

Katowice, 13.10.2023 r.

dr hab. Ivana Stanimirova-Daszykowska, prof. UŚ  
Instytut Chemii  
Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych  
ul. Szkolna 9  
40-006 Katowice  
e-mail: istanimi@us.edu.pl

Recenzja pracy doktorskiej pod tytułem „*Opracowanie bayesowskich modeli hierarchicznych opisujących retencję w wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz*” autorstwa pani mgr Agnieszki Kamedulskiej

Praca doktorska pani mgr Agnieszki Kamedulskiej została wykonana w Zakładzie Biofarmacji i Farmakodynamiki Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem pana prof. dr hab. Pawła Wiczlinga. Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej zostały poświęcone złożonemu zagadnieniu, którym jest przewidywanie retencji w trybie elucji izokratycznej i gradientowej, prowadzonych w różnych warunkach eksperymentalnych (odmienne wartości pH, rodzaj organicznego modyfikatora w fazie ruchomej, różna temperatura i czas trwania gradientu). Poszczególne modele retencji były konstruowane w oparciu o dostępne w literaturze dane. Pani mgr Agnieszka Kamedulska przedstawiła wyniki swoich badań w trzech oryginalnych artykułach, które stanowią podstawę niniejszej pracy doktorskiej. W swojej pracy doktorskiej zaproponowała nowe rozwiązanie modelowania retencji wykorzystujące tak zwane modele mieszane lub hierarchiczne, uwzględniające losowe i stałe efekty. Podjęty przez nią temat jest bardzo ważny gdyż analiza złożonych mieszanin nadal stanowi duże wyzwanie, stąd matematyczne próby wyjaśniania procesu retencji pozostają aktualne i bardzo



pożądane. W ten sposób można znacząco wspierać realizację idei zielonej chemii poprzez wspomaganie optymalizacji rozdziałów chromatograficznych w szczególności dla bardzo złożonych mieszanin, co jednocześnie pozwala minimalizować liczbę koniecznych eksperymentów.

Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej były finansowane z dwóch źródeł: Narodowego Centrum Badań (piąta edycja programu Sonata Bis, projekt 2015/18/E/ST4/00449), a także Unii Europejskiej ze środków Europejskiego Funduszu Spójności (Program Operacyjny Wiedza i Rozwój 2014-2020).

Paca doktorska składa się z sześciu rozdziałów i została napisana w języku polskim. Kolejne rozdziały służą jako wprowadzenie i bardziej szczegółowe uzasadnienie stosowanej metodologii badań, a także szerzej dyskutują opublikowane w artykułach treści i zagadnienia teoretyczne. Integralną częścią pracy doktorskiej są trzy artykuły, które zostały przedstawione w części zawierającej artykuły dołączone w wersji opublikowanej przez wydawcę danego czasopisma.

We wstępie pracy doktorskiej autorka opisała parametry charakteryzujące proces rozdziału chromatograficznego w przypadku stosowania techniki wysokosprawnej chromatografii ciekowej w układzie z odwróconymi fazami oraz przedstawiła efekt doboru fazy stacjonarnej i trybu elucji na retencję. Ponadto, szerzej omówiła metody używane do przewidywania retencji. Skupia się na charakterystycznych cechach próbek, które niewątpliwie wpływają na retencję składników mieszaniny w układach chromatograficznych. Objaśniła właściwości faz ruchomych, a także stacjonarnych warunkujące szybkość migracji związków, rozdzielczość oraz selektywność układów chromatograficznych. Dodatkowo przeprowadziła dyskusję na temat trybu elucji i jej wpływu na skuteczność rozdziału chromatograficznego wieloskładnikowych mieszanin. W części pracy doktorskiej poświęconej modelom matematycznym, które wyjaśniają ilościową zależność pomiędzy strukturą a retencją, autorka przedstawia zalety i wady wybranych modeli prognostycznych. Wśród nich były takie modele jak regresja częściowych najmniejszych kwadratów (z ang. *partial least squares regression*), regresja wektorów wspierających (z ang. *support vector regression*), bayesowska



regresja grzbietowa (z ang. *bayesian ridge regression*), regresja LASSO (z ang. *least absolute shrinkage and selection operator regression*), sztuczne sieci neuronowe (z ang. *artificial neural networks*), lasy losowe (z ang. *random forests*), wzmocnienie adaptacyjne (z ang. *ADABOOST, adaptative boosting*), wzmocnienie gradientowe (z ang. *gradient boosting*) oraz modele hierarchiczne wykorzystujące tzw. wnioski bayesowskie. Drugi rozdział pracy doktorskiej został poświęcony założeniom i celom prowadzonych badań. Zostały one sformułowane w sposób zrozumiały i precyzyjny. W trzecim rozdziale znajdujemy wyczerpujący opis metodyki badań, która uwzględnia wyznaczenie czasu retencji na podstawie metody trapezów, zależność pomiędzy logarytmem współczynnika retencji, a zawartością organicznego modyfikatora opisaną przez równanie Neuea oraz zależność pomiędzy logarytmem współczynnika retencji, a stopniem dysocjacji, rodzajem modyfikatora organicznego, pH i temperatury. W tej części pracy doktorskiej autorka również opisała zagadnienie wyboru specyficznych rozkładów parametrów analitów. Dobór metod modelowania matematycznego nie budzi moich wątpliwości, a uzyskane wyniki w toku badań uzasadniają formułowane wnioski. Rozdział czwarty uwzględnia prezentację wyników ujętych w każdym z trzech artykułów. Z kolei piąty rozdział pracy to dyskusja wyników. Natomiast jej ostatni rozdział zawiera bibliografię.

