

Gliwice, 05.09.2026

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Marty Agaty Gaweł pt. „Zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej z różnymi trybami detekcji do oznaczania wybranych małocząsteczkowych związków siarki”

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Pana prof. dr. hab. Marcina Palusiaka, Zastępcy Przewodniczącego Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne z dnia 01.07.2026 r., dotyczące wykonania recenzji wspomnianej rozprawy doktorskiej. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Rafał Głowacki, uznany ekspert w zakresie chemii analitycznej i bioanalitycznej, ze szczególnym uwzględnieniem oznaczania związków siarki oraz ich pochodnych w złożonych matrycach biologicznych.

1. Ocena wyboru tematyki badawczej

Wybór tematyki badawczej rozprawy doktorskiej oceniam jako trafny, aktualny i dobrze wpisujący się w rozwój współczesnej chemii analitycznej i bioanalitycznej. Oznaczanie biologicznie istotnych związków siarki w złożonych matrycach stanowi istotne wyzwanie analityczne, wynikające m.in. z ich reaktywności, niskich poziomów stężeń oraz podatności na przemiany zachodzące podczas przygotowania próbek. Podjęta problematyka ma zatem zarówno znaczenie poznawcze, jak i wyraźny wymiar praktyczny, związany z możliwością wykorzystania opracowanych metod m.in. w analizie próbek biologicznych. Szczególnie wartościowe jest ukierunkowanie badań na rozwój nowych i selektywnych procedur chromatograficznych, pozwalających na wiarygodne oznaczanie analitów dotychczas trudnych do monitorowania. Tematyka rozprawy tworzy również przestrzeń do dalszych badań nad znaczeniem biologicznym oznaczanych związków i ich potencjalnym wykorzystaniem jako markerów procesów fizjologicznych lub patologicznych. **W mojej ocenie zakres badań został dobrany właściwie i odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim w dyscyplinie nauk chemicznych.**



2. Informacje ogólne

Rozprawę doktorską przedłożoną w języku polskim stanowi zbiór sześciu powiązanych ze sobą tematycznie artykułów naukowych. Cykl publikacji poprzedza komentarz, na który składa się krótkie wprowadzenie i część literaturowa, cel i zakres pracy, podsumowanie i wnioski końcowe. Dodatkowo każda z prac wchodzących w skład monotematycznego cyklu publikacji została poprzedzona krótkim, liczącym 3–4 strony komentarzem wprowadzającym, syntetycznie przedstawiającym jej zakres, założenia oraz najważniejsze wyniki. Spis literatury obejmuje 67 głównie anglojęzycznych pozycji naukowych. Ponadto w przedstawionym do recenzji materiale dołączono streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz pozostałych osiągnięć naukowych Doktorantki oraz oświadczenia współautorów. Na całkowity dorobek naukowy Doktorantki składa się 9 publikacji naukowych, 6 wystąpień konferencyjnych w formie komunikatów ustnych oraz 23 prezentacje posterowe, obejmujące zarówno okres realizacji doktoratu, jak i wcześniejszą aktywność naukową. Aktywność Doktorantki została dostrzeżona m.in. poprzez przyznanie nagrody za wyróżniający się poster. Za ważny przejaw rozwijającej się samodzielności naukowej uznaję również uzyskanie finansowania własnych projektów badawczych. Szczególnie istotne jest pełnienie funkcji kierownika projektu badawczego realizowanego w ramach Programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) w latach 2025–2026. Fakt ten wskazuje na zdolność do formułowania własnych problemów badawczych, planowania badań oraz pozyskiwania środków na ich realizację.

Szeroka i konsekwentnie rozwijana aktywność publikacyjna oraz konferencyjna świadczy o dużym zaangażowaniu mgr Marty Gawęł w działalność naukową, systematycznym upowszechnianiu wyników badań oraz aktywnym uczestnictwie w życiu środowiska naukowego.

3. Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska to cykl spójnego tematycznie zbioru sześciu publikacji, w tym dwóch przeglądowych [D1, D2] i czterech eksperymentalnych, w tym dwóch opublikowanych w latach 2023–2025 [D3, D4] i dwóch znajdujących się obecnie w recenzji [D5, D6]. Sumarycznym współczynnikiem wpływu IF prac opublikowanych wynosi 8,6, a liczba punktów MNiSW 320. Artykuły stanowiące podstawę cyklu doktorskiego zostały opublikowane lub zgłoszone do czasopism o zasięgu międzynarodowym, w tym *Scientific Reports* i *Food Chemistry*. Dorobek Doktorantki uzupełniają również publikacje w krajowych czasopismach *Wiadomości Chemiczne* oraz *Analityka*. Szczególnie pozytywnie należy ocenić fakt, że we wszystkich pracach [D1–D6] mgr Marta Gawęł występuje jako pierwsza autorka. Świadczy to o jej istotnym

zaangażowaniu w realizację badań oraz przygotowanie wyników do publikacji, a załączone oświadczenia współautorów potwierdzają ten fakt.

Pierwszym etapem aktywności publikacyjnej Doktorantki były prace o charakterze przeglądowym i popularyzatorskim, pozwalające uporządkować wiedzę stanowiącą podstawę dla późniejszych badań eksperymentalnych [D1, D2]. W artykule „*Superowoce*” okiem chemika analityka, opublikowanym w 2023 r. w czasopiśmie *Analityka*, przedstawiono zagadnienia związane z obecnością biologicznie aktywnych składników w owocach oraz możliwościami ich charakterystyki z wykorzystaniem metod chemii analitycznej [D2]. Publikacja ta stanowiła ważny etap rozeznania literaturowego w zakresie występowania i analizy związków bioaktywnych w materiałach pochodzenia roślinnego, tworząc podstawę merytoryczną dla dalszych badań Doktorantki rozwiniętych następnie w pracach badawczych, które obecnie znajdują się w procesie recenzji [D5, D6].

Znacznie bardziej specjalistyczny charakter ma artykuł przeglądowy opublikowany w 2024 r. w *Wiadomościach Chemicznych*, poświęcony tiazynowym i tiazolidynowym pochodnym aminokwasów siarkowych oraz wybranych endogennych aldehydów [D1]. W pracy dokonano systematycznego przeglądu wiedzy dotyczącej reaktywności aminokwasów siarkowych, przede wszystkim cysteiny i homocysteiny, mechanizmów powstawania ich cyklicznych pochodnych oraz znaczenia biologicznego tych związków. Omówiono również podejścia analityczne stosowane do ich identyfikacji i oznaczania w złożonych matrycach biologicznych. Publikacja ta ma szczególne znaczenie w kontekście dalszych badań Doktorantki, ponieważ porządkuje stan wiedzy bezpośrednio związany z tematyką dwóch kolejnych prac eksperymentalnych [D3, D4] i wskazuje na bardzo dobre rozpoznanie zarówno chemicznych podstaw badanych procesów, jak i aktualnego stanu metod analitycznych.

Naturalną konsekwencją przeprowadzonego rozpoznania literaturowego było podjęcie przez Doktorantkę badań ukierunkowanych na opracowanie nowych metod oznaczania wybranych pochodnych aminokwasów siarkowych w materiale biologicznym. W pracy D3 opublikowanej w 2024 r. w *Scientific Reports* przedstawiono pierwszą metodę HPLC-MS/MS umożliwiającą oznaczanie kwasu 2-(3-hydroksy-5-fosfonooksymetylo – 2 – metylo – 4 - pirydylo) - 1,3 – tiazolidyno – 4 - karbolsylowego (HPPTCA), pochodnej cysteiny i fosforanu 5'-pirydoksalu, w osoczu człowieka. Metoda została zwalidowana i zastosowana do analizy próbek rzeczywistych, potwierdzając występowanie tego związku w osoczu badanych osób. LOQ wynosiło 0,25 µmol/L, a HPPTCA wykryto w 11 z 15 próbek osocza, w zakresie 0,55–8,39 µmol/L. Opracowanie takiego narzędzia ma znaczenie nie tylko analityczne, ale również poznawcze, ponieważ stwarza możliwość prowadzenia dalszych badań nad rolą HPPTCA w procesach biologicznych.

W mojej ocenie w pracach D1, D3 oraz D4 szczególnie wartościowa jest widoczna ciągłość prowadzonych badań – od analizy i uporządkowania danych literaturowych dotyczących pochodnych aminokwasów siarkowych, poprzez identyfikację istotnych problemów analitycznych, aż do opracowania i praktycznej weryfikacji nowych metod ich oznaczania w materiale biologicznym.

