



POLSKA AKADEMIA NAUK
Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska
ul. M. Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 ZABRZE
tel.: (032) 271 64 81, fax.: (032) 271 74 70
e-mail: ipis@ipis.zabrze.pl

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. KATARZYNY KARAŚ
p.t.: „*Analityka specjacyjna wybranych pierwiastków*
***w aspekcie szkodliwości dla człowieka*”**

wykonanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu
pod kierownictwem dr hab. Marcina Frankowskiego prof. UAM

1. Przedmiot recenzji

Określenie „specjacja” zostało zapożyczony z nauk biologicznych z łacińskiego słowa „species” oznaczającego „gatunek” lub „ewolucję gatunku”. Z kolei termin „analityka specjacyjna” pojawił się w literaturze w 1993 roku i był początkowo określany jako „przemieszczanie i przekształcanie się form pierwiastka w środowisku”. Analiza specjacyjna rozumiana jako badania różnych form pierwiastków znajduje coraz większe zastosowania m. in. w ochronie środowiska, biochemii, geologii, medycynie, farmacji oraz kontroli jakości produktów żywnościowych. Związane jest to z tym, że często nie całkowita zawartość danego pierwiastka lub związku, lecz obecność różnych jego form decyduje o ich właściwościach toksykologicznych. Liczba połączeń nieorganicznych i organicznych metali i metaloidów jest ogromna, a do ich identyfikacji i analizy ilościowej stosowane muszą być odpowiednio czułe i dokładne metody i techniki analityczne. Przykładem są tzw. techniki łączone, w których metody separacyjne połączone są z różnymi metodami

detekcji. Ich zasadnicze zalety to ekstremalnie niskie granice wykrywalności i granice oznaczalności oraz bardzo dobra dokładność i powtarzalność oznaczeń. Tak jak wszystkie inne – techniki łączone mają swoje ograniczenia. Należą do nich relatywnie wysoka cena przyrządów oraz ich złożoność, a także konieczność doskonałego opanowania metodyk analitycznych oraz szczegółowej znajomości przyrządów. Analiza specjacyjna z wykorzystaniem technik łączonych pomimo ogromnych postępów w minionych latach wciąż jest młodą dziedziną chemii analitycznej. Perspektywy jej dalszego rozwoju uzależnione są od wielu czynników, takich jak: rozwój nowych metod przygotowania próbek, metod separacyjnych i metod detekcji, oraz dostępności certyfikowanych materiałów referencyjnych. Tym niemniej ich rozwój przybiera na znaczeniu, o czym świadczyć może rosnący zakres zastosowań i liczba prac na ten temat. W tym kontekście należy rozpatrywać wyniki badań przeprowadzonych przez mgr inż. Katarzynę Karaś i przedstawione w rozprawie doktorskiej wykonanej pod kierunkiem dr hab. Marcina Frankowskiego prof. UAM w Poznaniu.

W dalszej części recenzji przedstawię moje uwagi i opinie odnośnie wartości merytorycznej i strony redakcyjnej pracy oraz potencjału innowacyjnego uzyskanych wyników.

2. Strona merytoryczna i redakcyjna pracy

Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Karaś przedstawiona jest w formie spójnego tematycznie cyklu 3 artykułów opublikowanych w prestiżowym czasopiśmie międzynarodowym *Molecules* (100 punktów MNiE i IF=4.411, co łącznie daje IF=10,569 i 300 punktów MNiE). Kolejne prace ukazywały się w latach 2018, 2020 i 2021. Doktorantka swoje badania ukierunkowała na analitykę specjacyjną chromu, glinu, arsenu i selenu, których toksyczność została potwierdzona w wielu pozycjach naukowych jak również przepisach prawnych. Tym niemniej wciąż istnieje w tym zakresie zapotrzebowanie na miarodajne i dostępne zwalidowane metodyki analityczne.