Autorka cytuje łącznie 75 pozycji literatury, na które składają się książki oraz przede wszystkim artykuły opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Wszystkie przytoczone pozycje literatury zostały starannie dobrane, podsumowują ważne dla omawianych w pracy doktorskiej zagadnienia i znacząco wspierają dyskusję wyników.

W toku przeprowadzonych badań, pani mgr Agnieszka Kamedulska proponuje tzw. chromatogram niepewności, który wskazuje rozkład *a posteriori* współczynników retencji poszczególnych analitów uzyskanych w różnych warunkach chromatograficznych. Opracowana metodologia pozwala szacować wpływ grup funkcyjnych występujących w mieszaninie związków na parametry chromatograficzne w przypadku rozdziału prowadzonego w trybie izokratycznym lub gradientowym. Jednocześnie pozwala włączyć teoretyczne podstawy opisu procesu retencji w celu przewidywania czasu retencji. Warto podkreślić, że



3

opracowane modele matematyczne zostały zaimplementowane w programie R, a odpowiednie kody źródłowe autorka pracy zamieściła w ogólnodostępnym serwisie GitHub. Choć tego typu modele matematyczne są złożone i wymagają dość dużej znajomości podstaw teoretycznych, udostępnienie kodów źródłowych na pewno pozytywnie wpłynie na ich popularyzację i większe zastosowanie przez chromatografistów.

Dwa artykuły stanowiące podstawę pracy doktorskiej ukazały się w *Analytical Chemistry*, najlepszym czasopiśmie analitycznym o współczynniku oddziaływania wynoszącym 7,4, wydawanym przez American Chemical Society. Wedle najnowszej listy czasopism punktowanych, ogłaszanej przez Ministra Edukacji i Nauki, ma dwieście punktów. Należy podkreślić, że w jednym z tychże artykułów pani mgr Agnieszka Kamedulska jest pierwszą autorką, a w drugim współautorką. Natomiast trzecia publikacja ukazała się w uznanym przez środowisko czasopiśmie *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, wydawanym przez Springer. Współczynnik oddziaływania tego tytułu wynosi 4,3 i ma on sto punktów zgodnie z wykazem czasopism punktowanych MEiN. Należy zaznaczyć, że w każdym artykule znajdujemy oświadczenia wkładu poszczególnych autorów, przygotowane wedle zasad CRediT. Ich uważna analiza wskazuje, że pani mgr Agnieszka Kamedulska faktycznie miała znaczący wkład w powstanie tychże publikacji, a także istotny udział w procesie planowania i realizacji badań. Warto również mocno podkreślić, że dwie publikacje przygotowało jedynie trzech autorów, co jest rzadkością i wymaga o wiele większego wysiłku na etapie prowadzenia badań, przygotowania publikacji i procesu recenzji artykułu.

Ciążący na mnie obowiązek recenzentki wymaga abym zwróciła uwagę na kwestie, które wymagają ulepszenia czy wyjaśnienia przez autorkę pracy w trakcie publicznej obrony. Zatem poniżej zamieściłam listę kilku istotnych, w mojej opinii, zagadnień do dalszej dyskusji.

- 1) Niewątpliwie, w części opisowej pracy doktorskiej brakuje ilustracji, która schematycznie przedstawiłaby zakładaną hierarchiczną strukturę modelu.



- 2) Na 21 stronie pracy doktorskiej autorka wspomina, że metoda PLSR wykrywa zmienne najbardziej związane ze zmienną zależną Y i przeprowadza na nich regresję liniową. Niestety, to stwierdzenie jest niefortunne. Metoda PLSR wykorzystuje ukryte zmienne, będące liniową kombinacją wyjściowych zmiennych. W tym przypadku nie możemy mówić o wyborze zmiennych, a jedynie o wadze zmiennych.
- 3) Proszę o wyjaśnienie na czym w przypadku metody PLSR polega ryzyko przeoczenia rzeczywistych korelacji oraz zależność od skorelowania predyktorów.
- 4) Na 23 stronie pracy autorka stwierdza, że „trudno określić w jaki sposób sieć neuronowa doszła do uzyskanego wyniku” – co to w praktyce ma oznaczać?
- 5) W opisie metody ADAboost znajdujemy następujące stwierdzenie: „z drugiej strony wzmocnienie adaptacyjne jest podatniejsze na stronność (...). Ma to miejsce gdy słabi uczniowie są zbyt prości (...)” – co dokładnie autorka ma na myśli?
- 6) Podobna struktura hierarchiczna może być uwzględniona stosując podejście planowania eksperymentów DoE (z ang. *design of experiments*). Czy autorka podjęła próbę przewidywania czasu retencji używając właśnie to podejście?
- 7) Dlaczego zdaniem autorki bayesowskie metody hierarchiczne są preferowaną alternatywą w stosunku do metod chemometrycznych?

Recenzowana przeze mnie praca doktorska pani mgr Agnieszki Kamedulskiej spełnia ustawowe oczekiwania i wymogi. Podniesione w mojej recenzji kwestie nie mają żadnego wpływu na walory naukowe rozprawy doktorskiej i jej wysoki poziom naukowy. Moje pytania oraz komentarze wykazane w recenzji mają ożywić dyskusję podczas publicznej obrony.

W mojej ocenie niniejsza praca doktorska w pełni zasługuje na wyróżnienie, nie tylko ze względu na spełnienie kryteriów określonych przez Senat Gdańskiego



Uniwersytetu Medycznego, ale przede wszystkim dzięki nowatorskiemu charakterowi pracy i ciekawemu i oryginalnemu sposobowi rozwiązania problemu naukowego. Wobec powyższego, wnoszę do Rady Nauk Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie pracy doktorskiej pani mgr Agnieszki Kamedulskiej i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Iwona Stawimirewa - Daszykowska*  
*[Signature]*