

dr hab. Marcin Frankowski
Kierownik Pracowni

Recenzja rozprawy doktorskiej

Mgr Marii Witt pt.: „Proces kumulacji trwałych zanieczyszczeń organicznych w osadach dennych Morza Bałtyckiego i wpływ depozycji atmosferycznej na ten proces” wykonanej pod kierunkiem Pani Prof. UG, dr hab. inż. Elżbiety Niemirycz w Zakładzie Chemii Morza i Ochrony Środowiska Morskiego, Instytutu Oceanografii, Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzję rozprawy doktorskiej mgr Marii Witt opracowałem na podstawie pisma Dziekana Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego Prof. UG, dr hab. Waldemara Surosza z dnia 4 grudnia 2015 r. L.dz.G010-510-2187/2015 oraz dostarczonego egzemplarza rozprawy doktorskiej.

Charakterystyka i ogólna ocena rozprawy doktorskiej

Przedmiotem ocenianej dysertacji są zagadnienia związane z określeniem wpływu polichlorowanych dibenzo-p-dioksyn (PCDD), polichlorowanych dibenzofuranów (PCDF) i ich prekursorów: polichlorowanych bifenyli (PCB) i pentachlorofenoli (PCP) w próbkach o zróżnicowanej matrycy (osad denny, cząstki zawieszane o średnicy $<10\mu\text{m}$ (PM10) oraz ryby). Tematyka dysertacji jest bardzo aktualna i dotyczy problemu występowania trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO) w próbkach środowiskowych. Najbardziej znane i budzące największe zainteresowanie dioksyny i ich prekursory, czyli PCDD/F, PCB i PCP ze względu na swój szkodliwy wpływ na organizmy, długi czas degradacji i duże rozproszenie w środowisku przyrodniczym, stanowią poważne wyzwanie zarówno w ujęciu lokalnym jak i przestrzennym. Obecnie prowadzone są działania zarówno prawne poprzez wdrażanie międzynarodowych konwencji, dyrektyw Unii Europejskiej oraz ulegają zmianie technologie, które mają ograniczyć uboczne produkty działalności człowieka.

