



dr hab. inż. Marek Tobiszewski, prof. PG
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
marek.tobiszewski@pg.edu.pl

Gdańsk 12.11.2024

Recenzja

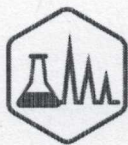
rozprawy doktorskiej mgr inż. Klaudii Stando zatytułowanej „Opracowanie i zastosowanie nowych procedur analitycznych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń oraz produktów ich transformacji w środowisku”

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na uchwałę Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej z dnia 18 września 2024 r.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Klaudii Stando została zrealizowana w Katedrze Chemii Nierganicznej, Analitycznej i Elektrochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej. Promotorem rozprawy jest dr hab. inż. Sylwia Bajkacz, prof. Politechniki Śląskiej, posiadająca znaczący dorobek naukowy z zakresu analityki zanieczyszczeń organicznych środowiska. Rozprawa została przedstawiona w postaci cyklu dziewięciu powiązanych tematycznie publikacji naukowych, w których Doktorantka jest pierwszą autorką. Fakt ten, jak również oświadczenia współautorów sprawiają, że nie mam wątpliwości o wiodącej roli Doktorantki w przedstawionych do oceny pracach. Nie mam również wątpliwości, że przedstawione w cyklu prace są rzeczywiście spójne tematycznie.

W części literaturowej rozprawy Doktorantka bardzo trafnie określa genezę podjętej tematyki badawczej. Przedstawia dane statystyczne dotyczące (nadmiernego) stosowania antybiotyków i środków bakteriobójczych, słusznie zauważa problem, że pomimo dość dobrego scharakteryzowania problemu obecności tych związków w środowisku, akty prawne na poziomie UE, a także na poziomie kraju nie zakładają potrzeby ich monitorowania w glebie czy wodzie. Co więcej produkty transformacji mogą również stanowić problem środowiskowy. Określa również potencjalny problem,

Tobiszewski



związany z obecnością związków czy produktów ich transformacji, w postaci wzrostu antybiotykooporności bakterii i potencjalnego powstawania rezerwuarów antybiotykoopornych bakterii. Zauważyła, że zanieczyszczenia występują w środowisku jako mieszania, co może wywoływać addytywny efekt toksyczny. *Wartościowym byłoby stwierdzenie czy możliwe są oddziaływania natury antagonistycznej lub, co bardziej istotne, synergistycznej - czy istnieją doniesienia literaturowe w tym zakresie?* Następnie Doktorantka omówiła wpływ warunków środowiskowych – zwłaszcza w środowisku glebowym na los środowiskowy środków bakteriobójczych oraz typowe wartości stężeń związków w środowisku na podstawie wcześniejszych doniesień literaturach. Podczas tradycyjnych procesów oczyszczania wody środki te są słabo usuwane, znacznie lepiej podczas oczyszczania z zastosowaniem zaawansowanych procesów utleniania czy też fitoremediacji. Dowodzi temu dość obszerny przegląd metod oczyszczania z wykorzystaniem obu procesów. Część teoretyczną zamyka nie mniej ważny przegląd procedur analitycznych, służących do oznaczania środków bakteriobójczych. Jako technikę oznaczeń końcowych właściwie nie stosuje się innej niż LC-MS, natomiast na etapie przygotowania próbki, w zależności od matrycy próbki stosuje się technikę SPE lub SLE w różnych wariantach. W szczególności analiza niecelowana jest wartościowa w kontekście poszukiwania produktów transformacji związków macierzystych. Część literaturowa w bardzo dobry sposób argumentuje podjęte tematy badawcze jak i zastosowany warsztat badawczy.

Doktorantka postawiła za cel osiągnięcie ambitnych zamierzeń badawczych. Są nimi:

- określenie, że związki bakteriobójcze mogą ulegać procesom transportu oraz akumulacji w różnych elementach środowiska,
- identyfikacja produktów transformacji, które nie są wykrywane z zastosowaniem dotychczas opracowanych procedur analitycznych,
- określenie skuteczności usuwania związków bakteriobójczych podczas klasycznych procesów oczyszczania ścieków oraz zaproponowanie skuteczniejszych sposobów usuwania tych związków ze ścieków.

Realizację zamierzeń badawczych wymagało przygotowania odpowiednich narzędzi w postaci opracowania procedur analitycznych. Doktorantka porównała wydajność ekstrakcji analitów z matrycy wodnej przez sorbenty stosowane w technice SPE i ze względu na akceptowalne wartości odzysku wszystkich 14 analitów, wytypowano OASIS HLB do opracowania procedur dostosowanych do realizacji poszczególnych zamierzeń badawczych. Doktorantka poddała optymalizacji pH próbki –



czy dalsze obniżenie pH próbki w kontekście wartości pK_a niektórych z analitów nie skutkowałoby lepszymi wartościami odzysku? – oraz rodzaj eluentu. W przypadku próbek gleby dobrała skład mieszaniny ekstrakcyjnej i sprawdziła możliwość zastosowania ultradźwięków do wspomagania procesu ekstrakcji. *Jak można wyjaśnić, że niezależnie od stosowanego rozpuszczalnika, czas ekstrakcji powyżej pół godziny prowadzi do strat analitów? Dlaczego zatem w [P7] stosowała ekstrakcję przed jedną godzinę?* Doktorantka słusznie zauważa i komentuje problem z odtwarzalnością opublikowanych procedur, związany z silnym efektem matrycowym próbki glebowej.

