

Gdańsk, 10 lipca 2024 r.

prof. hab. dr inż. Agata Kot-Wasik
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jakuba Maculewicz z tytułem
„Biokoncentracja związków chemicznych obdarzonych ładunkiem – analityka,
ocena metodami in vitro oraz in vivo” wykonanej
w Katedrze Analizy Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
pod kierunkiem promotora pani profesor uczelni dr hab. inż. Anny Białk-Bielińskiej**

Niniejsza recenzja wykonana została na podstawie pisma T000-ISZ/WCh-546/24.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska autorstwa Pana mgr. Jakuba Maculewicz obejmuje wszechstronnie przeprowadzone badania prowadzące do poznania i zrozumienia losu środowiskowego związków chemicznych obdarzonych ładunkiem, takich jak ciecze jonowe czy produkty transformacji leków.

Uzasadnienie podjętej tematyki.

Od ponad pięćdziesięciu lat społeczeństwo zauważa problem potencjalnego długoterminowego szkodliwego efektu substancji wprowadzanych do środowiska uznanych za trwałe w środowisku, wykazujących wysoki potencjał do bioakumulacji i biowzbogacania oraz niestety toksycznych. Ocena procesów bioakumulacji/biowzbogacania jest istotna ze względu na długofalowe zagrożenie dla organizmów czego doskonałym acz niechlubnym przykładem może być powszechnie znany, a w przeszłości szeroko stosowany na całym świecie pestycyd DDT. Nic więc dziwnego, że ocena potencjału związku do bioakumulacji jest istotnym parametrem w ocenie ryzyka środowiskowego i uwarunkowań prawnych dotyczących ochrony środowiska. Organizmy mogą akumulować substancje chemiczne bezpośrednio z otaczającego je środowiska lub też z pożywieniem. Przyzwyczajaliśmy się myśląc i mówiąc o bioakumulacji czy biowzbogacaniu do tego, iż proces dotyczy związków lipofilowych (hydrofobowych). Nawet więcej: modele przewidujące/opisujące potencjał do bioakumulacji bazują na parametrach

fizykochemicznych, które mogą być w prosty sposób wyznaczone (współczynnik podziału oktanol-woda ($\log K_{ow}$)). Modele takie dobrze sprawdzają się w przypadku związków hydrofobowych, natomiast w przypadku związków obdarzonych ładunkiem mogą dostarczać błędnych informacji, co wynika z faktu, iż klasyczne podejścia oparte na współczynniku podziału $\log K_{ow}$ nie uwzględniają wystarczająco oddziaływań jonowych pomiędzy organicznymi jonami a biomolekułami odpowiedzialnymi za proces bioakumulacji, oraz oddziaływaniami pomiędzy jonami w roztworze.

Od dwudziestu lat ciecze jonowe otwierają nowe możliwości przed współczesną technologią chemiczną są sukcesywnie wprowadzane do środowiska. Dlaczego? Ciecze jonowe doskonale wpisują się w założenia zielonej chemii. A ponadto zaskakują różnymi właściwościami użytkowymi: można w nich utrzymywać tkanki miękkie, używać jako detergentów pokarmowych czy przyspieszaczy wulkanizacji. Do zalet zalicza się praktycznie niemierzalną prężność par w warunkach umiarkowanych - wpływa to korzystnie na bezpieczeństwo stosowania ich jako rozpuszczalników, a jednocześnie eliminuje emisję par do środowiska naturalnego. Brak lotności z kolei, w połączeniu z umiarkowaną niską palnością cieczy jonowych, znacznie zmniejsza zagrożenie pożarem lub wybuchem, w porównaniu do tradycyjnych rozpuszczalników organicznych. Większość cieczy jonowych wykazuje wysoką stabilność termiczną - w zdecydowanej większości są to ciecze niepalne. Ciecze jonowe przewodzą prąd elektryczny - nic więc dziwnego, że znalazły zastosowanie jako elektrolity. Jeszcze nigdy w historii chemii nie mieliśmy tak olbrzymiego obiektu badań z dostępnymi źródłami substratów (kationów jak i anionów). Dla wielu związków jonowych posiadamy szczegółową wiedzę na temat ich dostępności, ceny, właściwości fizykochemicznych, biologicznych, aż do toksyczności, ale czy wiemy co się dzieje z tymi związkami obdarzonymi ładunkiem po wprowadzeniu do środowiska? Podobne pytanie dotyczące problemu bioakumulacji pojawia się przy kwestii zachowania się produktów transformacji leków w środowisku. Chęć ocena stopnia tego procesu z wykorzystaniem metod *in vitro* oraz *in vivo* stała się przyczynkiem do powstania przedłożonej mi do recenzji pracy doktorskiej.

