

prof. dr hab. Robert Biczak

Częstochowa, dn. 30.08.2024 r.

Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie

Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych

Katedra Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii

Al. Armii Krajowej 13/15

42-200 Częstochowa

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marcina Nędzi

**pt.: Toksyczne oddziaływanie imidazoliowych cieczy jonowych na  
mikroglony i sinice bałtyckie**

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Pana prof. dr hab. Wojciecha Tylmanna, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki o Ziemi i Środowisku, Uniwersytetu Gdańskiego. Przesłana do oceny rozprawa doktorska mgr Marcina Nędzi została wykonana na Wydziale Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego, a promotorem rozprawy jest Pan prof. dr hab. Adam Latała.

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy bardzo interesujących i ważnych naukowo zagadnień związanych z możliwością zanieczyszczenia środowiska przez stosunkowo nową grupę związków chemicznych, jakimi są ciecze jonowe (ILs). Ciecze jonowe to substancje chemiczne, które od ponad dwóch dekad cieszą się olbrzymim zainteresowaniem naukowców na całym świecie. Dużą zaletą jest ich nietloność, dzięki czemu są bezpieczne dla atmosfery i stanowią interesującą alternatywę dla lotnych związków organicznych. Dzięki olbrzymiej możliwości kombinacji kation-anion, związki te są często określane jako „rozpuszczalniki projektowalne”. Pozwala to tak dobrać kationy i aniony, aby uzyskać w rezultacie związki o pożądanym właściwościach fizycznych, chemicznych i biologicznych. Mogą one być wykorzystywane w separacji ciecz-ciecz, ekstrakcji, ogniwach paliwowych, farmacji, smarach, środkach ochrony roślin oraz służyć do produkcji materiałów, takich jak żele i membrany. Jednak pomimo swych doskonałych właściwości ILs bardzo szybko okazało się, że związki te mogą wykazywać szkodliwe oddziaływanie na różne elementy środowiska. Z licznych już badań wynika, że ciecze jonowe w zależności od budowy wykazują czasami bardzo silne

działanie bakteriobójcze, grzybobójcze i chwastobójcze. Ciecze jonowe wykazują ponadto toksyczność dla wielu elementów środowiska wodnego w tym dla glonów, okrzemek, roślin wodnych czy przedstawicieli świata zwierząt.

W te trendy wpisuje się rozprawa doktorska Pana mgr Marcina Nędzi. Podjęte i zrealizowane przez Doktoranta badania, których celem było określenie oddziaływania imidazoliowych cieczy jonowych na mikroglony i sinice bałtyckie, uważam za ważne naukowo, głównie w aspekcie możliwości ochrony naturalnych środowisk wodnych poprzez ograniczenie stosowania lub całkowite wyeliminowanie związków chemicznych wykazujących wysoką toksyczność.

### **Formalna ocena rozprawy doktorskiej**

Pan mgr Marcin Nędzi jako rozprawę doktorską, zgodnie z art. 13.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami, przedstawił zbiór 5 publikacji naukowych, któremu nadano tytuł „Toksyczne oddziaływanie imidazoliowych cieczy jonowych na mikroglony i sinice bałtyckie”. Rozprawa doktorska została zaprezentowana w następujących publikacjach:

1. Latała A., Stepnowski P., Nędzi M., Mroziak W.: Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: Acute effects on the Baltic algae *Oocystis submarina* and *Cyclotella meneghiniana*. *Aquatic Toxicology*, 2005, 73, 91-98. (IF = 4,100; 140 pkt MNiSW)
2. Latała A., Nędzi M., Stepnowski P.: Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae: *Chlorella vulgaris*, *Oocystis submarina* (green algae) and *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema marinoi* (diatoms). *Green Chemistry*, 2009, 11, 580-588. (IF = 9,300; 200 pkt MNiSW)
3. Latała A., Nędzi M., Stepnowski P.: Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Bacillaria paxillifer* (a microphytobenthic diatom) and *Geitlerinema amphibium* (a microphytobenthic blue green alga). *Green Chemistry*, 2009 11, 1371-1376. (IF = 9,300; 200 pkt MNiSW)
4. Latała A., Nędzi M., Stepnowski P.: Toxicity of imidazolium ionic liquids towards algae. Influence of salinity variations. *Green Chemistry*, 2010, 12, 60-64. (IF = 9,300; 200 pkt MNiSW)
5. Nędzi M., Latała A., Nichthausen J., Stepnowski P.: Bioaccumulation of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid in a simple marine trophic chain. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 2013, 42, 149-154. (IF = 0,900; 40 pkt MNiSW)