Sposób wyznaczenia parametrów walidacyjnych wymaga komentarza. Za wartość LOQ Doktorantka przyjmuje „najniższy” punkt na krzywej kalibracyjnej. *Jak zatem wyznaczyła „najniższy” punkt?* Dokładność, precyzja oraz odzysk zostały wyznaczone z zastosowaniem ekstraktów matrycy wzbogaconych wzorcami. *Czy nie bardziej zasadnym byłoby dodawanie wzorca do matrycy próbki aby uwzględnić wydajność ekstrakcji?* Odzysk natomiast określono na podstawie porównania pól powierzchni pod pikami analitów po ekstrakcji i w roztworze wzorca. *Znacznie lepiej odzysk wyznaczać uwzględniając ilości analitów, zaproponowane przez Doktorantkę podejście jest właściwe jedynie gdy wyraz wolny krzywej kalibracyjnej jest bliski zeru.* Współczynnik zmienności został wyznaczony dla trzech poziomów stężeń. *Czy zostały one poprawnie wytypowane (np. tabela S4 z pracy [P1]) w kontekście typowych zakresów stężeń zaprezentowanych w tabeli 3?* Niemniej jednak przedstawione w Tabeli 14 wartości parametrów walidacyjnych pokazują, że opracowane procedury analityczne spełniają wymogi celów, do których zostały później zastosowane. Za bardzo istotne i poprawne uważam opracowanie wielu procedur dostosowanych do różnych matryc próbek.

Opracowane procedury analityczne zostały wykorzystane do lepszego zbadania różnych aspektów związanych z obecnością związków bakteriobójczych w środowisku. Doktorantka sprawdziła efektywność ich usuwania podczas procesów oczyszczania ścieków komunalnych. Wykazała, że stężenia są zmienne w zależności od pory roku, związki są słabo usuwane podczas procesu oczyszczania i są źródłem zanieczyszczenia wody powierzchniowej, do której zrzucają się ścieki oczyszczone. Więcej wniosków można by wysnuć gdyby badania były kontynuowane dłużej lub gdyby próbki były pobierane częściej.

W badaniach nad losem środowiskowym w środowisku glebowym, Doktorantka wykazała, że związki mogą w pewnym stopniu ulegać procesom migracji w glebie. *Jak można wyjaśnić, że to właśnie SMX wykazywał największą mobilność? SMX charakteryzuje się największą wartością $\log P$ spośród*



analitów, można zatem przypuszczać, że będzie wykazywał największe powinowactwo do materii organicznej w glebie, co za tym idzie będzie wykazywał większą retencję. Wykazała również, że są związki biodostępne dla roślin, tu na przykładzie pietruszki zwyczajnej. Jest to niezwykle istotne z punktu zapewnienia bezpieczeństwa chemicznego żywności oraz potencjalnie przydatne do przeprowadzania procesu fitoekstrakcji. Doktorantka przeprowadziła również analizę próbek gleby, pobranych z terenów potencjalnie narażonych ze względu na obecność zwierząt, którym mogą być podawane antybiotyki. Na terenach miejskich są to parki, a zwłaszcza tereny wydzielone do wyprowadzania psów. Takie wybiegi mogą stanowić miejsce do rozwoju i bytowania antybiotykoopornych mikroorganizmów.

W kolejnym etapie badań Doktorantka zaproponowała procesy fotodegradacji z zastosowaniem fotokatalizy heterogenicznej oraz fitoremediacji, a właściwie fitoekstrakcji do usuwania związków bakteriobójczych. W przypadku procesu katalizy zaproponowała sześć różnych katalizatorów oraz ich mieszaniny, z których najskuteczniejszy okazał się być $\text{TiO}_2\text{-P25}$. Zaproponowane procesy katalityczne wykazywały bardzo dobrą, w stosunku do tradycyjnych procesów oczyszczania, efektywność. Doktorantka słusznie jednak zauważa, że warunki świetlne prowadzonych procesów są różne od naturalnych. Dlatego też należy się spodziewać, że efektywność usuwania w warunkach rzeczywistych będzie niższa lub należy stosować sztuczne światło, co znacznie zwiększy energochłonność procesu. Procesy fitoremediacji Doktorantka przeprowadziła dla kilku gatunków roślin, najwięcej uwagi poświęciła *Lemma Minor*. Efektywność usuwania jest znacznie lepsza niż w przypadku tradycyjnych procesów, gorsza natomiast niż w przypadku stosowania fotokatalizy. *Zakładając, że proces jest przynajmniej częściowo procesem fitoekstrakcji, zabrakło propozycji zagospodarowania biomasy roślinnej po jej usunięciu ze środowiska wodnego.*

