



Poznań, 03 stycznia 2022 r.

Dr hab. Tomasz Runka, prof. PP
Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej
Politechnika Poznańska
ul. Piotrowo 3
60-965 Poznań

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Joanny Stegient-Nowickiej
pt.

Izomery kwasu N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowego i aplikacja ich chelatów mikroelementowych w nawożeniu doglebowym

Recenzja została przygotowana na wniosek Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, na podstawie uchwały Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM z dnia 22 października 2021 roku.

Rośliny na etapie wzrostu potrzebują żelaza ze względu na jego szczególną rolę w procesie fotosyntezy. Niedobór tego pierwiastka (również innych) jest źródłem chlorozy, choroby która zaburza proces fotosyntezy, a tym samym wzrost roślin. Żeby zapobiec temu procesowi, a więc zniwelować niedobory żelaza stosowane są różnego rodzaju związki, które można podzielić na trzy klasy: sole nieorganiczne, naturalne kompleksy żelaza i kompleksy oparte na syntetycznych czynnikach chelatujących. Obecnie najbardziej rozpowszechnioną i skuteczną formą uzupełniania niedoborów żelaza jest nawożenie syntetycznymi chelatami żelaza. Pomimo, że syntetyczne środki chelatujące stosuje się już od lat 50-tych poprzedniego wieku, wciąż poszukiwane są nowe czynniki chelatujące. W 1988 roku do obrotu wprowadzony został czynnik chelatujący o nazwie HBED (kwas N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowy), którego chelat Fe(III) stanowi konkurencję dla popularnego Fe(III)-EDDHA stosowanego w doglebowym uzupełnianiu niedoborów żelaza w roślinach z objawami chlorozy.

W roku 2018 opracowano metodę otrzymywania HBED w procesie syntezy wykorzystującym reakcję Mannicha. Podobnie jak w przypadku związku EDDHA, otrzymany w reakcji Mannicha HBED występuje w trzech formach izomerów *o,o*-, *o,p*- i *p,p*-HBED z których tylko izomer *o,o*-HBED został dokładnie zbadany i scharakteryzowany. Pani mgr inż. Joanna Stegient-Nowicka w rozprawie doktorskiej pt. „Izomery kwasu N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowego i aplikacja ich chelatów mikroelementowych w nawożeniu doglebowym” podjęła się trudnego zadania otrzymania

czystych form wszystkich trzech izomerów HBED oraz określenia ich właściwości chemicznych i fizykochemicznych w celu sprawdzenia możliwości zastosowania ich chelatów jako nawozów uzupełniających niedobory żelaza w nawożeniu doglebowym. Firma PPC ADOB z siedzibą w Poznaniu, którego pracownikiem jest Doktorantka, produkuje nawozy mikroelementowe zarówno na potrzeby rynku krajowego, jak i zagranicznego. W swojej ofercie PPC ADOB posiada nawozy zawierające schelatowane mikroelementy takie jak cynk, mangan, miedź i żelazo, a w 2012 roku firma otworzyła pierwszą na świecie wielkotonażową linię produkującą chelat Fe(III)-HBED. Niniejsza rozprawa doktorska realizowana jako „Doktorat wdrożeniowy” jest doskonałym przykładem połączenia wysiłków przedsiębiorstwa wytwarzającego produkty na które występuje duże zapotrzebowanie rynku z jednostką badawczo-dydaktyczną (Wydział Chemii UAM) dysponującą zaawansowaną infrastrukturą badawczą w celu rozwiązania problemu naukowego z możliwością rzetelnego przebadania potencjału wdrożeniowego nowego produktu.