Podjęta w rozprawie doktorskiej tematyka badań jest aktualna.

Cel nadrzędny składał się z celów szczegółowych, czyli powiązany był z opracowaniem i walidacją metod analitycznych umożliwiających oznaczenie wybranych kationów cieczy

jonowych z użyciem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej i izolację wybranych analitów z próbek, ocenę powinowactwa wybranych analitów z grupy cieczy jonowych i produktów transformacji leków do lipidów membranowych (metodą *in vitro*) oraz ocenę bioakumulacji (czy jak to określił autor rozprawy doktorskiej: biokoncentracji) wybranych kationów cieczy jonowych (metodą *in vivo*).

Pod względem analitycznym muszę z satysfakcją stwierdzić, iż cel postawiony został wysoko, doceniam zaplanowane logicznie eksperymenty, kolejność podejmowanych zadań świadcząca o metodycznym podejściu. Zastosowany warsztat aparaturowy także wzbudził moje uznanie. Wykorzystana aparatura badawcza jest nowoczesna.

W konsekwencji Autor badań postawił sobie ambitny cel, który zrealizował i przedstawił w postaci rozprawy doktorskiej. Jest ona (ta rozprawa doktorska) oparta na podstawie cyklu siedmiu publikacji powiązanych tematycznie. Na cykl składają się trzy publikacje o charakterze przeglądowym, oznaczone przez pana mgr. Jakuba Maculewicza jako P1÷P3 oraz cztery publikacje oryginalne, typowo eksperymentalne, oznaczone jako P4÷P7.

Ocena formalnej strony pracy doktorskiej.

Z formalnego punktu widzenia oceniana rozprawa doktorska obejmuje łącznie 205 stron maszynopisu podzielonego na następujące rozdziały:

- streszczenie (w języku polskim i angielskim) – jednostronicowe, dobrze napisane kompendium oddające to, co zostało zawarte w pracy,
- spis treści,
- wstęp – czyli krótkie omówienie tematyki pracy,
- część literaturową – syntetyczne omówienie podstawowych problemów będących tematyką przewodnią rozprawy doktorskiej,
- cel pracy – jasno i zwięźle sformułowany cel postawiony do osiągnięcia,
- część eksperymentalna – obszerny materiał składający się z wyczerpująco opisanych prac eksperymentalnych, w tym zawierający schemat prowadzonych badań, sposób prowadzenia walidacji metod czy badań biokoncentracji;
- wyniki i dyskusja – ten rozdział podsumowuje i omawia to, co Autor zawarł w publikacjach,

- podsumowanie – zwięzły, treściwy materiał, będący ciekawą klamrą spinającą całość;
- literatura – czyli materiał cytowany w rozprawie doktorskiej, starannie dobrany w liczbie łącznie 102 pozycje (*jeśli dobrze policzyłam, literatura bowiem nie jest ponumerowana, lecz ułożona alfabetycznie*). Ta literatura dotyczy materiału będącego wstępem do zawartych dalej siedmiu powiązanych w cykl publikacji;
- prace autorstwa czy raczej współautorem których jest pan mgr Jakub Maculewicz;
- oświadczenia współautorów
- wyszczególniony dorobek naukowy Autora rozprawy doktorskiej.

