



**POLITECHNIKA
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY

Dr hab. inż. Andrzej Wasik, prof. nadzw.
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
wasia@pg.gda.pl

Gdańsk, 29 sierpień 2017

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Doroty Wirkus, zatytułowanej:

„Opracowanie i zastosowanie metod oznaczania witamin oraz pierwiastków śladowych w ultrafiltratach pobranych od pacjentów poddawanych ciągłej terapii nerkozastępczej”

Terapia nerkozastępcza jest jedną z form leczenia pacjentów u których nerki nie funkcjonują w sposób prawidłowy, w wyniku ich uszkodzenia bądź przewlekłej choroby. Ponadto, czasami stosuje się ją w przypadkach wystąpienia zespołu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej. Terapia ta polega na pozaustrojowym oczyszczaniu krwi pacjenta z toksyn. Niepożądane składniki krwi usuwane są z niej na drodze hemodializy, hemofiltracji bądź hemodiafiltracji. Aparatura stosowana w terapii nerkozastępczej nie odzwierciedla jednak w sposób idealny funkcji nerek, gdyż w trakcie oczyszczania krwi pacjenta, poza usunięciem toksyn może dochodzić do utraty witamin, cennych białek i aminokwasów oraz niektórych pierwiastków śladowych. Rzetelna informacja na temat skali tego zjawiska wydaje się niezwykle cenna z terapeutycznego punktu widzenia, gdyż pozwala na podjęcie odpowiednich kroków zaradczych poprzez, na przykład, odpowiednią suplementację witaminami.

Dysertacja doktorska Pani mgr Doroty Wirkus poświęcona jest opracowaniu metod analizy ilościowej, pozwalających na ocenę zawartości witamin rozpuszczalnych w wodzie oraz wybranych pierwiastków śladowych, w ultrafiltratach powstających w trakcie prowadzonej terapii nerkozastępczej. Badania prowadzone były we współpracy z pracownikami Oddziału Intensywnej Terapii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Rozprawa doktorska, która powstała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, liczy sobie 179 stron. Zawiera omówienie właściwości i znaczenia biologicznego witamin oraz pierwiastków śladowych będących przedmiotem badań, metod analitycznych wykorzystywanych podczas ich oznaczania, jak również charakterystykę technik leczenia nerkozastępczego. W pracy zacytowano aż 345 publikacji naukowych. W dalszej części dysertacji przedstawiono cel pracy, opis części doświadczalnej, a następnie omówienie i dyskusję uzyskanych wyników.



Doktorantka jest współautorką (pierwszą) jednej publikacji w czasopiśmie ujętym w wykazie JCR (wartość współczynnika oddziaływania $IF = 2,603$), trzech rozdziałów w książce oraz dwudziestu sześciu doniesień konferencyjnych. Warto też wspomnieć o tym, że w roku 2013 uzyskała grant NCN PRELUDIUM, zaś w latach 2012-2014 była kierowniczką trzech grantów uczelnianych dla młodych naukowców.

Wśród głównych celów prowadzonych badań, Doktorantka wymienia:

- opracowanie metody jednoczesnego oznaczania witamin rozpuszczalnych w wodzie w ultrafiltratach, z wykorzystaniem chromatografii cieczowej z detektorem UV-Vis oraz sprzężonej ze spektrometrią mas;
- sprawdzenie stopnia sorpcji witamin na hemofiltrach używanych do ciągłych terapii nerko-zastępczych;
- ocenę stopnia sorpcji witamin rozpuszczalnych w wodzie na powierzchni membrany znajdującej się w module aparatu do odwróconej osmozy;
- opracowanie metody analizy ilościowej pierwiastków śladowych w próbkach ultrafiltratów z zastosowaniem AAS.

Powyższe zamierzenia zostały zrealizowane. Przeprowadzone badania i eksperymenty zostały, w zasadniczej części, wyczerpująco opisane i przedyskutowane.

Dodatkowo, do istotnych osiągnięć naukowych Doktorantki zaliczyłbym:

- weryfikację przydatności różnych żywic jonowymiennych i ich mieszanin, do oczyszczania próbek ultrafiltratów przed ich analizą na zawartość witamin rozpuszczalnych w wodzie;
- ocenę techniki SPE jako metody wyodrębniania witamin z próbek wody i ultrafiltratów;
- sprawdzenie przydatności techniki odwróconej osmozy do izolacji witamin z ultrafiltratów;
- dobór warunków rozdzielania dwunastu witamin rozpuszczalnych w wodzie, w trakcie jednej analizy chromatograficznej;
- optymalizację procedury mineralizacji ultrafiltratów przed ich analizą na zawartość wybranych pierwiastków śladowych techniką ASA;

Zarówno pod względem edytorskim jak i merytorycznym, rozprawa doktorska Pani mgr Doro-ty Wirkus, przygotowana została starannie, choć w kilku miejscach układ pracy, użyte słownictwo, pewne sformułowania bądź też sposób prezentacji danych pomiarowych mogą budzić zastrzeżenia.



