



Bydgoszcz, 13 maja 2025

dr hab. inż. Joanna Lemanowicz, prof. PBS
Katedra Biogeochemii, Gleboznawstwa i Melioracji Wodnych
Wydział Rolnictwa i Biotechnologii
Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich
w Bydgoszczy

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Doroty Małgorzaty Baszak

pt.

„Wykorzystanie aktywności fosfataz w ocenie oddziaływania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na środowisko glebowe”

Niniejszą recenzję sporządzono w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 21 marca 2025 r., Pani dr. hab. inż. Joanny Podlasińskiej, prof. ZUT z dnia 25 marca 2025 r. (pismo (RD IŚGiE/226/2025).

Rozprawę doktorską wykonano w Katedrze Bioinżynierii Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie pod kierunkiem prof. dr. hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego pełniącego funkcję promotora.

Ocena zasadności przeprowadzonych badań

W ostatnich latach coraz większą uwagę przykłada się do antropogenicznych zanieczyszczeń środowiska przyrodniczego (emisja spalin, metali ciężkich, ścieki przemysłowe, zanieczyszczenia z przemysłu ciężkiego, odpady, itp.). Bardzo ważną grupą substancji o potencjalnie szkodliwym dla środowiska działaniu są substancje lecznicze. Jednym z takich przykładów są powszechnie

stosowane niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), dostępne na rynku bez recepty, stanowiące potencjalne zagrożenie ekotoksykologiczne. Źródłem niesteroidowych leków przeciwzapalnych mogą być np. ścieki komunalne czy szpitalne. Większość tych związków nie jest jednak do końca z nich usuwana i dostaje się do środowiska przyrodniczego. Mogą one przenikać do gleby, a tym samym stają się niebezpieczne dla roślin, zwierząt, a w konsekwencji dla ludzi. Są również przyczyną zanieczyszczenia wód gruntowych i powierzchniowych. Ze względu na niewielką ilość badań z uwzględnieniem wpływu tych substancji na środowisko glebowe zasadne jest prowadzenie badań nad ich zachowaniem się w glebie oraz skutków ich działania.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są grupą aktywnych biologicznie substancji o właściwościach przeciwzapalnych, przeciwgorączkowych oraz przeciwbólowych takich jak m.in. ibuprofen, ketoprofen, naproksen oraz diklofenak. Kumulacja w środowisku glebowym różnego rodzaju substancji pochodzących z farmaceutyków może mieć wpływ na zmianę w składzie mikroflory, a co za tym idzie zmianę aktywności enzymów glebowych. Następstwem są zaburzenia cykli biogeochemicznych pierwiastków biogennych takich jak węgiel, azot, fosfor czy siarka, niezbędnych do tworzenia związków organicznych. W konsekwencji może prowadzić to zaburzeń w funkcjonowaniu organizmów. Znaczne zanieczyszczenie środowiska pozostałościami substancji farmaceutycznych może prowadzić również do zahamowania procesu samooczyszczania zbiorowisk wodnych oraz gleby. Jednym z najlepszych markerów zmian środowiska gleby jest aktywność enzymów, biologicznych katalizatorów przemian biochemicznych zachodzących w glebie. Aktywność enzymatyczna uważana jest za wczesny wskaźnik zmian poziomu intensywności procesów życiowych oraz poziomu degradacji środowiska, ponieważ jest skorelowana z właściwościami fizycznymi i chemicznymi gleby. Kluczową rolę w procesie biochemicznej mineralizacji organicznych połączeń fosforu odgrywają fosfatazy, które mogą być dobrym wskaźnikiem potencjału mineralizacji fosforu organicznego oraz aktywności biologicznej gleby. Fosfatazy, hydrolizujące organiczne związki fosforu są najczęściej badanymi enzymami w glebie, ponieważ reagują one najszybciej na stres środowiskowy spowodowany czynnikami antropogenicznymi jak i naturalnymi. Głównym źródłem fosfataz glebowych są mikroorganizmy, korzenie roślin oraz fauna glebowa.

