

**Recenzja**  
**rozprawy doktorskiej mgr Wojciecha Grochockiego**  
**„Metody zwiększania czułości elektroforezy kapilarnej w analizie próbek biologicznych”**

Rozprawa doktorska mgr Wojciecha Grochockiego jest poświęcona opracowaniu nowych analitycznych metodologii elektroforetycznego rozdzielania i oznaczania (z użyciem różnych systemów detekcyjnych) kationowych preparatów farmaceutycznych, anionowych substancji z grupy penicylin, peptydów uzyskanych w wyniku trawienia albuminy surowicy wołowej za pomocą trypsyny (badania proteomiczne), jonów octanowych i kreatyniny występujących w moczu (potencjalnych markerów rodzajów zakażeń układu moczowo-płciowego), a także związków pterynowych – również znajdujących w moczu (badania metabolomiczne). To standardowa fraza zwykle rozpoczynająca opinie prac o charakterze analitycznym nie znajduje żadnego uzasadnienia w przypadku dysertacji mgr Wojciecha Grochockiego, w której nawet odnalezienie analitów jest niełatwe. Nie tu zatem należy szukać jej wartości, która bagatelna nie jest. Autor bowiem postanowił różnymi ścieżkami zdążać do celu sprecyzowanego w tytule – zwiększania czułości elektroforezy kapilarnej („analiza próbek biologicznych” jest raczej ozdobnikiem, bo, jak się wydaje, istotny dla badacza był charakter analitu odpowiedzialny za jego zachowanie w warunkach rozdzielania elektroforetycznego, a nie jego pochodzenie - może z wyjątkiem opracowania metody równoczesnego oznaczania jonów octanowych i kreatyniny). A ścieżki były dwie, bo stosowana technika takie dwie oferowała - kiedy nie zamierzało się wprowadzać do postępowań dodatkowych etapów zateżania - poszukiwanie sposobów wzbogacania analitów bezpośrednio w kapilarze oraz systemów detekcyjnych bardziej czułych niż standardowa spektrofotometria w nadfiolecie i świetle widzialnym. Charakter ścieżki pierwszej można zaliczyć do elektroforetyczno-ekwilibrystycznych, jako że Autor, wykazując się znakomitą sprawnością i znajomością rzeczy, zaproponował sprzęganie trzech sposobów zateżania analitów w jednym postępowaniu: wzbogacania we wzmocnionym polu elektrycznym, FAAS, zmiotania oraz spiętrzania analitów na drodze destabilizacji miceli za pomocą rozpuszczalnika organicznego, MSS, lub za pomocą

cyklodekstryn, MCDS (to podejście ma charakter pionierski, gdyż cyklodekstryny zastosowano w tym celu po raz pierwszy i w efekcie wyeliminowano konieczność wprowadzania rozpuszczalników organicznych tworząc postępowanie elektroforetyczne noszące istotne cechy „zielonej chemii”, przyjaznej dla środowiska).

Druga ścieżka, którą podążył mgr Wojciech Grochowski w dążeniu do opracowania czułych postępowań elektroforetycznych, bardziej na ziemi jest usytuowana. Zastosowanie detektora konduktometrii bezkontaktowej, C4D, umożliwiło równoczesne oznaczanie analitu kationowego (kreatyniny) i anionowego (jonów octanowych) tworząc potencjalne narzędzie diagnostyczne infekcji układu moczowo-płciowego (aspekt stosowany badań). Z kolei wykazanie stosowalności detektora fluorymetrycznego ze wzbudzeniem fluorescencji za pomocą diody elektroluminescencyjnej, LEDIF, zamiast lasera, LIF (znacznie kosztowniejszego), w analizie związków pterynowych splata aspekt analityczny pracy z ekonomicznym.

W opinii recenzenta wydaje się, że powyższy komentarz poświadcza jego zdanie o spójności tematycznej rozprawy (choć instrumentalne jej potraktowanie może nasuwać wątpliwości, czy obie ścieżki są równoległe, czy też się przecinają – a tak się dzieje), ale też o jej nowatorstwie i wartości naukowej. I dlatego już na tym wstępnym etapie przedstawiania oceny pozwalam sobie na wyrażenie opinii, że przedłożona do oceny praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Michała J. Markuszewskiego wnosi istotny wkład w stan wiedzy chemicznej, a w tym w szczególności analitycznej.

Ocenianą rozprawę doktorską Pana mgr Wojciecha Grochowskiego stanowi zwarte opracowanie (część opisowa) przedstawione na 42 stronach, kopie 5 oryginalnych publikacji (łącznie wartość współczynnika cytowalności, IF, wynosi 20,635) zaopatrzonych w polskojęzyczne omówienia rysujące główne osiągnięcia wykonanych badań, podsumowanie, streszczenia w językach polskim i angielskim, a także oświadczenia współautorów dotyczące ich wkładu w powstawanie opublikowanych prac.

