



**WYDZIAŁ
CHEMII**

Uniwersytet Łódzki

dr hab. Robert Zakrzewski, prof. UŁ
ul. Pomorska 163, 91-236 Łódź
tel. 42 635 5790
e-mail: robert.zakrzewski@chemia.uni.lodz.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Krzemińskiej zatytułowanej „*Badanie selektywności nowej generacji chemicznie związanych faz stacjonarnych z wbudowaną grupą polarną do chromatografii cieczowej*” wykonanej w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalityki Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem dr. hab. Szymon Bocian, prof. UMK

Ocena wyboru tematyki badawczej

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) oraz jej nowocześniejsza odmiana ultrawysokosprawna chromatografia cieczowa (UHPLC) należą do najszybciej rozwijających się technik w chemii analitycznej. Metoda ta pozwala na skuteczne rozdzielanie badanych związków, a w połączeniu z odpowiednią techniką detekcji umożliwia ich identyfikację i dokładną analizę ilościową. Popularność tej techniki separacyjnej wynika z jej wysokiej wydajności, dobrej zdolności rozdzielczej, szybkości procesu rozdzielania oraz precyzyjności i powtarzalności wyników. Znaczący postęp w uzyskaniu tych korzyści wynika z wprowadzenia wysoce selektywnych faz stacjonarnych. Z tego względu fazy stacjonarne o dokładnie zdefiniowanych właściwościach powierzchniowych jest kluczowym obszarem zainteresowania analityków, aby zoptymalizować, skrócić i usprawnić metody chromatograficzne.

W konsekwencji w ostatnich dekadach prowadzone są intensywne prace nad doskonaleniem faz stacjonarnych o właściwościach uzupełniających klasyczne fazy alkilowe, syntezowane na podłożu krzemionkowym. Nowe fazy mają zapewniać alternatywną selektywność rozdzielania zarówno w chromatografii cieczowej z odwróconymi fazami (RP LC), jak i w chromatografii cieczowej z interakcjami hydrofilowymi (HILIC).

W tym kontekście temat i zakres badań realizowanych przez Panią mgr Katarzynę Krzemińską w trakcie przygotowania rozprawy doktorskiej, dotyczącej syntezy oraz charakterystyki

Wpłynęło dnia 18 PAŹ. 2024

Podpis: 



www.chemia.uni.lodz.pl

chromatograficznej nowej generacji faz stacjonarnych z wbudowaną grupą polarną (ang. polar embedded stationary phases) na nośniku krzemionkowym, jest istotny i aktualny. Analiza właściwości powierzchniowych uzyskanych materiałów oraz opis mechanizmu retencji substancji biologicznie aktywnych z udziałem tych faz są kluczowe. Podejmowanie tej tematyki badawczej jest zatem uzasadnione i niezbędne dla wydłużenia czasu eksploatacji kolumn chromatograficznych, a w skrajnych przypadkach może przyczynić się do zwiększenia trwałości elementów chromatografu. Takie działania prowadzą również do redukcji ilości toksycznych odpadów generowanych w wyniku przeprowadzania dedykowanych oznaczeń.

Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Krzemińskiej została napisana w formie zbioru artykułów naukowych, które razem tworzą spójną całość. W skład tego zbioru wchodzi dwie publikacje przeglądowe (D1- D2) oraz cztery prace badawcze (D3- D6):

- [D1] Sz. Bocian, K. Krzemińska *Fazy stacjonarne do chromatografii cieczowej z wbudowanymi grupami polarnymi – synteza i właściwości powierzchniowe*, Wiadomości Chemiczne (2018) 72, 9- 10
- [D2] K. Krzemińska, Sz. Bocian „Zielona” chromatografia cieczowa, Analityka 2/2017, 22- 28
- [D3] Sz. Bocian, K. Krzemińska, B. Buszewski *A study of separation selectivity using embedded ester-bonded stationary phases for liquid chromatography*, Analyst (2016) 141, 4340- 4348
- [D4] K. Krzemińska, Sz. Bocian *The versatility of N,O-dialkylphosphoramidate stationary phase-separations in HILIC, highly aqueous RP LC conditions and purely aqueous mobile phase*, Analyst (2018) 143, 1217- 1223
- [D5] Sz. Bocian, K. Krzemińska *The separations using pure water as a mobile phase in liquid chromatography using polar - embedded stationary phases*, Green Chemistry Letters and Reviews (2019), 12, 69- 78
- [D6] K. Krzemińska, Sz. Bocian, R. Pluskota, B. Buszewski *Surface properties of stationary phases with embedded polar group based on secondary interaction, zeta potential measurement and linear solvation energy relationship studies*, Journal of Chromatography A, (2021), 1637, 1- 10