Podsumowując stwierdzam, że tematyka przedłożonej do oceny rozprawy wpisuje się w dziedzinę nauk inżynieryjno-technicznych dyscyplinę inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka. Wykorzystanie aktywności enzymatycznej, w tym przypadku aktywności fosfataz w ocenie wpływu niesteroidowych leków przeciwzapalnych jest szczególnie ważne w dobie niekorzystnych antropogenicznych zmian środowiskowych. Z tych względów podjęta przez

Autora problematyką badawczą uważam za niezwykle cenną i aktualną, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i aplikacyjnego.

Formalna ocena pracy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Doroty Małgorzaty Baszak została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych. Rozprawa licząca 91 stron, została podzielona na 6 głównych części, wyodrębnionych zgodnie z klasycznym schematem redagowania prac naukowych o charakterze eksperymentalnym i z zachowaniem właściwej proporcji pomiędzy ich teoretycznym i doświadczalnym charakterem. Są to:

- 1. *Wstęp i cel pracy* (str. 11-13);
- 2. *Przegląd literatury* (str. 14-26);
- 3. *Materiał i metody badań* (str. 27-32);
- 4. *Wyniki badań* (str. 33-69);
- 5. *Dyskusja* (str. 70-74);
- 6. *Wnioski i stwierdzenia* (str. 75-76) oraz
- *Bibliografia* (str. 77-87).

W pracy zamieszczono również streszczenia w języku polskim (str. 6-8) i angielskim (str. 9-10) wraz ze słowami kluczowymi oraz aneks (spis tabel, str. 88-89 i spis rysunków, str. 89-91). Większe rozdziały podzielone są dodatkowo na podrozdziały, co sprawia, że praca jest przejrzysta i uporządkowana. Dysertacja obejmuje ponadto materiał dokumentacyjny zamieszczony w tekście pracy, na który składa się 15 tabel, 20 rysunków. Warto dodać, że w/w dokumentacja została przygotowana starannie i umieszczona w miejscach współgrających z tekstem. Ułatwia to analizę przedstawionych wyników badań. Autorka przytoczyła 124 pozycje literatury, w tym 97 (78%) stanowiły pozycje anglojęzyczne. Warto podkreślić, że aż 84 pozycje bibliograficznych (68%) ukazało się w ciągu ostatnich 10 lat. Dobór literatury jest odpowiedni do przedmiotu badań i koresponduje z dyskusją nad wynikami badań, co potwierdza znajomość problematyki przez Autorkę. Pod względem stylistycznym praca napisana jest starannie, poprawnym językiem naukowym, nie budzi też zastrzeżeń pod względem edytorskim.

Merytoryczna ocena pracy

Tytuł ocenianej rozprawy, który brzmi: „*Wykorzystanie aktywności fosfataz w ocenie oddziaływania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na środowisko glebowe*” jest właściwie sformułowany i w pełni oddaje jej treść.

W rozdziale – „1. Wstęp i cel pracy” Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę badawczą i krótko naświetla przesłanki, które skłoniły ją do podjęcia badań. Zostały również wskazane cele naukowe przyjęte do rozwiązania problemu badawczego. Jako cel badań Autorka wskazała ocenę oddziaływania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (ibuprofenu, flurbiprofenu, ketoprofenu, naproksenu i diklofenaku) na aktywność wybranych fosfataz glebowych: fosfomonoesterazy alkalicznej i kwaśnej, fosfotriesteraz oraz pirofosfatazy nieorganicznej. Do zrealizowania celu głównego Doktorantka sformułowała zadania szczegółowe w formie pytań. Brak jest jednak hipotezy badawczej.

Rozdział „2. Przegląd literatury” został podzielony na 5 podrozdziałów, w których w sposób uporządkowany i przejrzysty Doktorantka opisuje zagadnienia związane z tematyką podjętych badań. Przybliżyła czytelnikowi czym są niesteroidowe leki przeciwzapalne, ich losy w środowisku. Wyjaśniła również dlaczego aktywność enzymatyczna uważana jest za czuły wskaźnik reakcji na czynniki naturalne jak i antropogeniczne. Ta część pracy jednoznacznie dowodzi, że Doktorantka przeanalizowała dostępną literaturę przedmiotu, zdobywając wiedzę, która daje podstawy do rozwiązania postawionego problemu badawczego.

