

prof. dr hab. Renata Gadzała-Kopciuch
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Chemii
Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitik
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

Recenzja

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

Praca doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej, pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Sylwii Bajkacz, prof. PŚ. Zespół, w którym Pani mgr inż. Klaudia Stando realizowała swoją rozprawę doktorską, cieszy się uznaną renomą i ma na koncie szereg znakomitych publikacji, dotyczących istotnych zagadnień we współczesnej chemii analitycznej.

Ocena wyboru tematyki badawczej

Tematyka rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Klaudii Stando zatytułowana *Opracowanie i zastosowanie nowych procedur analitycznych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń oraz produktów ich transformacji w środowisku* jest odpowiedzią na współczesne wyzwania stawiane chemii analitycznej w zakresie chemii środowiska. W dobie dynamicznie rosnącej konsumpcji środków farmaceutycznych, w tym szczególnie środków bakteriobójczych (AMs), ich obecność w środowisku naturalnym staje się nie tylko problemem lokalnym, ale również globalnym. AMs oraz produkty ich transformacji (TPs) trafiają do wód powierzchniowych, gleby, a nawet roślin, powodując nie tylko zanieczyszczenie środowiska, ale także sprzyjając rozwojowi oporności bakterii na leki – zjawiska, które stanowi jedno z największych zagrożeń dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Temat rozprawy doktorskiej wyróżnia się także praktycznym zastosowaniem opracowanych metod do badania próbek środowiskowych (np. wody, gleby, tkanki roślinne) oraz identyfikacji głównych źródeł zanieczyszczeń, takich jak oczyszczalnie ścieków czy nawozy odzwierzęce. Wskazanie tych źródeł oraz analiza ich wpływu na środowisko mają istotne znaczenie dla opracowania skuteczniejszych strategii zapobiegania i ograniczania zanieczyszczeń.

Rozprawa doktorska skupia się na rozwijaniu nowych procedur analitycznych, które umożliwiają precyzyjne oznaczanie zarówno pierwotnych zanieczyszczeń, jak i ich produktów transformacji. W tym kontekście wyzwaniem jest nie tylko ograniczona możliwość analizy celowanej, ale także brak odpowiednich substancji wzorcowych dla wielu produktów przemian. Stosując zaawansowane techniki, takie jak chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS), praca poszerza istniejące

możliwości badawcze, wprowadzając podejście umożliwiające analizę przesiewową i niecelowaną.

Podjęta w rozprawie doktorskiej tematyka wypełnia istotną lukę w badaniach dotyczących nie tylko środków bakteriobójczych, ale również produktów ich transformacji, które – choć mniej znane – mogą wykazywać silniejszy wpływ toksyczny na środowisko. Propozycja zastosowania innowacyjnych technologii, takich jak fotokataliza czy fitoremediacja, podkreśla praktyczny wymiar pracy, wskazując potencjalne rozwiązania problemów związanych z oczyszczaniem wód i ścieków. Podsumowując, uważam, że tematyka rozprawy doktorskiej odpowiada na aktualne wyzwania badawcze i społeczne, oferując nowoczesne, kompleksowe narzędzia analityczne do badania zanieczyszczeń i ich przemian w środowisku. Tym samym praca przyczynia się do lepszego zrozumienia losów środków farmaceutycznych w ekosystemach oraz dostarcza cennych wskazówek dla chemii środowiska.

Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Klaudii Stando ma formę spójnego tematycznie zbioru dziewięciu artykułów (oznaczonych kolejno od **P1** do **P9**), które ukazały się w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym:

- *Chemosphere* 2021, 283, 131189 (IF=8,943),
- *Sci. Total. Environ.* 2022, 808, 152114-152114 (IF=10,753),
- *Molecules* 2021, 26(24), 1-16 (IF=4,927),
- *Sci. Rep.* 2022, 12, 17529 (IF=4,996),
- *Molecules* 2022, 27(14), 1-20 (IF=4,927),
- *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 1-18 (IF=4,614),
- *Environ. Sci. & Pollution Res.* 2023, 30, 112922-112942 (IF=5,800),
- *Int. J. Phytoremediation* 2023, 26(7), 1027-1037 (IF= 3,700),
- *J. Photochem. Photobiol. A* 2024, 453, 115651 (IF=4,300).