Wszystkie prace zostały opublikowane w latach 2005-2013 w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o IF wahającym się od 0,900 do 9,300. Łączny współczynnik oddziaływania (IF) tego cyklu publikacji wynosi 32,900, a liczba punktów wg obowiązującej oceny czasopism dokonanej przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego jest równa 980 (dane z sierpnia b.r.). Wszystkie publikacje są współautorskie, a autorami są oprócz Doktoranta i Promotora także inni pracownicy naukowcy Uniwersytetu Gdańskiego i tylko w jednej pracy mgr Marcin Nędzi jest pierwszym autorem. Do dokumentacji dołączone zostały oświadczenia współautorów o ich udziale merytorycznym w powstawaniu omawianych publikacji. Wynika z nich, że rola doktoranta w powstawaniu tego zbioru prac stanowiących dysertację, polegała na udziale w realizacji koncepcji badań, dopracowaniu szczegółów metodyki prowadzonych badań, przeprowadzeniu testów toksyczności, opracowaniu danych i wykonaniu analizy statystycznej otrzymanych wyników, przygotowaniu wykresów do publikacji, przeanalizowaniu dostępnej literatury, która była wykorzystana w publikacjach oraz udziale w przygotowaniu manuskryptów tych prac naukowych. Natomiast na podstawie dołączonych oświadczeń współautorów nie można powiedzieć o procentowym udziale Doktoranta w powstawaniu prezentowanych publikacji.

Rozprawa liczy 77 ponumerowanych stron, na których oprócz załączonych publikacji Pan mgr Marcin Nędzi zamieścił Streszczenie, Abstract, Wstęp, Uzasadnienie podjętych badań, Cele badań, Hipotezy badawcze, Materiały i metody, Oświadczenia współautorów publikacji, Podsumowanie, Literatura (nie ujęta w publikacjach) i Załączniki. Wszystkie te rozdziały zostały napisane prostym językiem, w miarę poprawnym stylistycznie, jednak czytając dysertację odnosi się wrażenie, że ich treść powstała w pośpiechu i bez przemyślenia. Według recenzenta poważnym uchybieniem jest brak rozdziału, w którym Doktorant powinien w sposób syntetyczny, a jednocześnie dokładny i przejrzysty omówić uzyskane wyniki badań prezentowane w każdej publikacji, wchodzącej w skład zbioru prac stanowiących rozprawę doktorską. W takim rozdziale, który można by traktować jako autoreferat, Doktorant powinien również postarać się o wykazanie powiązania wszystkich publikacji cyklu i udowodnić zasadność ich wyboru. Zamiast tego, zamiast omówienia wyników badań zawartych w jednotematycznym cyklu publikacji znajdujemy na stronach 9-11 ocenianej dysertacji, ale jest to bardziej lakonicznie napisana informacja czego dotyczy dana publikacja, niż dokładne zaprezentowanie uzyskanych rezultatów. Ponadto, z niewiadomych przyczyn ten „opis publikacji” znalazł się w rozdziale Wstęp. Wydaje się ponadto, że brak wydzielonego rozdziału Wnioski w pracy doktorskiej mgr Marcina Nędzi, również nie działa na jej korzyść.

## Merytoryczna ocena rozprawy doktorskiej

Rozpoczynając ocenę rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Nędzi pod względem merytorycznym, należy na początku stwierdzić zgodność treści pracy z jej tematem. Streszczenia pracy doktorskiej, zarówno w języku polskim, jak i angielskim, przedstawiają zaś zakres informacji zawartych w pozostałych jej rozdziałach.

Kolejnym rozdziałem pracy jest Wstęp, w którym Autor wprowadza czytelnika w problematykę podjętych badań, wskazując jak ważne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania ekosystemów wodnych ma ich ochrona przed zanieczyszczeniami antropogenicznymi, do których możemy zaliczyć ciecze jonowe. Te związki chemiczne w zamierzeniu producentów miały być przyjazne dla środowiska i zastąpić wysoce toksyczne rozpuszczalniki organiczne. Rzeczywistość pokazała jednak, że ILs wykazują toksyczność, uzależnioną m.in od ich budowy chemicznej i zastosowanego stężenia. Dokonując krótkiej charakterystyki cieczy jonowych Doktorant popełnił podstawowy błąd, nie stosując indeksu dolnego w zapisie wzorów sumarycznych wszystkich anionów, który informuje o ilości atomów danego pierwiastka bądź ilości grup chemicznych w cząsteczce związku. Wierzę jednak, że to jedynie błąd edytorski, a nie brak podstawowej wiedzy chemicznej absolwenta kierunku Oceanografia oraz osoby ubiegającej się o stopień naukowy doktora w Dyscyplinie Nauki o Ziemi i Środowisku.