Część pierwsza pracy (57 stron) obejmuje wprowadzenie do analizy specjacyjnej, cel i zakres pracy oraz część eksperymentalną, podsumowanie i wnioski, oraz bibliografię i dorobek Kandydatki. Cel pracy stanowi logiczną

konsekwencję wniosków wyływających z przeprowadzonych studiów literaturowych. W części doświadczalnej rozprawy mgr inż. Katarzyna Karaś, opisała poszczególne etapy procedur analitycznych oraz przedstawiła wnioski, które są efektem uzyskanych wyników. Spis cytowanej literatury obejmuje 52 pozycje, nie licząc literatury cytowane w 3 publikacjach w czasopiśmie *Molecules*, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej.

W pierwszej części pracy Autorka opisała metodykę analizy specjacyjnej Cr(III) i Cr(VI) w wybranych zabawkach dostępnych na polskim rynku. W tym celu przeprowadziła proces ekstrakcji materiału zabawek w 0,07 M HCl symulując w ten sposób środowisko soku żołądkowego. W celu potwierdzenia poprawności analiz zbadła także całkowitą zawartość chromu, a dodatkowo kilka ważnych metali (Cd, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn) oraz metaloidów (As, Sb). Próbkę zmineralizowano za pomocą mieszaniny HNO₃ i H₂O₂ przy użyciu energii mikrofalowej. W badanych zabawkach nie stwierdzono obecności (na poziomie LOQ) toksycznej formy Cr(VI), a zawartość formy Cr(III) nie przekraczała dopuszczalnej wartości migracji określonej w normie *EN-71 Safety of toys*. Wyniki analiz specjacyjnych były zgodne z wynikami uzyskanymi dla analizy bezpośredniej przy wykorzystaniu techniki ICP-MS.

Celem drugiej części pracy było opracowanie metodyki analizy specjacyjnej nieorganicznych i organicznych kompleksów glinu z wybranymi anionami takimi jak: fluorki, cytryniany i szczawiany. Zasadniczą trudnością okazało się określenie czynników, które mogą powodować zmiany form glinu, tj. stężenie glinu/stężenie liganda (stosunek molowy), wartość pH oraz temperaturę reakcji. Do badań zastosowano kolumnę kationowymienną Hamilton PRPX200, a fazą ruchomą był roztwór NH₄NO₃. Czas rozdzielania poszczególnych form glinu wyniósł 10 minut. Przeprowadzona analiza kompleksów fluorku glinu, szczawianu glinu i cytrynianu glinu metodą elucji gradientowej pozwoliła na rozdzielenie kilku form glinu, w tym najbardziej toksycznej formy glinu Al³⁺. Otrzymane wyniki okazały się być zgodne z przeprowadzonymi obliczeniami teoretycznymi uzyskanymi przy zastosowaniu programu do modelowania chemicznego (Mineql, Medusa).

Trzecia opracowana metodyka dotyczy jednoczesnego rozdzielania i oznaczania nieorganicznych i organicznych form arsenu, takich jak: As(III), As(V), DMA (kwas dimetyloarsenowy), MMA (kwas metyloarsenowy), AsB (arsenobetaina) oraz selenu: Se(IV), Se(VI), Se-metioniny i Se-cystyny. Metodykę zastosowano do badań próbek owoców morza i cebuli dostępnych na polskim rynku. Dominującą

formą arsenu w badanych próbkach okazała się arsenobetaina, natomiast w przypadku selenu była to selenometionina. Suma stężeń poszczególnych form specyjalnych arsenu i selenu była zgodna z rezultatami otrzymanymi analizy bezpośredniej przeprowadzonej przy użyciu techniki ICP-MS. Oznaczone wartości nie przekraczały dopuszczalnego dziennego spożycia.

Po uważnym zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr inż. Katarzyny Karaś stwierdzam z pełnym przekonaniem, że Doktorantka zrealizowała ambitny i rozbudowany program badawczy. Tym niemniej z obowiązku recenzenta mam następując uwagi dotyczących formy redakcyjnej rozprawy oraz zauważonych błędów, głównie edytorskich.

