

dr hab. Ksenia Pazdro, prof. nadzw. IO PAN
Instytut Oceanologii PAN
ul. Powstańców Warszawy 55
81-712 Sopot
pazdro@iopan.gda.pl

Sopot, 20 czerwca 2014

RECENZJA
rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Maszkowskiej
pt. „Ocena stopnia rozprzestrzeniania się sulfonamidów i beta-blokerów
w środowisku glebowym”
wykonanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem prof. dr hab. Piotra Stepnowskiego

W ostatnich latach coraz powszechniejsza staje się świadomość zagrożenia środowiska przyrodniczego obecnością pozostałości leków stosowanych masowo w medycynie ludzi i zwierząt oraz produktów ich transformacji. Farmaceutyki po przedostaniu się do środowiska ulegają procesom transportu z wodami, sorpcji na cząstkach zawiesiny, gleb czy osadów dennych. Stopień, w jakim związki chemiczne ulegają sorpcji do gleb i osadów, jest jednym z najważniejszych czynników decydujących o ich rozprzestrzenianiu w środowisku. Gleby narażone są na obecność pozostałości leków głównie w wyniku użyźniania za pomocą osadu czynnego i obornika a także poprzez wypasanie zwierząt. Migracja zanieczyszczeń poprzez struktury glebowe zależy od intensywności ich sorpcji na różnych komponentach gleby. Intensywność sorpcji wpływa na biodostępność pozostałości leków oraz ich trwałość w środowisku glebowym, a zatem odgrywa istotną rolę w narażeniu organizmów żywych na działanie tych zanieczyszczeń. Dla przykładu pozostałości leków szczególnie antybiotyków mogą istotnie wpływać na organizmy, tworzące pętlę mikrobiologiczną, tym samym zaburzając przepływ materii i energii i stanowiąc zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania i stabilności ekologicznej ekosystemu. Ponadto spływ powierzchniowy oraz migracja w glebach powodują, że pozostałości leków mogą trafiać również do wód podziemnych, stanowiąc tym samym zagrożenie również dla zdrowia człowieka. Z tych względów badanie obecności i stopnia rozprzestrzeniania farmaceutyków w środowisku glebowym jest niezmiernie istotnym zagadnieniem. Pomimo to, liczba prac dotyczących procesów sorpcji (w tym wyjaśnienia ich mechanizmów i czynników środowiskowych wpływających na procesy sorpcji farmaceutyków do matryc stałych) jest wciąż niewielka. Istniejące dane sugerują złożone zachowanie się tych związków w środowisku glebowym, wiedza na ten temat jest jednak nadal ograniczona, zatem **tematyka badań podjętych przez Doktorantkę jest bardzo aktualna i w pełni uzasadniona z poznawczego punktu widzenia.**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr Joanny Maszkowskiej została wykonana pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Piotra Stepnowskiego w Katedrze Analizy Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Praca składa się z wstępnego opracowania oraz cyklu publikacji. 30 stronicowe zwięzłe opracowanie zawiera wprowadzenie do zagadnień poruszanych w rozprawie, cel i zakres prac, najistotniejsze uzyskane wyniki jak również wnioski wynikające z badań przedstawionych w załączonych publikacjach. Cykl publikacji, składających się na rozprawę to 4 artykuły opublikowane w czasopiśmie z bazy JCR – (Science of the Total Environment (IF=3,789); Journal of Hazardous Materials (IF=4,679); Chemosphere (IF=3,634). Ponadto 1 artykuł znajduje się w trakcie procesu wydawniczego i został umieszczony jako materiał uzupełniający.

Jako główny cel prowadzonych badań Doktorantka uznała określenie stopnia rozprzestrzeniania się wybranych farmaceutyków z grupy sulfonamidów (sulfaguanidyny, sulfadimetoksyny oraz sulfisoksazolu) oraz beta-blokerów (propranololu, metoprololu, nadololu) w środowisku glebowym. Zarówno leki β -adrenolityczne jak i sulfonamidy są powszechnie stosowane, ich obecność została zidentyfikowana w próbkach środowiskowych o różnym składzie matrycy, ale wiedza o ich losie środowiskowym jest stosunkowo niewielka. Ponadto w ramach prowadzonych prac Doktorantka postanowiła dokonać kompleksowej oceny toksyczności leków z grupy beta-blokerów wobec organizmów z różnych poziomów troficznych.

