



**POLITECHNIKA WARSZAWSKA**  
**WYDZIAŁ CHEMICZNY**  
**Zakład Mikrobioanalitiki**



**Prof. dr hab. inż. Elżbieta Malinowska, prof. zw. PW**

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: 022-234-5657; fax: 022-234-5631, E-mail: ejmal@ch.pw.edu.pl

Warszawa 2017-06-24

## **OCENA**

**rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kłucińskiej**  
pt: „*Micele jako nanosensory fluorymetryczne*”

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Kłucińskiej pt: „*Micele jako nanosensory fluorymetryczne*” została wykonana w Pracowni Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Recenzowana rozprawa powstała w zespole prof. dr hab. Agaty Michalskiej-Maksymiuk, mającej olbrzymie doświadczenie i znakomity dorobek publikacyjny w zakresie sensorów chemicznych.

Jest to obszerna praca poświęcona projektowaniu nowoczesnych układów analitycznych z detekcją optyczną. Koncepcja pracy bazuje na wykorzystaniu często znanych od dawna reakcji barwnych i/lub reagentów stosowanych w membranach polimerowych klasycznych opt(r)od z nowym podejściem polegającym na przeprowadzeniu reakcji w układach micelarnych. W tym upatruję walor nowości naukowej przedłożonej do recenzji pracy. Pole badawcze wybrane przez Promotorkę i doktorantkę należy do wciąż aktualnych zagadnień badawczych, o czym świadczą liczne publikacje z tego zakresu.

Z racji tematyki uprawianych przeze mnie badań, pracę oceniać będę głównie pod kątem opisanych w niej narzędzi analitycznych i możliwości ich zastosowania w praktyce.

### **Strona redakcyjna**

Rozprawa doktorska zaprezentowana została na 168 numerowanych stronach tekstu, z czego wyniki i dyskusja zajmują ok. 60 stron. Dysertację otwierają streszczenia w języku polskim i angielskim, spis treści oraz wstęp, które wprowadzają czytelnika w tematykę i zakres badań zrealizowanych przez doktorantkę. Zasadnicza część pracy ma klasyczną strukturę składa się z trzech głównych części zatytułowanych: *Przegląd literatury*, *Część eksperymentalna* oraz *Wyniki badań i dyskusja*, w których wyodrębniono łącznie 15 rozdziałów. Układ rozdziałów jest logiczny, dobrze ilustrujący kolejne etapy pracy doktorantki, a liczne rysunki (121) i tabele (5) pozwalają na skonfrontowanie uzyskanych wyników z ich interpretacją dokonaną przez autorkę. Praca jest napisana

przejrzystym językiem, mimo iż kilka użytych określeń czy terminów jest nieprecyzyjnych.

### ***Wartość merytoryczna i użytkowa***

Część literaturowa rozprawy przedstawia zagadnienia wprowadzające w zakres wykonanej pracy, a w szczególności przybliżyła zjawiska absorpcji i fluorescencji cząsteczkowej jako podstawy optycznych technik analitycznych w połączeniu z klasycznymi metodami ekstrakcyjnymi, jak i z wyeliminowaniem etapu rozdzielania. W tej części doktorantka z jednej strony sięga wielokrotnie po opracowania pochodzące często z połowy ubiegłego wieku dotyczące chemii analitycznej i metod oznaczania kationów z lipofilowymi barwnikami, z drugiej pokazuje w jaki sposób można tego typu oznaczenia zmodyfikować korzystając z rozwiązań proponowanych w najnowszych publikacjach. W następnym rozdziale zatytułowanym *Optody* autorka koncentruje się na omówieniu układów optycznych z różnymi rozwiązaniami prowadzącymi do generacji sygnału analitycznego, a na zakończenie podaje najistotniejsze parametry pracy sensorów i przykłady miniaturyzacji optod. Ostatni rozdział przeglądu literaturowego to opis stosowanych metod syntezy lipofilowych mikro- lub nanostruktur polimerowych.

W części *Przegląd literatury* doktorantka udostępniła czytającemu dobre merytorycznie omówienie zagadnień bezpośrednio związanych z planowanymi badaniami. Opracowanie oceniam jako przemyślane, oparte na szerokiej podbudowie cytowanych oryginalnych prac (ponad 120 pozycji) i mające charakter zdecydowanie zgodny z profilem pracy – będąc kompendium wiedzy na temat technik analitycznych stosowanych przez autorkę. Natomiast zabrakło mi nieco informacji dotychczasowych najnowszych osiągnięć w obszarze metod analitycznych stosowanych do oznaczania omawianych analitów innymi niż optyczne technikami analitycznymi.