Doktorantka jest pierwszą autorką w trzech wymienionych pracach. Cztery publikacje badawcze, które stanowią podstawę rozprawy, zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports i osiągnęły łączny współczynnik wpływu (IF) równy 16,8. Oznacza to bardzo dobry średni wynik na jedną publikację ($IF = 4,2$). Rozprawa doktorska została napisana w klasycznej formie, obejmującej wykaz skrótów i oznaczeń, wprowadzenie, cele pracy, problemy badawcze (1. Fazy stacjonarne z wbudowaną grupą polarną, 2. Fazy stacjonarne z wbudowaną grupą estrową i fosfoestrową, 3. Charakterystyka powierzchni faz stacjonarnych z wbudowaną grupą polarną, 4. Bibliografia), podsumowanie i wnioski, streszczenie, abstrakt w języku angielskim oraz zestawienie dorobku naukowego. Dobór i wykorzystanie źródeł są właściwe (99 pozycji). Bibliografia rozprawy jest adekwatna do tematyki, a liczba przytoczonej literatury świadczy o solidnym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do realizacji badań w ramach wybranego zagadnienia.

Dostarczone dokumenty zawierają również dorobek naukowy Doktorantki, w którym wymieniono Jej rolę jako kierownika lub wykonawcy w projektach badawczych realizowanych w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, grantu CHEMA-KOP na pokrycie kosztów związanych z pracą magisterską, a także grantu Narodowego Centrum Nauki Sonata 5 oraz Preludium 12. Należy zwrócić uwagę na to, że lista publikacji przedstawiona w dokumentacji obejmuje również dwie publikacje z listy filadelfijskiej, rozdział w monografii oraz publikacje w ogólnopolskim czasopiśmie „Wiadomości Chemiczne”, które nie są częścią rozprawy doktorskiej, a także współautorstwo wykładów, referatów i komunikatów konferencyjnych. Doktorantka aktywnie uczestniczyła w projektach popularyzacji nauki oraz w Komitecie organizacyjnym międzynarodowego sympozjum naukowego. Według recenzenta dorobek Doktorantki, osiągnięty w stosunkowo krótkim czasie, jest wyjątkowo znaczący.

W celu osiągnięcia celów badawczych podjętych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie nowych materiałów adsorpcyjnych o unikalnych właściwościach, które Doktorantka uzyskała poprzez modyfikację powierzchni krzemionki. Zastosowała nowoczesne techniki analityczne do syntezy i charakterystyki tych materiałów. Przeprowadzone badania pozwoliły na głębokie zrozumienie procesów zachodzących na powierzchni tych materiałów oraz na określenie ich przydatności w chromatografii.

W publikacji pt. „*A study of separation selectivity using embedded ester – bonded stationary phases for liquid chromatography*” oznaczonej D3 Doktorantka opisała nowy typ stacjonarnej fazy związanej stosowany w chromatografii cieczowej, w której różne grupy funkcyjne zostały połączone z diolowo zmodyfikowaną krzemionką za pośrednictwem wiązania estrowego.

Otrzymane materiały zawierają w swojej strukturze łańcuchy alkilowe (C10, C18), grupę fenyłową oraz cholesterolową. Zgodność tych struktur potwierdziła za pomocą technik analizy instrumentalnej, takich jak analiza elementarna, NMR w stanie stałym oraz FTIR. Nowe fazy stacjonarne były testowane w trybach RP-LC i HILIC. Dzięki obecności łańcucha hydrofobowego i grupy cholesterolowej udało jej się rozdzielić związki hydrofobowe w systemie RP. Obecność resztkowych grup hydroksylowych oraz wiązań estrowych umożliwiła adsorpcję wody, co pozwala na separację związków polarnych w trybie HILIC. Doktorantka potwierdziła, że uzyskane fazy stacjonarne są stabilne w wodno-organicznych fazach ruchomych, choć ich działanie w warunkach kwasowych jest ograniczone z powodu hydrolizy wiązań estrowych. Dodatkowo dostrzegła, że dzięki połączeniu grup funkcyjnych polarnych i hydrofobowych materiały te zachowują stabilność w warunkach wyłącznie wodnych. To umożliwia separację związków polarnych nie tylko w trybie HILIC, ale także przy użyciu czystej wody jako fazy ruchomej. To znacząco obniża koszty fazy ruchomej i stanowi krok w kierunku zielonej chromatografii, co było jednym z celów Jej rozprawy doktorskiej.

