

Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

tel. 058 347 10 10 – Kierownik Katedry

058 347 19 10 – Sekretariat

058 347 21 10 – Laboratorium

fax. 058 347 26 94

E-mail: chemanal@pg.gda.pl

prof. dr hab. inż. Waldemar Wardencki

RECENZJA

pracy doktorskiej

mgr Natalii Pauliny Migowskiej

pt.

Opracowanie metod oznaczania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych oraz hormonów estrogennych w próbkach środowiskowych techniką chromatografii gazowej

Wykrywanie, oznaczanie i badanie losu środowiskowego pozostałości związków farmaceutycznych w różnych elementach środowiska staje się w ostatnich latach jednym z priorytetowych zadań z zakresu chemii analitycznej. Wzrost populacji ludzkiej, rozwój cywilizacyjny, wzrost średniej długości życia, a także pojawianie się na rynku nowych substancji leczniczych powoduje, że spożywamy coraz więcej leków. W następstwie coraz większej konsumpcji farmaceutyków, a tym samym produkcji i ich wydalania, wzrasta ryzyko przenikania tych związków do ekosystemów wodnych i lądowych. Konieczne więc staje się zwrócenie większej uwagi na możliwe efekty, jakie mogą wywierać pozostałości farmaceutyków na ludzi oraz faunę i florę. Ocena zagrożenia środowiska przez pozostałości farmaceutyków nastrocza sporych trudności. W skład leków wchodzi bowiem ponad tysiąc substancji czynnych, podobna liczba substancji pomocniczych oraz związków wykorzystywanych do produkcji opakowań. Wiedza o ich wpływie na organizm ludzki jest stosunkowo dobrze poznana, ale informacja dotycząca ich stężeń, działania oraz dynamiki rozkładu w organizmach roślin, zwierząt, glebie oraz wodzie pozostawia wiele do życzenia. Do realizacji wszystkich tych zadań potrzebne są czułe i selektywne procedury oznaczeń różnego typu farmaceutyków. W kontekście tych faktów podjęcie tematu recenzowanej pracy uważam za słuszne, celowe a także bardzo aktualne.



Wpłynęło dn. 25.01.2013

L.dz. 8010-WCH/IP-253/13

Problematyka oznaczania pozostałości farmaceutyków w środowisku jest tematem badań coraz większej grupy ośrodków naukowych na świecie. Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy pozostałości farmaceutyków jest zadaniem trudnym. Trudności wynikają z niskiej zawartości analitów w badanych próbkach, jak i złożoności matryc, zawierających związki przeszkadzające w analizie. W konsekwencji istnieje konieczność stosowania złożonych operacji i procesów, które mogą być przyczyną strat agalitów oraz stanowić źródło dodatkowych zanieczyszczeń. Jednym ze współczesnych trendów, do których dostosowują się laboratoria, jest oznaczanie szerokiej gamy analitów występujących na niskich poziomach stężeń za pomocą jednej procedury analitycznej.

Przedmiotem badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej mgr N. Migowskiej są farmaceutyki należące do dwóch różnych klas: niesteroidowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych (ibuprofen, ketoprofen, naproksen, diklofenak, diflunisal i flurbiprofen) oraz z grupy hormonów steroidowych (etinyloestradiol, estradiol, estriol, estron oraz dietylostilbestrol), w sumie 13 farmaceutyków.

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 168 stron maszynopisu i ma tradycyjny układ dla tego typu prac. Rozprawa składa się z dwustronicowego wstępu, 45 stronicowej części teoretycznej, zwanej literaturową, jednostronicowego celu pracy, opisu zastosowanych metod badawczych oraz znaczenia otrzymanych rezultatów badań, 27 stronicowej części doświadczalnej, po której następuje omówienie uzyskanych wyników. Pracę kończy rozdział *Podsumowanie i wnioski*. Cytowane piśmiennictwo obejmuje 230 pozycje literaturowe. Pomocny w czytaniu pracy jest też dwustronicowy wykaz stosowanych skrótów, chociaż nie wszystkie zostały ujęte (np. RRF, TMSD).

