



Gdańsk, 2017-08-24

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani mgr Marty Anny BORECKIEJ

pt.: *Study on exposure and potential consequences of the presence of pharmaceutical residues
in the coastal area of the southern Baltic Sea*

wykonanej w Katedrze Analizy Środowiska Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem prof. dr. hab. Piotra Stepnowskiego
i dr hab. Kseni Pazdro, prof. nadzw. IO PAN

Leki administrowane ludziom i zwierzętom trafiają do rzek, jezior, a nawet do wody pitnej i mogą mieć niszczące skutki dla środowiska. Globalny raport na temat leków w środowisku przygotowany na zlecenie niemieckiego ministerstwa ds. środowiska w 2014 r. wykazał obecność 631 spośród ocenianych 713 substancji leczniczych. Wykryto je głównie w wodach powierzchniowych, takich jak jeziora i rzeki, ale obecne były także w wodach gruntowych, glebach, nawozach, a nawet w wodzie pitnej. Naukowcy na całym świecie dokładają starań podczas badań wpływu takich leków na ekosystemy (włączając Doktorantkę i Jej Promotorów), oraz równoległe toczą się próby znalezienia skutecznych sposobów zapobiegania temu problemowi; na przykład poprzez właściwe zabezpieczenie leków nieużywanych, poprawę oczyszczania ścieków, a ostatecznie nawet poprzez próby opracowania bardziej przyjaznych dla środowiska leków (*environmentally friendly drugs*). To realny problem narastający wraz ze starzejącym się społeczeństwem krajów rozwiniętych i rozwijających się oraz generalnym wzrostem liczby ludność świata. Prawdopodobnie także mamy bardzo niekompletny obraz tego problemu, ponieważ wciąż brakuje metod wykrywania i oceny tysięcy używanych substancji leczniczych występujących na całym

świecie, a opracowane metody analityczne nie są ostatecznie również stosownie ujednolicone na forum areny międzynarodowej. W tym kontekście należy rozpatrywać także przedłożoną rozprawę doktorską, która świetnie wpisuje się w próby opracowania nowych metod badawczych. Ostatecznie, niektóre leki są bardziej uciążliwe dla środowiska i bardziej niebezpieczne pod względem ich potencjalnego wpływu na zwierzęta lub ludzi. Obejmują one antybiotyki i chemioterapeutyki, leki przeciwdepresyjne, leki przeciwzapalne i przeciwbólowe, doustne środki antykoncepcyjne i hormonalna terapia zastępcza. To również znajduje swoje wartościowe odzwierciedlenie w niniejszej dysertacji.

Niezależnie od charakteru prowadzonych badań w zakresie oceny zanieczyszczenia środowiska naturalnego pozostałościami substancji leczniczych, istotną rolę odgrywają zatem nowe techniki i metody analityczne. Analizy takie prowadzone są w ośrodkach naukowych dysponujących nie tylko odpowiednim sprzętem kontrolno-pomiarowym, ale również doświadczeniem i wiedzą. I w tym też kontekście należy rozpatrywać badania wywodzące się ze szkoły naukowej Pana prof. dr. hab. Piotra Stepnowskiego i realizowane aktualnie przez Panią mgr Martę Borecką przy współpromotorstwie Pani dr hab. Kseni Pazdro, prof. nadzw. IO PAN. Problematyka, której podjęła się Doktorantka należy do relatywnie trudnych z punktu widzenia opanowania warsztatu badawczego, jak i interpretacji uzyskanych wyników. Tego typu badania wymagają zaistnienia umiejętności łączenia osiągnięć teoretycznych z praktyką. Stąd, na wyróżnienie zasługuje próba znalezienia stosownego kompromisu i zaproponowania wniosków na podstawie przedstawionych wyników pracy.

Całość rozprawy doktorskiej liczy 114 stron maszynopisu, dokumentowanej rysunkami (w liczbie 11), tabelami (w liczbie 29) i pozycjami literaturowymi (w liczbie 221). Analizując bogate piśmiennictwo należy stwierdzić, że zdecydowana większość pozycji to nowe i najnowsze publikacje specjalistyczne, włączając prace oryginalne oraz monografie książkowe. Układ pracy składa się typowo z części teoretycznej, celu pracy, części doświadczalnej, wyników badań i dyskusji oraz wniosków (podsumowania). Ze względu na układ i przejrzystość niniejsze opracowanie jest odpowiednie. Przedstawione rozważania w części teoretycznej to przede wszystkim opis zagadnienia zanieczyszczenia środowiska wód morskich pozostałościami substancji leczniczych, ze szczególnym uwzględnieniem stabilności chemicznej i toksyczności wybranych leków. Autorka poświęca dużo uwagi przedstawieniu zagadnień związanych z wpływem warunków środowiskowych na toksyczność substancji leczniczych rozważanych jako zanieczyszczenia. Dodatkowo, w

sposób przejrzysty omówiono techniki analityczne i metodologię badawczą wykorzystywaną podczas oznaczeń leków w próbkach środowiskowych oraz przedyskutowano problemy związane z efektywnością procedury ekstrakcji, wpływem matrycy i niepewności pomiarowej. Generalnie, ta część rozprawy jest dobrze napisana, w sposób jasny i nie budzący zastrzeżeń merytorycznych. Świetnie wprowadza czytelnika do dalszych rozdziałów pracy doktorskiej.