Informacje ogólne

Praca doktorska składa się z siedmiu rozdziałów merytorycznych, z których dwa pierwsze (Wstęp i Część teoretyczna) stanowią informacje ogólne wprowadzające czytelnika w elementarne zagadnienia powiązane z tematyką rozprawy doktorskiej. Autorka opisuje m.in. rolę żelaza w diecie człowieka, jego występowanie w glebie i przyswajanie przez rośliny oraz czynniki chelatujące stosowane w rolnictwie. W rozdziale III określony jest cel i motywacja podjęcia badań. Rozdział IV jest opisem metod doświadczalnych użytych w czasie prowadzonych badań. Rozdział V jest najważniejszą i najobszerniejszą częścią rozprawy doktorskiej, opisane są w nim wyniki pomiarów oraz dyskusja uzyskanych wyników. Pierwsze dwa podrozdziały tego rozdziału dotyczą syntezy izomerów HBED, a następne szczegółowej charakteryzacji eksperymentalnej otrzymanych izomerów i ich chelatów. W ostatniej części tego rozdziału przedstawione są wyniki badań stabilności chelatów oraz doświadczenia biologiczne w glebie i hydroponice. Rozdział VI stanowi zwarte podsumowanie uzyskanych wyników badań w postaci 21 punktów, a ocena możliwości implementacji badań zawarta jest na trochę ponad 3 stronach w rozdziale VII. Rozdział VIII to bibliografia obejmująca 182 pozycje literaturowe. Główna część pracy włącznie z literaturą zajmuje 207 stron. Część merytoryczna poprzedzona jest spisem skrótów i streszczeniem w języku polskim i angielskim. Ostatnia część pracy składa się ze spisu rysunków i tabel, aneksu zawierającego rysunki i tabele niezamieszczone w części merytorycznej rozprawy doktorskiej oraz zebrany dorobek naukowy Doktorantki.

Ocena rozprawy doktorskiej

Niedobory mikroelementów w glebie, zwłaszcza żelaza, silnie wpływają na jakość upraw, a w szczególności na uprawy prowadzone na glebach alkalicznych z wysoką zawartością węglanów i niewielką ilością materii organicznej. W tak niekorzystnych warunkach glebowych mikroelementy zawarte w glebie, a w szczególności żelazo, przechodzą w formy nierozpuszczalne w wodzie, a te z kolei nie są przyswajane przez rośliny. Takie warunki wymuszają stosowanie nawozów zawierających czynniki chelatujące.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Stegient-Nowickiej wpisuje się w trend poszukiwań nowych związków stanowiących bazę do wytwarzania nawozów zawierających czynniki chelatujące z uwzględnieniem niekorzystnych warunków glebowych. Doktorantka najpierw przeprowadziła syntezę kwasu N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-diocetowego (HBED) otrzymanego metodą wykorzystującą reakcję Mannicha. W ten sposób otrzymuje się mieszaninę trzech izomerów kwasu: *o,o*-HBED, *o,p*-HBED i *p,p*-HBED, co potwierdza przeprowadzona analiza chromatograficzna. Ze względu na

szczerkowane informacje literaturowe na temat właściwości fizykochemicznych i aplikacyjnych dwóch spośród trzech izomerów, a mianowicie *o,p*-HBED i *p,p*-HBED. Doktorantka opracowała metody ich otrzymywania (szczegółowo opisane na stronach 59 – 66 rozprawy) oraz potwierdziła ich strukturę stosując właściwie dobrane metody eksperymentalne (HPLC MS, ^1H i ^{13}C NMR, FTIR).

W celu uzyskania szczegółowej charakteryzacji nowo otrzymanych izomerów *o,p*-HBED i *p,p*-HBED, określenia czystości, trwałości oraz potencjału aplikacyjnego jako syntetycznego środka chelatującego w nawożeniu roślin, Autorka rozprawy wykonała szereg badań eksperymentalnych wykorzystując wiele metod pomiarowych oraz przeprowadziła eksperymenty biologiczne.

Czystość izomerów HBED oznaczono wykorzystując metodę miareczkowania spektrofotometrycznego używając jako titrantów roztworów azotanu(V) żelaza(III) i azotanu(V) miedzi(II). W przypadku miareczkowania roztworem azotanu(V) żelaza(III) dla izomerów *o,p*-HBED i *p,p*-HBED nie stwierdzono zmian absorpcji co uniemożliwiło określenie ich czystości. Z powodzeniem wyznaczono czystość wszystkich trzech izomerów w przypadku miareczkowania roztworem azotanu(V) miedzi(II) otrzymując wartości średnie wynoszące odpowiednio 85,31 %, 85,89 % i 93,39 % dla *o,o*-HBED, *o,p*-HBED i *p,p*-HBED. Następnie przeprowadzona została analiza zawartości chlorków i wody w izomerach HBED co pozwoliło określić ich czystość wynoszącą odpowiednio 87,82 %, 81,13 % i 93,46 % dla *o,o*-HBED, *o,p*-HBED i *p,p*-HBED. Jak widać uzyskane wartości czystości są dość zbieżne.