W części literaturowej Doktorantka przedstawiła najpierw charakterystykę badanych farmaceutyków (leków przeciwzapalnych i hormonów estrogennych) oraz ich główne źródła oraz ich wpływ na środowisko. Następnie przedstawiła autorski przegląd metod izolowania i równoczesnego oznaczania obu grup agalitów. Z przeglądu wynika, że najbardziej odpowiednimi technikami oznaczania obu grup związków są chromatografia cieczowa i gazowa. Ponieważ postanowiła zastosować do tego celu chromatografię gazową omówiła również zagadnienie przeprowadzania badanych analitów w pochodne.

Zakres pracy został zwięźle przedstawiony w celu pracy i obejmuje trzy zasadnicze zadania::

- opracowanie nowych metodyk analitycznych przeprowadzania niesteroidowych leków przeciwzapalnych oraz hormonów estrogennych,

- opracowanie metod oznaczania końcowego obu grup analitów z wykorzystaniem chromatografii gazowej z różnymi systemami detekcyjnymi,

- opracowanie metod izolacji i wzbogacania analitów z próbek środowiskowych, zarówno stałych jak i ciekłych.

Konsekwentnym uzupełnieniem tych badań jest walidacja opracowanych metodyk i przeprowadzenie oznaczeń zawartości pozostałości wybranych analitów w próbkach środowiskowych (ciekłych i stałych).

Do najistotniejszych osiągnięć Doktorantki zaliczam:

- **wartościowy przegląd metod równoczesnego oznaczania niestereoidowych leków zapalnych oraz hormonów estrogennych w próbkach środowiskowych,**

- **rozszerzenie wiedzy w zakresie przeprowadzania w lotne pochodne niestereoidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) za pomocą trimetylosililodiazometanu (TMSD), odczynnika dotąd nie stosowanego do derywatywacji badanych farmaceutyków,**

- **opracowanie metody równoczesnego przeprowadzania wybranych NLPZ i hormonów estrogennych do postaci pentafluoropropionowych i/lub pentafluoropropyłowych pochodnych i ich końcowego oznaczenia techniką GC/ECD,**

- **opracowanie metody równoczesnej derywatywacji wybranych NLPZ i hormonów estrogennych do postaci sililowych pochodnych i ich końcowego oznaczenia techniką GC/MS(SIM),**

- **opracowanie metod izolacji i wzbogacania NLPZ i hormonów estrogennych) z ciekłych i stałych próbek środowiskowych techniką ekstrakcji do fazy stałej (SPE).**

Obowiązkiem recenzenta jest także wskazanie ewentualnych niedoskonałości czy błędów.

Generalnie praca napisana jest poprawnym językiem. Ilość tzw. literówek i niezręcznych sformułowań jest niewielka. Nie mogę się jednak zgodzić z często stosowanym terminem „wialka”, zamiast przyjętego terminu „naczynko”. Niewłaściwe lub niezręczne są również dwa terminy związane z analizą jakościową: *segment czasowy* (str. 75) gdy chodzi o przedział czasowy i *punkty identyfikacyjne* (str. 149), gdy chodzi o parametry identyfikacyjne (czas retencji, jony identyfikacyjne i stosunek powierzchni jonów). Niepoprawna jest także stosowana forma wyrażenia stężenia molowego („M” zamiast „mol/dm³”). Niezbyt konsekwentny jest także sposób podawania tytułów czasopism w spisie literatury (raz w pełnym rozwinięciu, innym razem w formie skróconej, z kropkami lub bez).

Z zagadnień merytorycznych chciałbym zapytać o następujące kwestie:

- czy wystarczające jest podanie sposobu przygotowania próbek gleby tylko poprzez określenie, że poddawano je suszeniu w temperaturze pokojowej?

- jak dodawano badane farmaceutyki do próbek gleby w celu określenia wydajności derywatywacji?

- jak technicznie rozdzielano warstwę heksanową od metanolowej (str. 64) dysponując w sumie niewielką objętością ($0,5 \text{ cm}^3$)?