Artykuły stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej to prace eksperymentalne o łącznym współczynniku oddziaływania wynoszącym 52,96. We wszystkich publikacjach Pani mgr inż. Klaudia Stando występuje jako pierwszy autor, a w czterech (**P3**, **P5**, **P6** i **P9**) pełni także rolę autora korespondencyjnego. Załączone oświadczenia współautorów jednoznacznie potwierdzają kluczowy wkład Doktorantki w przygotowanie poszczególnych artykułów. Cykl ten poprzedza 104-stronicowy komentarz, składający się z dwóch głównych rozdziałów: *Konspekt badawczy i przegląd literatury* oraz *Wyniki badań i ich znaczenie*, które zostały poprzedzone *Abstraktem* w języku polskim i angielskim, *Spisem treści*, *Spisem skrótów i akronimów*, *Listą jednotematycznych publikacji*, *Wkładem autorskim Doktorantki* oraz *Celem pracy* połączonym z zakresem badań i tezami rozprawy doktorskiej. Natomiast po omówieniu wyników badań, Doktorantka zamieściła nienumerowane rozdziały: *Podsumowanie i wnioski*, *Bibliografia* (171 pozycji literaturowych), *Dorobek naukowy* oraz

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej. Dołączone na końcu rozprawy doktorskiej kopie artykułów zostały opatrzone oświadczeniami współautorów tych publikacji, których nie wskazano w spisie treści.

W przedstawionym do recenzji materiale dołączono wykaz pozostałych osiągnięć naukowych Pani mgr inż. Klaudii Stando, obejmujących: publikacje (7 artykułów poza cyklem publikacji zgłoszonych do rozprawy doktorskiej), dwie monografie (wydane przez PWN i Springer Nature), wystąpienia konferencyjne w formie komunikatów i posterów, udział w projekcie OPUS 14 (NCN) jako wykonawca oraz czterech projektach (trzy dla Młodych Naukowców i jeden na rozpoczęcie nowej tematyki badawczej – IDUB), w których Doktorantka była kierownikiem. Dorobek publikacyjny, wystąpienia na konferencjach krajowych i zagranicznych oraz kierowanie projektami wydziałowymi wskazują na wysokie zaangażowanie Pani mgr inż. Klaudii Stando w działalność naukową.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Klaudii Stando porusza niezwykle istotny i aktualny problem związany z obecnością środków bakteriobójczych (AMs) w środowisku naturalnym, a szczególnie z ich wpływem na poszczególne ekosystemy. Zanieczyszczenie środowiska tymi substancjami stanowi poważne zagrożenie, zwłaszcza w kontekście rosnącej oporności mikroorganizmów na te środki, co może negatywnie wpłynąć na zdrowie ludzi, zwierząt oraz równowagę ekologiczną. W odpowiedzi na te wyzwania, Doktorantka postawiła sobie cel opracowania nowych, zaawansowanych metod analitycznych, które umożliwią dokładną analizę wybranych AMs oraz ich produktów transformacji (TPs) w próbkach środowiskowych. Pod względem analitycznym należy z satysfakcją stwierdzić, że postawiony cel był ambitny, a zaplanowane eksperymenty zostały logicznie ułożone. Kolejność podejmowanych działań świadczy o metodycznym podejściu do tematu. Zastosowany warsztat aparaturowy również zasługuje na uznanie. Wykorzystana aparatura badawcza jest nowoczesna i odpowiednia do realizacji założonych zadań badawczych.

Trzydziestostronicowe wprowadzenie stanowi wysokiej jakości, merytoryczną i starannie zorganizowaną analizę literatury przedmiotu. Analiza ta obejmuje zarówno przegląd dotychczasowych badań, jak i ustalanie obszarów niewystarczająco zbadanych, co wskazuje na umiejętność krytycznego podejścia do dostępnej wiedzy. Doktorantka trafnie wskazuje na rosnące znaczenie monitorowania losów środków farmaceutycznych, w tym środków bakteriobójczych (AMs), w środowiskach wodnym oraz lądowym, podkreślając ich związek z problemem lekooporności bakterii. Zwrócenie uwagi na dynamiczny rozwój tego zagadnienia, w kontekście wzmożonej konsumpcji AMs, świadczy o dobrej znajomości aktualnych problemów ekologicznych. Pani mgr inż. Klaudia Stando słusznie zauważa, że analiza celowana, mimo jej powszechnego stosowania, jest niewystarczająca do pełnej oceny stanu środowiska, szczególnie w odniesieniu do związków, dla których brak jest substancji wzorcowych. Co więcej, wyjaśnienie problemu produktów transformacji (TPs), które powstają w wyniku przemian AMs pod wpływem czynników środowiskowych, wprowadza istotną kwestię trudności w identyfikacji i ocenie potencjalnych zagrożeń wynikających z ich obecności w środowisku. Wnioski zawarte w tym fragmencie świadczą

o wysokim poziomie wiedzy merytorycznej i uwzględniają aktualne wyzwania, z jakimi borykają się analitycy w badaniach nad środkami bakteriobójczymi w środowisku.

