

prof. dr hab. Rafał Głowacki
Katedra Chemii Środowiska
90-236 Łódź, ul. Pomorska 163
rafal.glowacki@chemia.uni.lodz.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Hussama Al Saoud'a pt:

Biosilica as a new packing material for chromatographic separations

wykonanej pod kierunkiem

prof. dr. hab. Bogusława Buszewskiego i dr. inż. Michała Kawalca

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, przy czym jeden z promotorów w przewodzie doktorskim, dr inż. Michał Kawalec, reprezentuje Politechnikę Białostocką. Autor rozprawy jako główny cel przyjął zbadanie przydatności biokrzemionki jako alternatywnego materiału dla syntetycznych faz stacjonarnych, stosowanych w chromatografii ciekowej. Niejako „przy okazji”, Doktorant postanowił oszacować użyteczność wspomnianego materiału w kontekście bliźniaczej, od strony mechanizmów rozdzielania, ekstrakcji do fazy stałej.

Zagadnienia związane z syntezą nowych materiałów sorpcyjnych od dziesięcioleci stanowią jeden z ważniejszych obszarów działalności szeroko pojętej branży chromatograficznej, w szczególności zaś chromatografii ciekowej. Wkład zespołu Profesora Bogusława Buszewskiego, wybitnego specjalisty w dziedzinie technik separacyjnych, w rozwój technologii z tego zakresu jest bardzo znaczący a oceniana praca reprezentuje właśnie ten nurt badań. Efektywność działań, a co za tym idzie postęp w tej dziedzinie jest imponujący, niemniej jednak coraz częściej uwaga eksperymentatorów skupia się na technologiach bardziej

przyjaznych dla środowiska. Kryterium to spełnia biokrzemionka, przy czym do jej zalet należy również zaliczyć obojętność chemiczną, co czyni ją przydatną w zastosowaniach biomedycznych, wysoką stabilność termiczną i mechaniczną, niskie przewodnictwo cieplne, dużą powierzchnię właściwą przy zachowaniu jednorodności struktury. Wypełnienia na bazie krzemionki są najbardziej rozpowszechnione w chromatografii cieczerwowej dzięki łatwości z jaką można dokonywać modyfikacji chemicznej jej powierzchni. Możliwość przyłączenia różnego rodzaju ugrupowań, takich jak polarne grupy hydroksylowe, aminowe, cyjanowe, czy karboksylowe jak również fragmentów hydrofobowych, np. C18 spowodowała, że ten rodzaj faz stacjonarnych jest wykorzystywany praktycznie we wszystkich trybach chromatografii, począwszy od chromatografii w normalnym (NP) i odwróconym (RP) układach faz, poprzez chromatografię jonowymienną (IC), na chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC) kończąc.

Pod względem formy, praca Pana Hussama Al Saoud'a stanowi zbiór czterech publikacji, których wspólnym mianownikiem są badania przydatności biokrzemionki, czyli frustuli generowanych naturalnie przez niektóre gąbki oraz jednokomórkowe glony - okrzemki. Taka formuła jest obecnie preferowana zarówno przez doktorantów jak i promotorów gdyż pozwala zaoszczędzić czas niezbędny na napisanie i korektę tradycyjnej dysertacji. Od recenzenta wymaga natomiast zapoznania się z publikacjami stanowiącymi podstawę ubiegania o nadanie stopnia doktora. Nie chcąc powielać roli jaką pełnili/pełnią recenzenci poszczególnych publikacji chciałbym mino to skupić się na ocenie wartości merytorycznej badań przeprowadzonych przez Doktoranta oraz na spójności załączonych materiałów. Przedstawione do oceny publikacje zostały opatrzone bardzo krótkim, czterostronicowym wstępem. Przedstawiono tutaj dość podstawowe informacje na temat chromatografii, głównie w kontekście materiału jakim jest biokrzemionka. Równie skondensowaną formę stanowią umieszczone w końcowej części pracy wnioski (1 strona A4). W rozdziale 3 zatytułowanym problemy badawcze (Research problems; 6 stron) Autor rozprawy zarysował tematykę prowadzonych badań, przy czym najwięcej uwagi poświęcił fazom stacjonarnym (LC). Powtórzył także szereg informacji na temat biokrzemionki, co było moim zdaniem zbędne. Pożytecznymi informacjami były natomiast, w mojej opinii te, które mówiły o technologii modyfikacji powierzchni biokrzemionki oraz technicznych aspektach napełniania kolumn kapilarnych złożem. Pomimo faktu, że informacje te są również dostępne w literaturze fachowej, ich bardziej szczegółowe przywołanie uczyniłoby dysertację bardziej kompletną.