Nie mniej jednak stężenie tych związków w środowisku przyrodniczym nie uległo znaczącemu obniżeniu. Na temat występowania i dostępności PCDD/F, PCB i PCP opublikowano wiele bardzo dobrych prac, ale bardzo często ze względu na złożoność tych związków i procesów nie obejmują one całego systemu w ujęciu kompleksowym (powietrze, aerozole, woda, osad denny), ale tylko jego część. Należy podkreślić, że TZO mogą z łatwością przedostawać się również do organizmów żywych w tym ludzi, powodując tym samym potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia. Stąd też, niezmiernie istotne jest podjęcie takich badań, które będą miały charakter złożony i będą obejmowały „losy” PCDD/F, PCB i PCP od jego źródła do organizmów żywych, wykorzystując przy tym szerokie spektrum narzędzi zarówno analitycznych, jak również matematycznych i statystycznych metod opisu środowiska przyrodniczego. Doktorantka w dysertacji podjęła próbę poznania czynników kształtujących proces kumulacji nierozpuszczalnych w wodzie polichlorowanych dibenzo-p-dioksyn, polichlorowanych dibenzofuranów oraz ich prekursorów w różnych elementach środowiska morskiego, ze szczególnym naciskiem na morskie osady denne. Ponadto mgr Maria Witt założyła sobie za cel rozprawy doktorskiej analizę dróg przemieszczania PCDD, PCDF oraz ich prekursorów w środowisku morskim w układzie powietrze atmosferyczne – osad denny – organizmy, identyfikację źródeł PCDD i PCDF z zastosowaniem wieloczynnikowych technik modelowania receptorów. Biorąc pod uwagę powyższe cele rozprawy doktorskiej, mgr Marii Witt zaplanowała również określenie stopnia oddziaływania PCDD, PCDF, PCB i PCP na toksyczność morskich osadów dennych. Tak ambitne cele rozprawy świadczą o złożoności problemu badania TZO w środowisku przyrodniczym człowieka. Dlatego też doktorantka przedstawiła kilka tez, które postanowiła zweryfikować: (1) liczba atomów chloru w cząsteczce PCDD i PCDF ma decydujący wpływ na zdolności sorpcji w abiotycznych i biotycznych elementach środowiska morskiego (2) rodzaje źródeł pochodzenia PCDD i PCDF kształtują profile tych substancji w różnych elementach środowiska oraz (3) powietrze atmosferyczne jest głównym nośnikiem PCDD/F ze źródeł lądowych do środowiska morskiego. Postawione cele oraz tezy w dysertacji wymagały odpowiedniego zaplanowania badań naukowych obejmujących cały tok analityczny począwszy od określenia obiektu badań, pobierania i przygotowania próbek, dobrania odpowiedniej techniki analitycznej, oceny i kontroli jakości wyników badań, zastosowania metod matematycznych i statystycznych do opisanego obiektu badań. Obszar badań doktorantki stanowił basen Morza Bałtyckiego (pobrano próbki: osadu dennego w warstwie powierzchniowej do 5 cm oraz rdzenie osadów dennych do głębokości 25 cm; ryb: śledź bałtycki (*Clupea harengus membras*), szprot (*Sprattus sprattus balticus*) i stornia (*Platichthys flesus*) oraz próbki aerozoli PM10). Z kolei z obszaru Arktyki (Svalbard, fiordy Horsund i Kongsfjorden) pobrano próbki osadu dennego z warstwy powierzchniowej do 5 cm oraz złowiono dorsza (*Gadus morhua morhua*). Niestety w opisie próbek, nawet pomimo dodatkowych schematów (rys. 21; rys. 22) z trudnością można doszukiwać się skąd pobierane były próbki rdzeni z basenu Morza Bałtyckiego, próbki ryb oraz z jakiej głębokości? Zazwyczaj przy opisie próbek stosuje się tabele, gdzie w łatwy i czytelny sposób można zamieścić niezbędne informacje tj.: nr próbki, data i miejsce pobierania próbki, głębokość pobrania próbki, próbka powierzchniowa/rdzeń (z rys. 21 wynika tylko, że pobrano w sumie n=128 próbek osadów dennych). Natomiast w przypadku próbek fiordów na podstawie opisu zamieszczonego w podrozdziale 3.2 Pobieranie i wstępne przygotowanie próbek wynika, że

