



**Uniwersytet
Pomorski
w Słupsku**

Prof. dr hab. inż. Aleksander Astel
Zakład Chemii i Toksykologii Środowiska
Instytut Geografii
Uniwersytet Pomorski w Słupsku
ul. Arciszewskiego 22a, 76-200 Słupsk
tel. (+48 59) 8405-423,
e-mail: aleksander.astel@upsl.edu.pl

Słupsk, 5 grudnia 2025 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marianny Kostiny-Bednarz zatytułowanej
**Zmiany metabolizmu wtórnego wybranych organizmów żywych, jako źródło sygnału
w pomiarach analitycznych**

1. Przedmiot recenzji

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska mgr Marianny Kostiny-Bednarz pt. „Zmiany metabolizmu wtórnego wybranych organizmów żywych jako źródło sygnału w pomiarach analitycznych” ubiegającej się o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne przed Radą Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej. Promotorem rozprawy jest dr hab. inż. Hanna Barchańska, prof. UŚ zaś promotorem pomocniczym dr inż. Joanna Płonka. Recenzję wykonałem w oparciu o decyzję wyżej wspomnianej Rady, która w drodze Uchwały z dnia 8 października 2025 r. powołała mnie na recenzenta.

2. Ocena bibliometryczna

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska to monotematyczny cykl artykułów naukowych opublikowanych w latach 2023–2025 w czasopismach o międzynarodowej cyrkulacji, indeksowanych w bazach Web of Science. Wszystkie artykuły opublikowano w czasopismach ujętych w aktualnym wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów w zakresie od 100 do 200, oraz współczynnika oddziaływania (ang.: *Impact Factor*) w zakresie od 4,6 do 14,4. Średnia punktacja opublikowanych artykułów wynosi 144 pkt zaś sumaryczna wartość współczynnika IF 36,8 (średnio 7,36). Pomimo tego, że artykuły pochodzą z ostatnich dwóch lat a ich „czas życia” w obiegu naukowym nie jest znaczący uzyskały już ponad 80 cytowań, co dowodzi wysokiego poziomu wartości naukowej opisywanych w nich zagadnień. Pod względem wartości wskaźników bibliometrycznych przekazany do oceny cykl spójnych tematycznie artykułów tworzących rozprawę dokorską prezentuje się okazale i z całą pewnością uprawnia kandydatkę do ubiegania się o stopień doktora. W trzech z pięciu artykułów mgr Marianna Kostina-Bendnarz jest pierwszym autorem (również autorem korespondencyjnym). W jednym z nich, w którym jej dane umieszczono na końcu listy autorów także pełniła rolę autora korespondencyjnego. Do prac załączono oświadczenia pozostałych współautorów, z których jednoznacznie wynika, że mgr Marianna Kostina-Bednarz była autorem wiodącym a jej udział, zgodnie z oświadczeniami, obejmował wszystkie etapy procesu badawczego od opracowania koncepcji i metodologii, poprzez realizację badań i walidację metod, aż po analizę, interpretację oraz wizualizację uzyskanych wyników. Pełnienie funkcji autora korespondencyjnego w większości prac niezbicie dowodzi tego, że kandydatka była

także odpowiedzialna za złożenie manuskryptów do wybranych redakcji i koordynowanie procesu wydawniczego. Analiza udziałów procentowych, które stanowią miarę zaangażowania autorów w powstanie dzieła wskazuje, że udział kandydatki oszacowano na zakres od 20% do 60%, przy czym w pracach, w których wykazano wiodący udział zakres ten oscyluje wokół wartości 50%, co jest wartością w pełni akceptowalną w sytuacji publikowania dzieł wieloautorskich. To z kolei jest cechą charakterystyczną dzieł powstających w dziedzinach eksperymentalnych, w których wielu autorów wykonuje pojedyncze prace jednostkowe, które także stanowią mierzalny wpływ w powstanie dzieła. Dodatkowo, tworzenie dzieł wieloautorskich jest obecnie powszechne i cenne, gdyż prowadzi do budowania relacji, sieci naukowych i znacząco ułatwia kontynuowanie rozwoju naukowego na jego dalszych etapach. Biorąc pod uwagę powyższe fakty można z całym przekonaniem uznać, że rozprawa doktorska spełnia kryterium oparcia o kilka, spójnych merytorycznie publikacji naukowych, opublikowanych w indeksowanych, recenzowanych czasopismach.

