

dr hab. n. farm. Bartosz Wielgomas, prof. uczelni

Gdańsk, 13 maja 2023

**Recenzja rozprawy mgr. inż. Dawida Kucharskiego na stopień doktora nauk
medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne
pt.: „Oznaczanie związków cynoorganicznych i substancji czynnych leków jako
zanieczyszczeń osadów dennych estuarium Odry”**

Recenzja została sporządzona w odpowiedzi na pismo (RND/RDNF/D-720/1/23) prof. dr. hab. Grzegorza Nałęcz-Jaweckiego – Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 13 marca 2023 roku.

Pracę doktorską oceniłem pod kątem spełnienia kryteriów wskazanych w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Przedmiotowa rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Chemii Leków, Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr hab. n. farm. Joanny Giebułtowicz natomiast promotorem pomocniczym był dr Przemysław Drzewicz.

Rozprawa ma formę wydruku komputerowego, w którym Autor, w pierwszej części przedstawił syntetyczny opis swoich głównych osiągnięć, które zawarte są w pełni w przedrukach publikacji stanowiących drugą część rozprawy. Poza tymi głównymi elementami, w rozprawie znajduje się, zgodnie z wymaganiami art. 187 ustawy prawo o szkolnictwie wyższym, streszczenie w języku angielskim. Jest to zatem tradycyjna forma dla tzw. zszywek. Przedmiot rozprawy stanowi cykl 5 publikacji naukowych z czego 4 to publikacje oryginalne w renomowanych czasopismach o wartościach IF w zakresie od 4,412 do 10,754 oraz jeden rozdział w wydawnictwie Elsevier. Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich pracach oryginalnych natomiast drugim w rozdziale książki. Załączone do każdej publikacji oświadczenia współautorów potwierdzają, że Doktorant miał wiodącą rolę w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu manuskryptów publikacji.

Celem rozprawy doktorskiej było przeprowadzenie oceny zanieczyszczenia estuarium Odry związkami cynoorganicznymi oraz substancjami czynnymi leków a także dokonanie oceny ryzyka środowiskowego. Biorąc pod uwagę charakterystykę Odry jako dużej, granicznej

rzeki, w której dorzeczu znajdują się zakłady przemysłowe (zakłady chemiczne, kopalnia miedzi) oraz zlokalizowane są ośrodki miejskie, podjęcie oceny zanieczyszczenia substancjami, które nie wchodzą w zakres rutynowego monitoringu, jest wysoce pożądane. Potrzeba tego typu badań nabiera wyjątkowego znaczenia w kontekście katastrofy ekologicznej, która dotknęła Odrę latem 2022 roku.

Rozprawa ma charakter analityczny, stąd też ze względu na własne zainteresowania naukowe, z przyjemnością zapoznawałem się z kolejnymi publikacjami przedstawiającymi wysoki poziom analityki z bardzo dużym naciskiem na walidację, kontrolę jakości oznaczeń i dbałość o wiarygodność uzyskiwanych wyników.

Doktorant rozpoczyna rozprawę wstępem, w którym przedstawia charakterystykę obszaru ujścia Odry jako specyficznego środowiska, gdzie znajdziemy bardzo uprzemysłowione tereny zakładów chemicznych, stoczni, portów morskich i rzecznych, ale także ze względu na specyfikę ujścia dużej rzeki, tereny o ogromnej wartości przyrodniczej, znajdujące się w obszarach chronionych Natura 2000.

W dalszej części rozprawy, Doktorant formułuje cel ogólny rozprawy, czyli przeprowadzenie oceny zanieczyszczania osadów dennych estuarium Odry oraz oceny ryzyka dla środowiska naturalnego, wynikającego z obecności tychże substancji. Nakreśla też listę celów szczegółowych, od przeglądu literatury poprzez rozwój nowej metody analitycznej, aż po ocenę oddziaływania wybranych substancji na środowisko.