W dalszej części recenzji wymienię najistotniejsze, moim zdaniem, niedociągnięcia.

- Na stronie 19. napisano, że witaminy wyprodukowane na drodze biotechnologicznej cechuje większa biodostępność. Chciałbym prosić o uzasadnienie tego stwierdzenia. Z czego wynikać może większa biodostępność substancji (witamin) wyprodukowanych, jak to napisano, „w sposób naturalny” od tychże samych substancji, uzyskanych drogą klasycznej syntezy chemicznej?
- Strona 31. W tekście wspomniano o kwasie heksasulfonowym, jako substancji tworzącej pary jonowe. Najprawdopodobniej jest to pomyłka, gdyż taki kwas nie istnieje.
- Na stronie 42. pobieżnie omówiono zastosowanie techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas w analizie witamin rozpuszczalnych w wodzie. Po lekturze akapitu dotyczącego techniki jonizacji na drodze elektrorozpraszania i jej rozlicznych wad, czytelnikowi nieodparcie nasuwa się pytanie, dlaczego w badaniach będących podstawą dysertacji wykorzystywano właśnie tę technikę jonizacji?
- Strona 44. Tabel 8. Wartości energii nie wyraża się w woltach lecz np. w dżulach bądź elektronowoltach. W tym konkretnym przypadku wartości te powinny być opisane jako napięcie, bądź też potencjał fragmentacji.
- Strona 46. Rysunek 6 nie przedstawia jonów fragmentacyjnych lecz widma fragmentacyjne wybranych witamin.
- Strona 55. Użycie słów „pierwiastek” i „związek”, jako synonimów jest błędem.
- Strona 55. Tłumaczenie członu ICP, w skrótach ICP-MS oraz ICP-AES, jako „indukowana plazma” jest niepoprawne.
- Strona 55. Skrót MAE rozwinięto jako „rozkład próbek z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego”, podczas gdy w WYKAZIE STOSOWANYCH SKRÓTÓW ten sam skrót rozwinięto (prawidłowo) jako „ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym”.
- Strona 85. Schemat procedury SPE obejmuje etap suszenia kolumnienki. Jaki jest cel tego etapu?
- Przyjemność czytania tego całkiem zgrabnie złożonego tekstu, psuje obecność słowa **wialka** (strony 85 i 87). Po co sięgać po tę kalkę językową, kiedy w języku polskim funkcjonuje określenie **fiolka**?
- Strony 91. i 92. Opis badań zawarty w punkcie 5.7.4.2 jest dla mnie niejednoznaczny. W



szczegółności niejasne są dla mnie sformułowania „roztwór wzorcowy witamin przed oczyszczaniem” oraz „roztwór wzorcowy witamin po oczyszczeniu”. Wskazane byłoby przedstawienie czynności wykonywanych na tym etapie badań w postaci szczegółowego diagramu, oraz wyjaśnienie sensu fizycznego wielkości opisanych w tekście jako **ME**, **EE** oraz **AR**. Na marginesie dodam, że parametr **AR** występuje w tekście również pod oznaczeniem **R** oraz „**Odzysk**”, niestety nie służy to ułatwieniu interpretacji zamieszczonych wyników.

- Strony 107. i 108. Opis mechanizmu retencji związków polarnych i wpływ „*endcappingu*” na ten proces jest moim zdaniem niewłaściwy i wewnętrznie sprzeczny. Z jednej strony Doktorantka pisze, że „związki te bardzo słabo oddziałują z fazą stacjonarną praktycznie nie wykazując retencji” wobec czego ich rozdzielanie jest bardzo trudne – i z tym się zgadzam. Z drugiej zaś tłumaczy pozytywny wpływ „*endcappingu*” na rozdzielanie analitów, dalszym zmniejszeniem oddziaływań pomiędzy nimi a fazą stacjonarną. Co więcej twierdzi, że „*endcapping*” zwiększa retencję polarnych analitów. Wychodzi więc na to, że osłabienie oddziaływań pomiędzy analitami a fazą stacjonarną, prowadzi do zwiększenia ich retencji.
- Zapis wyników w tabelach. Doktorantka dość liberalnie traktuje zalecenia dotyczące sposobu zapisu wartości precyzji, która w tym przypadku jest miarą niepewności pomiarowej. W wielu tabelach, m.in. 23, 26, 27, 34, 36 czy 40 stosowany jest zapis przy użyciu jednej, dwóch bądź trzech cyfr znaczących.

Podsumowując, pomimo wskazanych niedociągnięć, uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa pt. „*Opracowanie i zastosowanie metod oznaczania witamin oraz pierwiastków śladowych w ultrafiltratach pobranych od pacjentów poddawanych ciągłej terapii nerkozastępczej*” zawiera wiele interesujących, z naukowego punktu widzenia elementów, i spełnia warunki określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym stawiane pracom doktorskim (Ustawa 1 dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym z późn. zm.). W związku z czym **wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Doroty Wirkus do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Dr hab. inż. Andrzej Wasik, prof. nadzw. PG