Prace eksperymentalne zostały przez Doktorantkę prawidłowo zaplanowane poprzez wyznaczenie celów szczegółowych oraz wykonane w staranny sposób co pozwoliło na realizację głównego celu rozprawy.

Zakres prac obejmował :

- określenie stopnia adsorpcji/desorpcji wybranych farmaceutyków w glebach różnego typu na podstawie izoterm sorpcji

- sprawdzenie dopasowania uzyskanych wyników do wybranych modeli izoterm (izoterma Freundlicha, izoterma Langmuira, izoterma Temkina oraz izoterma Dubinina-Raduszkiewicza).

- ustalenie mobilności badanych związków w teście dynamicznym i statycznym

- określenie wpływu warunków środowiskowych, takich jak pH gleby, siła jonowa oraz temperatura na proces adsorpcji/desorpcji badanych sulfonamidów i beta-blokerów

oraz

- przeprowadzenie testów toksyczności farmaceutyków z grupy beta-blokerów w stosunku do 4 grup organizmów z różnych poziomów troficznych: bakterii morskich z gatunku *Vibrio fischeri*, bakterii glebowych z gatunku *Arthrobacter globiformis*, glonów - zielenic z gatunku *Scenedesmus vacuolatus* oraz rośliny naczyniowej z gatunku *Lemna minor*.

Badania wykonano zgodnie z procedurami zaproponowanymi przez Organizację Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD) oraz Niemiecki Instytut Normalizacyjny (DIN) co zapewniło, zgodnie z zaleceniami Europejskiej Agencji Leków, uzyskanie wysokiej jakości danych (kategoria I procedur – dane o najwyższej jakości wiarygodności w ocenie ryzyka ekotoksykologicznego).

Uzyskane wyniki zostały omówione w sposób zwięzły w ramach wstępnego opracowania jak również w sposób rzeczowy, merytorycznie poprawny i wyczerpujący w poszczególnych artykułach naukowych stanowiących rozprawę.

Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki, przedstawione w rozprawie i zawierające element nowości naukowej, uważam:

- wyznaczenie wartości równowagowych współczynników sorpcji dla badanych beta-blokerów w glebach o różnym składzie [P1]
- określenie zależności wartości współczynnika sorpcji dla beta-blokerów od właściwości gleby (zawartość materii organicznej, zawartość frakcji ilastej, pojemność wymiany kationowej) i właściwości badanych beta-blokerów [P1]
- **wykazanie niskiego potencjału sorpcyjnego/wysokiej mobilności badanych sulfonamidów w glebach co wskazuje na znaczną biodostępność tych leków w glebach oraz możliwość łatwego przenikania do wód powierzchniowych i gruntowych [P2]**
- wykazanie mniejszej mobilności beta-blokerów w testowanych glebach w porównaniu do badanych sulfonamidów, co może ograniczać ich biodostępność [P1, P2]
- **rozpoznanie mechanizmów sorpcji beta-blokerów i sulfonamidów na cząstkach gleby [P1, P2, P3]**
- wykazanie na przykładzie sulfonamidów przydatności badań prowadzonych zarówno w układzie statycznym jak i dynamicznym do uzyskania wiarygodnej informacji na temat mobilności polarnych związków organicznych w glebach o różnym składzie [P2]
- **udowodnienie (na przykładzie propranololu, sulfaguanidyny i sulfadimetoksyny) wpływu temperatury na proces sorpcji badanych farmaceutyków do gleby w zależności od formy, w jakiej występują [P3]**
- stwierdzenie niskiej toksyczności ostrej badanych beta-blokerów wobec testowanych organizmów, w szczególności udowodnienie w teście z zastosowaniem bakterii glebowych, że sorpcja beta-blokerów na cząstkach gleby może znacząco hamować efekt szkodliwy wobec testowanych organizmów [P4]

W trakcie lektury rozprawy nasunęło mi się kilka uwag i komentarzy, które przedstawiam poniżej:

- Prosiłabym o uściślenie kryterium dobrania leków będących przedmiotem rozprawy, szczególnie w odniesieniu do sulfonamidów. Czy dostępne są dane literaturowe dotyczące badania stopnia rozprzestrzeniania się w środowisku glebowym (w szczególności badań sorpcji) sulfametoksazolu, związku powszechnie identyfikowanego w próbkach środowiskowych?