Wykorzystując metodę miareczkowania potencjometrycznego wyznaczono stałe protonowania dla każdego izomeru oraz określono stałe trwałości chelatów wybranych metali o znaczeniu agronomicznym Ca(II), Fe(II), Fe(III), Cu(II), Mn(II) Mg(II) i Zn(II) z izomerami HBED. Dla każdego z izomerów wyznaczono sześć stałych protonowania, dwie (K_1 i K_2) dla grup hydroksylowych w pierścieniach fenylowych, dwie (K_3 i K_4) dla atomów azotu w grupach aminowych oraz dwie (K_5 i K_6) dla atomów tlenu w grupach karboksylowych. W przypadku izomerów *o,p*-HBED i *p,p*-HBED wszystkie stałe protonowania zostały wyznaczone po raz pierwszy natomiast w przypadku izomeru *o,o*-HBED po raz pierwszy wyznaczone zostały stałe protonowania K_5 i K_6 . Ponadto, z krzywych dystrybucji form protonowych wynika, że dla wszystkich izomerów HBED w przedziale pH 5,5 - 9 dominującą formą jest H_3HBED , która osiąga we wszystkich przypadkach maksimum stężenia powyżej 96 %. Przesunięcie maksimum krzywej dla formy HL izomeru *o,o*-HBED względem dwóch pozostałych izomerów w kierunku wyższych pH wskazywać może na wyższą stabilność tego izomeru w wyższych pH. W dalszej części pracy Autorka przedstawia wyniki badań spektrofotometrycznych na podstawie których obliczono stałe protonowania K_1 i K_2 dla wszystkich izomerów, porównano je ze sobą, a w przypadku izomeru *o,o*-HBED obliczone wartości są w dobrej zgodności z wartościami literaturowymi. Stwierdzono wpływ położenia grupy hydroksylowej w cząsteczkach izomerów HBED na wartość molowego współczynnika absorpcji liganda zmniejszającego się zgodnie z relacją $o,o\text{-HBED} > o,p\text{-HBED} > p,p\text{-HBED}$, co świadczyć może o zwiększającej się odległości pomiędzy grupami hydroksylowymi a pozostałymi atomami donorowymi wskutek czego następuje zmiana zasadowości cząsteczki HBED. W dalszej części pracy Doktorantka dokonała porównania wartości stałych protonowania K_1 i K_2 uzyskanych metodami miareczkowania potencjometrycznego i spektrofotometrycznego wykorzystując trzy testy analizy statystycznej (*F*-Snedecora, *t*-Studenta i *C*-Cochrana i Coxa). Wykonane analizy statystyczne pozwalają stwierdzić czy otrzymane różnymi metodami analitycznymi wartości stałych protonowania K_1 i K_2 nie różnią się w sposób istotny statystycznie. Analiza statystyczna potwierdza, że wartości uzyskanych stałych K_1 i K_2 można traktować jako równoważne. W dalszej części pracy Doktorantka wyznaczyła wartości stałych trwałości chelatów izomerów HBED z jonami Ca(II), Fe(II), Fe(III), Cu(II), Mn(II) Mg(II) i Zn(II) stosując metodę miareczkowania potencjometrycznego. Najwyższe wartości stałych trwałości uzyskano dla chelatów typu ML tworzonych z metalami Ca(II), Fe(II), Fe(III), Cu(II), Mg(II) i Zn(II) przez izomer *o,o*-

HBED. Izomer ten nie tworzy kompleksów binarnych typu MH_3L natomiast tworzą je *o,p*-HBED z Fe(II) i *p,p*-HBED z Zn(II), Mn(II), Cu(II) i Fe(II). Dla chelatów *p,p*-HBED z Mg(II), Ca(II) i Mn(II) wartość $\log K$ dla formy MHL jest wyższa niż dla formy ML. Podobny efekt obserwowany jest również dla izomeru *o,p*-HBED z jonami Ca(II) i Mg(II), natomiast nie występuje w ogóle w przypadku izomeru *o,o*-HBED.