Strona 9

W wykazie skrótów i akronimów niepełna jest informacja dotycząca normy „EN-71” oraz skrótu „EPA”.

Powinno być

„EN-71 Toy Safety Testing” oraz odpowiednio „Północnoamerykańska Agencja Ochrony Środowiska (US EPA)”.

Strona 10

Wyjaśnienie skrótu I-EC powinno być „Chromatografia jonowa” (jonowa - z małej litery). W objaśnienie skrótu *FFF Flow Field Fractianation* (strona 9) jest literówka, powinno być “Flow Field Fractionation”.

Strona 18 jest:

”Spośród dostępnych metod stosowanych do rozdzielania można wyróżnić dwie kategorie: metody niechromatograficzne i chromatograficzne”

i nieco dalej pod koniec strony

„Inny typ technik niechromatograficznych stosowanych do rozdzielania analitów stanowią techniki elektromigracyjne, cechujące się efektywną wydajnością rozdzielania”.

Bardziej jednoznacznym podziałem byłby podział na metody separacyjne i inne, a tym samym zaliczenie do grupy pierwszej zarówno metod chromatograficznych jak i elektromigracyjnych.

Strona 19 jest:

„Mówiąc natomiast o metodach detekcji do najbardziej znanych należą atomowa spektrometria absorpcyjna, atomowa spektrometria fluorescencyjna, optyczna spektrometria emisyjna z plazmą wzbudzoną indukcyjnie oraz spektrometria mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie”.

Brakuje w tym wykazie samej detekcji spektrometrii mas (MS).

Strona 20 jest:

„Jedną z najbardziej toksycznych grup pierwiastków są metale ciężkie, w szczególności Al, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mg, Mn, Mo, Ni, Se”.

Czy metalem ciężkim jest także magnez czy glin?

Strona 25 jest:

„Głównym celem niniejszej pracy było opracowanie nowych metod analizy specjacyjnej wybranych pierwiastków chemicznych wykazujących szkodliwe działanie dla zdrowia człowieka”.

Skoro Doktorantka pisze o celu głównym, czy były też inne?

I nieco dalej....

„Zakres pracy był bezpośrednio związany z problemem, z którym aktualnie boryka się analityka chemiczna, a mianowicie niełatwym i powolnym rozwojem najnowszych metod specjacyjnych umożliwiających badanie i określanie zawartości toksycznych”

Merytorycznie i językowo to zdanie budzi moje poważne wątpliwości, szczególnie w zakresie „niełatwego i powolnego rozwoju metod specjacyjnych”. Jest wręcz przeciwnie.

Strona 25 jest:

1 ppm (<10⁻⁴) – składniki mikrośladowe,

< 1 ppb (<10⁻⁶) – składniki ultraśladowe,

< 1 ppt (<10⁻⁸) – składniki submikrośladowe

Jednostki ppm, ppb i ppt nie są oficjalne/legalne i powinny być w pracy zamienione na odpowiednio: mg/L (lub mg/kg); µg/L (lub µg/kg) i ng/L (lub ng/kg).

Strona 29 (i inne) jest:

Opracowanie nowej metody analizy specjacyjnej chromu oraz oznaczenie wybranych pierwiastków w materiale zabawek dostępnych na polskim rynku opisana w pracy:

Wyraz „nowej” jest zbędny. Trudno opracować „starą” metodę, chyba, że chodzi o jej optymalizację.

Strona 29 tabela 1 napisano, że dopuszczalna wartość migracji cyny z materiału zabawki to aż 180 000 mg/kg. Czy to możliwe?

Strona 30 jest:

„Wynikiem przeprowadzonej analizy było pomyślne rozdzielenie Cr(III) w czasie 6,1min oraz Cr(VI) w czasie 9,1min Jednak uzyskany czas analizy nie był zadowalający”.