Kolejnym istotnym osiągnięciem mgr Marty Gaweł jest publikacja D4 opublikowane w *Scientific Reports* z 2025 r., w której przedstawiono pierwszą metodę HPLC-UV przeznaczoną do oznaczania tiolaktonu homocysteiny w moczu człowieka. Zastosowanie odpowiednio dobranej reakcji derywatyzacji umożliwiło selektywne oznaczanie tego reaktywnego metabolitu przy wykorzystaniu stosunkowo powszechnie dostępnej detekcji spektrofotometrycznej. Metodę poddano walidacji i zweryfikowano na próbkach rzeczywistych, potwierdzając jej praktyczną użyteczność. LOQ wynosiło 100 nmol/L, a metodę zastosowano do próbek rzeczywistych; HTL wykryto w 12 z 18 analizowanych próbek.

Na szczególne wyróżnienie zasługują dwie prace metodyczne D5 i D6, poświęcone opracowaniu procedur oznaczania tioli w owocach jagodowych zaliczanych do tzw. superowoców. W pracy D5 Autorka zastosowała technikę LC-UV do oznaczania zredukowanej i całkowitej zawartości tioli (GSH, Hcy, Cys, Cys-Gly), natomiast w pracy D6 wykorzystwała w tym celu bardziej selektywną i czułą technikę LC-ESI-MS/MS. Obie prace stanowią dobrze zaplanowane i wzajemnie uzupełniające się studia metodyczne, w których szczególną uwagę poświęcono nie tylko warunkom końcowego oznaczenia instrumentalnego, lecz przede wszystkim krytycznemu etapowi przygotowania próbki. Jest to szczególnie istotne w przypadku związków tiolowych, charakteryzujących się wysoką reaktywnością i podatnością na przemiany oksydacyjno-redukcyjne, a dodatkowo analizowanych w niezwykle złożonej matrycy roślinnej.

W pracy D5 przeprowadzono szczegółowe badania ukierunkowane na dobór warunków poszczególnych etapów procedury analitycznej. Oceniono stabilność analitów już na etapie homogenizacji materiału roślinnego, wpływ stopnia rozcieńczenia próbki, a także dobrano odpowiednie stężenie TCEP zapewniające skuteczną redukcję wiązań disiarczkowych. Istotnym elementem badań był również dobór stężenia CMQT stosowanego jako odczynnik derywatyzujący, mającego bezpośredni wpływ na efektywność reakcji oraz jakość oznaczenia metodą LC-UV. Ponadto zweryfikowano stabilność tioli w homogenatach owocowych oraz wpływ rodzaju materiału filtracyjnego na odzysk analitów. Tak szerokie podejście umożliwiło wskazanie etapów szczególnie podatnych na straty analitów lub zmianę ich form chemicznych, a następnie dobranie warunków pozwalających ograniczyć te zjawiska i zwiększyć wiarygodność końcowego wyniku analitycznego.

Równie kompleksowy charakter miały badania przeprowadzone w ramach pracy D6. Oceniono stabilność oznaczanych związków w czasie, przeprowadzono dobór rodzaju rozpuszczalnika stosowanego zarówno na etapie ekstrakcji, jak i późniejszego rozcieńczania próbek, a także wyznaczono stężenie TCEP zapewniające efektywną redukcję form utlenionych. Analizie poddano również wpływ rodzaju materiału filtracyjnego na końcowy wynik oznaczenia. Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na dobór procedury przygotowania próbki dostosowanej do specyfiki detekcji tandemową spektrometrią mas, przy jednoczesnym ograniczeniu ryzyka degradacji analitów, niepełnej ekstrakcji oraz niekorzystnego wpływu składników matrycy.

Szczególnie wysoko oceniam fakt, że w obu pracach przygotowanie próbki potraktowano jako integralny i równorzędny element całej metody analitycznej, a nie jedynie etap poprzedzający pomiar instrumentalny. Doktorantka przeanalizowała cały ciąg operacji mogących wpływać na końcowy wynik – od homogenizacji i ekstrakcji, poprzez redukcję i derywatyzację, aż po rozcieńczanie i filtrację. Tak kompleksowe podejście ma zasadnicze znaczenie w analizie reaktywnych związków siarki w złożonych matrycach roślinnych i świadczy o bardzo dobrym rozumieniu procesów mogących prowadzić do zmian składu próbki już na etapie przedanalitycznym. W mojej ocenie właśnie szeroko zakrojone i systematyczne badania nad doborem warunków przygotowania próbek stanowią jeden z najcenniejszych i najlepiej udokumentowanych elementów metodycznych obu prac.