Na stronie 80 doktorantka jasno formułuje cel pracy. Jest nim opracowanie nowego typu nanosensorów fluorymetrycznych i wyjaśnienie mechanizmu ich funkcjonowania. Wskazuje także etapy pracy niezbędne do jego osiągnięcia, w tym: opracowania metod syntezy nanocząstek polimerowych i scharakteryzowania otrzymywanych struktur, a następnie przebadanie możliwości wykorzystania nanostruktur otrzymanych w wyniku samoorganizacji do przygotowania ulepszonych układów optycznych.

Część *eksperymentalną* stanowią rozdziały 6-9, w których znajdujemy kolejno: opis technik pomiarowych, spis aparatury, odczynników i materiałów stosowanych w badaniach, jak również niezwykle staranny opis metodyki pracy. Rozdziały te pozwalają nie tylko szczegółowo prześledzić procedury wykonawcze stosowane przez doktorantkę, ale także w pełni potwierdzają poprawność przeprowadzonych przez nią doświadczeń.

W rozdziale 10, rozpoczynającym najistotniejszą część pracy *WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA*, doktorantka opisała szczegółowo badania dotyczące wpływu budowy i charakteru chemicznego nanostruktur otrzymywanych w wyniku samoorganizacji i zawierających lipofilowe receptory na ich właściwości optyczne. Jako modelowe układy wybrano surfaktanty [t.j., chlorek cetylotrimetyloamoniowy (CTAC) i dodecylosiarczan(VI) sodu (NaDS)], polimer blokowy Pluronic F-127 (bez ładunku powierzchniowego) oraz amfifilowy polimer PMAO (poli(bezwodnik-3-oktadekenomaleinowy). W celu wytypowania najlepszego układu do zastosowania w analitycznych metodach optycznych doktorantka w sposób bardzo staranny i systematyczny przeprowadziła badania wpływu środowiska na właściwości samych nanostruktur, jak również wybranych układów z barwnikami (tj., czerwień Nilu i piren) oraz modelowym receptorem (PAN) i otrzymywania jego kompleksów z kationami  $Zn^{2+}$

i  $\text{Ni}^{2+}$ . Przeprowadzone badania pozwoliły doktorantce wysnuć wniosek, „że dla położenia zależności sygnału od logarytmu ze stężenia jonów analitu (dla której obserwuje się wzrost sygnału) istotna jest lipofilowość wykorzystywanych nanostruktur, a zmieniając ich ładunek powierzchniowy można wpływać na kształt tej zależności. Dla sieciowanych nanocząstek z polimer naprzemiennego obserwowano dość niskie granice wykrywalności rzędu  $10^{-7}$  M i liniowe zakresy zależności absorbancji od logarytmu ze stężenia jonów analitu w szerokim, jak na sensory kolorymetryczne, zakresie stężeń”. Dokonane przez doktorantkę porównanie badanych układów micelarnych pozwoliło na wytypowanie (w pełni uzasadnione doświadczalnie) polimeru PMAO jako najkorzystniejszej matrycy do przygotowania nanostruktur micelarnych z zastosowaniem lipofilowych reagentów nadających im czułość i selektywność. Natomiast micelle otrzymywane z udziałem surfaktantów autorka poleca „do oznaczeń bardziej hydrofilowych analitów”.

Rozdział 11 szczególnie mi się podobał, gdyż przedstawia dojrzałe studium opracowania metody analitycznej, w której krok po kroku badane są czynniki, które z jednej strony mogą wprowadzić zakłócenia pomiarowe a także te, które są w stanie istotnie wpłynąć na poprawę parametrów analitycznych. Zaproponowano tu nową procedurę fluorymetrycznego oznaczania wody w rozpuszczalnikach aprotycznych. Doktorantka wykorzystwała tu zjawisko deprotonowania pH-czułego fluoroforu (4-metylumbeliferonu; 4-MU) zachodzące pod wpływem cząsteczek wody w środowisku lipofilowym. W metodzie tej obserwowano wzrost intensywności fluorescencji wraz ze wzrostem zawartości wody w próbkach. Stwierdzono, że samorzutnie powstające micelle odwrotne (obecność oktyloaminy) prowadzą do poprawy powtarzalności procedury i rozszerzenia zakresu odpowiedzi liniowej. Dodatkowo, wykorzystując rezonansowe przeniesienie energii (RET) w parze 4-MU/Sudan I uzyskano przesunięcie maksimum emisji w porównaniu do obserwowanego dla układu z samym 4-MU. Badania próbek rzeczywistych wykazały znakomitą zgodność otrzymanych wyników z metodą porównawczą - miareczkowaniem Carla Fishera.

