

Prof. dr hab. Ewa Bulska
Uniwersytet Warszawski
Wydział Chemii
Pasteura 1, 02-093 Warszawa

Warszawa, 24 sierpnia 2015 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Barbary Markiewicz „Zastosowanie spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego w analizie specjacyjnej chromu w wodzie techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS”

Praca doktorska mgr Barbary Markiewicz p.t. „Zastosowanie spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego w analizie specjacyjnej chromu w wodzie techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS” została wykonana w Pracowni Analizy Spektroskopowej Pierwiastków, Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem pracy jest profesor dr hab. Danuta Barańkiewicz.

Problematyka, realizacji której podjęła się Doktorantka, jest trudna z punktu widzenia zarówno warsztatu badawczego, jak i wiedzy z zakresu równowag chemicznych form specjacyjnych chromu w środowisku wodnym. Uważam, że podjęta tematyka badawcza jest bardzo ambitna, a realizacja zaplanowanych badań wymagała umiejętności zaplanowania i wyczucia eksperymentalnego oraz umiejętności krytycznej oceny otrzymanych wyników.

Rozprawa doktorska liczy 137 stron, a układ pracy jest tradycyjny i obejmuje część literaturową i doświadczalną. Na końcu pracy zamieszczone jest podsumowanie i wnioski, a rozprawę kończy tradycyjnie dołączany spis literatury. Rozprawa przygotowana jest bardzo starannie, poszczególne rozdziały następują logicznie po sobie, z czego widać, że pod względem konstrukcyjnym praca była dobrze przemyślana. Warty podkreślenia jest aspekt metrologiczny prezentowanych wyników, a dbałość o ich wiarygodność przewija się w całej rozprawie. Doceniam również odniesienie do regulacji prawnych, dzięki temu czytelnik ma pewność, że podjęte badania i ich cel zostały właściwie zaplanowane i będą mogły mieć praktyczne zastosowanie.

Zebrane na końcu pracy 134 pozycje literaturowe obejmują zestawienie zarówno najnowszych publikacji naukowych, jak również pozycji książkowych i dokumentów urzędowych. Przygotowane zestawienie świadczy o dobrym rozeznaniu Doktorantki zarówno w odniesieniu do pozycji o charakterze podstawowym, jak i w odniesieniu do najnowszych



doniesień literaturowych. Dobra znajomość tematyki badawczej przewija się wyraźnie nie tylko w opisie części literaturowej, ale również w dyskusji wyników. W przypadku cytowania publikacji naukowych, poza nazwiskami autorów, podane są nazwa czasopisma oraz rok, tom i numery stron. Szkoda, że Doktorantka nie zamieściła tytułów cytowanych artykułów, co byłoby bardzo pomocne przy korzystaniu z przygotowanego przez Autorkę spisu literatury.

Część literaturowa zajmuje 35 stron i poświęcona jest omówieniu dotychczasowej wiedzy na temat chromu i jego związków w środowisku naturalnym. Jako drobne uchybienie zauważyłam, że w spisie treści podana jest nazwa „Część literaturowa”, a w tekście podana jest nazwa „Część teoretyczna”. Osobiście preferuję określenie „Część literaturowa”, gdyż przedstawione przez Autorkę informacje stanowią przegląd literatury, a nie są rozważaniami teoretycznymi.

W tej części Autorka omówiła najważniejsze zagadnienia związane z podjętą tematyką badawczą, w tym występowanie chromu w środowisku wodnym, z uwzględnieniem przemian fizyko-chemicznych związków chromu. Bardzo ważny jest rozdział poświęcony technikom analitycznym, jak również procedurom pomiarowym stosowanym w badaniu zarówno całkowitej zawartości chromu, jak również jego specjacji. Doktorantka przedstawiła najważniejsze zagadnienia związane z możliwościami dostępnych aktualnie układów pomiarowych, zwracając przy tym również uwagę na ich ograniczenia. W rozdziale 2.3.2.1, na stronie 38 Autorka opisuje zastosowanie mieszaniny gazów, wodoru oraz helu do eliminacji niektórych interferencji, zwracając przy tym uwagę na skład mieszaniny podany w dwóch publikacjach (7,28 [H₂]:92,72 [He] oraz 8 [H₂]:92 [He]). W odniesieniu do tych informacji mam pytanie, czy tak niewielkie różnice są z jakiegoś powodu istotne?