Rozdział 6 z kolei zawiera opisy metod wykorzystanych w rozprawie, zarówno tych analitycznych, jak i podejścia wykorzystanego do przeprowadzenia oceny ryzyka dla środowiska.

Następnie zaprezentowane są wyniki badań. Część opisową rozprawy kończy syntetyczne podsumowanie osiągnięć i ostateczne wnioski.

Publikacja P1 to praca typowo metodyczna, w której opisano rozwój nowej metody analitycznej opartej o technikę QuEChERS do oznaczania tributyllocyny i trifenylocyny w osadach dennych. Doktorant zastosował do izolacji analitów z liofilizowanych osadów ekstrakcję acetonitrylem a następnie „wysolenie” prowadzące do separacji warstwy organicznej. Zoptymalizowano szereg etapów postępowania analitycznego, którego celem było osiągnięcie wysokiego odzysku oznaczanych substancji przy jednoczesnym uproszczeniu procedury i ograniczeniu zużycia rozpuszczalników, co spełnia kryteria zielonej chemii analitycznej. Zastosowanie spektrometrii mas w połączeniu z chromatografią ciecząową umożliwiło bezpośrednią analizę ekstraktu acetonitrylowego bez konieczności jego

doczyszczania za pomocą dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej, która to jest standardowym elementem pełnej procedury QuEChERS. Do interpretacji ilościowej zastosowano wzorce znakowane izotopowo a wiarygodność uzyskiwanych wyników potwierdzono ostatecznie poprzez analizę certyfikowanego materiału odniesienia BCR646.

Ze względu na metodyczny charakter tej pracy pozwalam sobie, korzystając z prawa recenzenta, zgłosić kilka wątpliwości. W kilku miejscach publikacji przywoływany jest dokument Europejskiej Agencji Leków – Guideline for Process Validation, aczkolwiek autorzy nie umieścili tego źródła w wykazie literatury, a po drugie wskazany z nazwy dokument nie traktuje o walidacji metod analitycznych. W związku z tym proszę o odpowiedź, wg jakich wytycznych prowadzono walidację metody?

Na stronie 9 publikacji, błędnie podana jest jednostka stężenia PAH w osadach. Jest mg/kg, podczas gdy powinno być µg/kg. Dla porównania, w Tabeli A1 jednostka jest prawidłowa.

Na stronie 15 tej samej publikacji pojawia się sformułowanie „it was assumed that OTC compounds were completely extracted from synthetic solution of analytes prepared in MiliQ water? Czy rzeczywiście jest to założenie, czy zostało to sprawdzone doświadczalnie?

Czy nie lepiej byłoby porównać wydajność ekstrakcji poprzez porównanie wielkości sygnału analitycznego uzyskanego z próbek wzbogaconych odpowiednio przed i po ekstrakcji?

Publikacja druga w cyklu (P2) to rozdział z książki. Jest to przegląd metod analitycznych stosowanych w ocenie zanieczyszczenia osadów dennych substancjami o pochodzeniu antropogennym. Jest to interesujące kompendium wiedzy analitycznej przedstawiające przede wszystkim aspekty przygotowania próbek do końcowej analizy instrumentalnej pod kątem obecności szerokiej gamy substancji chemicznych (substancje lecznicze, fenole, związki metaloorganiczne, ftalany, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne) czy też mikroplastiku. Jediną uwagę edytorską, którą wnoszę to tej publikacji jest użycie niewłaściwej nazwy „florosil” zamiast florisil, co prawdopodobnie jest efektem błędnej autokorekty edytora tekstu.

Kolejna publikacja opisana w punkcie 6.3 rozprawy jako P3 obejmuje walidację i porównanie metod analitycznych QuEChERS i ISO 23161, natomiast wg wykazu zamieszczonego na stronie 15 tę tematykę podejmuje publikacja P4 a nie P3 jak jest w tytule tego punktu. W tymże opisie, na stronie 24, pojawia się niefortunne sformułowanie „...ekstrahowano ultradźwiękami”. W tym procesie rolę ultradźwięków jest tylko zwiększenie powierzchni kontaktu międzyfazowego, natomiast analizy są ekstrahowane w każdym przypadku rozpuszczalnikiem.

