

Ocena

pracy doktorskiej mgr. Sebastiana Maszewskiego pt.: „Ocena zanieczyszczeń krajowej żywności dioksynami i związkami pokrewnymi”

Nadrzędnym celem monitoringu czynników ryzyka zdrowotnego w żywności jest ochrona zdrowia konsumenta. Nawet jeżeli cel bezpośredni pracy został określony jako np. badania sprawdzające zgodność z przepisami lub zgoła został sformułowany z myślą o rozwiązaniu problemów analitycznych, to ostatecznie chodzi o dołożenie jakiejś cegiełki do ogólnej puli wiedzy umożliwiającej ograniczenie ryzyka zdrowotnego związanego z narażeniem na zanieczyszczenia żywności, rozumiane jako czynniki ryzyka zdrowotnego.

Mgr Sebastian Maszewski za przedmiot swojej pracy doktorskiej wybrał dioksyny i związki pokrewne. To wdzięczny temat badań, jednak planując ocenę ich obecności w żywności jako cel pracy naukowej należy mieć na uwadze, że zasoby literaturowe w tym obszarze są olbrzymie, co implikuje wyjątkowo obszerny zasób wiedzy kumulowanej od półwiecza. W popularnej przeglądarce internetowej hasło '*dietary exposure to dioxin*' powoduje wyświetlenie przeszło 48 900 tysięcy odniesień do artykułów naukowych opublikowanych w tym obszarze¹. Z naukowego punktu widzenia do najbardziej wartościowych należy zaliczyć badania, które wyniki oceny narażenia, będącego w gruncie rzeczy zapisem monitoringu, odnoszą do potencjalnych skutków biologicznych lub też proponują nowe rozwiązania umożliwiające pogłębioną analizę zagrożeń i ich źródeł, łącząc tym samym ocenę narażenia z oceną ryzyka i elementami zarządzania ryzykiem.

Doktorant wyznaczył następujące cele, które przedstawił w swojej dysertacji: (1) oznaczenie 35 toksycznych kongenerów PCDD, PCDF oraz dl-PCB i ndl-PCB w materiale pochodzącym od zwierząt hodowlanych, (2) ustalenie najbardziej

¹ Google scholar, dane z lutego 2019 r.

zanieczyszczonych produktów wraz ze zbadaniem tendencji czasowych i źródeł zanieczyszczeń oraz oszacowanie narażenia konsumentów w przypadku ponadnormatywnej zawartości badanych związków. W zwięzłym, ale wyczerpującym wstępie obejmującym podstawowe informacje o zależnościach między strukturą chemiczną a właściwościami biologicznymi poszczególnych kongenerów dioksyn, furanów oraz dioksynopodobnych i dioksynoniepodobnych PCB ze szczególnym uwzględnieniem koncepcji równoważników toksyczności Doktorant wykazał się umiejętnością krytycznej oceny tej koncepcji. Wskazał przy tym na brak alternatywnych rozwiązań, które byłyby obarczone mniejszą niepewnością przy szacowaniu ryzyka. We wstępie zwraca szczególną uwagę syntetyczne wyjaśnienie zależności pomiędzy budową chemiczną kongenerów dioksyn a ich aktywnością biologiczną, która legła u podstaw koncepcji współczynników toksyczności umożliwiając ocenę ryzyka w odniesieniu do łącznego narażenia na kongenery dibenzo-p-dioksyn, dibenzo-p-furanów i dl-PCB i ndl-PCB. We wstępie znalazł się także wyczerpujący przegląd incydentów wywołanych dioksynami na świecie oraz syntetyczne omówienie strategii UE w zakresie zarządzania ryzykiem zdrowotnym wynikającym z obecności dioksyn i związków pokrewnych w żywności.

Istotną część wstępu zajął przegląd metod analitycznych świadczący o biegłości Doktoranta w tym obszarze, niezbędnej do realizacji wytyczonych celów pracy doktorskiej. Pokażną część rozdziału pt. „Badania własne” mgr Sebastian Maszewski poświęcił szczegółowemu opisowi metody analitycznej. Z opisu widać, że laboratorium, dzięki doskonałym możliwościom technicznym i wyposażeniu, jest ulubionym miejscem Doktoranta. Nic więc dziwnego, że opis postępowania analitycznego, począwszy od przygotowania próbek z uwzględnieniem zróżnicowanych matryc, poprzez ekstrakcję tłuszczu i oczyszczanie ekstraktów, aż do opisu chromatograficznych technik rozdziału, detekcję, identyfikację i oznaczenie ilościowe, jest precyzyjny i nie budzi wątpliwości co do kompetencji analitycznych Doktoranta.