Najistotniejsze zastrzeżenie dotyczy rozdziału 5 (*Podsumowanie i wnioski*). Moim zdaniem rozdział ten jest tylko rozszerzonym streszczeniem pracy. Wprawdzie specyfika pracy – dobór warunków i opracowywanie nowych metodyk analitycznych – jest mało „wnioskogenny” ale wydaje mi się, że można się tu było pokusić o wnioski mogące wskazywać wyższość stosowania GC nad LC. Autorka porównuje wcześniej (str. 53-54) technikę GC i LC do oznaczania pozostałości NLPZ i hormonów estrogennych w próbkach środowiskowych, odwołując się do dwóch cytowanych prac i stwierdza, że autorzy przeprowadzili zbyt małą liczbę doświadczeń aby jednoznacznie uznać technikę GC za bardziej przydatną do tego celu. Wydaje się, że zgromadzony przez Doktorantkę bogaty materiał doświadczalny mógł dać asumpt do takiego stwierdzenia, a tym samym do jeszcze lepszego uzasadnienia celowości swoich badań.

Pełna analiza przedstawionej rozprawy wskazuje na duży wkład pracy włożony przez Doktorantkę i na wszechstronność prowadzonych badań (duża różnorodność stosowanych odczynników do derywatywacji, różne rozpuszczalniki, szeroki zakres badanych parametrów). Warto także podkreślić, że Autorka wykazała dużą troskę o wiarygodność uzyskiwanych wyników. Przykładem może być identyfikacja badanych analitów na podstawie analiz przeprowadzanych na kolumnach o różnym charakterze. Doktorantka stosowała również najnowsze rozwiązania w zakresie technik izolacji analitów, przykładowo procedurę *QUECHERS* do ekstrakcji analitów z próbek stałych. Istotną cechą pracy jest jej wyraźny charakter aplikacyjny.

Wniosek końcowy:

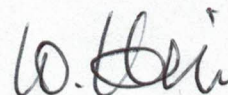
Przedstawiona do oceny praca doktorska mgr Natalii Migowskiej, oparta na obszernym, dobrze udokumentowanym materiale doświadczalnym, zawiera **elementy nowości naukowej**. Dotyczą one wzbogacenia wiedzy w zakresie przeprowadzania wybranych farmaceutyków w pochodne w celu ich oznaczania w próbkach środowiskowych metodą chromatografii gazowej. Istotną zaletą opracowanych metodyk jest **możliwość jednoczesnego oznaczania farmaceutyków z grupy NLPZ i hormonów estrogennych**,

co było głównym założonym celem pracy. Opracowane metodyki i wykonane oznaczenia istotnie wzbogacają wiedzę dotyczącą oznaczania pozostałości wybranych farmaceutyków w próbkach środowiskowych.

Uzyskane wyniki zostały już w dużym stopniu zweryfikowane przez recenzentów. Trzy prace ściśle związane z prowadzonymi badaniami zostały bowiem opublikowane w *czasopismach* o dużym współczynniku oddziaływania, a mianowicie w *Anal. Bioanal. Chem.*, *J. Chemometrics* oraz *Sci. Total Environ.* W dwóch publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką. Łączny współczynnik oddziaływania, tzw. IF, wynosi 9,919, co można uznać za spore osiągnięcie Doktorantki. Ponadto z dostarczonego wykazu dorobku wynika, że jest współautorką dwóch innych prac z tzw. listy filadelfijskiej (*J. Chromatogr. A*) i dwóch prac w recenzowanym czasopiśmie krajowym (*Camera Separatoria*). Doktorantka wykazała się również aktywnością konferencyjną - jest współautorką 30 prezentowanych komunikatów (15 na konferencjach krajowych i 15 na międzynarodowych).

Jestem przekonany, że w świetle **Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym z dnia 14.03. 2003 r., (Dz. U. nr 65, poz. 595 z 2003 r., ze zm. w Dz. U. z 2005 r. nr 164, poz.1365)** recenzowane opracowanie **spełnia wymogi** stawiane tego typu pracom i dlatego wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Natalii Pauliny Migowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, 18.01.2013



i