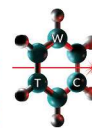




Wojskowa
Akademia
Techniczna

Wydział
Nowych Technologii i Chemii



Warszawa, dn. 18.12.2023 r.

dr hab. Krzysztof Kuśmierek, prof. WAT
Instytut Chemii, Wydział Nowych Technologii i Chemii
Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego
ul. gen. Sylwestra Kaliskiego 2, 00-908 Warszawa

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Izabelli Kości

**pt.: „Nowoczesne sposoby przygotowania próbek biologicznych i środowiskowych
w oznaczaniu leków”**

Rozprawa doktorska Pani mgr Izabelli Kości została zrealizowana w Katedrze Chemii Środowiska, Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem Pana dr hab. Pawła Kubalczyka, prof. UŁ. Recenzowana rozprawa ma formę spójnego tematycznie cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej. Oparta jest na czterech oryginalnych pracach (D1-D4), których Pani magister jest współautorką. Publikacje ukazały się w czasopismach: *Molecules* (dwie prace D1 i D4), *Scientific Reports* (D2) i *International Journal of Molecular Sciences* (D3). Sumaryczny współczynnik wpływu (*Impact Factor*) tych artykułów wynosi 19,4; co daje średni IF na jedną pracę 4,85. Zgodnie z wykazem czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych Ministerstwa Edukacji i Nauki, każda z publikacji jest wyceniona na 140 punktów.

Rozprawa doktorska Pani mgr Izabelli Kości oprócz kopii reprintów czterech publikacji zawiera również oświadczenia współautorów, dorobek naukowy Autorki oraz część opisową,

w której Doktorantka przedstawiła cel rozprawy, dokonała streszczenia artykułów składających się na rozprawę i omówiła otrzymane w poszczególnych publikacjach wyniki. Zamieszczone na początku pracy *Wykaz skrótów i symboli* oraz *Spis treści* umożliwiają jej szybkie przeglądanie i powrót do najbardziej interesujących fragmentów. Szkoda tylko, że Doktorantka była trochę niekonsekwentna i pominęła kilka istotnych, pojawiających się dość często w pracy skrótów np. SPE, FLD, TLC, GC-MS, TFA, PCA. Część opisowa w sposób logiczny i precyzyjny przedstawia najważniejsze zagadnienia pracy oraz przebieg i wyniki przeprowadzonych badań. Całość jest napisana poprawnym językiem i jest przygotowana starannie pod względem edytorskim, niemniej zawiera pewne błędy i niewłaściwe sformułowania. I tak:

- na stronie 11 zamiast zacytowanej pozycji [68] powinno być raczej [18];
- na stronie 13 zamiast „zwalczania antyagresywności” powinno być „zwalczania agresywnego zachowania” lub „zmniejszania agresji zwierząt”;
- „worteksowanie próbek” (m.in. str. 17, 18, 24, 26, 67) – powinno być „energiczne wytrząsanie”;
- „supernatant” (m.in. str. 18, 26, 30, 49, 61) – powinno być „roztwór nad osadem”;
- „wprowadzana na kolumnę objętość próbek” – powinno być „wprowadzana do kolumny”;
- wreszcie zamiast „kartridż” (str. 28) bardziej prawidłowym określeniem jest po prostu „pojemnik”.

Przytoczone powyżej drobne niedociągnięcia nie umniejszają pracy i nie mają istotnego wpływu na jej merytoryczną ocenę.

