

dr hab. Tomasz Ligor, prof. UMK
Katedra Chemii Środowiska i Bioanalityki,
Wydział Chemii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr **Beaty Marii Czarczyńskiej-Goślińskiej**,
pt. „**Oznaczanie w wybranych matrycach związków z grup parabenów i bisfenoli**”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Agnieszki Zgoła-Grześkowiak
w Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku Wydziału Farmaceutycznego,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Rozprawa doktorska magister Beaty Marii Czarczyńskiej-Goślińskiej poświęcona jest analityce parabenów i bisfenoli w próbkach środowiskowych, kosmetykach oraz w mleku kobiecym - matek karmiących. Oznaczanie parabenów i bisfenoli jest ważne ze względu na to, że substancje te zaburzają funkcjonowanie układu hormonalnego organizmów żywych. Badania wykonane przez mgr Beatę Czarczyńską-Goślińską były związane głównie z opracowaniem metod analitycznych pozwalających na dokładną i skuteczną analizę parabenów i bisfenoli. Doktorantka opracowała metody analityczne bazujące na technice HPLC z detekcją fluorescencyjną, stosowała także metody oparte na technice LCMS/MS. Bardzo ważnym elementem prac laboratoryjnych było opracowanie skutecznych i powtarzalnych metod przygotowania próbek do analiz chromatograficznych. Doktorantka opracowała metody ekstrakcji i oczyszczania analitów w oparciu o ekstrakcję do fazy stałej - SPE oraz QuEChERS. Uzyskane wyniki przedstawione są starannie i poparte są stosownymi wnioskami oraz szczegółowymi komentarzami. Recenzowana praca doktorska ma istotne znaczenie w kontekście opracowania skutecznych i wydajnych metodyk przygotowania próbek biologicznych, koniecznych w oznaczeniu ksenobiotyków organicznych w matrycach biologicznych.

Licząca 168 stron praca doktorska posiada klasyczny układ dla tego typu opracowań. Składa się z 12 rozdziałów - wstęp, cele pracy, część literaturowa, część doświadczalna, wyniki wraz z omówieniem, podsumowanie i wnioski. Zawiera również streszczenie w j. polskim i angielskim, wykaz literatury, tabel i rysunków oraz suplement. Rozprawa zawiera 43 tabele oraz 41 rysunków. W skład pracy wchodzi także spis skrótów i akronimów.

Rozprawa jest bardzo starannie przygotowana pod względem redakcyjnym i napisana poprawnie językowo.

Wstęp jest zwięzłym wprowadzeniem do tematyki badawczej. W części literaturowej przedstawiono wyczerpujący przegląd aktualnej tematyki przedmiotu. Autorka omawia m.in. otrzymywanie, zastosowania, właściwości parabenów oraz bisfenoli, przedstawia właściwości toksykologiczne, metabolizm, degradację oraz narażenie człowieka na obie grupy substancji chemicznych. Autorka wiele miejsca poświęca również metodom przygotowania próbek, w tym mikroekstrakcji dyspersyjnej, ekstrakcji i mikroekstrakcji do fazy stałej (SPE, SPME), technice QuEChERS, mikroekstrakcji do pojedynczej kropli rozpuszczalnika, ekstrakcji ruchomym elementem sorpcyjnym. Ta część pracy została przygotowana na podstawie blisko 290 prac naukowych.

Cele pracy zostały przedstawione w sposób zwięzły i wyczerpujący, i dotyczą:

- opracowania i walidacji procedur do oznaczania parabenów w wybranych kosmetykach za pomocą HPLC z detekcją fluorescencyjną,
- opracowania i walidacji metod ekstrakcji oraz oznaczania parabenów i bisfenoli w wodach powierzchniowych za pomocą LC-MS/MS,
- opracowania i walidacji metod przygotowania próbek (technika QuEChERS) oraz oznaczania parabenów i bisfenoli w mleku kobiecym techniką LC-MS/MS.

Na ok. 120 stronach części doświadczalnej przedstawiono: opis aparatury, warunki oznaczeń instrumentalnych za pomocą HPLC-FD i LC/MS/MS, opracowane metodyki przygotowania próbek, informacje dotyczące zbieranie próbek, itp. W dalszej części pracy szczegółowo omówiono poszczególne metodyki badawcze opracowane przez p. mgr Beatę Czarczyńską-Goślińską. Przedstawiono poszczególne eksperymenty dotyczące wyboru sorbentów do SPE i optymalizacji QuEChERS. Zestawiono parametry walidacyjne dla każdej z opracowanych metod. Odpowiednie dane, uwzględniające wartości odzysków i precyzję przedstawiono w postaci tabel opatrzonych odpowiednimi komentarzami. Doktorantka porównywała również parametry walidacyjne metody analizy za pomocą LC/MS dla faz ruchomych z dodatkiem octanu amonu, jak i bez tego dodatku. Najbardziej interesujące są części dotyczące opracowania metodyk oznaczania parabenów i bisfenoli w próbkach mleka kobiecego. Autorka zastosowała glukuronidy metyloumbeliferonu do optymalizacji procesu przygotowania próbek. W próbkach mleka oznaczała wolną frakcję parabenów i bisfenoli oraz frakcję glukuronidową, uzyskaną po hydrolizie enzymatycznej. Wyniki przedstawiła na licznych wykresach i rysunkach.

