

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Wach pt. „Chemical Characterization of Isoprene Secondary Organic Aerosol in the Atmosphere using LC-MS/MS Approaches”

Zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego wciąż przedstawia jedno z najpoważniejszych wyzwań czynnej ochrony środowiska i zdrowia człowieka. Różnym jego przejawom przypisuje się mu całą gamę negatywnych skutków środowiskowych, których oddziaływanie ma miejsce zarówno w skali lokalnej, regionalnej jak i globalnej. Oprócz udowodnionych zjawisk zachodzących z udziałem niektórych zanieczyszczeń w stratosferze, coraz więcej wiadomo także o obiegu substancji szkodliwych w niskich warstwach atmosfery, gdzie oddziaływanie na stan środowiska czy zdrowie populacyjne ma charakter bezpośredni. W jednym i drugim przypadku reakjom przemian towarzyszą reaktywne indywidua utleniające (O_3 , $HO\cdot$, $SO_4\cdot^-$, NO_x , i in.), które w zależności od warstwy atmosferycznej występują w różnego typu cyklach ich tworzenia i rozpadu z udziałem wysokoenergetycznego zakresu promieniowania słonecznego. Zanieczyszczenie powietrza to zatem zagadnienie wielowymiarowe, obejmujące nie tylko estymację emisji substancji szkodliwych ze źródeł antropogennych, ale także złożone procesy ich transformacji, transportu i powtórnej depozycji z udziałem atmosferycznych utleniaczy. Wiadomo także, że w tych przemianach niezmiernie ważną rolę mogą odgrywać substancje emitowane ze źródeł naturalnych. Prowadzone od wielu lat badania w tym zakresie dowodzą istotnego wpływu tzw. lotnych, biogennych substancji organicznych BVOC (*ang.* Biogenic Volatile Organic Compounds) na procesy chemiczne zachodzące w atmosferze. Dominującym, niemetanowym związkem tego typu jest izopren. Dzięki obecności w jego strukturze sprzężonych wiązań podwójnych wchodzi on łatwo w cały szereg reakcji, przez co wpływa istotnie na obieg utleniaczy czy tworzenie wtórnych aerozoli atmosferycznych. Wiadomo także, że izopren może lokalnie zakłócać obieg azotu wchodząc w reakcję z indywiduami biorącymi udział w poszczególnych cyklach tego procesu. Oszacowanie ilościowe atmosferycznego izoprenu jest trudne, przede wszystkim w związku z jego skutecznym i niemal natychmiastowym utlenianiem przez obecne w atmosferze rodniki hydroksylowe. Szacuję się jednak, że rocznie do atmosfery trafia ok. 400 – 500 tys. ton tego związku.

Zagadnienie przemian chemicznych izoprenu w atmosferze jest zatem tematem niezmiernie ciekawym i wciąż w wielu aspektach niewyjaśnionym. Jego potencjalne interakcje z zanieczyszczeniami chemicznymi w obecności indywiduów utleniających, dodatkowo w określonych warunkach fizycznych panujących w atmosferze, umożliwiają cały szereg możliwych przemian. Ich wyjaśnienie ma niebagatelne znaczenie dla lepszego poznania mechanizmów tworzenia wtórnych aerozoli, ich oddziaływania na cykle

chemicznych przemian atmosferycznych, wpływu na lokalne zjawiska atmosferyczne, w końcu możliwych skutków toksykologicznych.

Z tego punktu widzenia należy uznać, że wybrana przez kandydatkę tematyka rozprawy doktorskiej pod tytułem: „Chemical Characterization of Isoprene Secondary Organic Aerosol in the Atmosphere using LC-MS/MS Approaches” jest aktualna i wnosi znaczący wkład w poznanie podstawowych zagadnień procesów atmosferycznych przemian chemicznych z udziałem substancji z grupy BVOC. Praca została wykonana pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Rafała Szmigielskiego, w którego kręgu zainteresowań badawczych od lat znajduje się poznanie mechanizmów tworzenia i transformacji wtórnych aerozoli atmosferycznych z użyciem technik spektrometrii mas.

