

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

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Mikołaja Janusza Dembka pt:

***Charakterystyka oraz badania adsorpcji i mechanizmu retencji
faz stacjonarnych z wbudowaną grupą fosfodiesterową***

wykonanej pod kierunkiem dr. hab. Szymona Bociana, prof. UMK

Rozprawa doktorska Pana mgra Mikołaja Dembka została wykonana w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Głównym celem badań podjętych w ramach rozprawy było otrzymanie, scharakteryzowanie a następnie wykorzystanie materiałów sorpcyjnych zawierających grupy fosfodiesterowe, jako uniwersalnych faz stacjonarnych. Ich aplikacja dotyczyła chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-LC) oraz chromatografii cieczowej oddziaływań hydrofilowych (HILIC).

Powszechna dostępność komercyjna rozmaitych faz stacjonarnych dedykowanych różnym odmianom chromatografii może generować przekonanie o braku potrzeby poszukiwania nowych rozwiązań. Nic bardziej mylnego. Zainteresowanie środowiska chromatograficznego jest w tym obszarze nieustające, co więcej, doskonale widoczny jest trend, polegający na syntezie coraz bardziej uniwersalnych złożeń. Te zazwyczaj łączą w sobie elementy hydrofobowe jak i fragmenty polarne, co powoduje, że możliwe jest rozdzielanie związków bardzo różnych pod względem właściwości fizykochemicznych. Takie podejście jest znane już od lat 90-tych ubiegłego wieku. Jest to działanie zbieżne z kierunkiem popularnym od wielu lat w technikach separacyjnych, a mianowicie rozdzielaniem w warunkach maksymalnie przyjaznych dla środowiska. Chodzi oczywiście o tzw. „zieloną

chromatografię”. Ponieważ jednak chromatografowanie dotyczy dwóch faz, zatem przyjazne dla środowiska powinny być zarówno fazy stacjonarne jak i fazy ruchome. Dotyczy to także etapu produkcji i eksploatacji wspomnianych powyżej, co niestety budzi wątpliwości co do korzyści takiego postępowania w kontekście zużycia energii. W praktyce, w przypadku HPLC „zazielenianie” techniki obejmuje zazwyczaj eliminowanie organicznych faz ruchomych i skracanie czasu analizy poprzez stosowanie mniejszych średnic ziaren wypełnień i zmniejszenie przepływu faz ruchomych. Praca doktorska Pana Mikołaja Dembka wpisuje się w ten obszar, eksplorowany również z sukcesem od kilku lat przez Promotora rozprawy.

Przedstawiona do recenzji dysertacja jest w zasadzie zbiorem sześciu połączonych tematycznie publikacji, z czego dwie stanowią prace przeglądowe. Te ostatnie zostały opublikowane w znakomitym czasopiśmie *TrAC - Trends Anal. Chem.* (D1) oraz *Materials* (D2). Wyniki przeprowadzonych przez Autora eksperymentów zostały natomiast upublicznione w czasopismach *Molecules* (D3, D6), *Materials* (D5) i *J. Sep. Sci.* (D4). Dołączone oświadczenia współautorów jednoznacznie wskazują na znaczący, typowy dla rozpraw doktorskich, udział Doktoranta w ich powstaniu. Całość opatrzona jest pięćdziesięciostronicowym autorskim komentarzem. Na jego końcu znaleźć można wnioski oraz streszczenia w językach polskim i angielskim. Ta skondensowana forma nie przeszkodziła Autorowi w dokładnej analizie przedmiotu, w efekcie czego w opracowaniu znalazło się 147 odnośników literaturowych, co świadczy o bardzo rzetelnym podejściu do zaplanowanych, a następnie przeprowadzonych badań.