Ciekawe i przydatne jest zestawienie informacji na temat aspektów analitycznych i metrologicznych, pokazane w tabeli 4. Doceniam wysiłek Autorki w przygotowanie czytelnego przeglądu opisywanych w literaturze procedur analitycznych i zestawienia ich najważniejszych parametrów. Tak jak wspomniałam wcześniej, ważnym jest rozdział 3, poświęcony aspektom metrologicznym, szkoda jedynie, że Doktorantka nie przywołała przewodnika PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 „Międzynarodowy słownik metrologii: pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane”, w którym są zamieszczone aktualnie obowiązujące definicje stosowanych w pracy terminów. W tym rozdziale omówione zostały zasady walidacji, podstawy zapewnienia spójności pomiarowej, jak również sposoby wyznaczania budżetu niepewności. Rozdział o tyle ważny, iż aspekt metrologiczny stanowi ważne osiągnięcie niniejszej rozprawy doktorskiej, za co należą się Autorce słowa uznania.

W odniesieniu do celu niniejszej pracy niezmiernie ważny jest Rozdział 4 „Zastosowanie metody definitywnej HPLC/ICP-IDMS do specyjnego oznaczania chromu w wodzie”. Biorąc pod uwagę istotność tego rozdziału, w trakcie czytania nasunęły mi się pytania i komentarza. W związku z tym oczekuje od Doktorantki wyjaśnienia kilku kwestii:

- (i) Określenie, że HPLC/ICP-IDMS jest metodą definitywną nie jest właściwe. Jedynie technika ICP-IDMS może być uznana jako definitywna metoda oznaczania chromu, a techniką HPLC w tym układzie jest stosowana do wstępnego rozdzielania poszczególnych związków chromu, przed ich wprowadzeniem do plazmy;
- (ii) Zdziwiona jestem, że Autorka nie omówiła szczegółowo założeń specyficznej oraz niespecyficznej dla danej formy pierwiastka procedury IDMS, tym bardziej, że w pracy eksperymentalnej do badania specjacji stosowana była specyficzna wersja IDMS. Opisany sposób postępowania (str. 45 wiersze 3-11 od góry) „Z kolei dodanie kilku wzorców umożliwia identyfikację transformacji form specyjnych...”, jest słuszny tylko w przypadku zastosowania specyficznej dla danej formy pierwiastka techniki IDMS;
- (iii) Na stronie 43 Autorka stwierdza, że „Zazwyczaj wzorcem tym jest stabilny izotop o niskiej naturalnej zawartości w środowisku”. Nie mogę zgodzić się z tym stwierdzeniem, gdyż dostępne handlowo i stosowane są wzorce wzbogacone w izotopy o różnym rozpowszechnieniu. Przykładowo wzorzec IRMM-640 wzbogacony w izotop ^{202}Hg , który jest najbardziej rozpowszechniony (29,8%), dostępne są również wzorce wzbogacone w izotopy ^{199}Hg , ^{201}Hg (o rozpowszechnieniu odpowiednio 17% i 13%). Podobnie jest w przypadku ołowiu, dostępne są wzorce wzbogacone w izotopy ^{206}Pb lub ^{207}Pb , o rozpowszechnienie około 22% i 24%.

Zgodnie z podaną przez Doktorantkę informacją, celem recenzowanej rozprawy było opracowanie wiarygodnej procedury analitycznej oznaczania specjacji chromu w wodzie, z zastosowaniem techniki IDMS. W tym miejscu z przyjemnością pragnę podkreślić, iż Autorka zrealizowała zaplanowane badania, a przedstawione w części eksperymentalnej wyniki potwierdziły zasadność podjęcia tej tematyki oraz umiejętności Doktorantki w zakresie prowadzenia trudnych eksperymentalnie pomiarów i krytycznej analizy uzyskanych wyników. Doceniam znaczenie przeprowadzonej szczegółowo optymalizacji wybranych procedur pomiarowych, ta część pracy została zrealizowana bardzo rzetelnie, a opis uzyskanych wyników nie wzbudza żadnych wątpliwości co do solidności badawczej Doktorantki. Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki zaliczam przeprowadzenie pełnej walidacji zaproponowanych procedur analitycznych oznaczania całkowitej zawartości chromu



oraz oznaczania form chemicznych występujących w wodzie. Niezmiernie ważnym osiągnięciem jest zastosowanie metody definitywnej i wykazanie możliwości zapewnienia spójności pomiarowej w badaniach specyacyjnych. Bardzo rzetelnie opracowany budżet niepewności potwierdza dobrą znajomość zasad metrologii i umiejętność ich stosowania w praktyce.