Muszę podkreślić, iż tekst rozprawy został napisany poprawnym językiem, a Autor zadbał o poprawność zarówno pod kątem merytorycznym, jak i językowym. Tylko nieliczne niedociągnięcia nie są wręcz warte ujmowania w niniejszej recenzji poza dwiema kwestiami:

Pierwsza to brak wykazu skrótów. Wprawdzie pan J. Maculewicz wyjaśnia znaczenie stosowanych skrótów zawsze kiedy tylko pojawia się on po raz pierwszy, jednak przygotowanie takiego wykazu byłoby przydatnym rozwiązaniem. Druga kwestia to stosowane określenie: biokoncentracja. W literaturze anglojęzycznej funkcjonują takie określenia jak: *bioconcentration*, *bioaccumulation*, *biomagnification*. W literaturze poskojęzycznej spotykamy się z szeregiem określeń, takich jak biokoncentracja, bioakumulacja, biomagnifikacja, biowzbogacanie. Prosiłabym o usystematyzowanie i wyjaśnienie tych określeń.

Forma graficzna jest pracy poprawna, rysunki i tabele są czytelne, opatrzone poprawnymi podpisami, całość została przemyślana i przygotowana w moim odczuciu starannie.

Omówienie osiągnięć pana mgr. Jakuba Maculewicza

Celem pracy doktorskiej zatytułowanej „Biokoncentracja związków chemicznych obdarzonych ładunkiem – analiza, ocena metodami *in vitro* oraz *in vivo*” jest zrozumienie i wyjaśnienie losu środowiskowego związków chemicznych obdarzonych ładunkiem ze szczególnym uwzględnieniem wybranych cieczy jonowych i produktów transformacji leków.

Z uwagi na fakt, iż sercem rozprawy doktorskiej jest cykl powiązanych publikacji P1÷P7, których współautorem jest pan Jakub Maculewicz, przedstawiam omówienie poszczególnych jego osiągnięć w ujęciu tych właśnie publikacji.

Publikacja P1 – Maculewicz, J., Świacka, K., Kowalska, D., Stepnowski, P., Stolte, S., & Dołżonek, J.; *In vitro methods for predicting the bioconcentration of xenobiotics in aquatic organisms*. *Science of The Total Environment*, 2020, 739, 140261; IF=8,0; Punktacja MEiN: 200

Głównym celem pracy było przedstawienie przeglądu metod *in vitro* mających zastosowanie do oceny zjawiska biokoncentracji. Autorzy przeanalizowali najnowsze osiągnięcia nauki w laboratoryjnych badaniach biokoncentracji, ze szczególnym uwzględnieniem testów oceniających wchłanianie ksenobiotyków. Przedstawione metody zostały poddane krytycznej ocenie, co w konsekwencji może być przydatne do szybkiej i dokładnej oceny całego procesu biokoncentracji, a także co można wykorzystać do lepszego poznania konkretnych mechanizmów odpowiedzialnych za interakcję zanieczyszczeń z poszczególnymi składnikami organizmu. Ten bogaty materiał zawarty na prawie 15 stronicach zawiera 6 rysunków, a ostatni z nich to ciekawy materiał zawierający propozycję kompleksowego podejścia do przeglądu istniejących acz niekompletnych danych i dokonywanie znacznie dokładniejszych prognoz, w tym dla substancji naładowanych. Pan Jakub Maculewicz jest pierwszym autorem tej publikacji przeglądowej, pełniąc jednocześnie rolę autora korespondencyjnego.

Publikacja P2 – Maculewicz, J., Świacka, K., Stepnowski, P., Dołżonek, J., & Białek-Bielińska, A. ; *Ionic liquids as potentially hazardous pollutants: Evidences of their presence in the environment and recent analytical developments*. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 437, 129353; IF=13,6; Punktacja MEiN: 200

Głównym celem jaki postawili sobie autorzy tej pracy przeglądowej było podsumowanie osiągnięć w zakresie analizy cieczy jonowych jako potencjalnych substancji zanieczyszczających środowisko w matrycach środowiskowych oraz podsumowanie już opublikowanych dowodów na ich obecność w różnych próbkach. To miało być dowodem (i słusznie) na nieuniknioną obecność cieczy jonowych w środowisku i problemy z tym faktem związane. Chociaż opublikowano już wiele prac dotyczących stosowania cieczy jonowych, ten artykuł dotyczący jednak ekstrakcji, oczyszczania ekstraktów i analizy ilościowej cieczy jonowych w próbkach środowiskowych. Ze względu na wyjątkowo szeroką gamę matryc, w