Ciekawym aspektem podjętym w rozprawie przez Doktorantkę jest wykorzystanie oprogramowania VisualMinteq do modelowania możliwych zachowań schelatowanych związków w roztworach nawozowych. W tym celu wykorzystywane są jako dane wejściowe wartości stałych protonowania badanych ligandów oraz stałe trwałości ich chelatów z wybranymi metalami. Symulacje przeprowadzono dla chelatów Fe(III) z trzema izomerami HBED oraz dla dwóch komercyjnie dostępnych chelatów Fe(III)-*o,o*-EDDHA i Fe(III)-EDTA w obecności nierozpuszczalnej formy żelaza(III) w postaci $Fe(OH)_3$ oraz w jego nieobecności. W obu przypadkach (z i bez $Fe(OH)_3$) w badanym zakresie pH zaobserwowano 100% schelatowanego Fe(III) dla chelatu *o,o*-HBED. Zbliżone wyniki obserwowane są dla komercyjnego chelatu Fe(III)-*o,o*-EDDHA, jednakże obecność nierozpuszczalnej formy $Fe(OH)_3$ powoduje obniżenie stabilności tego chelatu w stosunku do *o,o*-HBED. Autorka przedstawia również możliwość wykorzystania symulacji komputerowych do modelowania oddziaływań w układach badanych chelatów Fe(III) z jonami Cu(II). Mechanizm zastępowania jonów Fe(III) przez jony Cu(II) został opisany w literaturze przez Schenkevela. W celu uproszczenia zaproponowanego przez Schenkevela modelu symulację przeprowadzono w roztworach wodnych, a jony Cu(II) wprowadzono w postaci roztworu azotanu(V) miedzi(II) w dwóch różnych stężeniach. W tym przypadku również uwzględniono możliwość wystąpienia nierozpuszczalnej formy żelaza(III) w postaci $Fe(OH)_3$. Podobnie jak poprzednio w celach porównawczych symulacje przeprowadzono dla chelatów izomerów HBED oraz komercyjnie dostępnych chelatów Fe(III)-*o,o*-EDDHA i Fe(III)-EDTA. Powyższe symulacje przy uwzględnieniu obecności w glebie jonów Cu(II) wskazują, że dla izomerów HBED szereg stabilności schelatowanego Fe(III) przedstawia się następująco o,o -HBED > *o,p*-HBED > *p,p*-HBED i jest zgodny z zaproponowanym w literaturze dla chelatów Fe(III) izomerów EDDHA.

Dzięki wykonaniu badań optycznych (UV-Vis i FTIR) określono możliwe sposoby koordynacji tworzących się chelatów z Fe(III) i Cu(II). W przypadku Fe(III)-*o,o*-HBED obserwowane jest w widmie pasmo przy 485 nm związane z przejściem odpowiadającym wiązaniu jonów Fe(III) z grupami hydroksylowymi pierścieni fenylowych liganda. Intensywność tego pasma maleje dla chelatu Fe(III)-*o,p*-HBED co może wskazywać na udział w koordynacji z żelazem tylko jednej grupy hydroksylowej pierścieni liganda. W przypadku Fe(III)-*p,p*-HBED pasmo to zanika, a pojawia się nowe przy 260 nm, co wskazuje na koordynację z Fe(III) tylko donorowych atomów tlenu z grup karboksylowych oraz atomów azotu grup aminowych. W widmach UV-Vis układów Cu(II)-izomery HBED dla pH powyżej 6 rejestrowane jest szerokie pasmo w zakresie 650 – 700 nm, które wskazuje na oddziaływania jonów Cu(II) z donorowymi atomami tlenu grup karboksylowych, jak również atomami azotu grup aminowych HBED. Natomiast dla pH powyżej 6 dla chelatów Cu(II)-*o,o*-HBED i Cu(II)-*o,p*-HBED rejestrowane jest silne pasmo w zakresie 390 – 410 nm. Pasma to odpowiada za udział w koordynacji grup hydroksylowych z pierścieni fenylowych i nie jest rejestrowane dla Cu(II)-*p,p*-HBED. Analiza widm absorpcji w podczerwieni (FTIR) zarejestrowanych dla trzech izomerów chelatów Fe(III)-HBED pozwoliła na wykonanie przypisania pasm do wiązań chemicznych odpowiednich grup funkcyjnych. Analiza wyników badań spektroskopowych UV-Vis i FTIR pozwoliła na zaproponowanie możliwych sposobów koordynacji tworzących się chelatów M(II)-izomer HBED i Fe(III)-izomer HBED. Z analizy danych literaturowych i wyników badań spektroskopowych wynika, że wśród badanych chelatów izomerów HBED z metalami dwuwartościowymi i trójwartościowym żelazem najtrwalszą strukturę z układem pierścieni (6,5,6) tworzy chelat Fe(III)-*o,o*-

HBED. W dalszej części Doktorantka wykorzystwała wysokosprawną chromatografię cieczową do oznaczenia ilościowego (stężenie) chelatów Fe(III) z izomerami *o,p*-HBED i *p,p*-HBED.