3. Cel pracy i ogólna ocena tematyki

Ogólna tematyka rozprawy doktorskiej dotyczy jednego z ważniejszych obecnie problemów analitycznych, jakim jest powiązanie tematyki zanieczyszczenia środowiska szeroką gamą substancji o potwierdzonym lub szacowanym działaniu niepożądanym z oceną ich faktycznego wpływu na organizmy. W wielu badaniach środowiskowych wnioskowanie o występowaniu zagrożenia związanego z przekroczeniem progowych wartości mierzanej cechy (np. stężenia analitu) w matrycy jest podejściem wystarczającym i szeroko akceptowalnym, jednakże w przypadku badań dotyczących oceny poziomu ekspozycji i wynikających z niej skutków na organizmy, podejście klasyczne w wielu przypadkach nie sprawdza się. Chociaż w obszarze współczesnej ekotoksykologii istnieje wiele doniesień o skutecznym wykorzystaniu stosunkowo prostych organizmów wskaźnikowych (bakterie, skorupiaki, rośliny) reprezentujących różne poziomy łańcucha troficznego w ocenie ryzyka występowania efektów toksycznych związków pojedynczych lub nawet ich mieszanin istnieje wyraźna luka badawcza, która dotyczy opracowania metod oceny odpowiedzi organizmów wyższych na kontakt z matrycami środowiskowymi o nieznanym i trudnym do oszacowania składzie. Lukę tę można także rozszerzyć na zagadnienie oceny jakości żywności, w której informacja o kontakcie substratu pierwotnego (roślin lub zwierzęcia) wykorzystywanego w produkcji produktu spożywczego z określonym zestawem ksenobiotyków może być trudna do potwierdzenia ze względu na zachodzące w organizmach żywych procesy metaboliczne. Podczas cykli metabolicznych pierwotnie niebezpieczne ksenobiotyki mogą ulegać rozpadowi i transformacji, co w konsekwencji może utrudnić, lub nawet uniemożliwić analityczne potwierdzenie ich początkowej obecności w roślinie lub zwierzęciu. Biorąc pod uwagę wyzwania, które stoją przed nowoczesną analityką, tematykę oceny zmian metabolizmu wtórnego organizmów i ich postrzeganie jako wartościowego źródła sygnału w pomiarach analitycznych należy uznać za jako pożądany, uzasadniony i wartościowy kierunek badań.

4. Cel pracy

Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej autorka uzupełniła o precyzyjne wprowadzenie, w którym przedstawiła tło i znaczenie badań realizowanych w rozprawie dla rozwoju dyscypliny nauki chemiczne identyfikując wątpliwości związane z możliwością uniwersalnego i powszechnego wykorzystania klasycznie definiowanych sygnałów analitycznych. Autorka wskazała, że jedynie w idealnych warunkach odpowiedź instrumentu pomia-