Wybór i wstępne uzasadnienie tematu badań przedstawiono właściwie w celu pracy, a w części eksperymentalnej Doktorantka opisała metodykę i warunki przeprowadzonych doświadczeń, zastosowane techniki pomiarowe oraz wykaz odczynników i materiałów zastosowanych w badaniach. W tym miejscu należy podkreślić trafność wyboru użytych technik i metodologii, dzięki którym, według mojej opinii, wytyczony przez Promotorów i Doktorantkę cel został osiągnięty.

Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki można uznać:

- 1) opracowanie metod analitycznych do oznaczania wybranych substancji leczniczych w próbkach środowiskowych wody morskiej,
- 2) ocenę wpływu parametrów analitycznych i warunków środowiskowych na pomiary wybranych substancji leczniczych oznaczanych w próbkach środowiskowych,
- 3) ocenę wpływu toksycznego wybranych substancji leczniczych posługując się modelem algi *Chlorella vulgaris*.

Na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej można zgodzić się z końcowym stwierdzeniem o użyteczności opracowanej metodyki oznaczania wybranych substancji leczniczych na niskim poziomie granicy oznaczalności opartej na wykorzystaniu SPE-LC-MS/MS. Dodatkowo, bardzo ciekawym elementem pracy doktorskiej było oszacowanie jakości procedury ekstrakcyjnej na wyniki oznaczeń. Zaproponowano przy tym stosowane, analityczne rozwiązanie.

Wywiązując się z powierzonego obowiązku recenzenta załączam poniżej pytania i uwagi.


- 1) Czy podczas procesu optymalizacji warunków rozdzielania (techniką elucji gradientowej) posługiwano się metodą „prób i błędów”, czy też użyto dodatkowo jakiegoś wspomagającego oprogramowania istniejącego na rynku (np. DryLab)?

- 2) W jaki sposób dobrano objętości roztworów podczas procedury ekstrakcyjnej SPE?
- 3) Podano, że trimetoprim, enrofloksacyna, kwas oksolinowy, sulfametoksazol, sulfadimetoksyna, sulfamerazyna, sulfatiazol, sulfametazyna i sulfapirydyna to antybiotyki. Z formalnego punktu widzenia to jednak raczej leki należące do tzw. chemioterapeutyków, a nie antybiotyków. Chinolony, fluorochinolony, sulfonamidy i diaminopirymidyny to chemioterapeutyki należące szerzej do leków przeciwdrobnoustrojowych (*antimicrobials*) otrzymane na drodze syntezy chemicznej, których budowa nie wywodzi się od związków obserwowanych w naturze. Antybiotyki (*antibiotics*) są związkami pochodzenia naturalnego, powstają na drodze półsyntetycznej z substancji naturalnych lub są w całości syntezowane, ale ich budowa ma źródło w związkach obserwowanych w naturze jako wtórnych produktów metabolizmu mikroorganizmów. Stąd bardziej poprawne byłoby używanie w pracy i przyszłych raportach naukowych terminu *antimicrobials* w stosunku do testowanych leków.
- 4) Walidacja metody LC-MS/MS i SPE-LC-MS/MS włącza określenie parametru liniowości.
- a) Wyrażony jest on w pracy za pomocą współczynnika determinacji (R^2). W tekście (str. 74) Autorka odnosi się jednak do współczynnika korelacji (R), który nie został jednak zaprezentowany w tabelach (Tabela 16, Tabela 18, Tabela 25).
- b) Podawana wartość R (lub R^2) równa 1 to zasadniczo wartość hipotetyczna (idealny związek liniowy, który nie ma zastosowania w eksperymentach przyrodniczych).
- c) Ponadto, istotność współczynnika korelacji o zadanej wartości będzie się zmieniać w zależności od liczebności próbki, na podstawie której został on obliczony. Przy tym, statystyczny test istotności współczynników korelacji (test t), który należałoby przeprowadzić, opierać się będzie na założeniu o normalności rozkładu. Powiązane pytanie dotyczy więc założenia dotyczącego rozkładu normalnego. Czy zostało ono spełnione?

Wyniki uzyskane w trakcie realizacji zadań badawczych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej zostały już częściowo wprowadzone do międzynarodowego obiegu informacji naukowej. Doktorantka jest współautorką prac publikowanych w renomowanych czasopismach naukowych, np.: *Journal of Hazardous Materials*, IF = 6,065. To świadczy na korzyść Doktorantki, bo prowadzone przez nią badania stanowią część większego programu badawczego, realizowanego przez grupę naukowców cieszących się uznaniem w skali

międzynarodowej. Takie doświadczenie to wartość podwyższająca jakość wykonywanych badań naukowych w naszym kraju.

Praca swoją tematyką i zakresem użytych technik analitycznych oraz materiału badawczego zasługuje na uwagę. Została ona dobrze zaprojektowana i wykonana, odzwierciedlając przy tym duży wkład pracy eksperymentalnej podczas zbierania i opracowania danych pomiarowych. Wyniki badań, przedstawione w przejrzystej formie rysunków i tabel, zostały właściwie zinterpretowane. Wnioski zostały dobrze opisane, dowodząc również dobrego przygotowania teoretycznego Doktorantki oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia badań. Biorąc powyższe pod uwagę nie mam wątpliwości, że spełnione są wymogi formalne, aby Rada Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego mogła podjąć uchwałę o dopuszczeniu Pani mgr Marty Boreckiej do ostatniego etapu postępowania kwalifikacyjnego, czyli publicznej obrony.


KIEROWNIK
Katedry i Zakładu
Chemii Farmaceutycznej
prof. dr hab. Tomasz Bączek