Kolejnym ważnym elementem rozprawy doktorskiej było sprawdzenie przez Doktorantkę stabilności chelatów mikroelementowych izomerów HBED w roztworach wodnych o różnych wartościach pH. W celach porównawczych przebadano chelaty izomerów HBED oraz komercyjnie dostępne chelaty EDTA i *o,o*-EDDHA. Badania wykonane w przedziale pH 2 – 13 wskazują na bardzo dobrą stabilność chelatów izomerów HBED z metalami o znaczeniu agronomicznym takimi jak Cu(II), Fe(III), Mn(II) i Zn(II) w roztworach o wysokim stężeniu jonów Ca(II) (badany metal : Ca(II) = 1 : 50). Jedynie chelaty izomeru *p,p*-HBED z jonami Fe(III) i Fe(II) charakteryzują się wyraźnie niższą stabilnością, co można wiązać ze znacznie mniejszymi wartościami ich stałych trwałości. Dodatkowo, chelaty Mn(II), Zn(II) i Cu(II) z izomerami HBED wykazują lepszą stabilność niż chelaty EDTA.

Następnie sprawdzono stabilność chelatów Fe(II) i Fe(III) izomerów HBED jako potencjalnego źródła żelaza w celu niwelowania jego niedoborów w roztworach nawozowych wykorzystywanych w hydroponice oraz glebie alkalicznej. Zbadano zdolność rozpuszczania tlenków żelaza obecnych w glebie (getyt, magnetyt i amorficzny wodorotlenek żelaza(III)) przez czynniki chelatujące jakimi są izomery HBED. Sprawdzono również czy izomery HBED są zdolne do tworzenia chelatów żelaza w obecności innych związków zawartych w glebach alkalicznych. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania dowiodły, że chelaty Fe(II) i Fe(III) z izomerem *o,o*-HBED wykazują najwyższą stabilność w roztworach nawozowych, natomiast chelaty Fe(II) i Fe(III) z izomerem *o,p*-HBED charakteryzują się porównywalną stabilnością z komercyjnym Fe(III)-*o,o*-EDDHA, co wskazuje na ich potencjalne możliwości aplikacyjne jako źródła żelaza w warunkach hydroponicznych. Natomiast chelaty żelaza z izomerem *p,p*-HBED ze względu na jego niską stabilność nie mogą być brane pod uwagę w zastosowaniach w hydroponice. W badaniach stabilności chelatów Fe(III) w warunkach glebowych Doktorantka wykorzystwała trzy izomery HBED oraz komercyjnie dostępne związki *o,o*-EDDHA i EDTA. W badaniach wykorzystano glebę Hiszpania i glebę Wista. Wnioski z przeprowadzonych badań wskazują, że chelat Fe(III)-EDTA charakteryzuje się niską stabilnością i nie jest zalecany do stosowania w glebach o wysokim pH oraz wysokim stężeniu węglanów. Stwierdzono, że chociaż chelat Fe(III)-*o,p*-HBED charakteryzuje się niższą stabilnością od chelatu Fe(III)-*o,o*-HBED to jednak jest na tyle stabilny, że mógłby zostać zastosowany do niwelowania niedoborów żelaza w uprawach na glebach o wysokim pH i dużym stężeniu węglanów. Ponadto, badając reaktywność czynników chelatujących z żelazem(III) występującym w glebie w postaci tlenków, wodorotlenków i drugorzędowych wodorotlenków, Autorka wykazała, że izomery HBED, a w szczególności *o,o*-HBED dobrze chelatują żelazo. Izomer *o,p*-HBED choć nie jest tak efektywny jak *o,o*-HBED jednak w porównaniu do innych czynników chelatujących zastosowanych w doświadczeniu spełnia swoją rolę. Ze względu na niską stałą trwałości chelatu Fe(III)-*p,p*-HBED zarejestrowane stężenia żelaza dla tego izomeru są najniższe.