Zakres badań szczegółowo scharakteryzowano w rozdziale „3. Materiał i metody badań”, który podzielono na pięć podrozdziałów. Dysertację przygotowano w oparciu o oryginalne wyniki badań uzyskane w warunkach doświadczenia wazonowego i laboratoryjnego przeprowadzonego na próbkach gleby pobranej z poziomu ornopróchniczego gleb brunatno-rdzawych Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Badania przeprowadzono w dwóch etapach: jako doświadczenie laboratoryjne (ocena długotrwałego oddziaływania niesteroidowych leków przeciwzapalnych) oraz jako doświadczenie wazonowe (ocena krótkotrwałego oddziaływania niesteroidowych leków przeciwzapalnych).

- W doświadczeniu laboratoryjnym do materiału glebowego wprowadzono wszystkie badane związki w dawkach: 0 (jako kontrola), 1, 10 i 100 mg kg⁻¹ s.m. gleby. W następujących terminach pomiarów (w 1., 30., 60., 90. oraz 120. dniu) w próbkach oznaczono aktywność fosfataz.
- W doświadczeniu wazonowym zastosowano takie same dawki niesteroidowych leków przeciwzapalnych, jak w doświadczeniu laboratoryjnym. Jednak w tym etapie badań oceniano wpływ ibuprofenu, naproksenu i diklofenaku wprowadzonych do gleby oddzielnie i w mieszaninach, na aktywność fosfomonoesterazy zasadowej, fosfomonoesterazy kwaśnej i pirofosfatazy nieorganicznej. Do tak przygotowanych próbek gleby w doniczkach wysiano po 20 ziarniaków jęczmienia zwyczajnego odmiany ‘Suweren’ (*Hordeum vulgare* L. cv.

Suweren). Odpowiednio w 1., 7., 14. i 21. dniu doświadczenia pobierano próbki glebowe i oznaczano w nich aktywność wymienionych wcześniej enzymów.

Otrzymane wyniki aktywności rzeczywistej fosfataz opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, a czynnikiem doświadczenia była zastosowana dawka leku. Na podstawie otrzymanych wyników obliczono także wartość współczynnika oporności (*RS*) fosfataz glebowych.

Największą część pracy stanowi rozdział „4. Wyniki badań”, na który Autorka poświęciła 36 stron dysertacji. Rozdział ten został opisany w sposób uporządkowany i przejrzysty. Podzielono go na 2 podrozdziały (Doświadczenie laboratoryjne i Doświadczenie wazonowe), w ramach których wydzielono podpodrozdziały. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, ich omówienie i interpretacja są na ogół właściwe a tabele i wykresy przygotowano w sposób staranny, przejrzysty i łatwy w odbiorze przez czytelnika. Można zatem stwierdzić, że Doktorantka w stopniu bardzo dobrym opanowała warsztat badawczy.

Przedstawiona w pracy „5. Dyskusja” jest szczegółowa, poprawnie przeprowadzona i wsparta odpowiednimi źródłami z literatury krajowej i światowej, które konfrontuje z wyniki prezentowanych badań własnych.. Autorka starała się wyjaśnić zaobserwowane zależności. Dyskusja jest rzeczowa i wyczerpująca.

Zwieszczeniem rozprawy naukowej jest rozdział 6. „Wnioski i stwierdzenia”, który Autorka sformułował w postaci 8 punktów. Korespondują one z tematem pracy i świadczą o zrealizowaniu celu ogólnego i odpowiadają na postawione pytania. W sposób syntetyczny odzwierciedlają uzyskane wyniki badań.

Za najważniejsze osiągnięcia w przedłożonej rozprawie uznaje wykazanie, że:

- niesteroidowe leki przeciwzapalne (ibuprofenu, flurbiprofenu, ketoprofenu, naproksenu oraz diklofenaku) powodowały najczęściej inhibicję aktywności fosfataz glebowych, chociaż trudno jednoznacznie wskazać, który z badanych związków w największym stopniu oddziaływał na aktywność badanych enzymów;
- wraz ze wzrostem dawki niesteroidowych leków przeciwzapalnych zaobserwowano obniżenie aktywności fosfataz glebowych;
- z badanych fosfataz glebowych najbardziej wrażliwymi na obecność niesteroidowych leków przeciwzapalnych były fosfomonoesteraza zasadowa oraz pirofosfataza nieorganiczna.
- jednym z ciekawszych fragmentów dysertacji było przedstawienie kierunku zmian wartości współczynnika oporności (*RS*) badanych fosfataz glebowych, pod wpływem zarówno rodzaju /mieszaniny leku, dawki leku/mieszaniny czy terminy pomiaru oraz ich interakcji. Oporność