Nie mam też zastrzeżeń do sposobu przeprowadzenia walidacji metody stosowanej w tych badaniach, podczas której wszystkie cechy metody zostały scharakteryzowane potwierdzając jej przydatność do osiągnięcia założonego celu analitycznego. Proponuję jednak aby Doktorant termin „specyficzność”, występujący w kilku miejscach w tekście i w podtytule, zastąpił bardziej prawidłowym i wywodzącym

się z języka polskiego terminem „swoistość”. Na uwagę zasługuje wysoki poziom wiarygodności laboratorium, o którym świadczą wyniki wieloletnich badań biegłości uwidocznione na rycinie 13.

Do istotnych zalet tej pracy należy zaliczyć analizę częstotliwości występowania kongenerów PCDD, PCDF i dl-PCB w sposób przejrzysty odzwierciedlającą ich występowanie w mięśniach i wątrobach badanych gatunków zwierząt, jajach, mleku i produktach mlecznych. Dopiero dokładny wgląd w diagramy ilustrujące te zależności pozwala ocenić ogrom pracy leżący u podstaw nie tyle wygenerowania samych wyników, bo – jak należy sądzić – były one owocem pracy zespołowej laboratorium realizującego plany monitoringu, lecz ich opracowania statystycznego i pogrupowania w sposób umożliwiający formułowanie wniosków. Poza zbliżonymi do siebie udziałami poszczególnych kongenerów - oczekiwanymi jako konsekwencja ogólnej matrycy środowiskowej - uwagę przykuwają trendy czasowe wskazujące na spadek stężeń PCDD/PCDF w mięśniach badanych zwierząt (z wyjątkiem owiec). Okazały się one jednak nieistotne statystycznie w nieparametrycznym teście *Manna-Kendalla*, mimo iż graficzne przedstawienie wyników mogłoby sugerować zupełnie inny wniosek. Podobnie rzecz przedstawia się w przypadku pozostałych badań, co sugeruje, że zapewne okres między 2008 a 2014 r. był zbyt krótki aby móc zaobserwować jakiegokolwiek trendy, co z kolei może wydawać się prawdopodobne tym bardziej, że emisja tych związków do środowiska nie uległa żadnym dramatycznym zmianom w tym okresie.

Innego rodzaju trudności napotkał Doktorant przy próbie wskazania źródeł zanieczyszczeń opierając się na oficjalnych danych krajowych o emisjach PCDD/PCDF w poszczególnych województwach oraz średnich i maksymalnych ich stężeniach w mleku krów pochodzących z tych województw. Tu niestety zabrakło zbadania korelacji między tymi dwiema zmiennymi, chociaż intuicyjnie mogłoby się wydawać, że taka zależność mogłaby mieć miejsce, przynajmniej w odniesieniu do najwyższych stężeń stwierdzanych w mleku. Oczywiście Doktorant na pewno zdawał sobie sprawę z niepewności tego rodzaju oszacowań wynikających choćby ze złożonego kształtu województw i różny wiatrów powodujących, że źródła emisji dioksyn niekoniecznie muszą pokrywać z miejscem ich immisji.

Jednak, niezależnie od tych trudności, część pracy doktorskiej poświęconą identyfikacji źródeł zanieczyszczeń żywności pochodzenia zwierzęcego ma dużą

wartość poznawczą i może zostać wykorzystana jako podstawa inspiracji w podobnych dochodzeniach w przyszłości. Dobrym przykładem takiego dochodzenia może być stwierdzenie podobieństwa profilu kongenerów ndl-PCB w jajach kurzych i mączce ryb bałtyckich, co w recenzowanej pracy zostało zademonstrowane w postaci szczegółowych diagramów. Lektura tej części dysertacji, chociaż zawiera ona ważny i interesujący materiał poznawczy, nastręcza jednak trudności w oddzieleniu danych pochodzących z badań własnych zadeklarowanych przez mgr. Sebastiana Maszewskiego jako część pracy doktorskiej od innych badań wykonanych w zespole, w którym pracuje Doktorant, a nawet od badań wykonanych przez autorów z innych ośrodków. Jest to o tyle mylące, że wszystkie one zostały zamieszczone w części III: „Badania własne” w rozdziale: „3.4 Przykładowe źródła zanieczyszczeń żywności”. W opinii recenzenta materiał ten powinien znaleźć się w dyskusji stanowiącej omówienie wyników własnych na tle rezultatów badań wykonanych w innych ośrodkach.

Ocena narażenia konsumentów na badane związki stanowi ukoronowanie całej pracy, a zestawienie danych w tabeli 35 ilustrujące pobranie badanych związków w odniesieniu do TDI jasno wskazuje, że spożycie niektórych produktów odzwierzęcych może spowodować nieakceptowalne ryzyko zdrowotne związane z pojawieniem się skutków związanych z łącznym narażeniem na dioksyny, furany i dioksynopodobne polichlorowane bifenyle.

