



Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej
i Elektrochemii

dr hab. inż.
Sylwia Bajkacz
Profesor PŚ

Gliwice, 27.12.2024 r.

RECENZJA
rozprawy doktorskiej mgra Jerzego Pogrzeby
pt. „Zastosowanie cyjanobakterii jako biosorbentów do usuwania
ksenofarmaceutyków”

Ocena wyboru tematyki badawczej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgra Jerzego Pogrzeby została wykonana w Instytucie Chemii Uniwersytetu Opolskiego pod kierunkiem Pani dr hab. Anny Poliwody, prof. UO.

Szybki rozwój ekonomiczny i poprawa warunków egzystencji prowadzi do zwiększenia długości życia. Jednym z powodów jest możliwość szerokiego aplikowania leków, zarówno w placówkach szpitalnych, jak i w warunkach domowych. Niestety, stosowanie leków w dużych ilościach, połączone z niedostatecznym uświadamianiem pacjentów oraz niedoskonałościami w utylizacji pozostałości tych stosunkowo trwałych związków, z racji swojej charakterystyki pozostających w dodatku biologicznie aktywnymi nawet w dużym rozcieńczeniu, spowodowało, że zaczęto rozpatrywać je jako potencjalny poważny problem środowiskowy. Związki te trafiają wraz ze ściekami komunalnymi do oczyszczalni ścieków, które nie są odpowiednio przygotowane do ich usuwania. Rosnące zanieczyszczenie środowiska wymusza na naukowcach opracowywanie coraz bardziej efektywnych i ekologicznych metod usuwania zanieczyszczeń organicznych, w tym farmaceutyków.

Biorąc pod uwagę powyższe, uważam, że tematyka badawcza podjęta przez Doktoranta jest bardzo aktualna, w pełni uzasadniona i wpisuje się doskonale w nurt współczesnej chemii środowiskowej.

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i
Elektrochemii
ul. Krzywoustego 6, pok. 331, 44-100 Gliwice
+48 32 237 18 18
sylwia.bajkacz@polsl.pl

NIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230 1000
0002 0211 3056



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechniki
Śląskiej



Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Omawiana rozprawa doktorska autorstwa mgra Jerzego Pogrzeby napisana jest w formie tradycyjnej, obejmuje 111 stron, zawiera 41 rysunków oraz 6 tabel. Tytuł pracy został poprawnie sformułowany i jest zgodny z uzyskanymi wynikami badań. Praca została napisana w języku polskim, ma klasyczną strukturę i została podzielona na następujące części: przegląd literatury (30 stron), cel badań (2 strony), część eksperymentalną wraz z metodologią (10 stron), analizę wyników i ich omówienie (43 strony), a także podsumowanie i wnioski (4 strony).

Dysertacja zawiera również streszczenie w języku polskim i angielskim, spis akronimów i symboli umieszczony na początku pracy, a także spisy literatury, tabel, rysunków oraz suplement znajdujące się na jej końcu. W trakcie redakcji pracy Autor korzystał z 242 pozycji literaturowych, głównie z najnowszych publikacji naukowych. Całość rozprawy uzupełnia dorobek naukowy Doktoranta, obejmujący trzy publikacje naukowe w czasopismach *Molecules*, *Toxins* i *Wiadomości Chemiczne* (w jednej z nich Doktorant jest pierwszym Autorem). Dodatkowo podczas realizacji pracy doktorskiej mgr Jerzy Pogrzeba aktywnie prezentował wyniki swoich badań na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci komunikatów (3) oraz prezentacji posterowych (2). Realizował także projekt dla doktorantów finansowany przez Instytut Chemii Uniwersytetu Opolskiego, a także aktywnie uczestniczył w inicjatywach promujących naukę oraz w przedsięwzięciach organizacyjnych.