W rozdziale 12 doktorantka rozwija wątek sygnalizowany w rozdziale 10, a dotyczący wykorzystania sieciowanych miceli z polimeru naprzemiennego PMAO jako matrycy, w której umieszczane były odpowiednie kompozycje składników tj.: chromojonof, jonofor, czy też wymiennicz jonowy w celu uzyskania układów optycznych do oznaczania wybranych kationów ( $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  oraz  $\text{K}^+$ ). Badano kolejno odpowiedź układu na zmiany pH (zastosowanie chromojonoforu I), następnie zmiany stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  (chromojonoforu I + analogi kwasu behenowego w roli receptora). W drugim przypadku uzyskano liniową zależność sygnału od logarytmu ze stężenia jonów wapnia w zakresie od  $10^{-4}$  M do  $10^{-1}$  M. Doktorantka wykazała, że wprowadzenie do układu jonoforu czułego na jony wapnia (ETH 1001) prowadzi do rozszerzenia zakresu odpowiedzi liniowej układu i poprawy selektywności. Przebieg krzywych kalibracyjnych przedstawionych na rys. 106 B zdecydowanie bardziej przypomina charakterem kalibracje wykonane dla polimerowych elektrod jonoselektywnych niż klasycznych optod. Przygotowanie w analogiczny sposób miceli PMAO domieszkowanych walinomycyną, chromoforem I i KTpCIPB, zgodnie z oczekiwaniem, doprowadziły do otrzymania układu czułego i selektywnego na jony potasu. Rozdział ten dopełnia eksperyment, który pokazuje, że występowanie grup aminowych na powierzchni nanocząstek PMAO umożliwia ich powierzchniową modyfikację.

W rozdziale 13 opisano ciekawe rozwiązanie, w którym polimer przewodzący poli(3-oktylotiofeno-2,5-dyl) pełnił rolę zarówno matrycy, jak i elementu optycznego. Jako modelowy jonofor zastosowano ponownie walinomycynę – jonofor czuły i selektywny na jony potasu. Wzrost emitowanej fluorescencji obserwowany wraz ze wzrostem stężenia potasu w próbce doktorantka przypisuje zmianie stosunku liczby

dotatnio naładowanych do liczby obojętnych fragmentów łańcucha, co wynika z wiązania jonów analitu przez jonofor. Powolna dyfuzja jonów potasu w fazie lipofilowego polimeru (co opisano w poprzednim rozdziale), zaowocowała liniową zależnością intensywności emisji od logarytmu ze stężenia jonów analitu w szerokim zakresie stężeń  $10^{-5}$  -  $10^{-1}$  M.

Każdy z omówionych powyżej rozdziałów kończy się podsumowaniem i wnioskami dotyczącymi przeprowadzonych badań. Natomiast w rozdziale 14 doktorantka zebrała w punktach poszczególne, najważniejsze osiągnięcia naukowe zaprezentowane w recenzowanej rozprawie.

Planowanie i przeprowadzenie badań oraz końcowe efekty pracy oceniam bardzo pozytywnie. Za najważniejsze z nich uważam:

- wykazanie, że postawione hipotezy badawcze, mówiące o możliwości wykorzystania układów micelarnych do opracowania nowoczesnych metod analitycznych z detekcją fluorymetryczną są słuszne,
- umiejętne, przemyślane wykorzystanie znajomości mechanizmów rozpoznawania molekularnego i procesów fizykochemicznych zachodzących z udziałem nanostruktur polimerowych PMAO w celu zaprojektowania układów optycznych czułych i selektywnych na wybrane anality (zwanym przez doktorantkę „nanooptodami”),
- opracowanie procedury otrzymywania sieciowanych miceli (nanostruktur polimerowych na bazie poli(bezwodnika 1-oktadekenomaleinowego – PMAO) posiadających na powierzchni wolne grupy karboksylowe oraz aminowe,
- zaprojektowanie nowej procedury analitycznej do wykrywania wody w rozpuszczalnikach aprotycznych o dużym potencjale aplikacyjnym,
- wprowadzenie nowego typu nanostruktur micelarnych z wykorzystaniem polimeru przewodzącego poli(oktylotiofenu) – POT.