Celem pracy była szczegółowa identyfikacja i pełna chemiczna charakterystyka jednej z najważniejszych grup markerów wtórnego aerozolu atmosferycznego – organosiarczanów, będących produktami reakcji izoprenu i jego pochodnych (ketonu metyloowo-winyloowego i metakroleiny) z rodnikami siarczanowymi. Wszystkie badania prowadzono z wykorzystaniem techniki ultrasprawnej chromatografii cieczowej sprzęgniętej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas. Prowadząc badania zarówno w warunkach laboratoryjnych, z użyciem atmosferycznej komory symulacyjnej (*ang.* Smog Chamber), jak i analizując próbki rzeczywiste kandydatka postawiła sobie za cel jednoznacznie określić i potwierdzić powstające struktury oraz zaproponować kolejne etapy ich formowania w atmosferze. Badanymi matrycami były aerozole PM_{2,5} zebrane z trzech różnych lokalizacji (Polska, Węgry, USA) o wysokim potencjale emisji BVOC, próbki deszczu, gradu i śniegu oraz próbek aerozolu generowanych w komorze symulacyjnej. W celu potwierdzenia postulowanych struktur w badaniach posiłkowała się także syntezą potencjalnych produktów utleniania oraz obliczeniami kwantowo-chemicznymi.

Rozprawa doktorska mgr Pauliny Wach została napisana w języku angielskim. Na wstępie można też przeczytać, że została oparta o cztery artykuły wieloautorskie opublikowane w renomowanych międzynarodowych czasopismach, takich jak *Analytical Chemistry* (IF=8,1), *Environmental Science and Technology* (IF=9,1) czy *Chemosphere* (IF=8,9). Mimo opublikowania wyników rozprawy doktorskiej w tych znakomitych czasopismach zdecydowano się jednak na przygotowanie pełnej dysertacji w formie zwartej. Ponieważ do rozprawy nie dołączono oświadczeń współautorów powyższych publikacji trudno jest rozsądzić, dlaczego tak się stało. Z pewnością w dwóch artykułach można domniemać wiodącą rolę doktorantki, gdzie była jednocześnie pierwszym i korespondencyjnym autorem.

Rozprawa ma układ typowy. Na 140 stronach zawarto (i) przegląd literaturowy, (ii) cel pracy, (iii) część poświęconą poborowi próbek i prowadzonych eksperymentów, (iv) część metodyczną zawierającą parametry układów pomiarowych, (v) wyniki i ich dyskusja oraz (vi) podsumowanie. Spis literatury obejmuje 210 pozycji.

W przeglądzie literaturowym znalazły się informacje zarówno na temat aerozoli atmosferycznych, jak i stosowanych w badaniach technik analitycznych. Szczegółowo omówiono chemizm procesów towarzyszących przemianom przy tworzeniu wtórnych aerozoli atmosferycznych, typy reakcji, rodzaje powstających indywiduów. Swoje miejsce znalazła także część na temat fizycznych podstaw zjawiska podziału związków chemicznych do cząstek zawieszonych oraz dotychczasowe wyniki badań nad identyfikacją produktów przemian izoprenu, w tym pochodnych organosiarczanowych.

Uważam przy tym, iż podrozdział 1.6 (począwszy od strony 35) jest podstawowym/podręcznikowym opisem technik jonizacji stosowanych w spektrometrii mas. Doktorantka powieliła opis podstawowych technik jonizacji w Tabeli 1-V oraz w podrozdziale 1.6.1., a przedstawione w rozprawie doktorskiej zasady jonizacji (EI, CI, ESI, APPI) można było zdecydowanie pominąć. Natomiast w podrozdziale tym brakuje głębszej analizy danych dotyczących zastosowania spektrometrii mas w badaniach aerozoli.

Przechodząc do oceny uzyskanych wyników należy uznać, że założone cele rozprawy zostały osiągnięte. Otrzymane rezultaty badań w większości przypadków zostały wyczerpująco przedyskutowane. Kandydatka skutecznie zaprojektowała i przeprowadziła całą gamę eksperymentów mających na celu określenie struktury organosiarczanowego produktu przemian izoprenu o masie 212 Da, a także identyfikacja jego enancjomerów obecnych w badanych próbkach aerozolu atmosferycznego. Do najważniejszych osiągnięć kandydatki zaliczyć można:

- Optymalizację warunków rozdzieleń chromatograficznych z wykorzystaniem faz RP-18 i HILIC do separowania różnych form izomerycznych i diastereomerycznych organosiarczanowych produktów utlenienia izoprenu.
- Wiarygodną elucydację struktur rozdzielonych i scharakteryzowanych fragmentacyjnie organosiarczanowych produktów utlenienia izoprenu odpowiadających pikom o m/z 211 (M - H)⁻ poprzez szczegółową analizę widm fragmentacyjnych także z wykorzystaniem analizy możliwych tranzycji z wykorzystaniem związków znakowanych izotopowo. Zidentyfikowane produkty to 3-hydroksy-4-metylo-4-sulfoksy-2(3H)-dihydrofuranon i 2,3-dihydroksy-4-metylo-4-sulfoksytetrahydrofuran.
- Potwierdzenie postulowanych struktur uzyskanymi produktami reakcji półsyntetycznych w fazie wodnej oraz obliczeniami kwantowo-mechanicznymi (DFT) najniższej energii aktywacji eliminacji cząsteczki wody i wodorosiarczanu z ośmiu diastereoizomerów zidentyfikowanych organosiarczanów.

