

Powstańców Warszawy 55,  
81-712 Sopot

tel. (48 58) 7311939

---

prof. dr hab. Ksenia Pazdro  
pazdro@iopan.gda.pl

Sopot, 23 czerwca 2022

#### RECENZJA

**rozprawy doktorskiej Pana mgr Michała Tońskiego  
pt. "PHARMACEUTICALS AND THEIR TRANSFORMATION PRODUCTS IN WATERS –  
ANALYTICS, HYDROLYTIC STABILITY AND THEIR ADSORPTION ONTO MULTI-WALLED  
CARBON NANOTUBES „  
wykonanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego  
pod kierunkiem dr hab. Anny Białk-Bielińskiej, prof. UG**

Recenzja rozprawy doktorskiej została wykonana na wniosek Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego dr hab. Zbigniewa Kaczyńskiego, profesora Uniwersytetu Gdańskiego. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska wpisuje się w nurt rozpoznania losów pozostałości leków w poszczególnych elementach ekosystemów, co jest niezbędne do możliwie dokładnego poznania stanu zanieczyszczenia środowiska przyrodniczego tymi substancjami oraz określenia wynikających stąd konsekwencji dla środowiska oraz zdrowia człowieka. Przeprowadzenie tego typu badań wymaga m.in. jednoczesnego oznaczania analitów na bardzo niskich poziomach zawartości w próbkach o często skomplikowanym składzie matrycy w miarodajny sposób. Badania dotyczące występowania pozostałości leków w postaci macierzystych związków stają się już coraz bardziej powszechne, również w ramach działań monitoringowych i corocznie pojawia się stosunkowo duża liczba danych dotyczących ich występowania w różnych elementach środowiska wodnego. Obieg tych substancji oraz konsekwencje ekologiczne ich obecności w środowisku wodnym stają się zatem coraz lepiej poznane. Tym niemniej występowanie w środowisku przyrodniczym produktów transformacji macierzystych związków obejmujących metabolity i produkty degradacji leków powstające w wyniku procesów hydrolizy, fotodegradacji i biodegradacji pozostają w dużym stopniu niezbadane. Tymczasem, jak wskazują dane literaturowe mogą one niejednokrotnie wykazywać większą toksyczność niż związki macierzyste. Ograniczenia w tym zakresie wynikają również (a może przed wszystkim) z braku miarodajnych metod analitycznych. Niemniej istotnym zagadnieniem jest

poszukiwanie efektywnych i ekonomicznych rozwiązań w zakresie metod separacyjnych pozwalających na efektywne i szybkie usuwanie pozostałości leków (w tym również produktów ich transformacji) z wody i ścieków. **Tematyka badań podjętych przez Doktoranta jest zatem bardzo aktualna, bardzo dobrze wpisuje się we wspomniane wyżej zagadnienia i jest w pełni uzasadniona z poznawczego punktu widzenia.**

Informacja o pracy

**Przedstawiona** mi do recenzji praca doktorska Pana mgr Michała Tońskiego została wykonana pod kierunkiem dr hab. Anny Białk-Bielińskiej, prof. UG w Katedrze Analizy Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Dysertacja, napisana w języku angielskim, liczy 152 strony i składa się z wprowadzenia, części teoretycznej, celu badań, opisu materiałów i metod badawczych, wyników i dyskusji, wniosków oraz spisu literatury. Rozprawa zawiera ponadto przydatny spis zastosowanych skrótów i akronimów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Układ pracy jest przejrzysty i nie budzi zastrzeżeń. Do rozprawy dołączono również opis dotychczasowych osiągnięć naukowych doktoranta. Praca napisana jest prostym i zrozumiałym językiem, tym niemniej z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę, że w co najmniej kilku fragmentach trudno nie dostrzec drobnych niedociągnięć językowych i edycyjnych, a autor nie ustrzegł się skrótów myślowych i zastosowania żargonu laboratoryjnego. Przykłady zaznaczono w otrzymanym egzemplarzu.

