



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Farmaceutyczny
Katedra i Zakład Chemii Fizycznej i Biofizyki
Kierownik: prof. dr hab. Witold Musiał

Wrocław, dn. 18 stycznia 2024 r.

Recenzja osiągnięcia naukowego
doktora inżyniera Macieja Tankiewicza
z Zakładu Toksykologii Środowiska
Wydziału Nauk o Zdrowiu
z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

„Nowe narzędzia analityczne służące ocenie narażenia człowieka na ksenobiotyki”

w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu

Wprowadzenie

Przedstawiony mi do recenzji zespół publikacji, przewidziany jako osiągnięcie naukowe prezentowane w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, jest grupą sześciu artykułów w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych o ugruntowanej w Europie i na świecie renomie, jednego patentu oraz jednego zgłoszenia patentowego.

Kandydat do stopnia doktora habilitowanego jest pierwszym autorem w siedmiu z tych publikacji (**P1**, **P3-P8**), podczas gdy w jednej (**P2**) jest jednym z kolejnych autorów. Oznaczenia publikacji Recenzent identyfikuje w kolejnych częściach swojej opinii. Dwie publikacje mają charakter przeglądowy (**P1**, **P2**), cztery należą do prac eksperymentalnych (**P3-P6**), a dwie pozycje stanowią patent (**P7**) i zgłoszenie patentowe (**P8**).

Kandydat deklaruje jako cel swojej pracy badawczej, której zwieńczeniem na tym etapie ma być stopień doktora habilitowanego, dostarczenie narzędzi analitycznych do

budowania systemu kontroli poziomu narażenia ludzi na ksenobiotyki istotne dla zdrowia populacji, takie jak pestycydy i estry kwasu ftalowego. Kandydat, w swoim ambitnym planie, postawił sobie zadanie opracowania narzędzi analitycznych przewidzianych dla zróżnicowanych matryc analitycznych, w tym dla materiału biologicznego. W tych próbkach Kandydat oznaczał ksenobiotyki w formie pierwotnej lub w formie metabolitu. Cel cyklu prac badawczych został w mojej opinii prawidłowo przedstawiony, a na pochwałę zasługuje fakt, że opracowane metody mogą w przyszłości być wykorzystane w badaniach populacyjnych, aczkolwiek należy pamiętać, że ten rodzaj badań wymaga specjalistycznej standaryzacji, ze względu na potencjalne zastosowanie w wielkiej skali.

Kandydat przeprowadził szereg badań etapowych, które pokazują horyzont działań w obszarze analizy czynników środowiskowych. Działania takie powinny być podjęte w najbliższej przyszłości w celu eliminowania zagrożeń ksenobiotycznych w skali społecznej. Biorąc pod uwagę aktywność organizacyjną, w tym międzynarodową Kandydata, chciałbym wyrazić nadzieję, że będzie On dążył do faktycznego wykorzystania uzyskanych danych eksperymentalnych do stworzenia, np. we współpracy z diagnostami laboratoryjnymi, odpowiednich standardów badawczych w większej skali. Na badania etapowe składały się: analiza bibliograficzna procedur analitycznych i poziomów ksenobiotyków w produktach leczniczych oraz w próbkach żywności, opracowanie metody oznaczania monoestrów kwasu ftalowego w próbkach biologicznych z zastosowaniem chromatografii gazowej, opracowanie i optymalizacja metody oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach świeżych owoców i warzyw, opracowanie metody oceny przenikania pestycydów przez skórki owoców i warzyw po procedurze oprysku, ocena narażenia konsumentów na pozostałości pestycydów w żywności wraz z propozycją rozwiązania technicznego do ograniczenia odpowiedniego zagrożenia zdrowotnego. W opinii recenzenta jednym z najciekawszych osiągnięć badawczych Kandydata jest zastosowanie komór Franza do badania zdolności penetracji pestycydów przez skórę, tj. epidermę pochodzącą z badanego preparatu roślinnego, oraz zastosowanie fragmentu rośliny jako błony półprzepuszczalnej. Kandydat ponadto zastosował odpowiedni skład płynu akceptorowego, który odzwierciedla skład miąższu i budowę morfologiczną badanego płodu rolnego. Nowy obszar zastosowania komory Franza jest przedmiotem zgłoszenia patentowego. Recenzent pragnie w tym miejscu pochwalić Kandydata, który pomysłowo podąża ważnym tropem badaczy amerykańskich, którzy zastosowali komory Franza do oceny narażenia ludzi na toksyczne ksenobiotyki w podaniu miejscowym.