pobrano $n=2$ osadów dennych z fiordu Horsund. W dalszej części rozprawy doktorskiej okazuje się, że pobrano $n=1$ osadu z fiordu Horsund i $n=1$ osadu z fiordu Kongsfjorden. Dodatkowo próbki dorsza do badań pobrano tylko z fiordu Kongsfjorden ($n=3$). Biorąc pod uwagę zaplanowane pobieranie próbek osadów dennych z fiordów Horsund i Kongsfjorden, po pierwsze wydaje się zasadne pobranie więcej niż jedną próbkę osadu, po drugie czy nie warto było pobrać również próbek z fiordu Isfjorden zlokalizowanego pomiędzy tymi dwoma fiordami? W kolejnym etapie doktorantka przedstawia metody przygotowania próbek oraz proponuje metody oznaczania PCDD/F, PCB oraz PCP w pobranych próbkach środowiskowych. Wykorzystanie metody HPLC z detektorem z kaskadą diod (Diode Array Detector) w celu oznaczenia pentachlorofenolu oraz zastosowanie metody chromatografii gazowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas (GC-MS/MS) w celu oznaczenia PCDD, PCDF i PCB jest uzasadnione i nie budzi zastrzeżeń. Badanie stężenia PCP prowadzono w wyspecjalizowanym laboratorium Trwałych Zanieczyszczeń Organicznych UG, a stężenie PCDD, PCDF i PCB oznaczono w akredytowanym laboratorium Politechniki Karkowskiej. Wykonanie oznaczeń w tak specjalistycznych laboratoriach w Polsce nie budzi wątpliwości, jeśli chodzi o uzyskane wyniki badań dla próbek osadów, PM₁₀ oraz ryb. Jedyne zastrzeżenia można mieć do przygotowania próbki, a dokładniej chodzi o doprecyzowanie: jak prowadzona była analiza granulometryczna (doktorantka pisze, że wykonano granulometrię), jak homogenizowano próbki osadów dennych i ryb, jak przygotowano próbki PM₁₀ do analiz chemicznych? W dalszej części dysertacji doktorantka wykorzystuje możliwe metody eksploracji wyników badań (metody matematyczne i statystyczne) oraz stosuje analizy komputerowe przy wykorzystaniu programów obliczeniowych EPI Suite oraz Molinspiration. Te ostatnie metody obliczeniowe doktorantka określa mianem terminu „in silico”, a termin ten wykorzystywany jest głównie w naukach biologicznych opisujących między innymi modelowanie molekularne czy sekwencjonowania genomów. Nie mniej jednak, wykorzystanie programów do modelowania właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej PCDD/F, PCB oraz PCP pozwoliło mgr Marii Witt uzyskać dodatkowe informacje do interpretacji zarówno wyników badań doświadczalnych, jak również w celu określenia źródeł analizowanych związków. W celu pogłębienia wiedzy na temat toksyczności osadów oraz ich zmienności przestrzennej doktorantka wykorzystuje selektywny test Microtox (procedura Basic Soild Phase) oraz wdraża wyniki tego testu w analizie geostatystycznej przy wykorzystaniu bardzo dobrego narzędzia, jakim jest ArcGIS. Zastosowanie tak wielu narzędzi opisujących i wspierających opis aktualnego stanu środowiska w tak złożonych i kompleksowych badaniach przeprowadzonych na wielu płaszczyznach pozwolił mgr Marii Witt na sformułowanie wielu wniosków, a do najważniejszych z nich należy zaliczyć:

1. Wykazanie, że ponad 70% osadów dennych z basenu morza Bałtyckiego przekracza uznawaną normę $5,2 \text{ pg WHO-TEQ} \cdot \text{g}^{-1}$ i stanowi realne zagrożenie dla środowiska przyrodniczego zgodnie z Amerykańską Agencją Ochrony Środowiska (US EPA).
2. Stwierdzenie występowania wszystkich analizowanych 17 kongenerów PCDD/F oraz 12 analizowanych kongenerów PCB w osadach dennych i cząstkach zawieszonych (PM₁₀) w próbkach pobranych z rejonu Basenu Gdańskiego.

3. Utworzenie mapy toksyczności powierzchniowych osadów dennych Basenu Gdańskiego oraz wykazanie na podstawie analizy toksyczności osadów dennych w obszarze Basenu Gdańskiego, braku występowania zależności między analizowanymi związkami.
4. Określenie stopnia kumulacji kongenerów PCDD i PCDF i wykazanie zróżnicowania ze względu na typ próbki środowiskowej: PCDD i PCDF (6-8 atomów chloru w cząsteczce) dominują w próbkach osadów dennych i cząstek zawieszonych PM10, natomiast w organizmach dominują dioksyny zawierające 4-5 atomów chloru w cząsteczce. Z kolei dla PCB i PCP nie stwierdzono zależności od liczby atomów chloru.
5. Określenie przez doktorantkę czynników warunkujących stopień kumulacji dla PCDD/F, PCB oraz PCP wskazując przede wszystkim na właściwości fizyczno-chemiczne tych związków: trwałość w środowisku czy zdolność do bioakumulacji oraz ze względu na właściwości sorpcyjne osadów dennych i cząstek zawieszonych PM10 oraz ich dużą powierzchnię właściwą. W przypadku ryb czynnikami warunkującymi kumulację analizowanych związków jest zawartość tłuszczu i wiek.
6. Udowodnienie i potwierdzenie przy wykorzystaniu modelu pozytywnej faktoryzacji macierzy (PMF), że profile PCDD/F w osadach dennych i cząstkach zawieszonych PM10 należy wiązać z procesami termicznymi, natomiast w przypadku ryb analizowane związki pochodzą głównie ze źródeł rozproszonych i są trudne do zidentyfikowania.