#### **Omówienie poszczególnych części pracy**

Autor rozpoczął od krótkiego wprowadzenia do tematu a następnie, w ramach części teoretycznej - obszernego przeglądu dostępnej literatury, dotyczącego procesów transformacji pozostałości leków w środowisku, dostępnych danych o stężeniach produktów transformacji w środowisku, wyzwaniach analitycznych związanych z oznaczaniem analitów z grupy pozostałości leków występujących na bardzo niskich poziomach zawartości w próbkach. W dalszej części Autor przedstawia krótki opis innowacyjnych sorbentów – nanorurek węglowych, które jak wynika z przedstawionych informacji, są obiecującą alternatywą dla dotychczas stosowanych konwencjonalnych materiałów. Ta część rozprawy w klarowny sposób przedstawia motywację do podjęcia badań zaprezentowanych w rozprawie i jednoznacznie potwierdza ich zasadność.

W części „cele pracy” mgr Toński jako główny cel rozprawy określił przekrojowe badanie farmaceutyków z różnych grup terapeutycznych i wybranych produktów ich

transformacji pod względem ich obecności w rzeczywistych próbkach wody, oraz ich stabilności hydrolitycznej. Dodatkowo Doktorant postawił sobie za cel sprawdzenie możliwości usuwania z wody badanych analitów wykorzystując wielokrotnie regenerowane wielościennie nanorurki węglowe (MWCNT) oraz membrany na bazie MWCNT i chitozanu. W tej części cele naukowe rozprawy zostały jasno sprecyzowane i są zbieżne z tytułem rozprawy. Autor określił również cele szczegółowe, które obejmowały:

- opracowanie i walidację metody analitycznej dla pojedynczych związków z wykorzystaniem techniki HPLC-UV/VVIS do oznaczania 17 analitów z różnych grup (związków macierzystych i produktów transformacji) w eksperymentach modelowych hydrolizy i/lub adsorpcji,

- optymalizację i walidację metod analitycznych z wykorzystaniem systemów LC-MS/MS z pułapką jonową lub analizatorem typu potrójny kwadrupol do wyboru najlepszych warunków SPE do ekstrakcji 17 farmaceutyków i ich produktów transformacji,

- zastosowanie opracowanej metody do zbadania obecności wytypowanych analitów w próbkach rzeczywistych,

- ocenę stabilności hydrolitycznej produktów transformacji wybranych leków zgodnie z Wytycznymi OECD,

- ocenę wydajności adsorpcji MWCNTs poddanych termicznemu i chemicznemu procesowi regeneracji,

- ocenę przydatności membran na bazie MWCNT i chitozanu do szybkiego usuwania badanych analitów z roztworów wodnych.

Zastanawiające jest, że w streszczeniu rozprawy autor zawęży niejako „główny cel” do opracowania nowych i czułych metod analitycznych do oznaczania wybranych farmaceutyków i ich produktów transformacji w wodnych próbkach środowiskowych, które następnie zostały zastosowane do kompleksowej analizy tych związków w różnych matrycach, a także podczas badań nad stabilnością hydrolityczną oraz do oceny ich usuwania z wody za pomocą MWCNTs. Moim zdaniem cel sformułowany w części „cele rozprawy bardziej oddaje złożony i nowatorski charakter zaprezentowanych badań.

Część doświadczalna to szczegółowy opis prac. Wyczerpujący opis pozwala na ocenę czy otrzymane wyniki badań są miarodajne. Prace eksperymentalne zostały przez Doktoranta prawidłowo zaplanowane oraz wykonane w staranny sposób co pozwoliło na realizację celów rozprawy.