których można spodziewać się zanieczyszczenia typu cieczy jonowe, zebrane dane podzielone zostały na trzy główne grupy: matryce środowiska wodnego, matryce środowiska stałego, takie jak gleby czy osady oraz matryce biologiczne, tj. tkanki zwierzęce i roślinne w tym produkty spożywcze. Ta praca przeglądowa ma na celu identyfikację luk w wiedzy i kierunek, w jakim należy rozwijać techniki analityczne. Przedstawione dane dotyczące metod ekstrakcji i analizy cieczy jonowych w próbkach środowiskowych prowadzi do wniosku, że stan wiedzy jest w tym zakresie bardzo ograniczony. Jest to istotny problem, biorąc pod uwagę fakt doniesień z ostatnich lat o rozprzestrzenianiu się i wykrywaniu tych nie tylko w środowisku, ale także u ludzi. Wydaje się więc oczywiste, że konieczne jest opracowywanie metod analitycznych pozwalających na analizę cieczy jonowych i wykorzystanie ich do oceny, czy najnowsze doniesienia o obecności tych związków w środowisku to tylko pojedyncze artefakty, czy też niestety powszechny problem.

Publikacja P3 – Maculewicz, J., Kowalska, D., Świacka, K., Toński, M., Stepnowski, P., Białk-Bielińska, A., & Dołżonek, J. ; *Transformation products of pharmaceuticals in the environment: Their fate, (eco) toxicity and bioaccumulation potential*. Science of The Total Environment, 2022, 802, 149916; IF=9,8; Punktacja MEiN: 200

W artykule opublikowanym w tym renomowanym czasopiśmie Science of the Total Environment omówiono problem występowania metabolitów związków należących do sześciu głównych grup farmaceutycznych: SSRI, leki przeciwnowotworowe, antybiotyki, leki przeciwhistaminowe, NLPZ (niesteroidowe leki przeciwzapalne) i opioidy, omawiając dodatkowo inne pojedyncze związki, dla których istnieją dane literaturowe. Dane zaprezentowane w artykule dowodzą, że niektóre produkty transformacji leków mogą być równie szkodliwe jak ich formy natywne, jednak w przypadku wielu grup leków dane te są w dalszym ciągu niewystarczające, aby ocenić ryzyko, jakie stwarza ich obecność w środowisku. Głównym celem autorów tej pracy przeglądowej jest ocena stanu wiedzy na temat losów i skutków obecności produktów transformacji farmaceutyków w środowisku pod kątem ich stabilności i zagrożeń związanych z ich toksycznym działaniem na organizmy, a także potencjałem akumulacji. Mimo że w literaturze pojawiały się pojedyncze doniesienia podsumowujące kwestie obecności produktów transformacji leków w środowisku jednakże autorzy tamtych prac skupiali się głównie na ich analizie, źródle lub występowaniu, zaś autorzy tej pracy zaprezentowali szersze podejście przedstawiając dostępne w literaturze

światowej dane dotyczące stabilności i (eko)toksyczności wybranych produktów transformacji farmaceutyków.

Wszystkie wyżej wymienione trzy prace przeglądowe są wyśmienitym wstępem do części eksperymentalno-badawczej zaprezentowanej przez pana Jakuba Maculewicza w pozostałych publikacjach.

Publikacja P4 – Maculewicz J., Białk-Bielińska A., Kowalska D., Stepnowski P., Stolte S., Beil S., Dołżonek J. ; *Bioconcentration potential of ionic liquids: new data on membrane partitioning and its comparison with predictions obtained by COSMOmic*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2024, 1886, 5, 184320; IF=3,4; Punktacja MEiN: 100