Doktorantka podjęła się realizacji tematyki o istotnym znaczeniu środowiskowym, oceniając zarówno źródła uwalniania AMs (m.in. oczyszczalnie ścieków, spływy rolnicze), jak i ich rozprzestrzenianie, mobilność oraz akumulację w ekosystemach. W sposób kompleksowy przeanalizowała dwa kluczowe źródła punktowego zanieczyszczenia środowiska środkami bakteriobójczymi, w tym oczyszczalnie ścieków oraz spływy z pól rolnych nawożonych obornikiem zwierzęcym. W wyniku szczegółowej analizy raportów oraz danych dotyczących spożycia leków w Polsce, wytypowała grupę 22 AMs najczęściej stosowanych w medycynie i weterynarii, co świadczy o doskonałej znajomości przedmiotu badań oraz umiejętności identyfikacji priorytetowych zagadnień badawczych.

Opracowane metody analityczne z wykorzystaniem LC-MS/MS do oznaczania AMs w różnych matrycach środowiskowych (wody, ścieki, gleby, tkanki roślinne) [P1-P9] stanowią istotny wkład w rozwój nowoczesnych technik badawczych. Opracowanie efektywnych metod dla 20 spośród 22 wytypowanych AMs, pomimo trudności związanych z niestabilnością β -laktamów, świadczy o zaawansowanych umiejętnościach analitycznych Doktorantki oraz dogłębnej znajomości właściwości badanych związków. Co więcej, metody te umożliwiły precyzyjną identyfikację i ilościowe oznaczanie AMs oraz ich produktów transformacji (TPs) w różnych matrycach środowiskowych, potwierdzając wysoki poziom znajomości zaawansowanych metod i technik analitycznych. Wyniki uzyskane dzięki tym metodom znacząco poszerzają aktualną wiedzę na temat zachowania AMs i TPs w środowisku, dostarczając cennych informacji o ich mobilności, akumulacji i degradacji.

Przeprowadzone badania potwierdziły, że losy AMs w środowisku są determinowane przez ich właściwości fizykochemiczne. Obserwacje dotyczące mobilności oraz biodostępności wybranych AMs, takich jak sulfametoksazol (SMX), doksycyklina (DOX) czy enrofloksacyna (ENF), w glebie [P4, P7] i roślinach uprawnych (tj. pietruszka zwyczajna) [P5, P6, P8] dostarczają cennych informacji o potencjalnych ścieżkach ich dystrybucji. Wyniki te mają istotne znaczenie praktyczne, szczególnie w kontekście zarządzania odpadami rolniczymi oraz minimalizowania ryzyka akumulacji AMs w środowisku.

Badania realizowane w ramach rozprawy doktorskiej wprowadzają również nowe rozwiązania w zakresie metod usuwania AMs ze ścieków i wód powierzchniowych. Przeprowadzone badania nad fotokatalizą heterogeniczną [P3, P9] oraz fitoremediacją [P6, P8] wykazały, że są to obiecujące technologie, choć wymagają dalszego rozwoju. Zwrócenie uwagi na ograniczenia tych metod, takie jak dezaktywacja katalizatora w fotokatalizie czy specyficzne wymagania fitoremediacji, wskazuje na rzetelność i krytyczne podejście Doktorantki do zaproponowanych rozwiązań.

Bardzo istotnym osiągnięciem pracy jest zidentyfikowanie aż 119 produktów transformacji AMs w różnych matrycach środowiskowych. Wyniki te stanowią cenny wkład

w światową literaturę na temat przemian farmaceutyków w środowisku, ich potencjalnej akumulacji oraz ekotoksyczności. Stwierdzenie, że TP's mogą być bardziej stabilne i trudniejsze do usunięcia niż ich macierzyste związki, podkreśla konieczność kontynuacji badań w tym kierunku, szczególnie pod kątem wpływu TP's na zdrowie ludzi i organizmów żywych.

Podsumowując, przeprowadzone przez Panią mgr inż. Klaudię Stando badania zostały dobrze zaplanowane, starannie przeprowadzone, a ich rezultaty wnoszą istotny wkład w zakresie chemii analitycznej oraz ekotoksykologii. Uzyskane wyniki i wyciągnięte na ich podstawie wnioski potwierdzają wysoki poziom zaangażowania Doktorantki oraz jej zdolność do realizacji interdyscyplinarnych i złożonych zadań badawczych.