W przedstawianym do oceny cyklu prac wyraźnie widać sprecyzowany zarówno obszarowo jak i metodologicznie przedmiot badań. Cykl artykułów potwierdza samodzielność myślenia naukowego Kandydata, oraz umiejętność samodzielnego wyboru skutecznej realizacji studiów naukowych, eksperymentalnych. Prezentowany cykl potwierdza specjalizację Kandydata w ważnych z punktu widzenia nauk o zdrowiu zagadnieniach wpływu ksenobiotyków na zdrowie populacyjne. Jednak z perspektywy interdyscyplinarnej, zastosowane metody badawcze, mające znamiona innowacji, ilustrują szerokie i perspektywiczne spojrzenie Kandydata na rozwiązanie ważnego problemu społecznego, często niedostrzeganego z powodów praktycznych i poznawczych. Kandydat podejmuje tematy, które wzbudzają dyskusję nie tylko na forach europejskich, ale i na całym świecie. Problem ochrony upraw od dziesięcioleci współistnieje z problemem zagrożenia toksykologicznego dla konsumentów.

Recenzent dla porządku pragnie podkreślić, że oceniane osiągnięcie naukowe ma wybitny charakter interdyscyplinarny i łączy zagadnienia toksykologii, analizy farmaceutycznej oraz zagadnienia zdrowia populacyjnego.

Osiągnięcie naukowe

W pracy przeglądowej **P1 (Tankiewicz, M., Namieśnik, J., & Sawicki, W. (2016). Analytical procedures for quality control of pharmaceuticals in terms of residual solvents content: Challenges and recent developments. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 80, 328-344)** Kandydat, pracując w trzyosobowym zespole badawczym, skupił się na problemie pozostałości rozpuszczalników, które odgrywają ważną rolę w syntezie leków i w preparatyce farmaceutycznej, oraz stwarzają zagrożenie toksykologiczne. W pracy autorzy przedstawili przegląd metod opisanych w różnych farmakopeach, oraz dokonali przeglądu najczęściej stosowanych metod oznaczania pozostałości rozpuszczalników w próbkach farmaceutycznych w celu wykazania ich ograniczeń. Kandydat wraz z zespołem przedstawili nowe alternatywy w zakresie przygotowania próbek i rozdziału za pomocą chromatografii gazowej (GC), w tym wtrysk bezpośredni, analizę przestrzeni nad roztworem z różnymi modyfikacjami i odmianami, ekstrakcję cieczą, mikroekstrakcję pojedynczą kroplą i mikroekstrakcję do fazy stałej, oraz porównano różne techniki separacji GC i przedstawiono nowe rozwiązania mogące poprawić czułość i wydajność metod.

W pracy przeglądowej **P2 (Wolska Lidia, Tankiewicz Maciej*, Toxic components of food packaging materials, w: Toxins and other harmful compounds in foods, pod redakcją Agaty Witczak, Zdzisława E. Sikorskiego, CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 2017, 401-423)**, będącej rozdziałem o tytule zbieżnym z inną pozycją bibliograficzną (Piotrowska, B. (2004). Toxic components of food packaging materials. In Toxins in Food (pp. 327-348). CRC Press.), Kandydat analizuje zagadnienie metali i zanieczyszczeń nieorganicznych migrujących z opakowań do żywności.