Z kolei Doktorant precyzuje cel podstawowy pracy: „Podstawowym celem badawczym było pogłębione oszacowanie toksyczności cieczy jonowych na fotosyntezujące organizmy morskie”. Ten cel podstawowy powinien raczej brzmieć: „Podstawowym celem badawczym było pogłębione oszacowanie toksyczności cieczy jonowych dla fotosyntezujących organizmów morskich”, gdyż toksyczność określa się zawsze dla np. danego organizmu, a nie na organizm. Oprócz celu głównego Autor sformułował pięć celów cząstkowych, w zasadzie pytań, które brzmią:

1. W jaki sposób modyfikacja budowy cząsteczki cieczy jonowej wpływa na jej toksyczność względem fotosyntetyzujących organizmów morskich?
2. Czy wrażliwość fotosyntetyzujących organizmów z różnych grup taksonomicznych na toksyczny wpływ cieczy jonowych jest odmienna?
3. Czy istnieją zauważalne różnice we wrażliwości organizmów na ILs w zależności od formacji ekologicznej (fitoplankton, fitobentos)?
4. Czy czynniki środowiskowe, takie jak zasolenie modyfikują toksyczność ILs?
5. Czy występuje bioakumulacja ILs w łańcuchu troficznym?

Kolejnym rozdziałem ocenianej dysertacji są hipotezy badawcze. Muszę jednak przyznać, że niewiele wnoszą do pracy doktorskiej, ponieważ są twierdzącą formą prezentowanych wcześniej celów cząstkowych/pytań.

Metodyka badań zaprezentowana w pracach naukowych składających się na rozprawę doktorską Pana mgr Marcina Nędzi pod względem merytorycznym nie budzi żadnych zastrzeżeń. Doktorant w poddanej ocenie dysertacji, w rozdziale Materiały i metody, zaprezentował również organizmy testowe pochodzące z Kolekcji Kultur Glonów Bałtyckich (CCBA), na których to przeprowadzono badania toksyczności imidazoliowych cieczy jonowych. Dodatkowo, w tym rozdziale znaleźć można nazwy i zastosowane skróty 14 wybranych imidazoliowych cieczy jonowych, różniących się zarówno ilością atomów C w podstawniku alkilowym, jak i rodzajem anionu. Rozdział Materiały i metody kończy krótki opis przeprowadzonych testów toksyczności rekomendowanych i zgodnych z normami ISO. Nie byłbym jednak recenzentem i również chemikiem, gdybym nie zwrócił uwagi na bezzasadność używania angielskich nazw cieczy jonowych w dysertacji napisanej w języku polskim. Angielska nazwa cieczy jonowej np. 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride stosowana w publikacjach, w pracy doktorskiej powinna być zamieniona na polską nazwę: chlorek 1-etylo-3-metyloimidazoliowy. Zamiana nazw tych związków na pewno nie wymaga posiadania jakiejś nadzwyczajnej wiedzy chemicznej. Ponadto, międzynarodowa firma oferująca m.in. odczynniki chemiczne nosi nazwę Fluka Chemicals, a nie Fulka, jak czytamy w rozprawie doktorskiej mgr Marcina Nędzi.

Najważniejszą częścią każdej rozprawy doktorskiej jest omówienie wyników badań i przeprowadzenie rzetelnej ich dyskusji z rezultatami uzyskanymi przez innych naukowców. W przypadku dysertacji, której podstawą jest jednotematyczny cykl publikacji, ocena merytoryczna otrzymanych wyników, przeprowadzonej dyskusji czy sformułowanych wniosków jest bardzo trudna. Związane jest to z faktem, że materiał zawarty w publikacjach był już recenzowany, a w przypadku tak uznanych czasopism zapewne przez kilku, a może nawet kilkunastu przedstawicieli świata nauki. Należy stwierdzić, że poszczególne publikacje składające się na rozprawę doktorską Pana mgr Marcina Nędzi zostały starannie przygotowane i dostosowane do wymagań czasopism. Wysoko oceniam opracowanie tabel i rysunków, które poprawiają przejrzystość publikacji i tym samym ułatwiają prześledzenie ich wielowątkowości. Sformułowane wnioski stanowią adekwatne uogólnienie wyników, poddanych wcześniej odpowiedniej analizie statystycznej.