Podsumowanie rozprawy zostało przygotowane bardzo starannie i w sposób klarowny prezentuje najważniejsze rezultaty uzyskane przez Doktorantkę w toku prowadzonych badań. Na szczególne wyróżnienie zasługuje Tabela 2, która w niezwykle syntetyczny, a jednocześnie bardzo informacyjny sposób zestawia najważniejsze cechy opracowanych procedur analitycznych. Pozwala ona szybko dostrzec zarówno ich mocne strony, jak i ograniczenia, a także porównać zastosowane rozwiązania metodyczne, w tym m.in. wykorzystanie rozdzielania HILIC. Uważam tę formę prezentacji za wyjątkowo trafną, ponieważ porządkuje rozproszony materiał badawczy i ułatwia ocenę rzeczywistej wartości poszczególnych procedur. Co szczególnie istotne, zestawienie to pokazuje również krytyczne podejście Doktorantki do własnych wyników – nie ogranicza się ona do wskazania zalet opracowanych metod, lecz potrafi również jasno zidentyfikować ich słabsze strony i ograniczenia. Świadczy to o dojrzałości naukowej oraz umiejętności obiektywnej oceny własnych rozwiązań badawczych.

Recenzent poza oczywistym podkreśleniem walorów i zalet pracy ma także obowiązek wskazania pewnych niedociągnięć, uwag i postawienia pytań. Tak więc proszę Doktorantkę o wyjaśnienie następujących kwestii:

1. W jaki sposób optymalizowane były warunki rozdzielania chromatograficznego i parametry detekcji? Czy na pewno była to optymalizacja, czy może „dobór”?

2. Proszę o wyjaśnienie przebiegu programu elucji gradientowej opisanego w publikacji w D3 (sekcja HPLC-MS/MS conditions), D4 (sekcja Chromatographic conditions), D5 (sekcja LC-UV conditions). Jak zmienia się moc elucji w zaproponowanych przez Panią gradientach fazy ruchomej?
3. Proszę, odnosząc się do danych przedstawionych w Tabeli 1 (publikacja D6), wyjaśnić, w jaki sposób charakter przemian strukturalnych zachodzących podczas fragmentacji jonów prekursorowych wpływa na zróżnicowanie optymalnych wartości energii kolizji dla poszczególnych przejść MRM. Które z analizowanych przejść wymagają zastosowania wyższej energii kolizji i jakie czynniki strukturalne mogą o tym decydować?
4. Odnosząc się do wyników przedstawionych w pracach D3–D6, proszę o ich pogłębioną interpretację. W szczególności proszę wskazać, jakie czynniki chemiczne, analityczne i matrycowe mogły wpływać na obserwowane różnice w oznaczaniu HPPTCA w ludzkiej plazmie, HTL w moczu oraz wybranych tioli w próbkach superowoców. Jakie najważniejsze wnioski, wykraczające poza ocenę parametrów opracowanych procedur analitycznych, można sformułować na podstawie uzyskanych wyników?
5. Jaką zasadę stosowała Doktorantka podczas podawania wyników (ilość cyfr podawanych w wyniku, zarówno tych procentowych, jak i tych wyrażonych w jednostkach stężenia)?

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedłożona rozprawa doktorska pt. „Zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej z różnymi trybami detekcji do oznaczania wybranych małocząsteczkowych związków siarki” stanowi spójne, dojrzałe i wartościowe naukowo osiągnięcie w obszarze współczesnej chemii analitycznej. Przedstawione badania potwierdzają bardzo dobre przygotowanie merytoryczne i warsztatowe Doktorantki oraz jej zdolność do samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych. Sformułowane w recenzji uwagi mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę rozprawy.

Stwierdzam, że rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. W związku z powyższym z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Ponadto biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy, oryginalność uzyskanych wyników, dojrzałość badawczą Doktorantki oraz

istotny wkład przedstawionych osiągnięć w rozwój dyscypliny, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Podpisano odręcznie przez autora