Pracę badawczą **P3 (Tankiewicz, M., Olkowska, E., Berg, A., & Wolska, L. (2020). Advancement in determination of phthalate metabolites by gas chromatography eliminating derivatization step. Frontiers in Chemistry, 7, 928.)** Kandydat wraz z Zespołem ukierunkował na opracowanie metody chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS) do oznaczania polarnych i nietrwałych termicznie metabolitów ftalanów. Według dostępnej literatury jest to pionierska praca przedstawiająca separację monoftalanów z pominięciem etapu derywatyzacji i bez dodatkowego wyposażenia, takiego jak specjalistyczny port wtryskowy. Zbadane zostały parametry nastrzyku, takie jak temperatura, ciśnienie, czas i objętość nastrzyku oraz parametry separacji chromatograficznej i przebieg detekcji metodą MS. Zgodnie z zaproponowaną interpretacją Kandydat ustalił przebieg zjawisk zachodzących w różnych warunkach we wtryskiwaczu GC. Odpowiedź monoftalanów w badanych zakresie stężeń była zasadniczo liniowa, współczynnik determinacji przewyższał 0,9817 a dokładność między próbkami pozostawała w przedziale 1,4–5,4%. Kandydat opracował szybką, niewymagającą i powtarzalną metodę analityczną oraz wyeliminował środków derywatyzujące, a także ograniczył ilość towarzyszących metodzie odpadów toksycznych. Na uznanie zasługuje konsekwentne zastosowanie prawa Clapeyrona i prawa Boyle'a – Mariotte'a, w celu zapobieżenia degradacji termicznej badanych związków.

W pracy badawczej **P4 (Tankiewicz, M. (2019). Determination of selected priority pesticides in high water fruits and vegetables by modified QuEChERS and GC-ECD with GC-MS/MS confirmation. Molecules, 24(3), 417)** Kandydat podjął się opracowania metody analitycznej dla ważnej grupy pestycydów, powszechnie wykrywanych w uprawach owoców i warzyw, z których część, w postaci metabolitów wykrywa się m.in. ludzkim moczu. Ponieważ niektóre z nich są według Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem uznane za substancje rakotwórcze lub podejrzewane o działanie rakotwórcze, to ocena ich obecności i/lub stężeń w produktach rolnych i surowicy krwi ludzkiej ma kluczowe

znaczenie dla bezpieczeństwa zdrowotnego populacji. Kandydat opracował zmodyfikowaną, szybką, łatwą, tanią, wydajną, wytrzymałą i bezpieczną metodę badawczą (tzw. metoda QuEChERS) wykorzystującą chromatografię gazową z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD) do jednoczesnego oznaczania wybranych elektroujemnych pestycydów w owocach i warzywach o dużej zawartości wody. Kandydat zoptymalizował parametry ekstrakcji i oczyszczania, modyfikując oryginalną metodę QuEChERS w celu zmniejszenia zużycia rozpuszczalnika. Zaproponowaną metodologię zweryfikowano pod kątem selektywności, specyficzności, liniowości, precyzji i dokładności. Uzyskano akceptowalne granice wykrywalności, dobrą powtarzalność i stabilność procedury, ze względnymi odchyleniami standardowymi nieprzekraczającymi 10%. Kandydat potwierdził przydatność opracowanej procedury na różnych próbkach owoców i warzyw o dużej zawartości wody dostępnych na rynku w różnych porach roku, i zawierających duże ilości pigmentów i barwników.

Praca badawcza **P5 (Tankiewicz, M., & Berg, A. (2022). Improvement of the QuEChERS method coupled with GC–MS/MS for the determination of pesticide residues in fresh fruit and vegetables. *Microchemical Journal*, 181, 107794.**) stanowi naturalne nawiązanie do pracy P4. Kandydat, pracując w dwuosobowym Zespole, udoskonalił metodologię oznaczania 31 obecnie stosowanych pestycydów, w tym 13 insektycydów, siedmiu akarycydów, siedemnastu fungicydów i jednego herbicydu w próbkach żywności, zgodnie z aktualnymi wymaganiami prawnymi dotyczącymi maksymalnych limitów pozostałości pestycydów. Procedura obejmuje zmodyfikowaną, szybką, łatwą, tanią, wydajną, wytrzymałą i bezpieczną metodę (tzw. metoda QuEChERS) opartą o chromatografię gazową z tandemową spektrometrią mas (GC–MS/MS). Kandydat w celu uzyskania niższych granic oznaczalności (LOQs) wprowadził dodatkowy etap wstępnego zatężania ekstraktów przed ich oczyszczeniem, a czasy retencji analitów korygował za pomocą programu Automatycznej Dostosowania Czasu Retencji (AART). Postępowanie analityczne zostało przez Kandydata zwalidowane zgodnie z unijnym przewodnikiem „SANTE”. Kandydat zwalidowaną procedurę z powodzeniem zastosował do analizy zróżnicowanych próbek owoców i warzyw o dużej zawartości wody. Z badań wynika, że najwyższy dopuszczalny poziom został przekroczony: kaptanu w badanych ogórkach i jabłkach, dimetoatu w cukinii, lambda-cyhalotryny w korzeniach pietruszki i linuronu w marchwi, podczas gdy pozostałe próbki nie stwarzały zagrożenia dla zdrowia.