rowego jest jednoznacznie powiązana z rodzajem i ilością analitu podkreślając przy tym wyraźnie, że w wielu przypadkach ocena efektu nie musi być bezpośrednio związana z obecnością analitu w próbce w chwili wykonywania pomiaru. Autorka słusznie wykazała, że w analityce przyczynowo-skutkowej kluczowe staje się nie tylko potwierdzenie obecności i oznaczenie stężenia danej toksyny, lecz analiza sumarycznego efektu wywołanego przez nią od momentu zainicjowania narażenia do momentu wykonania pomiaru analitycznego. W tym czasie toksyna może ulegać licznym przemianom, często z wytworzeniem bardziej toksycznych produktów, indukować zmiany o różnym charakterze czy nawet ulegać metabolizowaniu, w wyniku, którego potwierdzenie jej historycznej obecności w organizmie może być utrudnione. Za wiodącą hipotezę rozprawy przyjęto założenie, że to właśnie odpowiedź metaboliczna organizmu, w szczególności zmiany w profilu metabolizmu wtórnego, mogą stanowić czułe i wiarygodne źródło sygnału analitycznego a tym samym umożliwić następczą ocenę skutków ekspozycji organizmu testowego na ksenobiotyki. Badania ukierunkowano na ocenę przemian aminokwasów i amin biogennych jako związków o kluczowej roli prekursorów cząsteczek sygnałowych, których cechy funkcjonalne ulegają szczególnej modyfikacji w warunkach ekspozycji na ksenobiotyki. W odniesieniu do wiodącej hipotezy badawczej rozprawę podzielono na wyraźnie ukierunkowane i zdefiniowane etapy, do których zaliczono realizację badań podstawowych z wykorzystaniem organizmów modelowych (drożdży *Saccharomyces cerevisiae*) w ocenie ich odpowiedzi na farmaceutyki i leki przeciwwirusowe o dobrze poznanym mechanizmie działania (odpowiednio nitryzon, amantadynę i rymantadynę), których dobór był podyktowany udokumentowanym działaniem tych związków na biosyntezę aminokwasów aromatycznych i amin biogennych. W drugim etapie zaplanowano wykonanie badań aplikacyjnych z wykorzystaniem roślin uprawnych (pszenica, jęczmień) w warunkach narażenia na syntetyczne i naturalne pestycydy. W trzecim etapie autorka skoncentrowała się na analizie handlowo dostępnych roślin, w którym zamierzała potwierdzić obecność biomarkerów stanowiących o istnieniu wzorca zaburzeń metabolicznych wynikających z narażenia na pestycydy. Po analizie hipotez szczegółowych i planowanych zadań badawczych (które powiązano w poszczególnymi publikacjami) jednoznacznie mogą stwierdzić, że kandydatka zaproponowała przemyślany i logiczny plan badawczy, który z pewnością umożliwił weryfikację hipotezy wiodącej. Na szczególną uwagę zasługuje aspekt skalowania badań i uwzględnienia wyników cząstkowych uzyskanych w etapach poprzednich do rozszerzania możliwości wnioskowania w etapach następnych. Niemniej jednak uważam, że ostatnią hipotezę szczegółową zdefiniowano nieco zbyt obszernie. Uważam, że o ile zupełnie zasadna wydaje się być możliwość zidentyfikowania potencjalnych biomarkerów narażenia, o tyle oczekiwanie, że zestaw ten będzie w każdym przypadku niezależny od rodzaju ksenobiotyku i rodzaju matrycy roślinnej jest zbyt optymistyczne. Wydaje się, że różne rodzaje ksenobiotyków mogą wywoływać ostre i chroniczne efekty toksyczne, które z kolei mogą przejawiać się nagłą, lub rozłożoną w czasie zmianą metabolizmu. Dodatkowym źródłem zmienności jest osobnicze i genetyczne zróżnicowanie roślin. Przykładowo hiperakumulatory będą znacznie bardziej odporne na działanie metali potencjalnie toksycznych niż inne rośliny. *Korzystając z okazji dyskusji z doktorantką proszę o doprecyzowanie założeń, które uwzględniono w tworzeniu tak szeroko zdefiniowanej hipotezy szczegółowej.*