W części eksperymentalnej przedstawione są szczegółowo wyniki badań oraz ich dyskusja. W odniesieniu do tej części mam kilka uwag, komentarzy i pytań, w tym uwagę ogólną dotyczącą „pomiaru stosunku izotopowego”. W rzeczywistości wartość stosunku izotopowego dla wybranych izotopów jest obliczana (wyznaczana) po wykonaniu pomiarów sygnałów dla obu izotopów. Stąd nie jest właściwe określenie „pomiar stosunku izotopowego”.

W rozdziale 6, na stronie 57 podana jest informacja, że głównym założeniem było uzyskanie „niskiej wartości granicy wykrywalności i oznaczalności”, czyli jakiej?

W rozdziale 6.2 na rysunku 7, pokazana jest stosowana sekwencja pomiarowa, w której jest uwzględniona próbka ślepa. W odniesieniu do tego mam pytania, jaki był cel wyznaczania stosunku izotopowego $^{52}\text{Cr}/^{53}\text{Cr}$ w tym roztworze?

Zgodnie z tytułem w tabeli 7 podane są wyniki pomiarów dla próbek wody nie zawierającej wzorca wzbogaconego izotopowego z zastosowaniem ICP-IDMS. Jeśli do próbek nie dodano wzorca wzbogaconego izotopowego, to w jaki sposób zastosowano metodą rozcieńczenia izotopowego (ID) ?

W rozdziale 6.3 Autorka opisuje bardzo złożoną i pracochłonną procedurę (obejmującą stapianie) przygotowania wzorca wzbogaconego izotopowo, wychodząc przy tym z tlenku chromu. Jaki był powód stosowania wzorca w formie stałej, jeśli dostępne są wzorce wzbogacone izotopowo w formie roztworów? (patrz: http://www.isc-science.com/cr-vi-cr6+-chromium/products/chromium-vi-chromium-iii_69_1_ap.html).

Wzór (8) podany na stronie 72: proszę o wyjaśnienie dlaczego pierwszym członem, przed znakiem (+) jest zero (0).

W tabeli 11 zestawione zostały wartości LOD i LOQ dla oznaczania całkowitej zawartości chromu, wyznaczone dwiema metodami. Autorka komentuje, że nieznacznie niższe wartości uzyskano stosując metodą graficzną (metoda 2), natomiast podane w tabeli 11 wartości różnią się ponad czterokrotnie. Podobne zestawienie zostało przygotowane dla pomiarów obu form chromu (tabela 19), tym razem dla trzech metod, jak również dla pomiarów stężenia jonów chromu sześciowartościowego (tabela 25), ponownie dla dwóch metod. Wyniki zebrane a tabeli 19 rzeczywiście nie różnią się istotnie, natomiast wyniki

zebrane w tabeli 25 różnią się dwukrotnie. Chętnie usłyszę wyjaśnienie, skąd takie różnice. A przy okazji mam uwagę, szkoda że Autorka nie stosowała we wszystkich zestawieniach takich samych jednostek; w tabelach 12 i 25 wyniki podane zostały w ng/L, a w tabeli 19 w $\mu\text{g/L}$.

Str. 69 rozdział 6.5. W opisie przygotowania próbek wody jest podana informacja, że „...dodano odpowiednią ilość wzbogaconego izotopowego wzorca ^{53}Cr , tak aby zgodnie z literaturą stosunek oznaczanych izotopów chromu był bliski jedności”. Nie rozumiem dlaczego kryterium jest to, że stosunek izotopowy ma być bliski jedności. Do przedstawionego w tym rozdziale opisu mam jeszcze jedną uwagę. Autorka podaje, że roztwory były przygotowywane wolumetrycznie (może lepiej: objętościowo?), a argumentem podanym na końcu rozdziału jest „... co miało na celu ich uproszczenie”, przyznam, że nie rozumiem tej argumentacji.

Podsumowując moje uwagi na temat przeprowadzonych i opisanych przez Autorkę badań pragnę podkreślić, że cel pracy uważam za zasadny i bardzo ambitny. Autorka przeprowadziła bardzo systematyczne badania pozwalające potwierdzenie zasadności wykorzystania metody rozcieńczeń izotopowych w technice HPLC-ICPMS w badaniu specjacji chromu. Wysoko oceniam wyniki opisane w rozdziałach 7.4 oraz 8.3, dotyczące oceny metrologicznej stosowanych procedur pomiarowych. Doktorantka poświęciła wiele uwagi optymalizacji warunków pomiarowych, walidacji procedury analitycznej oraz wyznaczeniu budżetu niepewności dla różnych procedur.