Cykl publikacji składający się na pracę doktorską mgr Marcina Nędzi dotyczy określenia toksyczności cieczy jonowych dla glonów z różnych grup taksonomicznych

(zelenice, okrzemki, sinice) zaliczanych do fitoplanktonu. Otrzymane wyniki pokazały zróżnicowaną toksyczność cieczy jonowych, która była uzależniona od budowy chemicznej tych związków. Wzrost efektów toksyczności obserwowano wydłużając łańcuch alkilowy podstawnika, również rodzaj anionu miał decydujący wpływ na toksyczność ILs (praca 1 i 2). Zwłaszcza aniony zawierające fluor charakteryzowały się zwiększoną toksycznością w stosunku m.in. do mikroglonów. Takie oddziaływanie fluoru dotyczy głównie organizmów roślinnych, a większość prac naukowych traktujących o oddziaływaniu związków fluoru na rośliny dowodzi ich wysokiej fitotoksyczności. Negatywne oddziaływanie fluoru na rośliny związane jest z indukowaniem stresu oksydacyjnego w komórkach tych organizmów, co z kolei powoduje degradację kwasów nukleinowych, białek, czy peroksydację lipidów. W kolejnych badaniach (praca nr 3) Autorzy chcąc porównać wykazaną ekotoksyczność cieczy jonowych dla organizmów fitoplanktonu rozszerzyli swoje badania o organizmy bentoniczne, wykorzystując w tym celu gatunki okrzemek i sinic charakterystyczne dla tego środowiska. W wyniku przeprowadzonych testów nie stwierdzono znaczących różnic fitotoksyczności ILs dla organizmów bytujących w różnych formacjach ekologicznych. Praca opublikowana w Green Chemistry w 2010 roku (praca nr 4) stanowi udokumentowanie badań dotyczących oddziaływania zmieniającego się zasolenia wód na toksyczność chlorków 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych dla zielenic, okrzemek i sinic. Zaprezentowane wyniki badań jednoznacznie pokazały, że wzrost zasolenia środowiska wodnego w znaczący sposób ograniczył toksyczność badanych cieczy jonowych. Dopełnieniem cyklu badań było natomiast określenie możliwości bioakumulacji ILs w prostych łańcuchach troficznych (praca nr 5). W badaniach wykorzystano pąkle i omułki pozyskane z wód Zatoki Gdańskiej, które to karmiono zielenicami przebywającymi wcześniej w wodzie zanieczyszczonej cieczami jonowymi. Otrzymane wyniki wyraźnie pokazały, że istnieje realne niebezpieczeństwo bioakumulacji cieczy jonowych w łańcuchach troficznych, co w dużej mierze zależy od cech gatunkowych organizmów.

Uzyskane wyniki badań pozwoliły Panu mgr Marcinowi Nędzy na wykazanie najważniejszych osiągnięć naukowych swojej dysertacji, które zostały sformułowane i zaprezentowane w rozdziale zatytułowanym Podsumowanie. A mianowicie:

1. Ciecze jonowe wywierają toksyczny wpływ na fotosyntetyzujące organizmy morskie.
2. Toksyczność cieczy jonowych zależy od ich budowy chemicznej:
  - toksyczność ILs wzrasta wraz z długością łańcucha alkilowego podstawionego do kationu imidazoliowego w pozycji 1-R;

- użycie cieczy jonowych z anionem zawierającym fluor (np.:  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{TFMS}^-$ ) skutkuje ich wyższą toksycznością;
- 3. Okrzemki są znacznie bardziej wrażliwe na toksyczne oddziaływanie cieczy jonowych niż zielenice, co może być związane i różnicami w materiale budującym ściany komórkowe (okrzemki – krzemionka, zielenice – celuloza).
- 4. Nie odnotowano znaczących różnic we wrażliwości na ciecze jonowe organizmów w zależności od formacji ekologicznej (fitoplankton, fitobentos)
- 5. Czynniki środowiskowe takie jak zasolenie modyfikują toksyczność cieczy jonowych, toksyczność spada wraz ze wzrostem zasolenia.
- 6. Ciecze jonowe bioakumulują się w łańcuchach troficznych.