W ostatnim etapie badań Doktorantka wykonała doświadczenia biologiczne przy wykorzystaniu roślin, użyto odpowiednio wyselekcjonowanych nasion soi, odmiana Obelix, w których zastosowano dwa rodzaje gleby alkalicznej. Do gleby wprowadzano dwa stężenia żelaza (1,25 i 2,5 mg Fe/kg gleby). Wykonano również doświadczenia w warunkach hydroponicznych stosując roztwór nawozowy Hoaglanda. W czasie procesu wzrostu roślin wykonano szereg badań np. pomiar stopnia zazielenienia liści (SPAD Indeks), oznaczono stężenie mikro- i makroelementów w roślinach oraz określono zawartość chlorofilu w najmłodszych piętach roślin. W efekcie wykonanych badań nie stwierdzono wpływu zastosowanej dawki żelaza na średnią wartość stopnia zazielenienia liści dla soi rosnącej na dwóch różnych glebach alkalicznych (Hiszpania i Wista). Zaobserwowano wpływ stosowanego chelatu z Fe(III) na rozwój roślin, opóźniony wzrost zaobserwowano tylko w przypadku komercyjnego chelatu Fe(III)-

EDTA. Nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości chlorofilu w roślinach przy zastosowaniu różnych dawek żelaza. Najkorzystniejszy wpływ na wzrost soi w glebie Hiszpania w stosunku do roślin kontrolnych miały chelaty Fe(III)-*o,o*-HBED i Fe(III)-*o,p*-HBED, natomiast dla gleby Wisła Fe(III)-*o,o*-HBED. W doświadczeniu prowadzonym w warunkach hydroponiki stwierdzono najwyższe wartości stopnia zazielenienia liści w przypadku nawożenia roztworem chelatu Fe(III)-*o,o*-HBED. Nie stwierdzono istotnego wpływu stosowanych chelatów Fe(III) w badanym przedziale czasu na suchą masę roślin uprawianych w hydroponice. Doświadczenia prowadzone w warunkach glebowych i hydroponice nie wykazały również wpływu chelatów Fe(III) na zawartość C, H, N i S w badanych roślinach.

Uważna analiza rozprawy doktorskiej obliguje recenzenta do oceny rozprawy pod względem poprawności merytorycznej, edytorskiej, redakcyjnej i językowej, a co za tym idzie wskazania pewnych niedociągnięć, błędów czy poruszenia kwestii polemicznych i zadania pytań. Pod względem poprawności edytorskiej, redakcyjnej i językowej stwierdzam, że rozprawa zawiera pewną liczbę tego typu uchybień, czasami stosowany jest żargon naukowy, często występują tzw. literówki. Wymienię tylko niektóre z nich:

- str. 23 – „Wzrost ciśnienia cząstkowego powoduje wzrost pH oraz jonów HCO_3^- ”; można odnieść wrażenie czytając to zdanie, że jony wzrastają, a chodzi raczej o stężenie;
- str. 25 – Rysunek 4 - brak opisu skrótów w podpisie rysunku;
- str. 33 – „...stosowane są na glebach o wysokim pH...”; raczej w glebach dla gleb;
- str. 35 i inne – przeniesienie z języka angielskiego składni: „... 19,7, 25,1 i 27,5, odpowiednio”; w wielu zdaniach w języku polskim nie brzmi to dobrze gramatycznie;
- str. 47 – „Widma wykonano na spektrometrze...”; widma zmierzono, zarejestrowano przy użyciu spektrometru; „Próbki o wadze od 1,0 do 2,5 mg...”, próbki mają masę wyrażoną w mg;
- str. 53, 54 i inne – „... kolby na 250 cm^3 ...”; kolby o pojemności 250 cm^3 ; w niektórych miejscach sformułowanie jest poprawne, w innych nie;
- str. 54 – „Absorbancję mierzono na spektrofotometrze ...”; mierzono widma absorpcji przy pomocy spektrofotometru; „Dla każdego z izomerów wybrano długość fali o maksymalnej absorbancji”; określono długość fali przy której występuje maksimum absorpcji/maksymalna wartość absorbancji;
- str. 55 – „Zasada działania tego... ..na pomiarze absorbancji w obszarach czerwonej i bliskiej podczerwieni”; ...pomiarze absorpcji w zakresie czerwonym widma i bliskiej podczerwieni; mierzymy widma absorpcji nie absorbancji;
- str. 58 – „W szlaku syntetycznym przedstawionym na rysunku 11 ...”; w procesie syntezy...;
- str. 61, 64 – „... z roztworu zaczął wypadać osad, który odfiltrowano...”; zaczął wytrącać się osad;
- str. 71 – „Najwyższą zawartość w cząsteczce ...”; raczej chodzi o zawartość w próbce;
- str. 76, 77 – Rysunek 20 i inne; ponieważ na osi „Y” są wartości liczbowe należy wpisać [j.w.];
- str. 77 – tabela 19 i 20; zestawienie wyników dla ϵ_L , ϵ_{HL} , ϵ_{H2L} ..., SD zaokrąglić do liczb całkowitych;
- str. 80 – „... na słabsze oddziaływania grupy hydroksylowej ...”; oddziaływania z czym, na co? Wymagałoby uściślenia.
- str. 82 – „... molowy współczynnik absorbancji liganda...”; molowy współczynnik absorpcji;
- str. 84 – „ilość pomiarów”; liczba pomiarów;
- str. 91, 98 – „inertowano”, „naczynku”;
- str. 104 – „... zgodnie z parametrem (33) ...”; raczej zależnością;
- str. 108 – „... zastosowania doświadczeń eksperymentalnych ...” wykonania/przeprowadzenia doświadczeń/eksperymentów;