W publikacji pt. „*The versatility of N,O - dialkylphosphoramidate stationary phase-separations in HILIC, highly aqueous RP LC conditions and purely aqueous mobile phase*” (D4) Doktoranta zamieściła swoje wyniki dotyczące wykorzystanie stacjonarnej fazy N,O - dialkilo -

fosforamidowa (Amino-P-C18) z łańcuchem C18 w różnych systemach chromatograficznych: HILIC oraz RPLC. Jej osiągnięcie polega na skutecznym połączeniu polarnych grup funkcyjnych (aminowej i fosforanowej) z hydrofobowymi łańcuchami alkilowymi. Zauważyła, że wbudowana grupa polarna umożliwia łańcuchowi oktaacylowemu utrzymanie swobody konformacyjnej w szerszym zakresie składów fazy ruchomej. Nie zaobserwowała żadnych oznak utraty swobody konformacyjnej ligandów ani wypierania analitów z porów fazy stacjonarnej. Dzięki swoim unikalnym właściwościom powierzchniowym, materiał ten jest solwatowany w całym zakresie składów fazy ruchomej i umożliwia separację zarówno w warunkach wysokiej zawartości rozpuszczalników organicznych, jak i w czystej wodzie.

Zaprojektowana faza stacjonarna wykazała swoją użyteczność w separacji zasad nukleinowych oraz nukleotydów, a uzyskane przez nią wyniki zapewniają satysfakcjonującą rozdzielczość, symetrię pików oraz efektywność zarówno w warunkach HILIC, jak i w całkowicie wodnej fazie ruchomej w RP LC. Wyniki te potwierdzają, że, fazy (o określonych właściwościach hydrofobowych i polarnych otrzymane poprzez odpowiednie połączenie grup funkcyjnych w jej strukturze) mogą być stosowane w różnych systemach chromatograficznych. Doktorantka potwierdziła na podstawie uzyskanych separacji badanych mieszanin z użyciem czystej wody jako fazy ruchomej, że podejście to jest zgodne z zasadami zielonej chemii.

W kolejnym artykule pt. „*The separations using pure water as a mobile phase in liquid chromatography using polar – embedded stationary phases*” (D5) doktorantka zebrała uzyskane wyniki dotyczące syntezy kolejne cztery fazy stacjonarne: Amino-P-C18 i Diol-Ester C18 (umożliwiają separację zasad nukleinowych i nukleotydów) oraz Diol-Ester Phenyl i Diol-Ester C10 (umożliwiają separację alkaloidów purynowych w czystej wodzie jako fazie ruchomej). Uzyskane wyniki są porównywalne z tradycyjnymi metodami RPLC i HILIC pod względem selektywności separacji.