Praca badawcza **P6 (Tankiewicz, M. (2023). Assessment of apple peel barrier effect to pesticide permeation using Franz diffusion cell and QuEChERS method coupled with GC-MS/MS. *Foods*, 12(17), 3220**) stanowi w opinii recenzenta jeden z najciekawszych etapów rozwoju naukowego Kandydata, w którym wykorzystał, legendarne już w badaniach farmaceutycznych, komory Franza, w celu analizy przenikania pestycydów przez skórkę jabłka do miąższu. Kandydat przebadał pestycydy ogólnoustrojowe, takie jak boskalid, cyprodynil, pirymikarb, propikonazol i tebukonazol, oraz tzw. pestycydy kontaktowe tj. kaptan, cypermetrynę i fludioksonil. Efekt barierowy badanego materiału Kandydat oceniał przy użyciu systemu pionowych komór dyfuzyjnych Franza. Analizę pozostałości przeprowadzał przy użyciu zmodyfikowanej, szybkiej, łatwej, taniej, wydajnej, wytrzymałej i bezpiecznej metody ekstrakcji (tzw. QuEChERS) w oparciu o chromatografię gazową z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS). Granice wykrywalności wahały się od 2,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dla pirymikarbu do 17 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dla kaptanu, przy współczynniku zmienności nie większym niż 6%, a odzyski wahały się od 85% dla boskalidu do 112% dla kaptanu. Największą penetrację zaobserwowano w przypadku pirymikarbu, kaptanu i cyprodynilu, przy skumulowanych stężeniach substancji w kompartmentcie akceptorowym wynoszących odpowiednio 90, 19 i 17 $\mu\text{g cm}^{-2}$. Przenikało od 0,32% tebukonazolu do 32% pirymikarbu, przy czym co istotne, w miążdze nie wykryto

ilościowo jedynie cypermetryny. Analogicznie jak w badaniach leków, uzyskane wyniki wskazują, że masa cząsteczkowa, współczynnik podziału oktanol-woda oraz rozpuszczalność w wodzie są ważnymi parametrami determinującymi proces absorpcji pestycydów.

Dwie kolejne publikacje P7 i P8 zasadniczo odzwierciedlają treści publikacji P3 i P6, dotyczą bowiem opracowania wynalazków, zgłoszeń patentowych obejmujących analizę monoestrów kwasu ftalowego z zastosowaniem chromatografii gazowej – **P7 (Tankiewicz Maciej, Wolska Lidia, Ratajczyk Joanna, Berg Andrzej, Sposób analizy monoestrów kwasu ftalowego z zastosowaniem chromatografii gazowej, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej, Pat.243493)**, oraz badań przenikania pestycydów przez skórę owoców lub warzyw - **P8 (Tankiewicz Maciej, Wolska Lidia, Sposób badania przenikania przez skórę owoców i/lub warzyw pestycydów oraz nowe zastosowanie komory dyfuzyjnej typu Franza do badań barierowości skórek owoców i warzyw, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej, P.435230)**.

Łączny wskaźnik Impact Factor cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wynosi 26,930 IF (520 pkt. MEiN), podczas gdy wskaźnik Impact Factor prac z Kandydatem jako pierwszym autorem wynosi 26,930 IF (500 pkt. MEiN).