Powinno być:

„Wynikiem przeprowadzonej analizy było rozdzielenie Cr(III) w czasie retencji 6,1 min oraz Cr(VI) w czasie 9,1min. Jednak uzyskane czasy rozdzielania nie były zadowalające”.

Strona 31 jest:

„Nowoopracowaną metodę rozdzielania....”

Powinno być:

„Opracowaną metodykę rozdzielania....”

oraz pod koniec strony

„Zastosowanie kolumny BioWAX non-porous pozwoliło na opracowanie nowej i niezwykle szybkiej metody analitycznej służącej do rozdzielania dwóch form specjacyjnych chromu”.

Określenie „niezwykle szybkiej” jest ryzykowane i zbędne.

Strona 32 jest:

„Kolejnymi parametrami są stężenie, stosunek glinu do liganda (w związkach kompleksowych) oraz wartość pH i temperatury”.

Chodzi zapewne o stosunek molowy glinu do liganda, co powinno być zapisane.

Strona 33 jest:

„Opracowaną metodę zaaplikowano do analizy 33 białych i czerwonych win polskich”
W trosce o poprawność językową proponuję zastąpić „zaaplikowano” na „zastosowano”.

Strona 35 jest:

„Innym poważnym narażeniem jest leczenie takich chorób jak schistosomatozy i leiszmaniozy będących jednymi z najpoważniejszych światowych zagrożeń zdrowotnych...”

Czy te ww. zagrożenia naprawdę zasługują do zaliczenia ich do najpoważniejszych światowych zagrożeń, szczególnie w czasach pandemii czy zmian klimatycznych (i nie tylko)?

Strona 36 jest:

„Formy pozostałych pierwiastków nie uległy rozdzieleniu...”

Proponuję

„Formy specjacyjne pozostałych pierwiastków nie uległy rozdzieleniu...”

Strona 37 jest:

„W związku z powyższym ustalono następujące warunki chromatograficznej specjacji”

Proponuję:

„W związku z powyższym ustalono następujące zoptymalizowane warunki chromatograficznej specjacji”

Powyższe uwagi w niczym nie umniejszają zarówno proponowanych rozwiązań metodycznych, jak i uzyskanych wyników. Jestem przekonany, że wyjaśnienie powyższych wątpliwości ułatwi w przyszłości przygotowanie kolejnych prac w celu opublikowania ich renomowanych czasopismach naukowych, ponieważ efekty prac Doktorantki w pełni na to zasługują.

Za niewątpliwe elementy nowości naukowej realizowanej pracy i uzyskanych wyników uważam:

- opracowanie szybkich i miarodajnych metodyk pozwalających na analizę specyficzną poszczególnych form pierwiastków szczególnie ważnych w aspekcie zdrowia człowieka,
- uproszczenie poszczególnych etapów analizy tak, aby opracowane metodyki mogły być z powodzeniem stosowane także w laboratoriach zajmujących się rutynowymi analizami. Jest to szczególnie ważne w kontekście nowych potrzeb zarówno legislacyjnych, jak i konieczności regularnych badań żywności.

Poniżej przedstawię 4 pytania ogólne z nadzieją na udzielenie mi odpowiedzi przez Doktorantkę w czasie publicznej obrony pracy doktorskiej:

- Czy zaproponowane ciekawe rozwiązania metodyczne planuje Pani zastosować także do innych matryc (np. próbki medyczne, gleby)?
- Proszę o wyjaśnienie definicji "pierwiastków potencjalnie toksycznych".
- Biorąc pod uwagę zapotrzebowanie na nowe metodyki analityczne oznaczania form specyficznych wybranych metali i metaloidów, szczególnie ze strony laboratoriów prowadzących certyfikacje i dopuszczenia wyrobów – czy może Pani krótko opisać zalety i ograniczenia opracowanych przez siebie metodyk w porównaniu do metodyk już istniejących w tym zakresie?
- Czy Pani dalsze plany naukowe pozostaną przy tej tematyce, czy zamierza Panią ją nadal kontynuować i rozwijać? Jeśli tak to w jakim kierunku i zakresie?