Dwie spośród czterech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej Pana Hussama Al Saoud'a to prace przeglądowe. Pierwsza z nich (D1) została opublikowana w *Journal of Separation Science* (IF 3,614) w roku 2021 i stanowi zbiór najistotniejszych, aktualnych wówczas informacji na temat materiałów opartych na biokrzemionce, w tym jej pochodzenia, technik umożliwiających jej charakterystykę oraz potencjalnych zastosowań wynikających z możliwych modyfikacji strukturalnych. Praca opublikowana w tym samym roku w branżowym czasopiśmie *Analityka* (D2) skupia się na roli biokrzemionki w zastosowaniach biomedycznych. Przybliżyła wiedzę z zakresu badań nad nowymi środkami terapeutycznymi, technikami diagnostycznymi oraz nośnikami leków. Stanowi w mojej ocenie dobre uzupełnienie informacji opisanych w publikacji D1 i w połączeniu z nią skutecznie wprowadza czytelnika w tematykę rozprawy, naświetlając jej ważność w kontekście zastosowań praktycznych. Należy docenić pracę jaką Doktorant włożył w przygotowanie tego fragmentu rozprawy, jeśli uwzględni się zakres przeprowadzonych badań literaturowych, czego odzwierciedleniem jest m.in. liczba odnośników (123) w publikacji D1. Stosowne, zamieszczone w materiałach oświadczenia wskazują, iż Pan Hussam Al Saoud odegrał kluczową rolę w powstaniu obydwu wspomnianych prac. Oprócz zgromadzenia odpowiedniej literatury, był także głównym twórcą manuskryptów.

Dwie kolejne prace w chwili pisania poniższej recenzji znajdują/znajdowały się na etapie ewaluacji w czasopismach *Journal of Chromatography A* (IF 4,601) (D3) oraz *Chromatographia* (IF 2,213) (D4). Pierwszy ze wspomnianych manuskryptów zawiera dane dotyczące możliwości zastosowania zmodyfikowanej chemicznie łańcuchami C18 biokrzemionki jako fazy stacjonarnej w kolumnach kapilarnych stosowanych w chromatografii cieczowej. Możemy tutaj znaleźć m.in. opis wydzielenia i przygotowania materiałów oraz sposobów ich charakterystyki fizykochemicznej, w tym tych wykorzystujących techniki SEM i SEM-EDX. Dla praktyka szczególnie istotne wydają się informacje dotyczące porównania otrzymanego przez Doktoranta materiału z komercyjnie dostępnym złożem kolumny HALO C18 (2,7 μm). W tym kontekście jako bardzo obiecujące należy traktować rezultaty dotyczące sprawności kolumny wypełnionej zsyntetyzowanym w ramach pracy materiałem „biosilica”, czego wyrazem jest załączony jako rysunek 4 wykres Van Deemter'a. Podobnie należy rozpatrywać porównanie hydrofobowości obydwu materiałów (rysunek 6), kluczowej w kontekście mechanizmów rozdzielania w chromatografii w odwróconym układzie faz. Wizualnym dowodem przydatności otrzymanego złoża chromatograficznego są umieszczone w manuskrypcie chromatogramy, przedstawiające rozdzielenie alkilowych pochodnych benzenu (rysunek 5) oraz antracenu (rysunek 7). Jak słusznie wskazują autorzy tego manuskryptu (D3)

otrzymany materiał jest bardzo obiecujący w kontekście aplikacyjnym, toteż wskazane są dalsze badania w tym zakresie. Także w tym przypadku udział doktoranta w badaniach, a w konsekwencji w powstaniu manuskryptu był znaczący, co potwierdzają oświadczenia współautorów i polegał m.in. na przygotowaniu próbek do analizy, wykonaniu analiz chromatograficznych oraz udziale w napisaniu manuskryptu i interpretacji wyników.