- str. 109 – „... długością ekspozycji ...”; czas ekspozycji;
- str. 112 – „Jak wynika z rysunku 40 krzywe zależności $\log K'_{HL}$... mają charakter funkcji liniowej, ...”; zależności/przebiegi mają charakter funkcji liniowej; krzywa nie może być liniowa;
- str. 120 – tabela 38; w opisie tabeli zamiast „częstości” należałoby wpisać liczba falowa, to jest właściwe określenie dla jednostek spektroskopowych;

Pytania merytoryczne i komentarze:

- Autorka pisze o potwierdzeniu struktury związków/izomerów metodami spektroskopowymi. Czy podjęto próbę określenia struktury metodami dyfrakcji rentgenowskiej?

- Jaka jest zawartość poszczególnych izomerów HBED w chelacie Fe(III)-HBED produkowanym na skalę przemysłową przez PPC ADOB? Czy jest to tylko izomer *o,o*-? Czy jest to kontrolowane?

- Proszę Doktorantkę o wskazanie które pomiary były wykonywane osobiście, w których uczestniczyła, a które wykonane zostały we współpracy przez inne osoby?

- Czy Autorka pałuje opublikowanie wyników swoich badań?

- str. 50 – rysunek 10; dla zależności przedstawionej na wykresie (krzywa kalibracyjna) podane jest równanie funkcji liniowej będącej dopasowaniem do punktów pomiarowych; dlaczego na wykresie nie przedstawiono funkcji liniowej będącej dopasowaniem (regresja liniowa) tylko połączono poszczególne punkty prostymi? Taka sytuacja ma miejsce również w przypadku rysunków A1 i A2. Widoczne to jest najbardziej dla wykresów o niższej korelacji np. $R^2=0,9997$.

- str. 64 – „... osad 18, który odfiltrowano, przemyto wodą i przekrystalizowano z metanolu”; czy związek przyjmuje strukturę krystaliczną, czy ją potwierdzono np. metodami dyfrakcji rentgenowskiej?

- str. 65 – w widmach FTIR związków *p,p*-HBED i *o,o*-HBED nie zarejestrowano pasma przypisanego do drgań grup karbonylowych rejestrowanych w przypadku izomeru *o,p*-HBED jako najsilniejsze pasmo w widmie FTIR. Proszę o wyjaśnienie?

- str. 121 – czy w widmach FTIR chelatów izomerów HBED zidentyfikowano pasma przypisane do drgań Fe–N i Fe–O? Proszę o odniesienie do zaproponowanych modeli koordynacji.