Postawione przez mgr Marię Witt cele rozprawy doktorskiej zostały osiągnięte, a wnioski z badań dobrze sprecyzowane, choć uważam, że można było sprecyzować ich więcej biorąc pod uwagę wnioski zawarte w części Wyniki i dyskusja.

Dodatkową część rozprawy doktorskiej stanowią badania modelowe, które doktorantka podjęła w celu określenia czy zanieczyszczenia zaadsorbowane na osadzie dennych wykazują większą toksyczność w stosunku do organizmów czy zanieczyszczenia obecne w wodzie. W tym celu do badań wybrano dwa osady, które charakteryzują się odmiennymi właściwościami i sprawdzono, jaki efekt wywołają w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri*. Na podstawie badań mgr Maria Witt wykazała, że rodzaj osadu ma fundamentalne znaczenie na sorpcję zanieczyszczeń jak również związki już zaadsorbowane w danej matrycy.

Formalna ocena rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr Marii Witt pt.: „Proces kumulacji trwałych zanieczyszczeń organicznych w osadach dennych Morza Bałtyckiego i wpływ depozycji atmosferycznej na ten proces” składa się z 218 stron, 68 rysunków, 27 tabel, 1 załącznika oraz aż 430 pozycji literaturowych (w większości publikacji anglojęzycznych). Dysertacja ma klasyczną strukturę, choć trudno zrozumieć jaki był zamysł stosowania języka polskiego i języka angielskiego w spisie treści, bo otwierając daną stronę uzyskiwano treści w języku polskim. W zasadzie tylko rozdział Abstract napisany jest w języku angielskim, ale w sumie ten rozdział stanowi kopię rozdziału Podsumowanie i wnioski. Cała rozprawa napisana jest zwięzłym językiem, choć ilość „materiału badawczego” jest ogromna i z jednej strony wskazuje na zainteresowanie doktorantki tematem, z drugiej zaś strony generuje spore

zamieszanie. Jednak pomimo częstych powtórzeń oraz odniesień do wcześniejszych części tekstu rozprawę doktorską czyta się dobrze. Na tyle dobrze, że pewne rozdziały można traktować jak układankę i można bez problemu wracać do treści zawartych wcześniej, co z pewnością wskazuje, że można było lepiej zorganizować treści zawarte w tekście.

Rozprawa doktorska ma klasyczną strukturę (pomijając opisy w j. angielskim) i obejmuje część literaturową i część doświadczalną, które podzielone są na 7 głównych rozdziałów.

Dysertację otwiera spis treści, a następnie stosowane skróty, dalej rozdział pierwszy, którym jest **Wstęp**. W tym rozdziale doktorantka nakreśla problem badawczy TZO, następnie przedstawia Cel i zakres badań oraz przedstawia główne tezy.

Rozdział drugi to **Część teoretyczna**, która została podzielona na pięć podrozdziałów. W tej części mgr Maria Witt bardzo dokładnie i szczegółowo opisuje aktualny stan prawny dotyczący TZO (rozdział 2.1). Następnie doktorantka dokonuje charakterystyki poszczególnych PCDD, PCDF, PCB i PCP pod kątem ich właściwości fizycznych, chemicznych oraz toksykologicznych. Po tym opisie w rozdziale 2.3 mgr Maria Witt opisuje TZO w środowisku z naciskiem na: źródło, transport oraz występowanie w środowisku przyrodniczym. Ostatnie dwa podrozdziały opisują toksyczność konkretnej grupy związków PCDD, PCDDF, PCB, PCP oraz wykorzystanie i zastosowanie technik wieloczynnikowych do wskazania źródeł tych związków w środowisku przyrodniczym. W tym rozdziale ze względu na charakter badań zabrakło mi podrozdziału opisującego aktualny stan wiedzy na temat metod oznaczania TZO z podziałem na dioksyny i dioksynopodobne.