Celem pracy doktorskiej było opracowanie prostych, czułych i szybkich metod oznaczania wybranych antybiotyków (cyprofloksacyny i ofloksacyny) w ludzkim moczu i tkankach zwierzęcych oraz leków uspokajających (azaperonu i jego metabolitu azaperolu) w tkankach zwierząt techniką elektroforezy kapilarnej (CE) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Opracowane metody, bazujące na dość powszechnie spotykanej aparaturze analitycznej, mają służyć laboratoriom zajmującym się kontrolą żywności, np. w Państwowej Inspekcji Sanitarnej, Inspekcji Weterynaryjnej, czy Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, do badań zawartości szkodliwych pozostałości leków w produktach spożywczych. Tak postawiony cel rozprawy uważam za jak najbardziej aktualny i uzasadniony. Nie od dziś wiadomo, że odpowiednia dieta zapewniająca odpowiednią podaż niezbędnych substancji odżywczych jest warunkiem prawidłowego funkcjonowania naszego organizmu; wpływa pozytywnie na utrzymanie dobrej kondycji

fizycznej, ale także może przyczynić się do zapobiegania wystąpienia chorób od niej zależnych. Niestety dostępne produkty spożywcze oprócz oczywistych składników pokarmowych mogą zawierać również substancje szkodliwe – pozostałości, jak i zanieczyszczenia żywności (np. antybiotyki, hormony), które mogą wywierać bezpośrednie działanie na człowieka. I tak, nawet małe dawki antybiotyków przyjmowane z żywnością przez dłuższy czas (skumulowane w tkankach i narządach zwierząt oraz ich produktach – mleku, jajach) mogą powodować wytworzenie w organizmie ludzkim lekoopornych szczepów bakteryjnych, a w skrajnych przypadkach mogą wywoływać reakcje alergiczne lub też wykazywać działanie mutagenne i kancerogenne. Spożywanie produktów zwierzęcych zawierających pozostałości leków hormonalnych (tzw. „hormonów tuczących”, których celem jest przyspieszenie wzrostu hodowanych zwierząt) może z kolei prowadzić do zaburzeń gospodarki hormonalnej człowieka. Problem ten dotyczy również żywności pochodzenia roślinnego, w której niestety dość często można znaleźć pozostałości środków ochrony roślin, np. chyba najbardziej „niesławnego” pestycydu jakim jest glifosat. Dlatego też jeszcze raz podkreślę, że problem badawczy podjęty przez Panią magister, czyli opracowanie nowych procedur analitycznych oznaczania ksenobiotyków – leków weterynaryjnych, w tkankach zwierzęcych, jest niezwykle ważny i aktualny.

W swoich pracach Doktorantka szczególnie nacisk położyła na etap przygotowania próbek do analizy, który jak powszechnie wiadomo jest etapem najtrudniejszym, najbardziej czasochłonnym i generującym największy błąd pomiarowy. Po optymalizacji etapu przygotowania próbek, który obejmował m.in. homogenizację, odbiałczanie oraz ekstrakcję i zatężanie analitów, Doktorantka zoptymalizowała warunki rozdzielania elektroforetycznego (lub chromatograficznego), przeprowadziła kalibrację i walidację opracowanych metod, które finalnie zastosowała do oznaczania antybiotyków (cyprofloksacyny i ofloksacyny) i leków uspokajających (azaperonu i azaperolu) w tkankach zwierzęcych oraz ludzkim moczu.

W pierwszym artykule (D1) opublikowanym w *Molecules*, Doktorantka zaprezentowała wyniki badań, których celem było opracowanie metody równoczesnego oznaczania cyprofloksacyny i ofloksacyny w tkankach zwierzęcych (wątrobie i nerkach) techniką elektroforezy kapilarnej z detekcją w nadfiolecie z zatężaniem w kapilarze na drodze przejściowej pseudo-izotachforezy.

W drugim artykule (D2) Doktorantka przedstawiła opracowaną przez siebie metodę oznaczania antybiotyków w ludzkim moczu techniką elektroforezy kapilarnej.

Zoptymalizowała warunki prowadzenia ekstrakcji oraz rozdzielania, a także zbadała wpływ temperatury i sposobu przechowywania próbek na trwałość analitów.

Następna praca wydana w *Molecules* (D3) dotyczy chromatograficznego oznaczania azaperonu i jego metabolitu azaperolu w tkankach zwierzęcych – wątrobie i nerkach. Autorka opracowała optymalne warunki przygotowania próbek do analizy, a w celu zwiększenia czułości metody do całej procedury wprowadziła dodatkowo etap zateżnienia próbki. Określiła również tzw. „ekologiczność metody”, co moim zdaniem jest bardzo ciekawe, nowatorskie i nieczęsto spotykane w literaturze.