Nie chcąc powielać roli jaką pełnili recenzenci poszczególnych publikacji chciałbym skupić się na ocenie wartości merytorycznej badań przeprowadzonych przez Doktoranta a także spójności załączonych materiałów. Przeglądowa praca D1 (*Pure water as a mobile phase in liquid chromatography techniques*) dotyczy możliwości wykorzystania wody jako jedynego składnika fazy ruchomej w różnych trybach chromatografii cieczowej. Opisano w niej m.in. przykłady zastosowania wody w stanie podkrytycznym (SHWC, Superheated Water Chromatography), gdzie jest ona utrzymywana pod wysokim ciśnieniem w celu uniknięcia wrzenia. Ten stosunkowo nowy i niewątpliwie ciekawy obszar wykorzystania techniki LC został przez Autorów usystematyzowany i opisany zarówno od strony podstaw teoretycznych, konstrukcji aparatury, możliwości aplikacji a także wykorzystywanych faz stacjonarnych i sposobów detekcji. Praca D2 (*Stationary phases for green liquid chromatography*) skupia się na opisie sorbentów stosowanych podczas elucji za pomocą samej wody. Ważną cechą tej części pracy jest zwrócenie uwagi na wszystkie aspekty chromatografowania w tych

warunkach, poczynawszy od stabilności termicznej sorbentu, a skończywszy na wymaganiach technicznych związanych z dostosowaniem aparatury. Obydwie prace stanowią dobry punkt wyjścia do badań eksperymentalnych w tym zakresie i dobrze korespondują z celem założonym przez Autora rozprawy. Uzupełnieniem zawartych w nich informacji są kolejne podrozdziały, oparte w części na badaniach literaturowych, które dotyczą opisu faz stacjonarnych zawierających w swojej strukturze elementy polarne i niepolarne oraz sposobów ich syntezy. W pracy **D3** (*Solvent influence on zeta potential of stationary phase-mobile phase interface*) Doktorant przedstawił m.in. procedurę syntezy czterech faz stacjonarnych na bazie krzemionki, z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi. Dokonał ich charakterystyki z perspektywy pomiaru potencjału Zeta, co pozwoliło na opis właściwości powierzchniowych otrzymanych materiałów. Ujemne wartości potencjału Zeta uzyskano w większości przypadków z powodu obecności resztkowych grup silanolowych i fosforanowych. Zbadano 16 różnych rozpuszczalników lub ich mieszanin. W rozpuszczalnikach takich jak tetrahydrofuran, izopropanol i toluen zaobserwowano dodatnią wartość potencjału. Stwierdzono również, że wydaje się on być niezależny od rodzaju żelu krzemionkowego użytego do syntezy. W kolejnej pracy (**D4**) zatytułowanej *Optimization of the packing process of microcolumns with the embedded phosphodiester stationary phases*, która jest poniekąd kontynuacją badań opisanych w publikacji **D3**, Autor rozprawy zajął się problemem upakowania kolumn w kontekście wykorzystywanej do tego celu metody zawieszinowej. Jest to szczególnie wymagające w przypadku faz stacjonarnych o mieszanych właściwościach. Optymalizacji podlegał rozpuszczalnik, w którym sporządzano zawiesinę sorbentu. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów Autor ustalił, że izopropanol pozwala na uzyskanie najbardziej powtarzalnych wyników, porównywalnych z rezultatami przypisywanymi kolumnom dostępnym komercyjnie. Wiele uwagi Doktorant poświęcił zagadnieniu wyznaczenia objętości martwej otrzymanych kolumn. Niewątpliwie opis stosowanych metod wyznaczania wspomnianego parametru ułatwia odbiór pracy, ponieważ nie są to czynności rutynowo wykonywane w typowym laboratorium analitycznym, jako że bazujemy zazwyczaj na kolumnach gotowych - komercyjnie dostępnych. Podobnie należy się odnieść do metod wyznaczania jednoskładnikowych izoterm adsorpcji. Zbędny wydaje się natomiast opis podstawowych mechanizmów odpowiedzialnych za rozdzielanie w chromatografii cieczonej zawarty w podrozdziale 2.7. (str. 43), poprzedzającym omówienie wyników opisanych w pracy **D5**, zatytułowanej *Phosphodiester stationary phases as universal chromatographic materials for separation in RP LC, HILIC, and pure aqueous mobile phase*. W ramach prowadzonych