Rozpoczynając ocenę merytoryczną pracy, kluczowym elementem jest analiza zdolności do kompleksowego i krytycznego przedstawienia aktualnego stanu wiedzy dotyczącego badanego zagadnienia. Pan mgr Jerzy Pogrzeba skutecznie zrealizował to zadanie, poświęcając sześć podrozdziałów swojej rozprawy doktorskiej tematami takim jak ksenofarmaceutyki, ich szkodliwość dla ludzi i organizmów, mechanizmy i zjawisko biosorpcji, zastosowanie biosorbentów oraz potencjalne wykorzystanie cyjanobakterii w tym procesie. Tę część oceniam pozytywnie, została napisana w jasny i kompetentny sposób, z właściwie dobraną literaturą przedmiotu. Autor przedstawił zagadnienia teoretyczne w interesujący sposób, co świadczy o dużym zainteresowaniu wybraną tematyką i wiedzy w tym zakresie. Szczególne uznanie budzi sposób omówienia właściwości cyjanobakterii, który skutecznie ukazuje ich znaczący potencjał sorpcyjny. W części literaturowej pewien niedosyt budzi jedynie brak omówienia zagadnienia związanego z występowaniem wybranych farmaceutyków w środowisku. W moim odczuciu zamiast omówienia działania farmakologicznego poszczególnych leków, stosowniejsze byłoby przedstawienie np. informacji na temat stężeń farmaceutyków oznaczonych w środowisku oraz metod ich usuwania (niekoniecznie z wykorzystaniem

biosorbentów). Takie zestawienie byłoby przydatne, aby w podsumowaniu swoich badań wskazać wady i zalety zaproponowanego przez Doktoranta rozwiązania, w stosunku do tego co już do tej pory zostało zrobione w temacie usuwania paracetamolu, ibuprofenu i diklofenaku. Pomimo tych drobnych niedociągnięć część literaturowa rozprawy jest ciekawa i odpowiednio wprowadza czytelnika w problem badawczy, którego rozwiązanie stanowiło cel jaki postawił sobie Doktorant.

Na podstawie analizy danych literaturowych Doktorant jasno sformułował cel pracy, którym była ocena zdolności wybranych cyjanobakterii do biosorpcji trzech farmaceutyków obecnych w medium hodowlanym oraz zbadanie wpływu tych związków na metabolizm sinic. Ponadto Autor sformułował hipotezy badawcze oraz zestawiał zadania badawcze, które zrealizował na poszczególnych etapach swojej pracy.

Część doświadczalna (nazwana przez Autora „Metodologia pracy badawczej”) ma tradycyjny układ. Po poprawnym zestawieniu stosowanej aparatury, odczynników i opisie metodyki oznaczania wybranych ksenofarmaceutyków, mgr Jerzy Pogrzeba przedstawił bardzo szczegółowe opisy stosowanych procedur. Badania obejmowały m.in. ocenę wpływu pojedynczych substancji (trzech wybranych farmaceutyków) oraz ich mieszanin na poszczególne gatunki słodkowodnych i słonowodnych sinic, badanie możliwości zastosowania konsorcjów sinic w procesie biosorpcji, a także badania w pożywkach pozbawionych węgla jako źródła pożywienia. Eksperymenty obejmowały również kontrolę wzrostu i metabolizmu sinic, na podstawie zawartości w ich komórkach chlorofilu, karotenoidów, fikobiliprotein. Niezwykle istotnym z analitycznego punktu było wydzielanie pozostałości wybranych farmaceutyków z płynów pohodowlanych, z powierzchni oraz z wnętrza komórek. Na koniec Doktorat opisał procedury stosowane w badaniach toksyczności wybranych układów płynów pohodowlanych wobec organizmów bezkręgowych i roślinnych. Zrealizowane w ramach pracy doktorskiej doświadczenia zostały przedstawione w przejrzysty sposób, a dzięki temu śledzenie poszczególnych etapów badań i postępów w ich realizacji nie budzi żadnych wątpliwości.