- czy w przypadku gleb z regionu pomorskiego wykonywane były oznaczenia ich składu chemicznego?

- w jaki sposób wykonywano analizę granulometryczną gleb (określenie udziału frakcji ilastej) [P1,P3]

- Jaki był powód „rozcierania” próbek gleby i wydzielenia frakcji o średnicy ziaren < 2 mm próbek przez wykonaniem testów dotyczących sorpcji i mobilności i czy nie miało to wpływu to na wnioski końcowe? [P1]

- Doktorantka podaje, że zawartość węgla organicznego w próbkach gleby była obliczana jako strata przy prażeniu (ang. *loss on ignition*), w rzeczywistości strata przy prażeniu to zawartość materii organicznej. Niektórzy autorzy na podstawie straty przy prażeniu podają szacunkową zawartość węgla organicznego w próbce stosując odpowiednie adekwatne do matrycy współczynniki, pozwalające na matematyczne określenie zależności pomiędzy zawartością materii organicznej i węgla organicznego. Proszę o uściślenie tej kwestii w odniesieniu do podanych w rozprawie wartości.

- interesujące są wyniki testu toksykologicznego z wykorzystaniem gram-dodatnich bakterii glebowych z gatunku *Arthrobacter globiformis*. Test polega na badaniu zdolności substancji chemicznej do hamowania aktywności dehydrogenazy bakteryjnej. Zastosowano dwa warianty doświadczenia - z dodatkiem oraz bez frakcji stałej (gleby). Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wskazują, że sorpcja zanieczyszczeń na cząstkach gleby może znacząco hamować efekt szkodliwy. Czy w przypadku tych doświadczeń możliwe było oznaczenie stężenia frakcji potencjalnie biodostępnej beta-blokerów czyli rozpuszczonej?(tak jak miało to miejsce w przypadku testów z wykorzystaniem bakterii z gatunku *Vibrio fischeri*). Prosiłabym Doktorantkę o krótkie przedstawienie przebiegu testów z wykorzystaniem bakterii z gatunku *Arthrobacter globiformis*.

Doktorantka popełniła w tekście wprowadzającego opracowania niewiele błędów nomenklaturowych i stylistycznych, które zostały zaznaczone w egzemplarzu rozprawy.

Podsumowanie

Wymienione wyżej uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Doktorantka zrealizowała bardzo obszerny program badań, uzyskując nowatorskie wyniki i wykazała się umiejętnością właściwej, wyczerpującej interpretacji zebranego materiału badawczego. Badania zostały zaprezentowane w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania. Według przedstawionych mi dokumentów, całkowity dorobek pani magister Maszkowskiej obejmuje współautorstwo 10 prac oryginalnych w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej, 1 rozdziału w książce, 6 prac w materiałach konferencyjnych oraz 29 doniesień na konferencjach krajowych i zagranicznych (w tym 5 wystąpień ustnych). Kolejny artykuł znajduje się w trakcie procesu wydawniczego. W przypadku czterech artykułów, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, pani mgr Maszkowska jest ich pierwszym ich autorem, co w połączeniu z załączonymi oświadczeniami wskazuje na wiodącą rolę Doktorantki w przedstawionych mi do oceny badaniach. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki oceniam również jako istotny wkład w poznanie losu pozostałości farmaceutyków w poszczególnych elementach środowiska przyrodniczego. Wiedza w tym zakresie ma zasadnicze znaczenie w miarodajnej ocenie skutków obecności tych związków w środowisku przyrodniczym i prawdopodobieństwa wystąpienia odległych efektów toksycznych.

Reasumując, po zapoznaniu się z całością pracy, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca Pani mgr Joanny Maszkowskiej spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim i określone w ustawie o stopniach i tytule naukowym (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r o stopniach i tytule naukowym z późn. zm.). Wnioskuje zatem o dopuszczenie Pani mgr Joanny Maszkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Ksenia Pazdro