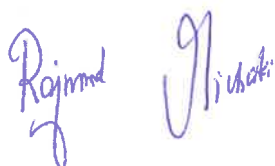
3 Wniosek końcowy

Dorobek naukowy mgr inż. Katarzyny Karaś jest bardzo dobry, tak jak i indywidualny wkład Doktorantki w powstaniu publikacji oraz rozprawy doktorskiej. Ponadto stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego wskazuje na odpowiednią wiedzę autorki w dyscyplinie naukowej i umiejętność samodzielnego wkładu Kandydatki w powstanie rozprawy. Poza 3 pracami, które stanowią załączniki pracy doktorskiej są to jeszcze prace w prestiżowych czasopismach

międzynarodowych „Food Additives & Contaminants: Part A” (IF=3,057, pierwszy autor) oraz „Journal of Cereal Science” (IF=3,616, drugi autor). Do tego dodać należy 2 komunikaty i 6 posterów na konferencjach krajowych oraz odpowiednio 5 komunikatów i 3 postery na konferencjach międzynarodowych, podczas których doktorantka została kilkakrotnie wyróżniona. Co istotne bierze ona czynny udział także w realizacji projektów badawczych oraz prowadzi aktywną działalność popularnonaukową. To bardzo dobrze świadczy o jej aktywności naukowej i konsekwentnemu dążeniu do założonych celów. Drobne uwagi redakcyjne oraz terminologiczne, a także wątpliwości i uwagi krytyczne dotyczące niektórych aspektów pracy nie mają istotnego wpływu na wysoką ocenę całości rozprawy, niewątpliwych elementów nowości naukowej i potencjału innowacyjnego uzyskanych wyników.

Recenzowana praca spełnia warunki i wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone ustawą o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z dnia 21.06.2016, poz. 882 oraz art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14.03. 2003r.). Wnioskuje do Rady Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Karaś do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zabrze, dnia 13 grudnia 2021r.





POLSKA AKADEMIA NAUK
Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska
ul. M. Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 ZABRZE
tel.: (032) 271 64 81, fax.: (032) 271 74 70
e-mail: ipis@ipis.zabrze.pl

Uzasadnienie do wyróżnienia

Zgodnie z zarządzeniem nr. 3/2021 Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza z dnia 21 czerwca 2021 w sprawie procedury wyróżniania rozpraw doktorskich na Wydziale Chemii UAM poniżej przesyłam uzasadnienie do wyróżnienia recenzowanej przeze mnie rozprawy doktorskiej mgr inż. KATARZYNY KARAŚ p.t.: „*Analityka specjacyjna wybranych pierwiastków w aspekcie szkodliwości dla człowieka*” wykonanej na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu pod kierownictwem dr hab. Marcina Frankowskiego prof. UAM. Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Karaś przedstawiona jest w formie spójnego tematycznie cyklu 3 artykułów opublikowanych w prestiżowym czasopiśmie międzynarodowym *Molecules* o łącznej liczbie punktów 300 i IF=10,569. Nowatorski, obszerny materiał badawczy oraz kompleksowe podejście do podjętej tematyki badawczej wyróżnia pozytywnie recenzowaną pracę na tle innych typowych prac doktorskich.

W związku z powyższym biorąc pod uwagę dorobek naukowy, szeroki zakres prowadzonych badań i uzyskane wyniki, ich znaczenie zarówno dla rozwoju wiedzy, jak i dla praktyki, a także wprowadzenie uzyskanych wyników do międzynarodowego obiegu informacji naukowej **wniosuję, by Rada Wydziału Chemii UAM w Poznaniu podjęła uchwałę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Karaś.**

Zabrze, dnia 13 grudnia 2021r.

Prof. dr hab. Rajmund Michalski
Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN
ul. M. Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 Zabrze