Otrzymane wyniki badań i ich interpretacja zostały zawarte w kolejnym rozdziale dysertacji „Wyniki i Dyskusja”. Opis wyników i ich interpretacja, jeśli chodzi o optymalizację i walidację zastosowanych przez Doktoranta procedur analitycznych wskazują, że opracowanie jednej miarodajnej metody analitycznej dla większej grupy analitów, w tym produktów transformacji jest wciąż dużym wyzwaniem. W wyniku żmudnych i pracowitych prac eksperymentalnych Doktorant sprostał jednak temu zadaniu. Zoptymalizowane procedury po walidacji pozwoliły na oznaczenie, w wielu przypadkach po raz pierwszy, stężeń produktów transformacji leków w wodach powierzchniowych pobranych w północnej Polsce. Z racji niewielkiej liczby danych dotyczących innych akwenu trudno spodziewać się tu rozbudowanej części dyskusyjnej, ale jest to dobra baza do zaplanowania kolejnych kampanii pomiarowych. Wyniki uzyskane przez Doktoranta potwierdzają, że obecnie stosowane w oczyszczalniach ścieków technologie w przypadku pozostałości leków nie zapewniają efektywnego usuwania nie tylko związków macierzystych, ale również produktów transformacji. Z pewnością interesujące byłoby przeprowadzenie wnikliwej analizy uzyskanych wyników oznaczeń w próbkach rzeczywistych w kontekście wyników testów stabilności hydrolitycznej. Istotną część „Wyników i Dyskusji” stanowią nowatorskie wyniki dotyczące różnych aspektów zastosowania MWCNTs do usuwania wybranych farmaceutyków i ich produktów transformacji z roztworów wodnych.

W ramach przedstawionej rozprawy Doktorant rozwiązał cały szereg problemów badawczych. **Za najważniejsze osiągnięcia Doktoranta, przedstawione w rozprawie i zawierające element nowości naukowej, uważam:**

- opracowanie miarodajnej procedury analitycznej z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS z analizatorem typu potrójny kwadrupol do oznaczania pozostałości leków - związków macierzystych przedstawicieli różnych grup terapeutycznych, takich jak leki przeciwpadaczkowe, niesteroidowe leki przeciwzapalne, beta-blokery, antybiotyki, opioidowe leki przeciwbólowe i przeciwnowotworowe) i ich produktów transformacji w próbkach wodnych (12 analitów, w tym 7 produktów transformacji),
- zastosowanie opracowanej metody do analizy próbek rzeczywistych i wykazanie obecności produktów transformacji leków w próbkach ścieków i wód powierzchniowych w stężeniach na poziomie od setek ng/L do nawet kilku  $\mu\text{g/L}$  w przypadku ścieków i od kilku do setek ng/L w wodach powierzchniowych,

- wykazanie, że większość z analizowanych leków i ich produktów transformacji można zaklasyfikować jako stabilne hydrolytycznie w warunkach środowiskowych,
- wykazanie przydatności MWCNT do usuwania wybranych farmaceutyków i ich produktów transformacji z roztworów wodnych,
- wykazanie możliwości efektywnego zastosowania innowacyjnych sorbentów - wielościennych nanorurek węglowych MWCNT jako dodatkowego elementu w etapie przygotowania próbek ekstraktów z wodnych próbek rzeczywistych do końcowej analizy LC-MS/MS w celu usunięcia związków interferujących,
- wykazanie, że regeneracja termiczna MWCNT w temperaturze 300 °C nie wpływa negatywnie na adsorpcję leków przeciwnowotworowych cyklofosfamidu, ifosfamidu i 5-fluorouracylu
- udowodnienie, że membrany z MWCNT i chitozanem skutecznie usuwają diklofenak, 4-hydroksydiklofenak, N<sup>4</sup>-acetylosulfametoksazol z wody

**W trakcie lektury rozprawy nasunęło mi się kilka uwag i komentarzy, które przedstawiam poniżej jednocześnie prosząc o ustosunkowanie się do najważniejszych z nich w trakcie publicznej obrony:**

- prosiłabym o uściślenie kryterium dobrania leków (i ich produktów transformacji) będących przedmiotem badań i wyjaśnienie z jakich powodów w grupie analitów nie uwzględniono jednego ze związków macierzystych – sulfametoksazolu (w przypadku leków z innych grup terapeutycznych w badaniach uwzględniano zarówno związki macierzyste jak i produkty transformacji)

- wyjaśnienie dotyczące etapu optymalizacji i walidacji metod analitycznych - w przypadku metody dodatku wzorca – jak dokonywano wyboru stężenia analitu; przykładowo w przypadku LC-MS/MS z pułapką jonową zastosowane stężenie 2 µg/L (str. 53) znajduje się być poza zakresem liniowości metody dla niektórych analitów (10-OH-CBZ, MTZ, MTZ-OH, DIC)