W dalszej części rozprawy mgr Jerzy Pogrzeba dokonał interpretacji otrzymanych wyników. Rozpoczął od opracowania metody oznaczania paracetamolu, diklofenaku i ketoprofenu z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem UV oraz ze spektrometrem mas. W dalszej części opracowane narzędzia analityczne wykorzystał do badania efektywności biororpcji oznaczanych substancji. W moim odczuciu najważniejszym zadaniem badawczym było potwierdzenie możliwości zastosowania cyjanobakterii jako aktywnych biosorbentów do usuwania wybranych farmaceutyków.

Doktorant z powodzeniem udowodnił, że słodkowodne gatunki sinic są w stanie efektywnie usuwać jeden z wybranych leków, tj. paracetamol. Niestety efektywność usunięcia ibuprofenu i diklofenaku, zarówno w hodowlach z pojedynczymi substancjami, jak i w mieszaninie była dużo niższa. Niezwykle obiecujące wyniki (aż ponad 80% usunięcie wszystkich trzech badanych leków) Doktorant otrzymał dla halofilnej sinicy *Arthrospira platenis*. W ramach badań Doktorant określił również wpływ farmaceutyków na wybrane gatunki cyjanobakterii (ich wzrost oraz zmiany metaboliczne w komórkach). Otrzymane wyniki sugerują, iż gatunek *Anabaena* sp. jest najbardziej wrażliwy na obecność wybranych leków w pożywce – w większości eksperymentów Doktorant zaobserwował przyspieszenie rozwoju tego gatunku oraz wzrost biosyntezy pomocniczych barwników fotosyntetycznych. Podobne zmiany występowały w rozwoju konsorcjów obu gatunków, co wskazuje na dominację gatunku *Anabaena* sp. w badanym konsorcjum.

Bardzo istotne są również wyniki potwierdzające, że oznaczane farmaceutyki nie ulegają adsorpcji na powierzchni mikroorganizmów. Na tej podstawie Doktorant wnioskuje, iż usunięcie farmaceutyków zachodziło na drodze biotransformacji. Stąd w dalszych badaniach podjął próbę identyfikacji potencjalnych metabolitów oznaczanych ksenobiotyków w płynach pochodowlanych, jednak nie osiągnął spektakularnego sukcesu – udało się zidentyfikować jedynie trzy metabolity diklofenaku. Pan mgr inż. Jerzy Pogrzeba rozszerzył swoje badania również o testy toksyczności dla rozwielitki *Daphnia magna* oraz dwóch gatunków mikroalg. Doktorant udowodnił, że toksyczność płynów pochodowlanych pochodzących z hodowli stosowanych cyjanobakterii z dodatkiem wybranych farmaceutyków jest na ogół niska wobec modelowych gatunków zwierząt i roślin.

Przedstawione wyniki badań stanowią spójną całość. Widać wyraźnie, że cała praca badawcza skoncentrowana była na jednym zagadnieniu, przy czym prowadzono ją bardzo szeroko i kompleksowo, podejmując wymagające badania z wykorzystaniem mikroorganizmów. Są to niewątpliwie zalety ocenianej rozprawy doktorskiej, świadczące o dojrzałości Doktoranta. Podoba mi się, że Doktorant poddał ocenie wszystkie przebadane układy, także te, dla których wyniki nie były zadowalające (np. niskie usunięcie ibuprofenu wobec obu badanych słodkowodnych gatunków cyjanobakterii). Na podkreślenie zasługuje również fakt, że dyskusja wyników jest na ogół klarowna i poprawna merytorycznie, choć w pewnych momentach mogłaby być bardziej wnikliwa. Wyniki otrzymane przez mgra Jerzego Pogrzebę mają elementy nowości naukowej. Podsumowując część eksperymentalną należy podkreślić, że

Doktorant osiągnął założony cel pracy, zastosował odpowiednie metody badawcze oraz wnikliwie i logicznie zinterpretował uzyskane wyniki.