5. Ocena merytoryczna

Ze względu na to, że rozprawę stanowi cykl spójnych, opublikowanych artykułów naukowych, które poddano weryfikacji merytorycznej przed publikacją rola recenzenta całości rozprawy pozostaje minimalna, lecz nie oznacza to, że nie może on wskazać mocnych i nieco słabszych stron każdej z nich. Dwie pierwsze prace cyklu to rzetelne opracowania przeglądowe, które dotyczyły potencjału zjawiska allelopatii w rozwoju biopestycydów i zastosowania zintegrowanych technik analitycznych w badaniach metabolomicznych nad wpływem ksenobiotyków. Opracowania stanowią doskonałe kompendium wiedzy, które doktorantka wykorzystała, jako punkt wyjścia do wyboru organizmów modelowych, technik analitycznych i metod opracowania danych. Za szczególnie cenne uważam wykonanie przeglądu dostępnych technik chemometrycznych, które wspierają i przyspieszają wnioskowanie w układach wielowymiarowych i wieloaspektowych. Doktorantka krytycznie omówiła szerokie spektrum podejść obliczeniowych i narzędzi informatycznych, które prawidłowo wykorzystywała w badaniach eksperymentalnych w dalszych etapach. ***Niemniej jednak chciałbym zapytać, dlaczego (jak wynika z opisu przedstawionego na stronie 34 i 48) doktorantka stosowała różne kryteria decyzyjne wyboru metabolitów, które potencjalnie uznawano za biomarkery w eksperymentach realizowanych na kolejnych etapach?*** W pierwszej pracy eksperymentalnej doktorantka wykorzystwała drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, które ze względu na wysoki stopień konserwatyzmu podstawowych szlaków metabolicznych w stosunku do eukariontów wyższych, stanowią układ dobrze poznany i scharakteryzowany. Do badań wytypowano trzy substancje farmaceutyczne (NTBC, AMT i RMT), których mechanizm działania lub poznane efekty uboczne są bezpośrednio powiązane z zaburzeniami metabolizmu aminokwasów aromatycznych. Warunki eksperymentu, dobór metod analitycznych i metod opracowania danych były poprawne i dowiodły tego, że doktorantka w sposób bardzo dobry potrafi przełożyć dane pozyskane z publikacji przeglądowych na warunki eksperymentalne. ***W tym miejscu należy jednak zapytać, dlaczego w badaniu na drożdżach nie zastosowano pestycydów, które same w sobie mogą wywoływać efekty toksyczne u organizmów wyższych? Czy konserwatyzm szlaków metabolicznych nie powinien sugerować potencjalnej odpowiedzi na pestycydy, które wykorzystano w dalszych badaniach? Czy zastosowanie ich, chociażby jako elementu porównawczego, nie mogłoby wspierać możliwości pozytywnej weryfikacji czwartej hipotezy szczegółowej, której szeroki zakres poddałem dyskusji powyżej?*** W efekcie realizacji eksperymentu potwierdzono mechanizmy transformacji związków macierzystych do innych (np. transformacja NTBC do CHB), które to w bardziej intensywny sposób zaburzają endogenne szlaki metaboliczne. Ustalenia należy postrzegać, jako istotny wpływ w rozwój dyscypliny nauki chemicznej, a w szczególności w badaniach nad wykorzystaniem wtórnych metabolitów, jako źródła wiarygodnych sygnałów analitycznych.

W kolejnej pracy cyklu doktorantka ponownie zastosowała drożdże, jako organizm modelowy, lecz tym razem eksponowano je na pochodne adamantanu. Na podstawie analizy wyników badań kinetycznych wykazano, że amantadyna ulega wolniejszemu metabolizmowi niż rymantadyna i będąc wolniej metabolizowana wywiera silniejszy i trwalszy wpływ na zmianę stężenia aminokwasów aromatycznych i amin biogennych. W opracowaniu wyników postużono się poprawnie techniką analizy głównych składowych, choć możliwość dyskusji z doktorantką podczas obrony skłania mnie do zadania pytania o to, ***dlaczego w tak wysoce przemyślanym eksperymencie, który uwzględnił zastosowanie wyrafinowanych i nowoczesnych technik instrumentalnej chemii analitycznej i technik opracowania danych***