Na część opisową składają się: wykaz skrótów, a raczej akronimów; wykaz publikacji: pięciu włączonych do rozprawy doktorskiej (IF 20,635) oraz trzech innych, związanych z tematem pracy (IF 7,388); rozdział poświęconego wprowadzeniu w tajniki techniki elektroforezy kapilarnej – zjawiskom leżącym u podstaw mechanizmów rozdzielania, działania systemów detekcyjnych i sposobów poprawiania czułości oznaczeń prowadzonych z jej użyciem. Część „komentarzową” zamyka krótki rozdział zapowiadający cel główny i cele cząstkowe przeprowadzonych badań. Opracowanie i sposób jego przedstawienia świadczy o profesjonalizmie doktoranta, jako że w zwięzły sposób tworzy ono bazę wiedzy użyteczną przy



śledzeniu wyników zrealizowanej pracy badawczej, które przedstawiono w załączonych publikacjach. Niemniej, w celu wyjaśnienia pewnych problemów, które zrodziły się w trakcie lektury rozprawy, recenzent byłby wdzięczny, gdyby Doktorant zechciał w trakcie publicznej rozprawy skomentować poniżej sformułowane kwestie:

- czy pojęcia „fluorescencja” i „fluorymetria” są znaczeniowo tożsame?
- jak tworzy się nazwy organicznych związków azotu: różnorzędowych amin i czwartorzędowych soli i jaka jest zgodna z nomenklaturą związków organicznych nazwa kwasu kryjącego się pod akronimem EDTA?
- jaką rolę pełni ciecz osłonowa w połączeniu aparatu do elektroforezy kapilarnej ze spektrometrem mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie?
- czy można uznać, że w połączeniu CE-ESI MS „interfejs” (moduł łączący) pełni również funkcję źródła jonów?

Najważniejszym elementem dysertacji jest zbiór pięciu prac naukowych opublikowanych w doskonałych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (Analytical Chemistry, Journal of Chromatography A, Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis, Molecules). Wartość uzyskanych efektów potwierdzają decyzje Redaktorów naukowych poważnych czasopism, oparte na opiniach 2-3 niezależnych ekspertów. Zdaniem recenzenta do najważniejszych elementów nowości naukowej pracy zaliczyć należy:

- opracowanie pionierskiej bezrozpuszczalnikowej metody spiętrzenia analitów zgodnie z mechanizmem MCDS, w którym do destrukcji połączeń analit-micela zastosowano cyklodekstryny, tworzące stabilne kompleksy z cząsteczkami surfaktantów (praca opublikowana w Analytical Chemistry),
- opracowanie trój etapowych metodyk zateżania analitów w kapilarze stosowanej do rozdzielania elektroforetycznego,
- opracowanie metody równoczesnego oznaczania analitów kationowych (kreatynina) i anionowych (jony octanowe), która potencjalnie może znaleźć zastosowanie w diagnostyce medycznej.

Dysertację przedkładaną w celu uzyskania stopnia naukowego doktora kończy „Podsumowanie” – syntetycznie punktujące osiągnięte cele i celnie podkreślające, że „...Brak konieczności modyfikowania komercyjnie dostępnych instrumentów, wykorzystanie tańszych rozwiązań alternatywnych, a także prosty etap przygotowania próbki do analizy zwiększają dostępność technik elektroforetycznych dla szerszego grona odbiorców”..., co istotnie (może mało merytorycznie, ale...) podnosi wartość przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników.

Dalej znajdujemy już tylko streszczenia w językach angielskim i polskim, oświadczenia współautorów o charakterze ich wkładu w powstawanie publikacji włączonych do rozprawy, a także „Piśmiennictwo” (starannie dobrane 53 pozycje).

Podsumowując pragnę stwierdzić, że niewielkie uchybienia znajduwane w opisie prac nie są warte dyskusji i nie umniejszają wartości rozprawy przedkładanej w celu uzyskania stopnia naukowego doktora. Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Tym samym uważam, że spełnione są wymogi formalne (w świetle obowiązujących uregulowań prawnych w sprawie trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim) i merytoryczne upoważniające mnie do przedłożenia Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego wniosku o dopuszczenie Pana mgr Wojciecha Grochockiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę fakt, że uzyskane przez Doktoranta wyniki zostały ogłoszone w postaci **pięciu** publikacji w czasopismach z listy JCR (IF 20,635) i w **czterech** spośród nich mgr Wojciech Grochocki jest **pierwszym autorem**, a także że w Jego dorobku znajdujemy jeszcze trzy inne, z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o **wyróżnienie ocenianej rozprawy**.

*Maciej Jarski*