Chociaż o cieczach jonowych wiemy dużo, to jednak nadal istnieje ograniczona wiedza na temat potencjalnego ryzyka, jakie mogą one stwarzać dla środowiska i zdrowia ludzkiego, w tym ich potencjału kumulacji w organizmach żywych. Lipidy błonowe i lipidy magazynujące uznano za główne fazy sorpcji napędzające bioakumulację, jednakże w tej pracy autorzy badań wykorzystali narzędzie *in vitro* znane jako błony lipidowe z membranami osadzonymi na stałym podłożu (SSLM), aby zbadać powinowactwo cieczy jonowych do lipidu błonowego – fosfatydylocholiny i porównać wyniki z istniejącym modelem *in silico*. Uzyskane oryginalne wyniki wskazują, że ciecze jonowe mogą mieć silne powinowactwo do lipidów tworzących błony komórkowe, przy czym kluczowym czynnikiem jest długość bocznego łańcucha kationu. Dla czwartorzędowych kationów amoniowych zaobserwowano wzrost powinowactwa błonowego ($\log MA$) z $3,45 \pm 0,06$ przy 10 atomach węgla w łańcuchu do $4,79 \pm 0,06$ przy 14 atomach węgla. Zaobserwowano również, że anion może znacząco wpływać na migrację kationu przez błonę, mimo że same aniony mają tendencję do słabszych interakcji z fosfolipidami niż kationy cieczy jonowych. Dla kationu 1-metylo-3-oktyloimidazoliowego obecność anionu tricyjanometanowego spowodowała wzrost $\log MA$ do wartości $4,23 \pm 0,06$. Część danych okazała się zgodna z przewidywaniami modelu COSMOmic, nie mniej jednak zaobserwowano również znaczne rozbieżności. W efekcie uzyskane wyniki sugerują konieczność dalszych badań umożliwiających zrozumienie mechanizmów i zależności struktura-aktywność związanych z biokoncentracją cieczy jonowych oraz opracowanie dokładniejszych modeli predykcyjnych.

Publikacja P5 – Kowalska, D., Maculewicz, J., Stepnowski, P., & Dołzonek, J.; *Interaction of pharmaceutical metabolites with blood proteins and membrane lipids in the view of bioconcentration: A preliminary study based on in vitro assessment*. Science of The Total Environment, 2021, 783, 146987; IF=10,8; Punktacja MEiN: 200

W tej pracy, w której nota bene pan J. Maculewicz ponownie pełni rolę autora korespondencyjnego, celem było wstępne oszacowanie powinowactwa produktów przemian wybranych leków do białek krwi i lipidów tworzących błony komórkowe, uznawanych za ważne fazy sorpcji podczas dystrybucji w żywym organizmie. W pracy wykazano, że choć badane metabolity nie wykazują silnego powinowactwa do lipidów błonowych, to wykazują stosunkowo silne wiązanie z białkami, co może wpływać na rozmieszczenie produktów przemian leków w organizmie i wskazywać na nieklasyczny proces ich biokoncentracji. Dodatkowo ciekawym spostrzeżeniem, jest to, że część badanych związków wykazywała większe powinowactwo do białek niż związki macierzyste, co może być związane z ich większym potencjałem bioakumulacyjnym. Dlatego niezwykle ważne jest przeprowadzanie dalszych badań w tym zakresie, najlepiej z wykorzystaniem szerszej grupy związków, co mogłoby umożliwić wyjaśnienie zależności i ocenić, w jakim stopniu powinowactwo związków do białek krwi przekłada się na ich potencjał do bioakumulacji. Chętnie zapoznam się z dalszymi wynikami badań w tym zakresie, jeśli tylko Pan Maculewicz będzie je kontynuował.

Publikacja P6 – Maculewicz, J., Stepnowski, P., Dołzonek, J., & Białk-Bielińska, A. ; *Analysis of imidazolium ionic liquids in biological matrices: a novel procedure for the determination of trace amounts in marine mussels*. Talanta, 2023, 252, 123790; IF=6,6; Punktacja MEiN: 100

Kolejna praca oryginalna dotyczy imidazoliowych cieczy jonowych, które są związkami chemicznymi o zastosowaniu na dużą skalę. Choć ich obecność w środowisku zwykle traktuje się jedynie jako potencjalne zagrożenie, istnieją już pierwsze dowody na to, że stało się to faktem. Biorąc pod uwagę rosnące ich wykorzystanie, można spodziewać się, że w najbliższej przyszłości problem ten również się nasili. Biorąc ten fakt pod uwagę oraz to, że część kationów imidazoliowych wykazuje wysoki potencjał biokoncentracji, prawdopodobnym jest, że związki te będą kumulować się w tkankach organizmów. Z tego też powodu konieczne będzie monitorowanie obecności tych związków w organizmach z potencjalnie zanieczyszczonych wód. Dlatego celem przedstawionych w tej publikacji badań

