcsolások nélkül, alig lehetséges a bioaktív vegyületek feltérképezése, mely jelentősen bővíti ismereteinket a gazdálkodásban, a növényi betegségekkel szembeni hatékony védekezésben és akár új hatásmechanizmusok felfedésében.

Megjegyzéseim a dolgozattal kapcsolatban a következők. Az irodalomkutatás számomra akkor teljes, ha a kutatást alátámasztó irodalmakkal szemben olyan hivatkozásokat is értékel, melyek negatívak. Például, bár a glükozidáz és amilázgátló anyagok vércukorszint csökkentése jól bizonyított, vannak irodalmi hivatkozások a mellékhatásokra is, mint a gyomor-bélrendszer viszonylag kellemetlen tünetei és további májkárosító hatásokra is. A dolgozatban -bár nem szeretek nyelvészkedni- nagyon sokszor analizál (mindig), egyszer sem elemez és ez több helyen is értelemzavaró. A dolgozatban alig tér ki a mintavétel problematikájára, sőt egy helyen azt írja „gyakran gyógynövények, amik jellemzően nem tartalmaznak toxikus komponenseket és évszázados, évezredes felhasználásuk előrevetíti, hogy biztonságosak”. Véleményem szerint ez nem így van. A vadon növő gyógynövények és a termesztett gyógynövények egyaránt tartalmazhatnak toxikus komponenseket és ezek negligálása élelmiszerbiztonsági kockázatelemzésénél megengedhetetlen. Végezetül bár meghajtom a fejem a TLC széleskörű alkalmazási lehetőségei előtt, nem hinném, hogy a technika a dolgozatban leírt állapotban helyettesítené az étrendkiegészítők minőségellenőrzésénél használt validált, akkreditált analitikai technikákat, sőt még abban sem vagyok biztos, hogy azoknál egyszerűbb vagy kifizetődőbb.

Visszatérve a felsorolt Új tudományos eredményekhez, a Jelölt által felsorolt 3.1.; 3.2; 3.4; 3.5; 3.6.a,b,c,; 3.7 a,b,c,d,e, tézispontokat elfogadom új tudományos eredményekként a jelenlegi megfogalmazásban. Nem fogadom el új tudományos eredményként a 3.3. tézisponto jelenlegi megfogalmazását, melynek első felében azt igazolta a jelölt, hogy az újonnan kidolgozott 2D_TLC-s módszer alkalmas bodorrózsa teafüvek, magnólia tartalmú étrendkiegészítők, sárgabarack levél és zsálya növények kémiai és biológiai profiljának meghatározására –ugyanis ez a meghatározás szerintem egy oldalról beszűkíti a 2DTLC alkalmazási lehetőségeit, a minta oldalról pedig nem bizonyítja, hogy minden hasonló mintára –mindent felsorolt mintából sok ezer különböző fajta létezik alkalmas. A tézis második felében lévő minőségi ellenőrzéssel szembeni kifogásomat, már korábban részleteztem. Azt gondolom, hogy a 2DTLC technikával elért eredmények átfogalmazandóak és értékes részei a dolgozatnak, ezért javaslom a tézisponz átfogalmazását:

3.3.Új 2D-HPTLC-s módszert dolgoztunk ki a kétdimenzió közötti különböző deravatizációk alkalmazásával, mellyel egy sor növény és étrendkiegészítő kémiai és biológiai profiljának meghatározására alkalmas, korábban nem ismert technikához jutottunk.

Megjegyzéseim nem csökkentik a dolgozat tudományos értékét, a jelölt alapos és széleskörű kutatást végzett, munkáját nagyra értékelem és tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez, a nyilvános védés kitűzését javaslom.

Kérdéseim:

1.Milyen élelmiszeranalitikai területeken látná annak szükségességét, hogy a kapcsolt TLC technikát kidolgozzák és alkalmazzák?

2.Többször említi a dolgozatában a gazdasági profitot a természetes bioaktív vegyületek kimutatásánál, de alig értékeli a komponensek homogenitását-inhomogenitását, pedig ez fontos lehet, ha környezeti vagy gazdasági profitról beszélünk. Mi a véleménye a homogenitásról?

Budapest, 2026.07.18.

Dr. Fodor Péter

MTA doktora