Do najważniejszych osiągnięć recenzowanej rozprawy doktorskiej zaliczam:

- wybór interesującej naukowo tematyki badawczej;
- przeprowadzenie spójnych i kompleksowych badań mających na celu wykazanie skuteczności biosorpcji poszczególnych ksenofarmaceutyków z zastosowaniem słodkowodnych i słonowodnych gatunków sinic;
- udowodnienie, że gatunek słonowodny *Arthrospira platensis* bardzo efektywnie usuwał wszystkie farmaceutyki, osiągając niemal 100% efektywność biosorpcji niezależnie od stężenia;
- wykazanie, że płyny pochodzące z hodowli z *Arthrospira platensis* w większości przypadków nie wykazywały toksyczności wobec badanych modelowych gatunków zwierząt i roślin.

W trakcie oceny merytorycznej rozprawy doktorskiej pojawiły się pewne uwagi, spostrzeżenia oraz refleksje, które chciałbym przedstawić Autorowi do rozważenia:

1. Jakie były kryteria doboru stężeń farmaceutyków, które stosowano w badaniach? Są to stosunkowo wysokie stężenia – czy takich możemy spodziewać się w środowisku?
2. Str. 31: W jaki sposób zoptymalizowano warunki rozdzielania i oznaczania wybranych ksenofarmaceutyków? Czy na pewno była to optymalizacja, czy może „dobór parametrów rozdzielania i oznaczania”?
3. Czym Doktorant kierował się podczas doboru rozpuszczalnika ekstrakcyjnego? Czy określony został odzysk procedur ekstrakcji farmaceutyków z płynów pochodzących, z powierzchni komórek oraz z wnętrza komórek?
4. W pracy zamieszczono jedynie jony molekularne i fragmentacyjne oznaczanych farmaceutyków. Brakuje pozostałych parametrów pracy spektrometru mas. Czy parametry te były dobierane przez Doktoranta?
5. Proszę nieco więcej powiedzieć o wynikach otrzymanych na etapie walidacji procedury. Jakie były zakresy liniowości, granice wykrywalności i oznaczalności, efekt matrycowy i inne.
6. Proszę jasno sprecyzować, które badania wykonywane były z zastosowaniem HPLC-UV, a które z zastosowaniem HPLC-MS.
7. Rysunek 11: Dlaczego dla paracetamolu i diklofenaku obserwowano najwyższy współczynnik wzrostu *Anabaena* sp. przy wysokich stężeniach leku, a dla ibuprofenu przy najniższym stężeniu leku?

8. Dlaczego w przypadku *Athrospira platensis* w układzie z pożywką pozbawioną obecności węgla zaobserwowano tak różne zachowanie diklofenaku i ibuprofenu?

Pod względem redakcyjnym praca została przygotowana starannie. Zamieszczone rysunki i tabele są na ogół czytelne (choć w niektórych przypadkach mogły być nieco większe, np. rysunek 36), opatrzone wyczerpującymi opisami. W mojej ocenie praca została napisana poprawnym językiem, bez używania zwrotów anglojęzycznych i żargonowych, stosując z reguły poprawną nomenklaturę analityczną. Do przykładowych błędnych sformułowań użytych w pracy należą: „testowane farmaceutyki”, „badane leki”.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra Jerzego Pogrzeby jest oryginalnym opracowaniem naukowym. Doktorant wykazał się wiedzą w aktualnej tematyce będącej przedmiotem dysertacji, potrafi skutecznie rozwiązywać problemy, krytycznie analizować otrzymane wyniki oraz prawidłowo formułować wnioski. Recenzowana praca prezentuje bardzo dobry poziom naukowy, zawiera elementy nowości naukowej, a wymienione powyżej uwagi i pytania nie umniejszają mojej pozytywnej oceny.

Podsumowując, przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana mgra Jerzego Pogrzeby pt. „Zastosowanie cyjanobakterii jako sorbentów do usuwania ksenofarmaceutyków” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim zawarte w Ustawie. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Opolskiego o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sylvia Bajkecz