było opracowanie i pełna walidacja nowej procedury analitycznej służącej do oznaczania mieszaniny imidazoliowych cieczy jonowych w małżach *Mytilus trossulus*. W tym celu weryfikowano różne techniki ekstrakcji, takie jak: ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE), ekstrakcja przyspieszonym rozpuszczalnikiem (ASE) i homogenizacja w blenderze kulowym (HOMO). Ostatecznie zaproponowana przez autorów publikacji, której autorem korespondencyjnym jest ponownie pan Jakub Maculewicz, procedura analityczna opiera się na zastosowaniu techniki MAE do ekstrakcji kationów imidazoliowych oraz techniki SPE z wykorzystaniem kolumnienek typu Oasis HLB do oczyszczania otrzymanych ekstraktów oraz techniki LC-MS/MS do ich oznaczenia ilościowego. Bezwzględne odzyski osiągały 71÷90%. Uzyskiwane granice oznaczalności wynosiły 50÷100 ng/g suchej tkanki. To pozwala na oznaczanie śladowych ilości wybranych związków w złożonej matrycy biologicznej. Efekty matrycowe wahały się od 7,8 do 37,5%. Najprawdopodobniej, to pierwsze opublikowane wyniki prezentujące procedurę analityczną analizy imidazoliowych cieczy jonowych w tkankach organizmów wodnych. Istotność podkreśla fakt, iż dzięki zastosowaniu tej metodyki możliwe jest prowadzenie badań, w których można że związki obdarzone ładunkiem mogą ulegać biokoncentracji w tkankach organizmów, a takie spostrzeżenia dają w konsekwencji niezwykle istotne informacje w kontekście oceny ryzyka środowiskowego związków z grupy cieczy jonowych.

Publikacja P7 – Maculewicz, J., Dołżonek, J., Sharma, L., Białk-Bielińska, A., Stepnowski, P., & Pazdro, K. ; *Bioconcentration of imidazolium ionic liquids: In vivo evaluation in marine mussels Mytilus trossulus*. *Science of The Total Environment*, 2023, 858, 159388; IF=9,8; Punktacja MEiN: 200

Podstawowym celem badań przedstawionych w tej pracy było określenie, czy kationy imidazoliowe cieczy jonowych (czyli 1-metylo-3-oktyloimidazoliowy ([IM18]⁺) i 1-metylo-3-dodecylimidazoliowy ([IM1-12]⁺)) mogą ulegać biokoncentracji w tkance organizmów (bezkęgowców) w środowisku morskim. Podczas ekspozycji trwającej 21 dni małże *Mytilus trossulus* poddano działaniu wybranych kationów imidazoliowych w stężeniu 10 µg/l. Po raz pierwszy podczas badań *in vivo* wykazano, że długołańcuchowe ciecze jonowe imidazoliowe mogą ulegać biokoncentracji. Wyznaczona wartość współczynnika wzbogacenia BCF dla [IM1-12]⁺ pozwala uznać ten związek za wysoce bioakumulacyjny. Z kolei współczynnik wzbogacenia BCF uzyskany dla [IM18]⁺ (o wartości poniżej 100) sugeruje, że kation ten ma niewielki potencjał biokoncentracji. Badanie wpływu zasolenia na biokoncentrację badanych

kationów imidazoliowych nie wykazało takiej zależności. Przedstawione w publikacji wyniki badań potwierdzają natomiast, że imidazoliowe ciecze jonowe wykazują ostrą toksyczność tylko przy stosunkowo wysokich poziomach stężeń (LC₅₀ osiągnęło 0,68 mg/L dla [IM1-12][Br] i 11,66 mg/L dla [IM18][C(CN)₃]. To oznacza, że ryzyko związane z potencjalną obecnością tych związków w środowisku należy przypisać ich wysokiej trwałości i potencjalnej biokoncentracji, a nie ostrej toksyczności. W tej publikacji pan Maculewicz jest pierwszym współautorem. Po zapoznaniu się z tą lekturą nasunęło mi się pytanie, dlaczego do badań wybrano właśnie małże *Mytilus trossulus*? A z analitycznego punktu widzenia jestem ciekawa, w jaki sposób przeprowadzał Pan homogenizację w przypadku próbek małż.