- Zaproponowanie wieloetapowego mechanizmu heterogenicznego utleniania izoprenu rodnikami siarczanowymi prowadzącymi do stopniowego sulfonowania i laktonizacji ostatecznych, zidentyfikowanych produktów organosiarczanowych.
- Zaprojektowanie i przeprowadzenie eksperymentów fotodegradacji oksydacyjnej ketonu metyloowo-winylowego i metakroleinowego w obecności rodników siarczanowych w fazie wodnej symulującego warunki tworzenia wtórnego aerozolu organicznego w atmosferze, w wyniku których zidentyfikowano i potwierdzono struktury trzech charakterystycznych związków organosiarczanowych.
- Potwierdzenie obecności wytypowanych organosiarczanowych markerów przemian izoprenu w próbkach środowiskowych wód deszczowych, śniegu i gradu zidentyfikowanych w trakcie badań laboratoryjnych.

Z kolei poniżej wymieniam zagadnienia budzące moje wątpliwości oraz pytania jakie pojawiły się w trakcie lektury dysertacji:

- Na schemacie 5.8 B1 i B2 przedstawiono ścieżki fragmentacji dwóch anionów o m/z 183, o czasie retencji 0,92 i 0,96 min. Po pierwsze fragmentacja przedstawiona na schemacie 5.8 B1 nie wyjaśnia obecności jonu o m/z 153, czy podobnie jak w przedstawiono na schemacie 5.8 B2 jon ten powstaje przez utratę cząsteczki formaldehydu?
- Na schemacie 5.8 B2 przedstawiono fragmentację wtórną jonu o m/z 165 \rightarrow m/z 85 poprzez utratę obojętnej cząsteczki SO_3 , jednakże w widmie mas przedstawionym na rysunku 5.17 B obecne są jony o m/z 80 i 81, brak natomiast jonu o m/z 85.
- Powstaje także pytanie jakie są główne drogi fragmentacji obu anionów o m/z 183, których struktury zaproponowano na schemacie 5.8 B1 i B2, czy dla obu izomerów ścieżki fragmentacji są identyczne, czy różne?
- Podobnie na schemacie 5.10 A i B, przedstawione ścieżki fragmentacji są różne. Czy możliwa jest fragmentacja anionu o m/z 183 poprzez utratę obojętnej cząsteczki SO_3 (tak jak przedstawiono dla anionu o m/z 199) oraz anionu o m/z 199 poprzez homolityczne rozerwanie wiązania z utworzeniem anionorodnika $SO_3^{\cdot-}$?
- Kandydatka wykazała obecność związków o masie 184 Da w próbkach gradu i próbkach drobnego aerozolu PM 2,5. Intensywność jonu pseudomolekularnego w próbkach deszczu była znacznie niższa niż w przypadku pozostałych dwóch próbek, pomimo zwiększenia objętości nastrzyku. Czy podjęto próbę zastosowania innego sposobu przygotowania próbki do analizy? (poza zatężaniem w strumieniu azotu 2 ml próbki do 100 μ l).
- Wykres 5-2 jest nieczytelny. Definiując zmienność sezonową pomiędzy składem próbek, należałoby przedstawić próbki pobrane z określonej lokalizacji w różnych

porach roku, np. z Warszawy - zmienność ze względu na miejsce poboru próbek można było przedstawić na kolejnym wykresie.

- W pracy nie odszukałem w jaki sposób wyznaczono parametr RA (Relative Abundance), jaką liczbę próbek uwzględniono?
- W części eksperymentalnej (podrozdział 4.5.2) brakuje informacji odnośnie parametrów pracy spektrometru mas.
- Wprowadzony w rozprawie doktorskiej podział na rysunki, schematy i wykresy jest niepotrzebny i utrudnia czytanie pracy.
- Należałoby także poprawić jakość rysunków (wartości m/z, opisy osi, jednostki).

Powyższe wątpliwości nie podważają w żadnej mierze wartości rozprawy i nie mają istotnego charakteru dla mojej pozytywnej oceny. Podsumowując należy stwierdzić, że rozprawa doktorska mgr Pauliny Wach stanowi solidny i wartościowy materiał badawczy, a Kandydatka wykazała się biegłą znajomością technik chromatograficznych i spektrometrii mas oraz analityki środowiskowej.

Kandydatka jest autorką i współautorką 8 publikacji naukowych opublikowanych w czasopiśmie recenzowanych, 1 rozdziału w monografii i 2 udzielonych patentów.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej PAN o dopuszczenie mgr Pauliny Wach do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