- str. 124 i 126 – „... zjawisko jakim jest ogonowanie piku ...”, rysunek 48; sformułowanie „ogonowanie piku” jest pojęciem bardzo nie fizycznym i choć jest używane w chromatografii może warto zastanowić się nad jego zastąpieniem?; ponadto, analizując kształt pasm dostrzec można zmianę szerokości oraz asymetrię, a w przypadku szybkości przepływu $1,25 \text{ cm}^3/\text{min}$. asymetria przekształca się w pasmo podwójne (podobne cechę widać na rysunku 50 dla różnych zawartości acetonitrylu (300 ml); proszę o skomentowanie zmian kształtu pasma (nie poszerzenia) w zależności od szybkości przepływu;

Wymienione powyżej uchybienia w żadnym razie nie wpływają na pozytywną ocenę zawartości merytorycznej rozprawy doktorskiej. Zarówno zakres zaplanowanych, a później przeprowadzonych badań oraz jakość opracowania i analizy uzyskanych wyników nie budzą wątpliwości, że Doktorantka wykazała się dojrzałością naukową w obszarze badań i zastosowań chelatów mikroelementowych w nawożeniu doglebowym.

Analiza dorobku naukowego

Wykaz publikacji, w których pani mgr inż. Joanna Stegient-Nowicka jest autorką/współautorką zawiera 2 pozycje. W jednej z nich z listy A (Przemysł Chemiczny, IF=0,485, w języku polskim) jest pierwszym autorem, w drugiej opublikowanej w Polyhedron (IF=3,052, punkty MNiSW=100) jest współautorem, praca ta nie dotyczy tematyki pracy doktorskiej. Pani Joanna Stegient-Nowicka jest autorką/współautorką 4 artykułów w recenzowanych materiałach konferencyjnych o zasięgu krajowym

(w 2 pierwszym autorem, w 2 współautorem) z konferencji Nauka i Przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin 2018. Dwa z wymienionych artykułów dotyczą bezpośrednio tematyki pracy doktorskiej. Doktorantka jest współautorką 3 patentów. Ponadto, Doktorantka uczestniczyła w 9 konferencjach/seminariach o zasięgu krajowym i 2 konferencjach o zasięgu międzynarodowym. Podczas konferencji wygłosiła 1 referat w języku angielskim i 1 w języku polskim. Jest autorką/współautorką 18 komunikatów konferencyjnych w formie plakatu. Wskaźniki bibliometryczne Doktorantki kształtują się następująco: indeks Hirscha 1, liczba cytowań bez autocytowań 1 (baza Scopus).

Wniosek końcowy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska jest obszernym opracowaniem naukowym bazującym na wynikach badań izomerów kwasu N,N'-di(2-hydroksybenzyl)-etylenodiamino-N,N'-dioctowego (HBED) i ich chelatów. Postawione przez Doktorantkę cele badawcze zostały osiągnięte i stanowią cenny wkład w poznanie mechanizmów działania i efektywności stosowania schelatowanych związków żelaza. Doktorantka wykazała, że potrafi właściwie zaplanować program badań zmierzających do rozwiązania problemu naukowego, zastosować odpowiednie metody syntezy związków oraz dobrać właściwe techniki pomiarowe do ich charakteryzacji, przeprowadzić badania i na ich podstawie wyciągnąć wnioski. Opracowanie metody syntezy izomerów *o,p*- i *p,p*-HBED, przeprowadzenie kompleksowych badań tych związków oraz porównanie ich chelatów do dostępnych komercyjnie na rynku jest elementem nowości. Ze względu na specyfikę tzw. „doktoratu wdrożeniowego” widoczny jest aspekt praktyczny prowadzonych badań, mających nie tylko doprowadzić do rozwiązania problemu naukowego, ale również przyczynić się do poprawy procesów technologicznych, co może skutkować wprowadzeniem do sprzedaży nowego produktu przez jednostkę pozanaukową i/lub rozwoju samej jednostki np. poprzez wzrost potencjału naukowego pracowników. W tym przypadku wymiernym efektem może być uzyskanie stopnia doktora w dyscyplinie Nauki Chemiczne przez pracownika jednostki. Pozytywnym efektem dla jednostki badawczo-dydaktycznej (WCh UAM) biorącej udział w projekcie jest kształcenie kadr dla gospodarki, co staje się impulsem rozwojowym, zarówno dla nauki jak i gospodarki.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Stegient-Nowickiej pt. „Izomery kwasu N,N'-di(2-hydroksybenzyl)-etylenodiamino-N,N'-dioctowego i aplikacja ich chelatów mikroelementowych w nawożeniu doglebowym” jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego, w znaczący sposób poszerza wiedzę w zakresie realizowanej tematyki badawczej i spełnia warunki ujęte w art. 13 ust. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789) oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669), a także zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim. W związku z powyższym wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

