



Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii

dr hab. inż.
Sylwia Bajkacz
Profesor PŚ

Gliwice, 19.03.2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra MIKOŁAJA DEMBKA

pt. „Charakterystyka oraz badania adsorpcji i mechanizmu retencji faz stacjonarnych z wbudowaną grupą fosfodiesterową”

Chemicy stale szukają „zielonych” metod, które mogą zmniejszyć negatywny wpływ ich pracy na środowisko. Główne działania zostały ukierunkowane na chromatografię ciekłą, w której zużywane są znaczne ilości toksycznych rozpuszczalników. W większości laboratoriów analitycznych techniki chromatograficzne stanowią podstawę ich funkcjonowania, dlatego ograniczenie ilości stosowanych odczynników, a co za tym idzie generowanych odpadów wydaje się być kluczowym aspektem. Obecnie podejmowana są działania mające na celu m.in. skrócenie czasu analizy, zmniejszenie średnic kolumn, a w konsekwencji przepływu fazy ruchomej oraz zmiana rozpuszczalników organicznych na alternatywne. Zastąpienie rozpuszczalników organicznych wodą w chromatografii ciekłej wprowadza nowe wyzwania, które mogą potencjalnie obniżyć jakość otrzymywanych wyników. W tym aspekcie konieczne jest wykorzystanie modyfikowanych faz stacjonarnych, w których odpowiednio przyłączone grupy funkcyjne odpowiadają za retencję i selektywność podczas analiz chromatograficznych z wykorzystaniem czystej wody jako jedyne składnika fazy ruchomej.

Mgr Mikołaj Dembek w swojej pracy doktorskiej podjął się opracowania warunków syntezy oraz charakterystyki czterech faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami polarnymi. W obszarze jego zainteresowań znalazły się badania właściwości adsorpcyjnych otrzymanych materiałów, a także określenie mechanizmu retencji wybranych analitów. Zsyntezowane fazy stacjonarne Doktorant wykorzystał do rozdzielania polarnych i niepolarnych związków małowcząsteczkowych w układzie RP oraz HILIC.

Tematyka badań prowadzonych przez mgra Mikołaja Dembka jest aktualna i wpisuje się w najnowsze trendy rozwoju chemii analitycznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje pełna charakterystyka faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi, które poszerzają spektrum materiałów możliwych do zastosowania w „zielonej chromatografii”. Realizowane w ramach tej pracy badania ściśle wpisują się w tematykę badawczą Promotora, dr hab. Szymona Bociana, prof. UMK, która została zapoczątkowana w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky przez prof. zw. dr hab. dr h.c. Bogusława Buszewskiego, człon. rzecz. PAN.

Ocena konstrukcji i zakresu badań przedstawionych w rozprawie

Rozprawa doktorska to cykl spójnego tematycznie zbioru sześciu publikacji, w tym dwóch przeglądowych i czterech eksperymentalnych, które zostały opublikowane w latach 2020 – 2023 w międzynarodowych czasopismach naukowych z listy JCR o łącznym współczynniku oddziaływania IF 31,836. Należy zaznaczyć, że Doktorant jest pierwszym autorem 5 artykułów, a w jednym drugim autorem. W trzech publikacjach jedynym współautorem jest promotor rozprawy. Pozostałe trzy prace przedstawione w rozprawie są wieloautorskie – jedna z nich liczy trzech autorów, a dwie czterech.

Cykl publikacji poprzedzony jest 73 stronicowym komentarzem, na który składają się rozdziały: Cel i założenia rozprawy, Problem badawczy oraz Bibliografia, obejmująca 147 anglojęzycznych pozycji naukowych. Całość rozpoczyna się wykazem skrótów i oznaczeń. Ponadto w przedstawionym do recenzji materiale dołączono streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz pozostałych osiągnięć naukowych oraz oświadczenia współautorów, z których wynika samodzielny wkład Kandydata w powstawanie niniejszych prac. Pozostałe aktywności (tj. wygłoszone komunikaty ustne, prezentacje posterowe, granty Dziekana Wydziału Chemicznego UMK oraz zespołowe nagrody rektora UMK) wskazują na duże zaangażowanie Doktoranta w działalność naukową.