Doktorantka bardzo aktywnie prezentowała wyniki badań na konferencjach naukowych, a ukoronowaniem wysiłku naukowego są dwie ważne prace opublikowane w dobrych czasopismach o międzynarodowym obiegu. Jedną z tych prac do solidnie przygotowana praca przeglądowa na temat związany z realizowaną pracą doktorską. Stanowi to znaczące potwierdzenie umiejętności badawczych Doktorantki oraz zespołu naukowego Promotora.

Jak wspomniałam wcześniej rozprawa doktorska przygotowana została starannie, nie mniej Autorka nie uniknęła wielu niezręczności językowych, na co zwracam uwagę Autorce, głównie po to, aby ją uczulić na sprawy stosowania poprawnych form gramatycznych. Nie wymieniam tutaj wszystkich zauważonych uchybień, a jedynie przykłady.

Str. 9: „... matematyczne udowodnienie kompetencji otrzymanych rezultatów..”. Czy rezultaty mogą mieć kompetencję?

Str. 16: „... w warunkach zasadowych utleniający charakter chromu sześciowartościowego jest znacznie mniej efektywny..”. To jest niefortunne sformułowanie.

Str. 17: uwaga stylistyczna: „Ponadto sorpcja form chemicznych Cr(III) nasila się ..”

Str. 21: uwaga stylistyczna „... związki zredukowanej formy chromu.”

Str. 37: „Produkty reakcji chemicznych lub kolizji są wymiatane z komory przez przepływający strumień świeżego gazu”; na czym polega „wymiatanie”?; co oznacza termin „strumień świeżego gazu”?

Str. 37: „... interferencja $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ „; $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ jest jonem a nie „interferencją”, natomiast jon ten może powodować występowanie interferencji.

Str. 38: Określenie „... usunięcie znacznej części interferencji zawierających chlor i węgiel. ..” też nie jest poprawne. Interferencje nie mogą zawierać chloru i węgla, interferencje mogą powstawać na skutek obecności substancji zawierających chlor i węgiel.

str. 49: uwaga stylistyczna: „analityczna literatura jest już nasycona..”

str. 49: po raz kolejny pojawia się określenie „kompetentne wyniki”; wyniki mogą być wiarygodne, rzetelne, dokładne, ale nie kompetentne.

Rozdział 4. Określenie „... specjacyjne oznaczanie chromu w wodzie” nie jest poprawne. Można oznaczać formy/związki chromu, a badać specjację chromu.

Str. 53: nie rozumiem określenia „... z regulowaną rampą ..”

Str. 61: „np. badanego chromu”; można oznaczać zawartość chromu, a badać obiekt i jego skład.

Str. 67: uwaga stylistyczna: „... narost potrzebny do osiągnięcia jej (temperatury) maksimum”

Str. 78: „Standardowa niepewność stężenia jest jednym z najbardziej kompleksowych czynników wpływających na niepewność złożoną.” Jest to niefortunne sformułowanie, dana wartość może być istotną składową niepewności złożonej, a nie kompleksowym czynnikiem.

Podsumowując, wysoko oceniam niniejszą rozprawę doktorską pod względem merytorycznym. Opisane w części eksperymentalnej badania dotyczą bardzo ciekawych zagadnień związanych z opracowaniem nowatorskich procedur analitycznych wykorzystujących możliwość wyznaczenia stosunków izotopowych wybranych izotopów stabilnych w celu zastosowania metody rozcieńczeń izotopowych do dokładnego badania specjacji chemicznej. Cel, jaki postawiła przed sobą Doktorantka jest bardzo ważny z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia, a otrzymane wyniki mają element nowości naukowej. Na podstawie przedstawionych wyników badań i ich dyskusji uważam, że Doktorantka zrealizowała w pełni założone cele badawcze. Wartościowy wkład tej pracy spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim (art. 13 ustawy z dn. 14.03.2003r.). Dlatego też wnoszę o dopuszczenie mgr Barbary Markiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz do publicznej dyskusji nad rozprawą.

Prof. dr hab. Ewa Bulska