W wyniku prowadzonych prac powstały nowe narzędzia analityczne, umożliwiające oszacowanie stopnia narażenia ludzi na ksenobiotyki oraz pozwalające zweryfikować ekspozycję na zanieczyszczenia pochodzące z żywności. Kandydat opracował m.in. nowe podejście do analizy monoestrów kwasu ftalowego w zróżnicowanych próbkach biologicznych, co może pozwolić na ocenę narażenia na plastyfikatory migrujące do żywności z opakowań bazujących na tworzywach sztucznych, oraz podjął starania w kierunku rozwoju listy rekomendacyjnej pestycydów dla upraw jabłoni. Kandydat określa wyraźnie dalsze plany badawcze i chce porównywać narażenie ludzi na ksenobiotyki wynikające z ekspozycji w próbkach środowiskowych i żywności z poziomami narażenia pośredniego.

Sylwetka Kandydata

Kandydat legitymuje się tytułem zawodowym magistra inż. technologii chemicznej, uzyskanym w Politechnice Gdańskiej na podstawie pracy: „Błonkowa elektroda bizmutowa jako alternatywa dla elektrody rtęciowej do woltamperometrycznego oznaczania wybranych metali ciężkich” w 2008 r.; stopniem naukowym dr inż. nauk chemicznych uzyskanym w Politechnice Gdańskiej na podstawie pracy pt.: „Opracowanie nowych i prostych metodyk analitycznych do kontroli i monitoringu pozostałości współcześnie stosowanych pestycydów w próbkach wody oraz owoców i warzyw o dużej zawartości wody” w 2014 r.; tytułem specjalisty, w dziedzinie zdrowie środowiskowe mającej zastosowanie w ochronie zdrowia, uzyskanym w Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi w 2023 r.

Zgodnie z dostarczoną dokumentacją Kandydat jest wieloletnim pracownikiem badawczo-dydaktycznym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, początkowo w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Farmaceutycznego z OML, a następnie w Zakładzie Toksykologii Środowiska Wydziału Nauk o Zdrowiu z IMMiT. W przebiegu swojej kariery naukowej Kandydat dokumentuje udział w projektach badawczych: jako kierownik projektu SONATA-10 pt.: „Ocena porównawcza stopnia barierowości skórek owoców i warzyw dla współcześnie stosowanych pestycydów – przewidywanie narażenia na spożycie” Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: 2015/19/D/NZ7/03283), jako wykonawca OPUS-18 pt.: „Intensywny chów drobiu – identyfikacja zmian zachodzących w środowisku przyrodniczym i ich wpływ na zdrowie człowieka” z Narodowego Centrum Nauki (nr projektu: UMO-2019/35/B/NZ7/04394, ID wniosku: 464441). Ponadto Kandydat nawiązał udokumentowaną

publikacjami współpracę naukową m.in. z: University of the West of Scotland w Glasgow (UK), University of Chemistry and Technology w Pradze (Republika Czeska), Aristotle University w Salonikach (Grecja). Jako spore osiągnięcia w obszarze organizacji nauki i współpracy międzynarodowej należy zapisać intensywne starania stworzenia konsorcjów z udziałem badaczy krajowych i międzynarodowych. Kandydat jest aktywny w obszarze dydaktyki i popularyzacji nauki. Zauważalna jest także wysoka aktywność społeczna, przejawiająca się w udziale w licznych działaniach promujących zdrowie i tym podobnych.

Sumaryczny IF prac Kandydata wynosi 72,999, liczba cytowań bez autocytowań 830, współczynnik Hirscha 11, a suma punktów MNiSW 1238 – parametry międzynarodowe wg systemu Scopus.

Podsumowanie

W mojej ocenie Kandydat posiada w swoim dorobku osiągnięcie naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój nauki o zdrowiu, w tym cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, a także wykazał się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, w tym zagranicznej. Rozwiązanie postawionego przez Kandydata problemu, opublikowane, a także zaprezentowane w postaci wynalazków stanowi interdyscyplinarne, ale spójne osiągnięcie istotne dla zdrowia ludzkiego w skali dużych populacji. W mojej opinii Kandydat spełnia warunki artykułu 219 obowiązującej Ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dnia 20 lipca 2018 r. i tym samym wnioskuję o dopuszczenie go do dalszych etapów postępowania związanego z nadaniem stopnia doktora habilitowanego.

Prof. dr hab. Witold Musiał