Należy stwierdzić, że zarówno sama koncepcja badań, jak i uzyskane wyniki zaprezentowane w cyklu publikacji stanowiących dysertację Pana mgr Marcina Nędzy, były na ówczesne lata jak najbardziej pionierskimi i nowatorskimi. Wniosły one do literatury przedmiotu wiele nowych aspektów poznawczych, które mogły zostać wykorzystane w praktyce do formułacji substancji o charakterze cieczy jonowych, charakteryzujących się jak najmniejszą toksycznością dla środowiska wodnego.

### **Uwagi krytyczne**

Cześć uchybień i uwag krytycznych zamieściłem już wcześniej w prezentowanej recenzji pracy doktorskiej Pana mgr Marcina Nędzy. Warto tutaj wspomnieć brak rozdziału prezentującego uzyskane wyniki badań, brak jednoznacznie sformułowanych wniosków, czy błędy edytorskie i stylistyczne dysertacji.

Jednak obowiązek recenzenta stawia przede mną konieczność stwierdzenia oryginalności prezentowanego osiągnięcia naukowego i jego nowatorstwa. I tu pojawia się pewien dość istotny problem. W poprzednim rozdziale stwierdziłem, że przeprowadzone badania i uzyskane rezultaty przedstawione w postaci cyklu publikacji były na ówczesne lata oryginalne, pionierskie i nowatorskie. Zostały opublikowane w pracach z „najwyższej półki”. Ale trzeba wyraźnie powtórzyć i zaznaczyć, że były. Od opublikowania pierwszej z prac stanowiących cykl publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Nędzy minęło już 19 lat, a najmłodsza z nich liczy sobie lat 11. Dlatego w roku 2024 trudno mówić o nowatorskich wynikach i obserwacjach prezentowanych w tych pięciu publikacjach, tym bardziej, że jak podaje sam Doktorant w latach 20-tych XXI wieku rocznie ukazuje się około 60 tys. publikacji, które wnoszą swój wkład naukowy do światowej wiedzy dotyczącej cieczy jonowych.

W podsumowaniu dysertacji Doktorant pisze: „Ponadto do oszacowania wagi i przydatności niniejszej pracy doktorskiej niech posłużą liczba cytowań publikacji z których się ona składa, która utrzymuje się na poziomie kilkuset i cały czas wzrasta. Świadczy to o tym, że prace składające się na doktorat stanowiły i nadal stanowią wkład w światową naukę”. To prawda, nawet jeżeli posłużymy się bazami danych o bardziej naukowym charakterze niż wykorzystywany przez Doktoranta Google Scholar, to ogólna liczba cytowań publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Nędzi jest imponująca. Dla przykładu, według bazy Scopus ogólna ilość cytowań tych prac naukowych wynosi 575, a w przypadku Web of Science jest to 545. Trzeba jednak pamiętać, że na tak dużą ilość cytowań na pewno ma wpływ również okres, który upłynął od roku opublikowania tych prac.

Na te stwierdzone uchybienia w recenzowanej rozprawie doktorskiej, na pewno duży wpływ ma rezygnacja Pana mgr Marcina Nędzi z działalności naukowej. Według dostępnych informacji ostatnia publikacja współautorstwa Doktoranta pojawiła się w 2013 roku, a bezpośredni kontakt ze światem nauki poprzez np. udział w konferencjach naukowych Pan mgr Nędzi zakończył jeszcze wcześniej, bo już w 2007 roku. Ten brak kontynuacji badań naukowych, brak udziału w przygotowaniu wystąpień naukowych i publikacji jest bardzo widoczny w ocenianej dysertacji.

### **Wnioski końcowe**

W podsumowaniu stwierdzam, że mam spore wątpliwości co do faktu, że rozprawa doktorska Pana mgr Marcina Nędzi pt.: „Toksyczne oddziaływanie imidazoliowych cieczy jonowych na mikroglony i sinice bałtyckie” jest pracą nowatorską i stanowi samodzielne oraz oryginalne rozwiązanie prezentowanego w niej problemu naukowego.

Jednak w związku z faktem, że przedstawiona dysertacja spełnia ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim – Ustawa z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, wnioskuję o warunkowe dopuszczenie Pana mgr Marcina Nędzi do dalszych etapów procedury ubiegania się o stopień naukowy doktora. Ostateczną decyzję podejmę, a następnie wyrażę w postaci głosowania, po wysłuchaniu wystąpienia i odpowiedzi doktoranta na pytania podczas publicznej obrony.

prof. dr hab. Robert Biczak