Przechodząc do oceny prac wchodzących w skład cyklu, praca przedstawiona jako **D1** rozprawy doktorskiej zawiera przegląd literatury dotyczącej zastosowania czystej wody jako składnika fazy ruchomej w chromatografii cieczowej przygotowany na podstawie 169 pozycji. Przegląd rozpoczyna zwięzłe uzasadnienie celowości stosowania tzw. „zielonych” zamienników rozpuszczalników organicznych. Dalej Autor opisuje różne rozwiązania metodyczne, w których wykorzystywana jest woda jako jedyny składnik fazy ruchomej: i) zastosowanie wody w stanie podkrytycznym, ii) wodna chromatografia cieczowa oraz iii) zastosowanie wody w temperaturze otoczenia. W pracy tej szczegółowo została opisana chromatografia cieczowa z wykorzystaniem podgrzanej wody, uwzględniając podstawy teoretyczne, konstrukcję aparatury, możliwości jej zastosowania oraz charakterystykę stosowanych faz stacjonarnych i detektorów.

Fazy stacjonarne wykorzystywane w warunkach czystej wody zostały szczegółowo opisane w drugiej pracy przeglądowej przedstawionej jako **D2**. W przeglądzie omówione zostały fazy stacjonarne przygotowane na bazie krzemionki, polimerów, cyrkonu. Oddzielny rozdział stanowi opis faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami polarnymi. Doktorant wskazuje w pracy wady i zalety faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami polarnymi oraz faz stacjonarnych z grupami polarnymi dołączonymi na etapie wtórnej silanizacji. Doktorant uznał, iż to właśnie na tych fazach powinny koncentrować się badania mające na celu znalezienie faz stacjonarnych do pracy w warunkach czystej wody. Postanowił w swoich pracach eksperymentalnych przeprowadzić badania nad przygotowaniem nowych faz stacjonarnych jako materiałów pracujących zarówno w układzie RP LC, jak i HILIC w celu rozdzielania związków o szerokim spektrum polarności. Na podstawie rzetelnie przygotowanego przeglądu literaturowego oraz wcześniejszych prac prowadzonych w Katedrze, Doktorant zauważył

potrzebę charakterystyki, opisu mechanizmu retencji i możliwości aplikacyjnych faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami polarnymi.

W mojej opinii obie prace przeglądowe stanowią doskonałe wprowadzenie do poruszanej w rozprawie tematyki, przedstawiając obecny stan badań w obszarze nowych faz stacjonarnych. Treści w nich zawarte uzasadniają cel podjęcia badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej. Prace te świadczą też o ogólnej wiedzy Doktoranta z zakresu chemii analitycznej, a szczególnie z zakresu technik syntezy, charakterystyki faz stacjonarnych, opisu mechanizmu retencji oraz możliwości ich aplikacji.

W części doświadczalnej mgr Mikołaj Dembka zajął się otrzymywaniem nowych faz stacjonarnych, które umożliwiają efektywną analizę z zastosowaniem czystej wody jako fazy ruchomej.

Badania własne Doktorant rozpoczął od zagadnień związanych z syntezą czterech faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi, z których dwie były całkowicie nowe (z grupą bezyloową oraz z cholesterolem), a dwie wcześniej opracowane przez Zespół z Katedry Chemii Środowiska i Bioanalitiky (z łańcuchem decylowym oraz oktadecylowym). Dodatkowo, w celu określenia wpływu rodzaju krzemionki, zsyntezował fazę stacjonarną analogiczną do Diol-P-C10, w której użyto krzemionki Luna zamiast Kromasil. Doktorant wnikliwie scharakteryzował otrzymane fazy wykonując analizę elementarną, określając gęstość pokrycia przyłączonymi ligandami oraz wyznaczając potencjał zeta dla różnych rozpuszczalników organicznych i ich mieszanin (**D3**). Praca ta potwierdza, iż mgr Mikołaj Dembek zdobył dobry warsztat metodyczny, który efektywnie wykorzystał na dalszym etapie pracy badawczej.