Uwagi szczegółowe

Recenzent, oprócz docenienia wartości merytorycznych, innowacyjności oraz rzetelności przeprowadzonych badań, ma również odpowiedzialność wobec środowiska naukowego oraz instytucji nadzorujących proces awansu naukowego. Jego rola polega nie tylko na wskazaniu mocnych stron rozprawy doktorskiej, ale także na konstruktywnej krytyce w zakresie ewentualnych błędów merytorycznych, metodologicznych czy innych aspektów wymagających uwagi. W przypadku tej rozprawy doktorskiej należy podkreślić, że nie zawiera ona istotnych błędów ani niedociągnięć, a całość pracy została starannie opracowana, a przeprowadzone badania są merytorycznie poprawne. Niemniej jednak, w trakcie publicznej obrony chciałabym podjąć dyskusję na temat kluczowych aspektów związanych z wynikami uzyskanymi w ramach realizacji zadań badawczych, zwłaszcza w kontekście ich praktycznego zastosowania oraz potencjalnego wpływu na dalszy rozwój badań w tej dziedzinie. W związku z powyższym chciałabym zapytać:

- jakie kryteria były brane pod uwagę przy wyborze 22 wybranych AMs do badania? Czy brane były pod uwagę również inne substancje, które mogłyby być istotne z punktu widzenia zanieczyszczeń środowiskowych?
- jakie wzorce wewnętrzne w przypadku analiz LC-MS/MS były stosowane? Jeżeli były stosowane, to jakie?
- w jaki sposób skuteczność oczyszczania ścieków z pozostałości AMs w różnych oczyszczalniach zależała od ich specyfiki (np. stężenie, skład ścieków)? Czy przeprowadzone badania wskazują na jakieś sposoby poprawy efektywności oczyszczania?
- jakie konkretne właściwości fizykochemiczne AMs w oborniku decydują o ich mobilności i akumulacji w glebie?
- czy w badaniach nad fitoremediacją i fotokatalizą heterogeniczną zauważyła Pani jakieś szczególne ograniczenia tych metod? Czy inne metody oczyszczania wody były brane pod uwagę?
- jakie są potencjalne zagrożenia dla środowiska związane z obecnością produktów transformacji AMs w wodach powierzchniowych i glebie?
- w jaki sposób Pani wyniki dotyczące produktów transformacji AMs mogą wpłynąć na rozwój przyszłych badań w zakresie ekotoksyczności tych związków?

W kontekście przedstawionego cyklu spójnych tematycznie publikacji, chciałbym zaznaczyć, że wyniki, wzory czy rysunki, które zostały już opublikowane w ramach poszczególnych artykułów, nie powinny być powielane w komentarzu do tych prac, jeśli są one bezpośrednio zawarte w publikacjach. Tego rodzaju powielanie prowadzi do sztucznego zwiększenia objętości rozprawy doktorskiej co znacząco utrudnia jej ocenę. Ponadto, zauważyłem, że zamieszczone w rozprawie doktorskiej publikacje nie posiadają *Supplementary*, które stanowią istotne uzupełnienie publikacji. Zastanawiam się, dlaczego nie zostały one dołączone, szczególnie biorąc pod uwagę ich potencjalną wartość merytoryczną w kontekście opisywanych wyników. Proszę także o wyjaśnienie użytych w komentarzu terminów: *mocny utleniacz*, *pobór próbki* czy *struktur molekularnych*.

Przytoczone uwagi nie mają w żadnej mierze negatywnego charakteru i nie wpływają na moją pozytywną ocenę oraz jakość przeprowadzonych przez Doktorantkę badań.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Praca doktorska Pani mgr inż. Klaudii Stando pt. *Opracowanie i zastosowanie nowych procedur analitycznych do oznaczania wybranych zanieczyszczeń oraz produktów ich transformacji w środowisku* to przykład starannie przeprowadzonego, kompleksowego i innowacyjnego badania naukowego. Rozprawa wyróżnia się spójnością, przemyślaną koncepcją eksperymentalną oraz nowatorskim podejściem, które wzbogaca obecny stan wiedzy w dziedzinie chemii analitycznej i chemii środowiska. Wysoka jakość merytoryczna oraz liczba opublikowanych oryginalnych prac w uznanych międzynarodowych czasopismach świadczą o dużym wkładzie Doktorantki w rozwój nauki.

Przeprowadzone badania dostarczają cennych informacji o źródłach, mobilności, akumulacji oraz transformacji zanieczyszczeń środowiskowych, w tym środków bakteriobójczych (AMs) i ich produktów transformacji (TPs). Wyniki prac mają nie tylko znaczenie teoretyczne, ale także praktyczne, otwierając nowe perspektywy w zakresie monitorowania środowiska oraz remediacji gleb. Przedstawiona rozprawa doktorska świadczy o wysokim poziomie wiedzy merytorycznej, umiejętności badawczych oraz zaangażowania Doktorantki w realizację celu naukowego.

Na podstawie przeprowadzonej oceny uważam, że rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, zarówno pod względem treści, jak i formy. Jest zgodna z kryteriami określonymi w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2023 r. *o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (tekst jedn. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późniejszymi zmianami). W związku z tym, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o dopuszczenie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Klaudii Stando do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Renata Gadzińska-Kopciuch

Toruń, dnia 28 listopada 2024 r.