badaniach przetestowano zsyntetyzowane sorbenty w kontekście możliwości rozdzielania alkaloidów purynowych, zasad azotowych a także benzenu i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Doktorant podjął się również w tym przypadku próby wyjaśnienia mechanizmów rozdzielania. Praktyczne wykorzystanie otrzymanych faz stacjonarnych Autor rozprawy wykazał na przykładzie β -blokerów, co opisał w pracy **D6** (*Beta-blockers separation on phosphodiester stationary phases - the application of Intelligent Peak Deconvolution Analysis*). Rozdzielanie dotyczyło 8 różnych związków z tej grupy, zarówno w układzie RP LC jak i HILIC. Co ważne, także w tym przypadku podjęto próbę opisu mechanizmów towarzyszących procesowi rozdzielania. Wydaje się on w pełni wiarygodny, co czyni przeprowadzone badania kompletnymi i podnosi ich wartość merytoryczną.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi, w mojej opinii spójną całość a w konsekwencji zawiera wyniki opisujące udane próby syntezy i charakterystykę właściwości fizykochemicznych nowych sorbentów. Uzyskane rezultaty są cenne m.in. dlatego, że dotyczą próby stworzenia uniwersalnych złożeń dla potrzeb RP LC oraz HILIC. Co chciałbym podkreślić w szczególności to fakt, iż w stosunkowo krótkim opisie (50 stron) Autor w jasny sposób przedstawił najważniejsze rezultaty swoich badań, a co nie mniej istotne, trafnie usytuował je na tle zagadnień ogólnych. Oprócz wielu niepodważalnych walorów opis posiada pewne niedociągnięcia. Otóż w polskojęzycznej części opracowania znaleźć można pewne nieścisłości, błędy gramatyczne, interpunkcyjne i skróty myślowe. Przykładami mogą być sformułowania: „...fazy stacjonarne wykorzystujące tlenek cyrkonu lub tlenków innych metali jako nośnik...”, „wysokosprawny chromatograf cieczowy”, „spreparowanie kolumny”, „zapakowanie kolumn”, czy stosowanie określenia „ilość” zamiast „liczba”. Za niefortunny należy również uznać skrót myślowy: „Wyniki otrzymane z metody ISEC” oraz sformułowanie „...obecność wysoce elektroujemnych atomów tlenów w strukturze...”.

Chciałbym także aby Autor rozprawy odniósł się do kilku kwestii.

1. Czym podyktowany był wybór związków (naftalen, tymidyna) tworzących mieszaninę testową podczas wyznaczania sprawności kolumn?
2. Chciałbym aby Autor wypowiedział się na temat uniwersalności stosowanych kolumn. Czy nie jest tak, że są one dedykowane tylko do konkretnych, nielicznych analitów, szczególnie jeśli stosujemy czystą wodę jako eluent? Innymi słowy, czy nie mamy do czynienia z optymalizacją złożeń pod kątem wąskiej grupy analitów?

3. Na stronie 54 Autor pisze: *Podsumowując wyniki otrzymane podczas badania mechanizmu retencji na podstawie izoterm adsorpcji kofeiny i teofiliny, można stwierdzić, iż w zależności od składu fazy ruchomej występuje inny mechanizm adsorpcji oraz retencja jest kontrolowana przez inne oddziaływania.* Czy nie jest to stwierdzenie oczywistego faktu w kontekście badania faz o mieszanych właściwościach fizykochemicznych?
4. Brakuje również bardziej krytycznej oceny otrzymanych wyników, wskazania ograniczeń uzyskanych sorbentów.

Wspomniane powyżej niedociągnięcia nie pomniejszają wartości merytorycznej dysertacji, a jest ona w mojej opinii bardzo wysoka.

Za szczególnie wartościowe osiągnięcia Pana Mikołaja Dembka w ramach przygotowanej rozprawy uważam:

- syntezę i charakterystykę fizykochemiczną czterech faz stacjonarnych z wbudowanymi grupami fosfodiesterowymi oraz dołączonymi ligandami organicznymi - łańcuchem decylovym, łańcuchem oktadecylovym, podstawnikiem benzylovym oraz cząsteczką cholesterolu,
- optymalizację procesu pakowania kolumn, w tym dobór odpowiedniego rozpuszczalnika zawiesinowego,
- wykazanie użyteczności otrzymanych sorbentów w układach RP LC i HILIC,
- wykazanie możliwości praktycznego wykorzystania otrzymanych faz stacjonarnych podczas rozdzielania mieszaniny związków z grupy β -blokerów i WWA w przypadku elucji czystą wodą w układzie RP LC.

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

Stwierdzam tym samym, że przedstawiona mi do recenzji praca zatytułowana **Charakterystyka oraz badania adsorpcji i mechanizmu retencji faz stacjonarnych z wbudowaną grupą fosfodiesterową** 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. W konsekwencji wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr. Mikołaja Janusza Dembka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Głowacki Rafał