- chciałabym uzyskać informacje na temat oceny stabilności roztworów wzorcowych, przechowywanych zgodnie z informacją ze str. 46 (materiały i metody) w temp. -19°C

- Jakich substancji interferujących można się spodziewać w analizowanych przez Doktoranta próbkach

- prosiłabym również o uściślenie kryterium wyznaczania miejsc pobierania próbek rzeczywistych ( biorąc pod uwagę "kryterium geograficzne", odniosłam wrażenie, że miejsca pobierania próbek są dość przypadkowe). Tu dodatkowym aspektem z punktu widzenia przyszłej oceny ryzyka związanego z obecnością tych substancji na obszarze Polski, jest brak uwzględnienia próbek z wód przybrzeżnych, podczas gdy powszechnie wiadomo że finalnym odbiornikiem wszelkiego rodzaju zanieczyszczeń z obszarów lądowych są wody akwenów przybrzeżnych. Jednocześnie chciałabym poznać opinię doktoranta, jak tego typu matryca jak wody morskie, może wpływać na parametry walidacyjne opracowanej metody oznaczania pozostałości leków i ich produktów transformacji.

- chciałabym uzyskać informację, czy w przypadku analizy próbek rzeczywistych każdorazowo analizie poddawano próbkę o objętości 250 ml?

- w ostatnich latach w przypadku oznaczania pozostałości leków w próbkach środowiskowych coraz powszechniejsze staje się rutynowe zastosowanie deuterowanych odpowiedników badanych analitów. Czy Doktorant widzi możliwość zastosowania takiego podejścia w opracowanych w ramach realizacji rozprawy procedur analitycznych z wykorzystaniem LC-MS/MS

- Jaka jest, zdaniem Doktoranta, przyczyna wartości IQL dla cx-IBU, odbiegająca od wartości IQL dla innych analitów (tabela 21, str. 91)

- w pracy Doktorant skupił się na przetestowaniu jednego rodzaju membran na bazie niskocząsteczkowego chitozanu i jednego typu MWCNTs. Jakie były przesłanki do wyboru dokładnie tego specyficznego układu?

- w streszczeniu w języku polskim doktorant stwierdza , że metoda została zastosowana do oznaczania badanych związków w różnych próbkach wód środowiskowych, takich jak ścieki i wody powierzchniowe. Chciałabym tu doprecyzować, co doktorant rozumie pod pojęciem wody środowiskowe (szczególnie w kontekście ścieków).

Str. 25 „Moreover, only around 3 % of carbamazepine is excreted in unchanged form, which suggests that TPs should not be found in high amounts, at least in WWTP influent” to zdanie w części teoretycznej jest niezrozumiałe

Str. 28 Tabela 5 - Tytuł tabeli wskazuje, że w tabeli zawarte są data dotyczące stężeń produktów transformacji w wodach powierzchniowych tymczasem w tabeli znajdują również dane dotyczące „digested activated sludge” i digested manure”

## **Podsumowanie**

Wymienione wyżej uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi wartościowe, oryginalne studium badawcze, a Doktorant zrealizował obszerny program badań, uzyskując nowatorskie wyniki. Część badań została zaprezentowana w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania. Według przedstawionych mi dokumentów, całkowity dorobek pana magistra Tońskiego obejmuje współautorstwo 7 prac w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej o wysokim współczynniku wpływu, 9 wystąpień ustnych i 28 posterów na konferencjach. Uzyskane przez Doktoranta wyniki oceniam również jako istotny wkład w poznanie losu pozostałości farmaceutyków, a w szczególności produktów ich transformacji w ekosystemach wodnych. Ciągłe poszerzanie wiedzy w tym zakresie ma zasadnicze znaczenie w miarodajnej oceny skutków obecności tych związków w środowisku przyrodniczym i prawdopodobieństwa wystąpienia odległych efektów toksycznych.

Reasumując, po zapoznaniu się z całością pracy, z przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca Pana mgr Michała Tońskiego odpowiada ustawowo określonym warunkom stawianym rozprawom doktorskim. Wniosuję zatem o przyjęcie ocenianej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pana mgr Michała Tońskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.