Praca D4 to opis kolejnych badań dotyczących wykorzystania biokrzemionki wygenerowanej przez mikroalgi jako wypełnienia kapilarnych kolumn chromatograficznych, które mogłyby znaleźć zastosowanie, tym razem w technice HILIC. Mieszaniną testową, której rozdzielanie miało potwierdzić użyteczność stworzonego narzędzia była mieszanina wybranych zasad nukleinowych oraz nukleozydów, zawierająca inozynę, guanozynę, cytozynę, adeninę i adenozyne. Uzyskany obraz chromatograficzny (rysunek 2) oraz obliczone wartości współczynnika retencji oraz współczynnika asymetrii piku zdają się potwierdzać osiągnięcie założonego celu. Co ważne, w ramach tej części pracy podjęto próbę wyjaśnienia mechanizmu rozdzielania wspomnianych związków. Szkoda, że nie podjęto próby bezpośredniego porównania uzyskanych rezultatów z innym, komercyjnie dostępnym złożem, tak jak opisano to w pracy D3. Udział Doktoranta w powstaniu manuskryptu był analogiczny do opisanego w wspomnianej publikacji.

Uwzględniając fakt, iż Doktorant przeprowadził z sukcesem szereg skomplikowanych eksperymentów oraz uczestniczył w tworzeniu wszystkich wchodzących w skład rozprawy manuskryptów, należy podkreślić jego dużą świadomość badawczą i wiedzę z zakresu preparatyki, ale także umiejętność posługiwania się nowoczesnymi technikami badawczymi oraz znajomość specjalistycznej nomenklatury.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi ciekawą próbę połączenia efektywności chromatograficznej zsyntetyzowanego złoża, niskich kosztów jego wytworzenia oraz minimalnego negatywnego wpływu całego procesu na środowisko. Uzyskane wyniki są niewątpliwie bardzo obiecujące, szczególnie, że dotyczą wykorzystania tanich materiałów separacyjnych w najczęściej wykorzystywanym trybie chromatografii jakim jest RP-HPLC i prężnie rozwijającej się technice HILIC.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że zastosowane podejście jest kompletne, gdyż obejmuje zarówno wydzielenie tzw. bazy z materiału naturalnego i syntezę właściwego złoża oraz jego charakterystykę, ale także przygotowanie kolumny jak i udane próby jej aplikacji. Za szczególnie wartościowe osiągnięcia Doktoranta w ramach przygotowanej dysertacji uważam:

- opracowanie procedur wytwarzania, opartych na biokrzemionce, materiałów sorpcyjnych i ich charakterystykę fizyko-chemiczną,
- nowatorskie wykorzystanie biokrzemionki jako fazy stacjonarnej w kolumnach kapilarnych dedykowanych do HPLC, zarówno w trybie RP-HPLC jak i HILIC,
- wykazanie ich przydatności praktycznej, która została potwierdzona rozdzieleniem mieszanin testowych ale również przy pomocy odpowiednich parametrów charakteryzujących jakość analizy chromatograficznej.

Pewien niedosyt i dyskomfort w odbiorze pracy powodują zbyt skromne wprowadzenie i jeszcze skromniejsze wnioski. Te części powinny w mojej opinii być bardziej rozbudowane. Autor mógłby także jasno sprecyzować perspektywy rozwoju badań, które przeprowadził w ramach rozprawy doktorskiej. Zakładam, że taka kontynuacja ma miejsce. Jak w każdym opracowaniu tego rodzaju można znaleźć drobne nieścisłości i błędy literowe, które nie obniżają jednak merytorycznej wartości pracy.

Jednocześnie uważam, że cel pracy został osiągnięty, a opisane badania znacząco poszerzają wiedzę z zakresu nowych materiałów sorpcyjnych mogących znaleźć zastosowanie w chromatografii.

Stwierdzam w związku z tym, że przedstawiona mi do recenzji praca zatytułowana *Biosilica as a new packing material for chromatographic separations* spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz.U. Nr 2018, poz. 1668, z późn. zm. Wnoszę tym samym do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr. Hussama Al Saoud'a do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