W publikacji stanowiącej załącznik **D4** Doktorant opisał badania dotyczące wyboru odpowiedniego rozpuszczalnika zawiesinowego do pakowania czterech kolumn fazami stacjonarnymi z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi. W tym celu chciał wykorzystać pomiary potencjału zeta opisane w poprzedniej pracy, jednak okazały się nieodpowiednie i ostatecznie przydatne okazały się wyniki z analizy mikroskopowej. Aspekt doboru rozpuszczalnika zawiesinowego został wnikliwie przeanalizowany i przedyskutowany w kontekście obecności agregacji, która jest kluczowa dla osiągnięcia wysokiej sprawności złoża. Doktorant zauważył, że wysoka lepkość rozpuszczalnika zawiesinowego korzystnie wpływa na zapakowanie kolumn, zwiększając ich sprawność w analizach chromatograficznych. W dalszym etapie badań przeprowadził badanie ich sprawności wykonując analizy w układzie RP dla naftalenu oraz HILIC dla tymidyny. Ostatecznie zastosował izopropanol jako rozpuszczalnik zawiesinowy oraz metanol jako rozpuszczalnik pchający. Otrzymane wyniki wskazują na wysoką sprawność nowych kolumn.

Dalsza część pracy mgra Mikołaja Dembka dotyczy zastosowania otrzymanych faz z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi do rozdzielania alkaloidów purynowych, zasad azotowych, benzenu oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (**D5**), a także leków beta-adrenolitycznych (**D6**). W publikacji stanowiącej załącznik **D5** wykonał test Galushko, w którym

określił hydrofobowość przygotowanych materiałów. Pozostałe wyniki przedstawione w tej pracy były już opisane w poprzednich publikacjach. Główną ideą pracy **D5** było potwierdzenie praktycznej użyteczności zaproponowanych faz stacjonarnych. Publikacja ta jest bardzo wartościowa, z praktycznego i naukowego punktu widzenia, gdyż w sposób kompleksowy pokazuje prawidłowy tok prac eksperymentalnych oraz wnioski w trakcie badań opisanych w poprzednich publikacjach. Takie podejście pozwoliło na otrzymanie gotowych produktów, które jak wykazał Doktorant mogą być używane do rozdzielania związków polarnych i niepolarnych w czystej wodzie, a także związków polarnych w układzie HILIC.

Z kolei w pracy przedstawionej jako **D6** Doktorant przebadał możliwość zastosowanie czterech wcześniej omówionych faz stacjonarnych do rozdzielania ośmiu beta-blokerów. Udowodnił, iż analizowane związki wykazują retencję zarówno przy wysokiej zawartości wody z dodatkiem soli, jak i wysokiej zawartości acetonitrylu. Ponadto potwierdził mieszany mechanizm retencji analitów (odziaływania hydrofobowe, hydrofilowe oraz jonowymienne) w każdym z badanych składów fazy ruchomej. Ciekawym podejściem metodycznym było również zastosowanie dekonwolucji pików, których nie udało się rozdzielić chromatograficznie.

Podsumowując analizę rozprawy doktorskiej mgra Mikołaja Dembka stwierdzam, że konstrukcja pracy jest właściwa, a badania zostały zaplanowane i przeprowadzone w sposób metodycznie poprawny. Założone przez mgra Mikołaja Dembka cele zostały w pełni zrealizowane, a wysoką wartość pracy potwierdza opublikowanie wyników w bardzo dobrych czasopismach naukowych. **Rozprawa w całości ma dużą wartość naukową, a na tę ocenę wpływają w szczególności następujące aspekty:**

- Literaturowe poszukiwania rozwiązań metodycznych, ze szczególnym uwzględnieniem roli faz stacjonarnych, pozwalających na wykorzystanie czystej wody jako składnika fazy ruchomej w HPLC.
- Przeprowadzenie niezwykle wartościowych dla młodego naukowca badań podstawowych – szczegółowa charakterystyka otrzymanych faz stacjonarnych, badanie ich właściwości oraz dobór warunków pakowania kolumn.
- Potencjalna aplikacyjność otrzymanych faz stacjonarnych do rozdzielania małowymiarowych związków o różnej polarności w dwóch układach chromatograficznych (RP LC oraz HILIC).
- Zaproponowanie rozwiązania, które poprzez zastosowanie czystej wody jako fazy ruchomej, jest znacznie bardziej ekonomiczne i ekologiczne od tych stosowanych rutynowo z wykorzystaniem toksycznych rozpuszczalników organicznych.