W ostatniej, czwartej publikacji (D4) Doktorantka opisała metodę oznaczania antybiotyków techniką elektroforezy kapilarnej w tkankach zwierzęcych z zastosowaniem modyfikowanych nanocząstek Fe_3O_4 wykazujących właściwości magnetyczne w ekstrakcji do fazy stałej (MSPE). W pracy zoptymalizowała warunki prowadzenia ekstrakcji, m.in. zbadała wpływ masy użytego adsorbentu, czasu adsorpcji i desorpcji oraz objętości rozpuszczalnika potrzebnej do całkowitej desorpcji analitów. Podjęła również próbę zautomatyzowania procesu ekstrakcji wewnątrz układu CE.

Wyniki badań zamieszczone w wyżej wymienionych czterech publikacjach pozwoliły na ustalenie szeregu cennych wniosków, które zostały zamieszczone w *Podsumowaniu* (str. 97-99). Podoba mi się przedstawiony na stronach 94-96 podrozdział zatytułowany *Zalety i wady opracowanych metod*, w którym Autorka dokonała krytycznej oceny opracowanych przez siebie metod analitycznych wskazując ich mocne, ale i słabe strony. Podoba mi się również przedstawiona na stronie 96 tabela (Tabela 6), która w sposób syntetyczny podsumowuje i porównuje opracowane przez Autorkę metody. W tym miejscu recenzji stwierdzam z pełnym przekonaniem, że przedstawione artykuły stanowią logiczną całość, są zgodne z tematem rozprawy i mogą być podstawą rozprawy doktorskiej.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej są wieloautorskie. Jedna praca została opublikowana wspólnie z Promotorem (D3), jedna liczy trzech autorów (D2) i dwie prace są czteronazwiskowe (D1 i D4). We wszystkich czterech artykułach mgr Izabella Kośka jest pierwszym autorem oraz jest wskazana jako autor korespondencyjny. Świadczy to, co potwierdzają również załączone oświadczenia współautorów, że Doktorantka miała znaczący wpływ na ich przygotowanie i opracowanie. Należy tu również nadmienić, że każda z tych prac przeszła już pozytywnie formalną jak i merytoryczną ocenę przez niezależnych (międzynarodowych) ekspertów powołanych przez redaktorów tychże czasopism. Ja również

oceniam te publikacje, jak i całą rozprawę, bardzo wysoko i nie mam do nich większych uwag. Podczas czytania przedstawionej mi do recenzji rozprawy, nasunęło mi się jednak kilka pytań, na które, mam nadzieję, Doktorantka odpowie mi podczas publicznej obrony:

- Czy próbowała Pani oznaczać „swoje” antybiotyki i leki uspokajające w innych tkankach zwierzęcych, np. w tkance mięśniowej?
- W artykule D2, procedura przygotowania próbki polegała na pobraniu 268 μ l moczu i dodaniu 132 μ l buforu. Skąd takie objętości? Czy nie prościej byłoby posługiwać się bardziej „okrągłymi” (równymi) objętościami?
- Czy próbowała Pani oznaczać azaperon i jego metabolit również techniką elektroforezy kapilarnej?
- Jaka była „żywność” magnetycznych nanonocząstek żelaza? Ile cykli adsorpcji-desorpcji można było przeprowadzić bez zauważalnego pogorszenia ich pojemności adsorpcyjnej?

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Izabelli Kośki, na którą składa się spójny tematycznie cykl czterech artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach anglojęzycznych, dotyczy aktualnych i istotnych z praktycznego punktu widzenia zagadnień. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje wiele elementów nowości naukowej. W moim przekonaniu opiniowana rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w świetle obowiązujących przepisów i w związku z tym zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. Stopni Naukowych w dyscyplinie Nauki Chemiczne z wnioskiem o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr Izabelli Kośki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy.

Wojciech Kisielecki