W obszernym rozdziale 5, p. mgr Beata Czarczyńska-Goślińska prezentuje i omawia wyniki oznaczenia parabenów i bisfenoli w różnych matrycach. Doktorantka sprawdziła i omówiła efekty matrycowe towarzyszące analizom na różnych poziomach stężeń, co stanowi ważny element recenzowanej pracy doktorskiej. Wyniki dotyczące oznaczeń wolnej frakcji parabenów i bisfenoli oraz ich sumarycznej zawartości, w mleku wolontariuszek zestawiono w postaci tabel i rysunków. Biorąc pod uwagę ewentualne drogi narażenia na parabeny, Doktorantka wysunęła hipotezę, że regularne stosowanie kosmetyków, może być istotną przyczyną podwyższonych stężeń tych substancji w mleku kobiet.

Mgr Beata Czarczyńska-Goślińska jest współautorką 5 publikacji, które dotyczą zagadnień związanych z przedmiotem rozprawy doktorskiej. Sumaryczna wartość współczynnika IF wynosi 14,482, a suma punktów wg wykazu MNiSW wynosi 130, co w wypadku osób ubiegających się o stopień naukowy doktora jest wynikiem bardzo dobrym.

Chciałbym również zwrócić uwagę na całokształt pracy naukowej p. mgr Beaty Czarczyńskiej-Goślińskiej. Oprócz publikacji związanych tematycznie z rozprawą doktorską, jest również współautorką 6 innych prac. Niestety do dokumentacji nie został dołączony życiorys naukowy Doktorantki.

Podjęta przez Doktorantkę problematyka, wpisuje się w aktualne tematy badawcze związane z oznaczaniem substancji o charakterze ksenoestrogennym w próbkach biologicznych. Oceniając pracę doktorską należy również podkreślić, że wymagała ona wykonywania licznych eksperymentów, mających na celu wyznaczenie odpowiednich warunków ekstrakcji i oczyszczania oraz wykonania analiz LC/MS. Doktorantka przeprowadziła wiele czasochłonnych i żmudnych doświadczeń, mających na celu doskonalenie metodyk analitycznych. Doktorantka wykazała się zatem umiejętnością planowania i wykonywania eksperymentów oraz interpretacji wyników.

Dokonując oceny rozprawy doktorskiej nasunęły mi się drobne uwagi oraz spostrzeżenia do rozważania i dyskusji:

- str. 46 Proszę o wyjaśnienie fragmentu: „Ogólnie rzecz biorąc, metody GC-FID mają przewagę związaną z niższym kosztem (w porównaniu z MS) i wysoką odpornością. Z drugiej strony, systemowi detekcji brakuje jednoznacznej zdolności analitycznej identyfikacji technik MS [2]”;

- str 46 Określenie jest b. mało precyzyjne: „W porównaniu z LC-MS/MS, GC-MS pozwoliło na jednoczesne oznaczenie wszystkich badanych związków z odpowiednią powtarzalnością i dokładnością”);
- str. 47 Proszę o wyjaśnienie fragmentu: „Niewłaściwe warunki mogą spowodować przyklejanie się próbki do ścian kapilar, mały rozdział, niespójne czasy retencji i niestabilność analitów. Kapilary do CE mają dwie główne wady. Jedną z nich jest adsorpcja białka, która zmniejsza rozdzielczość, a drugą krótka ścieżka światła zmniejszająca czułość [301]”;
- str. 48 Określenie: "... liniowy zakres BPA wynosił 3-300 ng/ml." - powinno raczej brzmieć - zakres liniowy metody;
- str. 48 Proszę o wyjaśnienie fragmentu: „Metoda jest korzystna z uwagi na małą objętość nastrzyku, redukcję zanieczyszczeń po analizie w wyniku przepłukiwania kapilary i lepsze rozdzielanie metabolitów przy przepływie tłokowym niż przy przepływie laminarnym, któremu towarzyszy rozciąganie pików w chromatografii cieczowej”;
- W opisach warunków analiz LC/MS widnieją informacje, że tylko jeden z rozpuszczalników (np. składnik A) zawierał dodatek octanu amonu. W efekcie tworzy się również gradient octanu w trakcie analizy. Proszę o komentarz, czy ma to wpływ na rozdzielanie w porównaniu ze stałą zawartością octanu amonu w obu fazach ruchomych (tzn. gdy octan będzie występował w składniku A i B, w jednakowych stężeniach) ?
- Czy testowano jonizację APCI do analiz parabenów i bisfenoli?
- str. 60, Ryc. 4. Termin: „Rekonstytucja”;
- str. 69 Porównanie parametrów walidacyjnych w Tab. 17: LOD, LOQ na poziomie 14 i 46 µg/ml, zakres liniowości 0,05-20 µg/ml. Proszę o podanie stężeń w innych jednostkach oraz skomentowanie wyników LOD i LOQ w odniesieniu do chromatogramów na Ryc. 8 i 9.
- Bardzo często pojawiają się w tekście określenia: limit wykrywalności, limit oznaczalności, powinno być raczej granica wykrywalności, oznaczalności;
- str. 77: Ryc. 11 co oznaczają nałożone chromatogramy?
- Określenia w „pierwszym” , „drugim punkcie czasowym” są mało zrozumiałe (np. Tab 41-43).

Podsumowując chciałbym podkreślić, że praca doktorska p. mgr Beaty Marii Czarczyńskiej-Goślińskiej zawiera elementy nowości naukowej. Doktorantka osiągnęła cele pod względem metodycznym. Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Beaty Marii Czarczyńskiej-Goślińskiej pt. „*Oznaczanie w wybranych matrycach związków z grup parabenów i bisfenoli*”, spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. „O stopniach i tytule naukowym oraz stopniach w zakresie sztuki”.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, o dopuszczenie p. mgr Beaty Marii Czarczyńskiej-Goślińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A. J.' or similar, located to the right of the main text.