Do istotnych zalet tej pracy, stanowiących niewątpliwą wartość dodaną, należy zaliczyć włączenie do zakresu oznaczanych analitów również 6 kongenerów ndl-PCB, ale przede wszystkim wykazanie, że generalnie rzecz biorąc, zawartość dioksyn, furanów i dioksynopodobnych PCB w mięsie i produktach pochodzenia zwierzęcego nie daje powodu do niepokoju, przynajmniej w odniesieniu do obowiązujących norm. Ważne, że w tym przypadku za powyższym stwierdzeniem stoją setki analiz wykonanych między rokiem 2009 a 2014. Wyjątek tu mogą stanowić wątroby owcze i jaja pochodzące od kur z wolnego wybiegu, w których systematycznie wykrywano badane związki w stężeniach znacznie przekraczających maksymalne dozwolone limity.

Inną zaletą pracy doktorskiej mgr. Sebastiana Maszewskiego jest to, że otwiera ona drzwi do nowych badań stawiając pytania, na których odpowiedzi Doktorant może poszukać w ramach swojej przyszłej działalności naukowej. Na przykład warto zbadać

dlatego w próbkach wątrób pochodzących od owiec obserwowano znaczne przekroczenia PCDD/PCDF, podczas gdy w ich mięsie stężenia tych związków nie przekraczały norm. Również próba wyjaśnienia systematycznie występujących wysokich stężeń w mleku kozim i w jajach pochodzących od kur z wolnego wybiegu mogłaby się stać przedmiotem oddzielnych badań. Być może mgr Sebastian Maszewski spróbuje odnieść się do tych kwestii podczas obrony swojej pracy.

Dyskusja została przeprowadzona prawidłowo z zachowaniem ogólnie przyjętych standardów.

Praca ma też kilka usterek, które dla porządku wymienię:

1. Tytuł pracy błędnie sugeruje, że badania obejmowały całą żywność, w tym również pochodzenia roślinnego, co w istocie nie miało miejsca. Tytuł należałoby więc uściślić dodając informację, że chodzi o żywność pochodzenia zwierzęcego.
2. Wnioski powinny wyłącznie wynikać z zaprezentowanych w dysertacji badań i nie należy ich mylić z wynikami. Dysertacja nie zawiera badań ADME upoważniających do sformułowania wniosku nr 1, że badane związki podlegają biokumulacji, ani też wniosku nr 2, że zgromadzone w tkankach zanieczyszczenia chemiczne przenikają do mleka i jaj. Zjawiska te są znane od dawna, a ich sformułowanie nie wynikało z badań prezentowanych przez Doktoranta. Wnioski 3-5 zostały sformułowane prawidłowo i wynikają z zaprezentowanych badań.
3. W pracy doktorskiej (i również w innych pracach naukowych) należy unikać kolokwializmów, takich jak: „jaja z wolnego wybiegu”, „wątroba drobiowa przekroczona”: (str. 130, 3 w od góry)
4. Sugerowane drobne poprawki:

Str. 43, 7 w. od dołu: zamiast „tą cechę” powinno być „tę cechę”;

Str. 43, 3 w. od dołu: zamiast „outliners” powinno być „outliers” czyli obserwacje odstające;

Str. 44, 3 w. od góry: zamiast „wykonujących przygotowanie” zgrabniej byłoby „przygotowujących”;

Str. 127, 7 w. od góry: zamiast „toksyn” powinno być „dioksyn” lub „badanych substancji”;

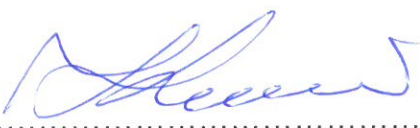
Str. 138, 10 w. od góry: zamiast „pulowanych próbek” powinno być „łączonych próbek”.

Powyższe drobne usterki mają raczej charakter porządkujący i pozostają bez wpływu na moją wysoką ocenę wartości naukowej i praktycznego znaczenia zaprezentowanych badań. Nie dostrzegłem też uchybień na tyle istotnych, aby mogły wpłynąć na moją wysoką ocenę pracy.

Podsumowując, z satysfakcją wyrażam przekonanie, że przedstawiona do oceny rozprawa mgr. Sebastiana Maszewskiego pod tytułem: „*Ocena zanieczyszczeń krajowej żywności dioksynami i związkami pokrewnymi*” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim.

Przedstawiam zatem Wysokiej Radzie Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego wniosek o dopuszczenie mgr. Sebastiana Maszewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Zwracam się także do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie tej rozprawy z uwagi na jej wysoki poziom merytoryczny i znaczenie dla dalszych badań nad tym złożonym problemem.

Warszawa luty 2019 r.



.....
Prof. dr hab. Jan K. Ludwicki