W rozdziale trzecim doktorantka przedstawia **Materiały i Metody**, który opisuje tok analityczny od miejsca pobierania próbek (3.1 Rejon badań) do metod identyfikacji źródeł zanieczyszczeń w analizowanych próbkach środowiskowych. Z pewnością rozdział Rejon Badań powinien znaleźć się w części teoretycznej, a rozdział 3.10 Zestawienie procedur analitycznych powinien zostać podzielony i odpowiednio zamieszczony w podrozdziale 3.2 Pobieranie i wstępne przygotowanie próbek. Opis próbek jest mało precyzyjny (nawet pomimo dodatkowych schematów), a moją uwagę na temat tego rozdziału poczyniłem wcześniej. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że etap pobierania i przygotowania próbek jest z punktu widzenia analityki środowiska najważniejszy i na tym etapie należy bardzo precyzyjnie dokonywać wszelkich opisów, aby możliwa była właściwa interpretacja wyników badań. Rozdział materiały i metody zamyka podrozdział Badania Modelowe, w którym mgr Mari Witt przedstawia eksperyment dotyczący wpływu właściwości matrycy próbki na siłę toksycznego działania TZO na organizmy. Wykorzystuje przy tym dwie skrajnie różniące się próbki osadów dennych i prowadzi ekstrakcję ze zmienną zawartością substancji toksycznych, po czym wykonuje test Microtox.

W kolejnym rozdziale doktorantka przedstawia **Wyniki badań i dyskusję**. Rozdział ten zaczyna się dość nietypowo, ponieważ w podrozdziale 4.1 mgr Maria Witt opisuje właściwości fizykochemiczne oraz aktywność biologiczną PCDD/F, a powinna zacząć od zestawienia wyników badań dla poszczególnych typów próbek z ich podstawową statystyką. W kolejnym podrozdziale przedstawiono: Toksyczność osadów dennych Basenu Gdańskiego, a dopiero w podrozdziale 4.3 zestawiono wyniki badań PCDD, PCDF, PCB i PCP w osadach

dennych Basenu Gdańskiego. Taki układ wprowadza spore zamieszanie przy czytaniu rozprawy. W kolejnych podrozdziałach doktorantka dokonuje omówienia wyników badań atmosferycznych cząstek zawieszonych PM10 oraz ryb. W następstwie tych rozdziałów mgr Maria Witt dokonuje porównania stopnia kumulacji w układzie osad denny - atmosferyczne cząstki zawieszane PM10 - ryby (podrozdział 4.6). W podrozdziale 4.7 są przedstawione wyniki badań osadów dennych i ryb pobranych z terenów arktycznych. Dalej, zgodnie ze spisem treści zostają opisane źródła analizowanych związków oraz badania modelowe. Zakładam, że są to rozdziały ułożone chronologicznie i zgodnie z założeniem doktorantki, ponieważ są błędnie ponumerowane, po podrozdziale 4.7 powinny być podrozdziały 4.8 i 4.9, a są ponumerowane jako 4.5 i 4.6.

Rozdział piąty to **Podsumowanie i wnioski**, zaczyna się krótkim wstępem, po czym następuje zestawienie dziewięciu wniosków na podstawie przeprowadzonych badań.

Rozdział szósty to **Abstract**, choć jak na Abstract jest za długi, a jest to w zasadzie streszczenie rozprawy przedstawione na trzech stronach tekstu.

Rozdział siódmy to **Literatura**, zestawienie 430 pozycji literaturowych cytowanych w rozprawie. Cytowane publikacje to w większości dobre i bardzo dobre czasopisma w języku angielskim z listy JCR.