jest kluczowym pojęciem w badaniu regeneracji gleb dotkniętych działalnością człowieka. Współczynnik *RS* może wskazywać stabilność gleby dotkniętej czynnikiem antropogenicznym. W niniejszym opracowaniu wykazano, że wartości współczynnika oporności *RS* w bardzo dobry sposób obrazują zaburzenia w homeostazie gleby pod wpływem niesteroidowych leków przeciwzapalnych.

W związku z tym, że trudno jednoznacznie określić, który z niesteroidowych leków przeciwzapalnych w największym stopniu oddziaływał na aktywność fosfataz, wskazane jest aby kontynuować badania nad wpływem tych farmaceutyków na aktywność enzymów biorących udział w biogeochemii związków fosforowych w glebie.

W rozdziale „6. Wnioski i stwierdzenia” Autorka napisała: „Przeprowadzona analiza wielkości efektu wykazała, że czynnikiem doświadczalnym, w największym stopniu wpływającym na aktywność fosfataz glebowych, zarówno w badaniach laboratoryjnych, a także wazonowych, była dawka niesteroidowych leków przeciwzapalnych”. Natomiast w podrozdziale 3.5 „Analiza danych” jest: „Otrzymane wyniki aktywności rzeczywistej fosfataz opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, niezależnie dla każdego terminu pomiaru oraz oznaczanego enzymu”. Proszę wyjaśnić tę rozbieżność.

Podczas lektury manuskryptu nasunęły mi się również następujące pytania:

- W jakim celu w doświadczeniu wazonowym wysiano jęczmień zwyczajny odmiany ‘Suweren’ i dlaczego zdecydowano się na to zboże?
- Czy terminy pobierania próbek glebowych z doświadczenia wazonowego związane były z fazami rozwojowymi rośliny testowej?
- Co zdecydowało, że w doświadczeniu wazonowym oceniano wpływ trzech (ibuprofenu, naproksenu i diklofenaku) wprowadzonych do gleby oddzielnie i w mieszaninach niesteroidowych leków przeciwzapalnych w porównaniu do sześciu w doświadczeniu laboratoryjnym?
- Autorka w rozdziale „5. Dyskusja” wspomina, że w pracy nie analizowano pH gleby. Jak wiadomo z literatury takie parametry jak pH, zawartość Corg, P czy sorpcja istotnie korelują z aktywnością fosfatazową gleby. Czy niesteroidowe leki przeciwzapalne wprowadzone do gleby wpływają na zmiany tych parametrów, a w konsekwencji czy ich zmiana determinuje aktywność badanych enzymów?

Wniosek końcowy

Doktorantka mgr inż. Dorota Małgorzata Baszak wykazała się wiedzą w zakresie omawianej tematyki, dobrą znajomością metod badawczych oraz poprawną interpretacją wyników. Doświadczenie zarówno laboratoryjne jak i wazonowe zostało prawidłowo zaplanowane i zrealizowane, a uzyskane wyniki pozwoliły na osiągnięcie założonego celu pracy, który wnosi nowe oryginalne wartości z punktu widzenia naukowego i praktycznego. Drobne uchybienia nie podważają merytorycznej wartości pracy i nie obniżają jej wartości naukowej. Rozprawa doktorska mgr inż. Doroty Małgorzaty Baszak wnosi wkład w wiedzę z zakresu dziedziny nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka i zasługuje na jednoznacznie pozytywną ocenę.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Doroty Małgorzaty Baszak pt. *„Wykorzystanie aktywności fosfataz w ocenie oddziaływania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na środowisko glebowe”* została wykonana w oparciu o oryginalny materiał dowodowy i spełnia wymagania stawiane tego typu opracowaniom naukowym zawartym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 poz. 1571), stanowiącej podstawę do nadania stopnia doktora nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka.

Składam więc wniosek do Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Doroty Małgorzaty Baszak do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

dr hab. inż. Joanna Lemanowicz, prof. PBŚ