Bardzo istotnym elementem każdego z etapów badań było oznaczenie obok związków macierzystych, produktów transformacji wykorzystując podejście analizy niecelowanej. Na tym etapie Doktorantka opracowała podejście do identyfikacji związków, które mogły być produktami transformacji. Komentuje ograniczenie tego podejścia, związane z zastosowaniem jednego rozpuszczalnika, przez co produkty transformacji o różnej lipofilowości. *Dlaczego nie Doktorantka nie spróbowała zastosować rozpuszczalnika bardziej polarnego? Zastanawiający jest fakt, że Doktorantka zakłada, że zidentyfikowane związki to produkty transformacji w środowisku. Czy dopuszcza hipotezę, że są to metabolity wydalone z organizmu, w którym był stosowany antybiotyk, zwłaszcza że część z pochodnych zidentyfikowano w ścieku jeszcze przed jego oczyszczaniem?*



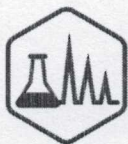
Ocena cyklu publikacyjnego jest jednoznacznie pozytywna. Pani mgr inż. Klaudia Stando jest pierwszą autorką w każdej z dziewięciu przedstawionych prac. Cykl publikacji stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego celu badawczego, niesie elementy nowości naukowej, ponadto prace mają charakter interdyscyplinarny. Prace zostały opublikowane w dobrych i bardzo dobrych czasopismach z zakresu chemii i technologii środowiska. Jedno czasopismo jest „wycenione” przez MNiSW na 200 pkt, pięć z nich na 140 pkt, dwa na 100 pkt oraz jedno na 70 pkt. Wartości współczynników oddziaływania mieszczą się w zakresie od 3,7 do 10,75. Opis towarzyszący cyklowi publikacji jest bardzo dobrze przygotowany, spójny, napisany dobrym, naukowym językiem. Najważniejsze aspekty są przedstawione za pomocą rysunków i obszernych zestawień tabelarycznych.

W trakcie lektury rozprawy zauważyłem błędy edytorskie lub drobne błędy logiczne, które nie wymagają komentarza podczas publicznej obrony:

- na rysunku 1 jest „piaskowce” a powinno być „piaskowniki”. Jest „kawiatacja” a powinno być „kawitacja”.
- na stronie 43 jest „łączące chromatografię cieczową lub gazową ze spektrometrem mas” a powinno być „łączące chromatografię cieczową lub gazową ze spektrometrią mas” lub „chromatograf cieczowy lub gazowy ze spektrometrem mas”. Podobny problem pojawił się w streszczeniu w języku angielskim.
- na stronie 55 Doktorantka pisze o dopasowaniu modelu kalibracyjnego na poziomie $> 0,9$ co byłoby niewystarczającym dopasowaniem, natomiast w tabeli 14 najniższa wartość R^2 spośród modeli kalibracyjnych to 0,98, co jest wartością akceptowalną.
- na stronie 62 jest „zaniebieszczony” a powinno być „zanieczyszczony”.
- zarówno w opisie cyklu publikacji jak i w samych publikacjach, wyniki prezentowane w postaci wartości średniej wraz z odchyleniem standardowym powinny zawierać informację o ilości powtórzeń, dla których wyliczono odchylenie standardowe. Taka informacja umieszczona w podpisie rysunku czy tabeli ułatwia rozumienie zmienności układu.

Powyższe komentarze i zapytania zawarte w teście recenzji mają charakter stymulujący dyskusję podczas publicznej obrony i nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę pracy. Praca doktorska Pani mgr. Klaudii Stando wykazuje istotne elementy nowości i oryginalności naukowej. Rozprawa spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, określone w art. 183 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i

Tobiasz



Nauce z 2018 roku. Dlatego też z pełnym przekonaniem wnoszę od Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie mgr. inż. Klaudii Stando do publicznej obrony niniejszej rozprawy doktorskiej.

Wniosek o wyróżnienie

Ponadto, biorąc pod uwagę znacznie poszerzenie stanu wiedzy z zakresu analizy niecelowanej związków bakteriobójczych, lepszego poznania ich losu środowiskowego, produktów transformacji oraz zaproponowania wydajniejszych technologii ich usuwania z wody, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa mgr inż. Klaudii Stando, zatytułowanej „Opracowanie i zastosowanie nowych procedur analitycznych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń oraz produktów ich transformacji w środowisku”. Wniosek dodatkowo argumentuję kompleksowym podejściem do określenia problemu środowiskowego, ogromem przeprowadzonych badań, co znajduje potwierdzenie w licznych pracach naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach.

Marek Tobiszewski