Recenzent poza oczywistym podkreśleniem walorów i zalet pracy ma także obowiązek wskazania pewnych niedociągnięć, uwag i postawienia pytań. **Tak więc proszę Doktoranta o wyjaśnienie następujących kwestii:**

- Jaka jest powtarzalność wyznaczanych parametrów np. objętości martwej (Rysunek 6), porowatości całkowitej (Rysunek 7) i innych – na wykresach prezentowanych w pracy oraz w publikacjach nie ma słupków błędów. Czy to oznacza, że pomiary wykonywany był jednokrotnie?
- Jaka jest powtarzalność analiz z zastosowaniem nowych faz stacjonarnych (czas retencji analitów oraz pola powierzchni pod pikiem)?
- Czy Doktorant badał trwałość otrzymanych faz stacjonarnych?
- We wstępie uzasadnia Pan celowość badań, m.in. potrzebą otrzymywania faz stacjonarnych, które umożliwią zastosowanie czystej wody jako fazy ruchomej. Proszę o komentarz, czy takie podejście metodyczne jest odpowiednie dla połączenia chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas. Ten sposób detekcji jest obecnie bardzo często stosowany w laboratoriach analitycznych.
- Jakie są zalety otrzymanych w ramach doktoratu kolumn chromatograficznych pracujących w układzie HILIC w stosunku od tych dostępnych komercyjnie, których zastosowanie do rozdzielania β -blokerów zostało opisane w literaturze.

Powyższe komentarze i pytania nie wpływają w istotny sposób na moją pozytywną ocenę pracy, a stanowią jedynie podstawę do dyskusji. Oceniając pracę doktorską należy podkreślić, iż wszystkie badania zostały poprawnie zaplanowane i przygotowane, a warsztat analityczny nie budzi najmniejszych zastrzeżeń. Syntetyczny sposób prezentacji autoreferatu, w którym kluczowe informacje zostały zaprezentowane w formie tabel i rysunków bardzo mi odpowiada i świetnie podsumowuje prace badawcze szczegółowo opisane w załączonych publikacjach. Dodatkowe wyniki badań zawarte w autoreferacie, a nieopublikowane dotychczas, doskonale uzupełniają luki eksperymentalne i podnoszą poziom naukowy prezentowanych badań.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra Mikołaja Dembka jest oryginalnym opracowaniem naukowym, a otrzymane wyniki wzbogacają wiedzę z zakresu chemii analitycznej. Doktorant wykazał się wiedzą w aktualnej tematyce będącej przedmiotem pracy, potrafi skutecznie rozwiązywać problemy, krytycznie analizować otrzymane wyniki oraz prawidłowo formułować wnioski. Wymienione powyżej uwagi i pytania nie umniejszają mojej pozytywnej oceny recenzowanej pracy.

Podsumowując, przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana mgra Mikołaja Dembka pt. „Charakterystyka oraz badania adsorpcji i mechanizmu retencji faz stacjonarnych z wbudowaną grupą fosfodiesterową” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim zawarte



Politechnika
Śląska



UCZELNIA
BADAWCZA
Współpraca i Wpływy

w Ustawie. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo biorąc pod uwagę fakt, iż recenzowana rozprawa reprezentuje bardzo dobry poziom naukowy, zawiera elementy nowości naukowej, wnosi istotny wkład w rozwój badań analitycznych, a wysoki poziom zrealizowanych badań udokumentowany został publikacjami w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania, wnoszę o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny pracy.

Sylvie Bajkocz