nie podjęto próby zastosowania innych metod grupowania lub klasteryzacji, szczególnie tych, które umożliwiają dokonanie podziału przestrzeni obiektów z uwzględnieniem zależności nieliniowych pomiędzy zmiennymi, np. samoorganizujących się map Kohonena lub algorytmu grupowania DBSCAN? Pomimo tego, że na etapie realizacji rozprawy doktorskiej kandydatka wykorzystata poprawne techniki opracowania danych, co już samo w sobie świadczy o wysokim poziomie warsztatu badawczego, rekomenduję wykorzystać bardzo interesującą bazę danych do pogłębionych analiz eksploracyjnych w przyszłości. W ostatniej pracy cyklu kandydatka dokonała skalowania eksperymentu i przeprowadziła ekspozycję pszenicy i jęczmienia na pestycydy naturalne i syntetyczne. Warto podkreślić, że ten etap badań realizowała we współpracy z Instytutem Bezpieczeństwa Żywności, Zdrowia Zwierząt i Środowiska „BIOR” na Łotwie. Badania wykonano z wykorzystaniem dobrych praktyk, poprawnych metod analitycznych i wyrafinowanych technik opracowania danych, które optymalizowano w poprzednich etapach. W badaniach potwierdzono, że tebukonazol indukował najsilniejsze i najtrwalsze zmiany metaboliczne w zbożach, oraz, że jęczmień okazał się znacznie bardziej odporny na zaburzenia metaboliczne od pszenicy. Bardzo pozytywnie oceniam wykorzystanie zaawansowanego instrumentarium analitycznego oraz dokonywanie świadomych wyborów odpowiednich metod akwizycji danych z urządzeń kontrolno-pomiarowych. To wszystko pozwoliło na pionierską identyfikację nieopisanych dotąd w literaturze metabolitów 2,4-D i TBC. Ponownie jak to miało miejsce wcześniej kandydatka stosowała klasyczne metody opracowania wyników (analizę hierarchiczną, ANOVA i PCA), do czego nie można mieć większych zastrzeżeń, jednakże lekki niedosyt, szczególnie dotyczący rozprawy doktorskiej realizowanej na takim poziomie, pozostawia brak podjęcia prób zastosowania różnorodnych metod grupowania. Końcowy, niezwykle cenny wątek badawczy dotyczył pozytywnej identyfikacji biomarkerów narażenia na pestycydy w różnorodnych roślinach jadalnych. I tym razem eksperyment zaplanowano i wykonano z zachowaniem wyjątkowo wysokiej troski o możliwość wnioskowania w oparciu o rzetelnie uzyskane, opracowane i zinterpretowane dane pomiarowe. W zrealizowanych badaniach kandydatka ponad wszelką wątpliwość ustaliła, że różne klasy pestycydów, pomimo odmiennych mechanizmów działania, indukują w roślinach wspólną, mierzalną odpowiedź metaboliczną, którą można wykorzystać, jako jeden, spójny sygnał analityczny. Jest to niezwykle cenne z punktu widzenia optymalizacji kosztów analityki procesowej, lecz rodzi również nowe dylematy. *Korzystając z okazji chciałbym zapytać doktorantkę, czy w jej opinii wykrycie ekspozycji na pestycydy, które w finalnym produkcie znajdują się poniżej MLR można i należy uznać za element decyzyjny, na podstawie, którego można wycofać żywność z rynku?*

6. Podsumowanie

Podsumowując poszczególne etapy realizacji eksperymentu z całym przekonaniem mogę stwierdzić, że cele rozprawy doktorskiej zostały w pełni osiągnięte. Doktorantka z sukcesem opracowała i zwalidowała oryginalne procedury analityczne, bez których realizacja tak ambitnego planu badawczego nie byłaby możliwa. Przeprowadziła eksperyment z uwzględnieniem efektu skali i w każdym wątku badawczym uzyskała wyniki, które będąc już opublikowane, stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki chemiczne. Za najbardziej istotny wniosek globalny, z mojej perspektywy, uważam potwierdzenie, że to nie ksenobiotyk macierzysty, lecz produkty jego transformacji odgrywają kluczową rolę z zaburzeniu metabolizmu układów biologicznych. Uważam także, że ten wniosek można z powodzeniem

rozszerzyć także na organizmy wyższe, w tym człowieka, który jest ekspozowany na szerokie spektrum ksenobiotyków obecnych w środowisku. Uzupełnieniem aktywności, którą doktorantka wykazała w obszarze eksperymentalnym jest umiejętność nawiązywania kontaktów, w tym realizacji badań we współpracy (akredytowane laboratorium Analityczne i2 Analytical Limited, „BIOR”) oraz aktywnej prezentacji wyników na konferencjach krajowych i zagranicznych. Warto podkreślić, że kandydatka uzyskała także Stypendium Rektora Politechniki Śląskiej w roku akademickim 2024/2025.

7. Wniosek końcowy

Stwierdzam, że oceniona rozprawa spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz.U.2024.1571 ze zm.) i wnoszę o dopuszczenie mgr Marianny Kostiny-Bednarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, ze względu na ponadprzeciętną troskę o jakość wnioskowania z wykorzystaniem niebanalnych technik chemometrycznych, wielość empirycznych wyników analitycznych, profesjonalne i świadome zastosowanie specjalistycznego instrumentarium analitycznego a przede wszystkim sformułowanie rzetelnych wniosków o fundamentalnym znaczeniu w obszarze bezpieczeństwa żywności wnioskuję o wyróżnienie rozprawy. Uważam ponadto, że skierowanie uwagi na możliwość wykorzystania wtórnych metabolitów w nowoczesnej chemii analitycznej jest kierunkiem rozwojowym i może być podstawą tworzenia nowych, efektywnych procedur analitycznych, które będzie można efektywnie wykorzystać, jako skuteczne narzędzie w walce ze zjawiskiem fałszowania żywności.

Podpisano odręcznie przez autora

5 grudnia 2025 r.