Dodatkowe uwagi do rozprawy doktorskiej

W trakcie przygotowywania recenzji rozprawy doktorskiej mgr Marii Witt nasunęły mi się dodatkowe uwagi dotyczące rozprawy doktorskiej:

- Dotyczy całej rozprawy: stosowanie przecinka (,) a nie kropki w liczbach.
- Spis treści: spis rysunków jest na stronie 204, w rzeczywistości jest na 203 stronie.
- Skróty: błędy tzw. „literówki” jest „wazę” powinno być „fazę” jest „POC (ang. articulate)” powinno być POC (ang. particulate)
- Wstęp, str. 9: wysokosprawnego chromatografu gazowego, a powinno być wysokorozdzielczego chromatografu gazowego (tak samo na str. 82)
- str. 18 jest odnośnik rys. 3, a powinien być odnośnik do rys. 4,
- str. 24 rys. 6 wymaga doprecyzowania: PCNB („składnik aktywny”) oraz dodanie do opisu warunku „podczas ekspozycji na światło”,
- str. 33 węgiel w formie POC został opisany, jako zawieszony węgiel organiczny a powinno być cząsteczkowy węgiel organiczny (Particulate Organic Carbon),
- tab. 6 str. 41 * (gwiazdka w tabeli) wymaga wyjaśnienia,
- tab. 7 str. 43 jest *Spartina maritima*, a nie ma wskazania czy jest to liść czy korzeń,
- tab. 10 str. 52 jest Nunes i in. 2012, a powinno być Nunes i in. 2012
- str. 70 w nawiasie jest (dw – ang. wet weight) a powinno być (dw – ang. dry weight)

- str. 80 jest ekstrakcją analitów do sorbentów stałych (solid phase extraction), a powinno być ekstrakcja do fazy stałej

I kilka uwag dotyczących stosowanego słownictwa:

- zateżanie powinno być wzbogacanie,
- standard wewnętrzny powinno być wzorzec wewnętrzny,
- limit oznaczalności powinno być granica oznaczalności,
- limit detekcji powinno być poniżej granicy wykrywalności,
- kolekcjonowanych w Gdańsku powinno być pobieranych w Gdańsku.

Wnioski końcowe

Wyniki badań mgr Marii Witt są bardzo wartościowe i kompleksowe. Kompleksowe na tyle, że przedstawiona do recenzji dysertacja zawiera wiele wątków, które łączą się w pewną całość, ale z pewnością wymagają dopracowania. Doktorantka podjęła się poważnego wyzwania, pracując przy tym na wielu płaszczyznach analityki środowiskowej, aby zaobserwować jak poszczególne elementy środowiska przyrodniczego oddziałują między sobą i jakie są tego efekty. Takie spojrzenie na problem świadczy o jego unikalności i mogą z całą pewnością stwierdzić, że tak kompleksowo powinny wyglądać badania dla tak złożonych systemów. Wyniki badań zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR: Oceanological and Hydrobiological Studies (4 publikacje), w czasopiśmie w języku angielskim bez IF (2 publikacje), jako rozdziały w monografii w języku angielskim (2 publikacje) oraz w języku polskim (2 publikacje).

W podsumowaniu mojej oceny rozprawy doktorskiej mgr Marii Witt chciałbym stwierdzić, że prezentowany dorobek naukowy zawarty w rozprawie doktorskiej oceniam bardzo wysoko. Jednocześnie należy zaznaczyć, że rozprawa doktorska ma charakter nowatorski i wnosi nowatorskie rozwiązania złożonych problemów: występowania, źródeł, dostępności, toksyczności oraz identyfikacji trwałych zanieczyszczeń organicznych w abiotycznych i biotycznych elementach analizowanych elementów środowiska przyrodniczego. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Marii Witt spełnia zwyczajowe i ustawowe wymagania, stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani mgr Marii Witt do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Dodatkowo, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

dr hab. Marcin Frankowski

Poznań, dnia 20.01.2016 r.