Ultradźwięki mogą wspomagać proces ekstrakcji. Ten niuans metodyczny jest przez autorów dość dobrze opisany z kolei w publikacji P2.

W trzeciej publikacji (P3) przedstawiono wyniki analiz 70 próbek osadów z tego samego rejonu ujścia Odry, pobranych w latach 2017-2018 pod kątem obecności 130 substancji leczniczych za pomocą metody opracowanej przez dr hab. Joannę Giebułtowicz – promotor tejże rozprawy. W następnym kroku wyniki analiz posłużyły do wyznaczenia współczynników ryzyka, których wartości odzwierciedlają stosunek wartości zmierzonego stężenia (MEC – *maximum measured environmental concentration*) do stężenia uznawanego za niepowodujące efektów szkodliwych (PNEC – *predicted no effect concentration*). Substancjami leczniczymi najczęściej oznaczanymi w badanych osadach dennych były amisulpryd i karbamazepina. Natomiast biorąc pod uwagę grupy farmakologiczne, najczęściej wykrywano substancje przeciwbakteryjne, przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne. O ile wiele z badanych substancji jest często wykrywanych w próbkach tego rodzaju, to moją uwagę przyciągnęły dwie substancje: atropina i pseudoefedryna. Czy Doktorant znajduje uzasadnienie dla obecności tych substancji w osadach dennych, uwzględniając ich właściwości fizykochemiczne oraz ewentualne źródła. Czy substancje te wykrywali też inni badacze w innych rejonach świata? W dalszej części pracy wyznaczono wartości współczynnika ryzyka (RQ) oraz krytycznie przedyskutowano potencjalne źródła niepewności szacowania.

W ostatniej, piątej publikacji z cyklu (P5), przedstawiono wyniki oznaczeń związków cynoorganicznych w próbkach osadu dennego z obszaru ujścia Odry. Tylko w nielicznych próbkach stwierdzono obecność trifenylocyny, natomiast tributyllocyna była obecna w ponad 90% badanych próbek. Najwyższe stężenia zaobserwowano w pobliżu stoczni i portu, natomiast najniższe w obszarach wartościowych przyrodniczo i oddalonych od terenów uprzemysłowionych. Wieloczynnikowa analiza statystyczna z uwzględnieniem oznaczeń metali pozwoliła potwierdzić, że prace renowacyjne w stoczniach są obecnie głównym źródłem związków cynoorganicznych dla środowiska. Jedna uwaga edytorska dotyczy jednostki stężenia substancji badanych w osadach: na wykresie Fig. 2 wartość średnia stężenia w osadzie jest wyrażona w [ng/mL].

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata oraz zdolność do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Oświadczenia współautorów dowodzą, że oprócz wiedzy Doktorant posiada także umiejętności pracy w laboratorium, pracy z danymi eksperymentalnymi i potrafi przygotować manuskrypty publikacji naukowych w bardzo dobrych czasopismach naukowych. Oświadczenia współautorów publikacji dowodzą, że Doktorant pełnił dominującą rolę w ich powstaniu.

Wymienione przeze mnie uchybienia edytorskie i komentarze zamieszczone w tej recenzji nie mają wpływu na moją wysoką ocenę rozprawy doktorskiej mgr. Inż. Dawida Kucharskiego. Przeprowadzone w ramach rozprawy badania rozwiązują konkretny problem naukowy o dużej wartości poznawczej.

Wobec powyższego, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymogi ustawowe stawiane kandydatom do stopnia doktora i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr. inż. Dawida Kucharskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, mając na uwadze wysoką wartość naukową rozprawy oraz opublikowanie wyników badań w bardzo cenionych czasopismach naukowych, wnioskuję o jej wyróżnienie.