W ostatniej publikacji wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej zatytułowanej „*Surface properties of stationary phases with embedded polar group based on secondary interaction, zeta potential measurement and linear solvation energy relationship studies*” Doktorantka opisała przeprowadzone badania właściwości chromatograficznych sześciu stacjonarnych faz. Synteza polegała na modyfikacji podłoża krzemionkowego grupami diolowymi z wbudowanymi grupami funkcyjnymi estrowymi lub fosfodiestrowymi w łańcuchu alkilowym. Zmierzyła wartości potencjału zeta dla faz stacjonarnych zawieszonych w wodzie, rozpuszczalniku organicznym (metanol i acetonitryl) oraz w ich mieszaninach. Potwierdziła, że określenie wartości potencjału zeta jest użytecznym narzędziem w charakterystyce powierzchni fazy stacjonarnej. Dodatkowo obliczyła współczynniki selektywności na podstawie współczynnika retencji dla badanych substancji oraz wyznaczyła parametry dla metody teorii liniowej zależności energii solwatacji (z ang. LSER- Linear solvation energy relationship). Uzyskane dane wzbogaciły wiedzę na temat chemizmu powierzchni opisywanych faz stacjonarnych z wbudowaną grupą polarną, zróżnicowanych dzięki obecności hydrofobowych i polarnych ligandów w ich strukturze.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Doktorantka, mgr Katarzyna Krzemińska, zaprezentowała spójny i logiczny plan badań, który świadczy o jej profesjonalizmie oraz przemyślanej strategii badawczej. Wybór metod badawczych, technik analizy danych oraz kryteriów oceny wyników jest adekwatny do postawionego celu, co wskazuje na umiejętność dostosowania narzędzi badawczych do specyfiki badanych zagadnień. Ponadto, zaproponowana koncepcja jest dobrze ugruntowana teoretycznie, co świadczy o dogłębnej znajomości aktualnego stanu wiedzy w danej dziedzinie. Mgr Krzemińska wykazała się umiejętnością krytycznej analizy dostępnej literatury oraz integracji istniejących teorii z nowymi pomysłami, co wzbogaca jej podejście badawcze. Można zatem stwierdzić, że zarówno cel badań, jak i zaproponowane metody jego realizacji są bardzo dobrze przemyślane i przyniosły oczekiwane rezultaty. Przejrzystość oraz szczegółowość przedstawionego planu badań i jego realizację sugerują, że doktorantka nie tylko rozumie istotę problemu, ale także potrafi zidentyfikować potencjalne wyzwania, które pojawiły się w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej. To podejście zapewnia nie tylko skuteczność w dążeniu do realizacji założonych celów, ale również elastyczność w modyfikacji metod w odpowiedzi na wyniki uzyskiwane w trakcie badań. Praca mgr Krzemińskiej ma zatem duży potencjał, aby przyczynić się do rozwoju wiedzy w omawianej dziedzinie, a jej wyniki stanowią istotny wkład w rozwój dalszych badań.

Nie mam istotnych zastrzeżeń co do merytorycznej jakości publikacji przedstawionych do oceny w ramach rozprawy doktorskiej. Publikacje te przeszły rygorystyczny proces recenzji, który gwarantuje ich naukową solidność i wartość co jest dodatkowo potwierdzone ich obecnością w czasopismach o wysokiej renomie. Tego rodzaju czasopisma mają wysokie standardy, co oznacza, że tylko najbardziej innowacyjne i dobrze uzasadnione badania zyskują akceptację do publikacji. Dzięki temu, można mieć pełne zaufanie do metodologii, analizy danych oraz interpretacji wyników zawartych w tych pracach. Publikacje w renomowanych czasopismach świadczą również o zaawansowaniu badawczym i oryginalności przedstawionych koncepcji. W związku z tym, uważam, że te prace stanowią solidną podstawę dla rozprawy doktorskiej i mają potencjał do dalszego rozwoju w dziedzinie badawczej.

Na podstawie analizy publikacji i autoreferatu stwierdzam, że doktorantka posługuje się językiem angielskim na poziomie umożliwiającym prowadzenie badań naukowych na

międzynarodowym poziomie. Autoreferat, choć niepozbawiony drobnych niedociągnięć stylistycznych (mylenie opisu mechanizmów separacji w skali mikro i makro, np. „pomiędzy analitem a dołączonym łańcuchem alkilowym”; str 14., „oddziaływania analitu z powierzchnią fazy stacjonarnej”; str 15., „cząsteczki eluentu a rozpuszczonymi w nim składnikami próbki”; str 15.), świadczy o staranności, z jaką doktorantka podeszła do przygotowania pracy.

Na podstawie przeprowadzonej analizy, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Krzemińskiej spełnia wszystkie kryteria formalne i merytoryczne określone w Ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych. W związku z powyższym, wnioskuję o dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów postępowania przewodu doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie pracy

Na podstawie przeprowadzonej oceny, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Krzemińskiej spełnia najwyższe standardy naukowe. Jej nowatorski charakter, wysoki poziom merytoryczny oraz zgodność z zasadami zrównoważonego rozwoju stanowią solidną podstawę do wnioskowania o wyróżnienie tej pracy. Ponadto, imponujący dorobek publikacyjny doktorantki oraz jej aktywność w życiu naukowym Wydziału dodatkowo uzasadniają to wyróżnienie.