Kolejna sprawa, to stosowanie wzorców wewnętrznych w przypadku analiz HPLC-MS/MS. Czy stosował je Pan, a jeśli tak to jakie?

I jestem również ciekawa, dlaczego w trakcie analizy ilościowej stosował Pan metodę z odzworowaniem matrycy (*matrix-matched calibration curve*) a nie prostszą metodą wzorca zewnętrznego? Chętnie poznam Pana opinię i podejmę dyskusję w tym zakresie podczas publicznej obrony pracy doktorskiej.

Na uwagę i podkreślenie zasługuje fakt, iż Pan mgr Jakub Maculewicz jest współautorem jeszcze wielu innych publikacji, w chwili obecnej jego Indeks Hirscha wynosi 11, cytowalność ponad 500. To bardzo dobre parametry scientometryczne biorąc pod uwagę młody wiek badacza. Chciałbym dodać, iż wszystkie publikacje stanowiące zaprezentowany cykl są już cytowane w środowisku naukowym.

Podsumowanie.

Opisy problemu badawczego, jak i sposobu jego realizacji oraz uzyskane wyniki są zaprezentowane poprawnie i poruszają najistotniejsze aspekty, co świadczy o szerokiej, zwłaszcza analitycznej i środowiskowej, wiedzy Doktoranta i dobrej znajomości tematu. Cel pracy został zrealizowany, a otrzymane wyniki są pozytywne i istotne naukowo. Rezultaty przedstawione w rozprawie doktorskiej są dowodem dojrzałości naukowej pana mgr. Jakuba Maculewicza oraz potwierdzeniem słuszności podjętych badań. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, iż **rozprawa doktorska Pana mgr. Jakuba Maculewicza zatytułowana „Biokoncentracja związków chemicznych obdarzonych ładunkiem – analityka, ocena metodami in vitro oraz in vivo” wykonana w Katedrze Analizy Środowiska**

na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem promotora pani profesor uczelni dr hab. inż. Anny Białk-Bielińskiej spełnia ustawowe wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora, określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Na tej podstawie w pełni przekonana o słuszności **wniosuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pana Jakuba MAculewicza do kolejnych etapów przewodu doktorskiego**. Jednocześnie proszę o rozważenie możliwości wyróżnienia rozprawy doktorskiej, a stosowny dokument wraz z uzasadnieniem dołączam do recenzji.



Prof. dr hab. inż. Agata Kot-Wasik

Gdańsk, 10 lipca 2024 r.

prof. hab. dr inż. Agata Kot-Wasik
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszym zwracam się z wnioskiem do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Biokoncentracja związków chemicznych obdarzonych ładunkiem – analityka, ocena metodami in vitro oraz in vivo” wykonana w Katedrze Analizy Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem promotora pani profesor uczelni dr hab. inż. Anny Białek-Bielińskiej.

Ogólną wartość merytoryczną przedstawionej mi do oceny pracy oceniam bardzo wysoko. Praca doktorska ma znaczące walory nowości i oryginalności naukowej. Prowadzono badania o charakterze interdyscyplinarnym: realizowano prace analityczne, toksykologiczne, identyfikacyjne, ocenę ryzyka, badania in vivo. Wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej obejmują niezwykle istotne informacje w kontekście zarówno analitycznym (opracowano i poddano walidacji pierwszą procedurę oznaczania mieszaniny kationów imidazoliowych w tkankach bezkręgowców morskich, pozwalającą na oznaczanie tych związków w stężeniach na poziomie ng/g), jak i oceny ryzyka środowiskowego związków chemicznych obdarzonych ładunkiem (wykazano, że kationy imidazoliowe mogą ulegać biokoncentracji w tkankach bezkręgowców morskich). O nowatorskim charakterze prowadzonych badań i otrzymanych wyników świadczą publikacje naukowe (3 o charakterze przeglądowym i 4 o charakterze oryginalnym), których pan Jakub Maculewicz jest pierwszym lub korespondencyjnym autorem. Wszystkie prace stanowiące cykl są opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR, o wysokim współczynniku IF i już wielokrotnie cytowane, co najdobitniej świadczy o ich wysokich walorach naukowych.



Prof. dr hab. inż. Agata Kot-Wasik