W założeniu zagadnienia poruszane w doktoracie mgr Katarzyny Klucińskiej nie były ukierunkowane na opracowania konkretnych procedur analitycznych i ich weryfikację (tak przynajmniej odczytuję intencje doktorantki i promotorki) a jedynie na zaprezentowaniu nowych koncepcji tworzenia układów optycznych i doświadczalnym potwierdzeniu zasad ich działania oraz zbadaniu czynników mających wpływ na efektywność ich funkcjonowania. Biorąc powyższe pod uwagę mogę stwierdzić, że cel pracy został osiągnięty a przedstawione wyniki nie budzą merytorycznych zastrzeżeń, co więcej sposób ich interpretacji jest przekonujący.

Recenzowana rozprawa zawiera cenne informacje na temat możliwości opracowania nowoczesnych metod analitycznych na bazie układów micelarnych połączonych z detekcją fluorescencyjną i bez wątpliwości zawiera wiele elementów nowości naukowej.

Jednakże poproszę o doprecyzowanie/uzupełnienie podanych w pracy informacji i/lub ustosunkowanie się do poniższych pytań i wątpliwości, które nasunęły się w trakcie czytania przedłożonej dysertacji:

- co autorka miała na myśli pisząc na str. 26: „.....ze względu na zmianę barwy przetwornika optycznego wraz ze wzrostem pH.”, czy też „Jako przetwornik optyczny wykorzystano kwas pikrynowy”? Doktorantka bardzo często używa określenia „przetwornik optyczny”. Mam zastrzeżenia co do poprawności

stosowania tego terminu. Proszę o podanie definicji pojęcia „przetwornik” w odniesieniu do sensorów i przykładów przetworników optycznych.

- doktorantka nie wspomniała w pracy o innych niż optyczne technikach analitycznych stosowanych do oznaczania (ale też wydzielania i rozdzielania) kationów metali będących przedmiotem badań, a brak porównania wyników otrzymanych w tej pracy z dostępnymi danymi literaturowymi nieco umniejsza wartość tej znakomitej pracy. Proszę Doktorantkę o przygotowanie i przedstawienie podczas publicznej obrony odpowiedniego komentarza;
- Ze względu na to, że (cytuję) „zasadniczym celem pracy było opracowanie nowego typu nanosensorów fluorymetrycznych i wyjaśnienie mechanizmu ich funkcjonowania” proszę doktorantkę o dokładniejsze scharakteryzowanie typowych dla sensorów parametrów pracy otrzymanych układów fluorescencyjnych;
- Tabela 1; str. 17 – wiadomo, że zarówno jony metalu jak i ligand wchodzi niekiedy w uboczne reakcje z różnymi cząsteczkami lub jonami znajdującymi się w roztworze. Jakich stałych trwałości dotyczą wartości  $\log\beta$  w tej tabeli?
- Rys. 73D i 75D – z czego wynika znaczna różnica zakresu skali Absorbancji (0,25 i 0,30 – odpowiednio) w porównaniu z wartością 1,00 w pozostałych przypadkach (Rys. 73 A-C i 75 A-C).

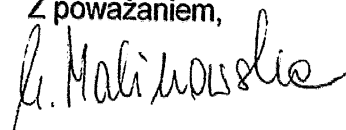
Należy podkreślić, że wyniki badań będących przedmiotem dysertacji stały się podstawą 4 artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) – 3 artykuły ukazały się w czasopiśmie *Analyst* ( $IF_{2016} = 4.033$ ) i 1 w *Analytical Chemistry* ( $IF_{2016} = 5,886$ ). Zatem zostały już wcześniej zweryfikowane pozytywnie przez recenzentów. Ponadto, doktorantka jest współautorem jeszcze jednej publikacji w *Chemical Communication* ( $IF_{2016} = 6,567$ ). Publikacje w tak znakomitych czasopismach dodatkowo potwierdzają aktualność i atrakcyjność tematyki przeprowadzonych badań. Dodać należy, że mgr Katarzyna Kłucińska ma w swoim dorobku także szereg wystąpień konferencyjnych.

Przedstawiona powyżej ocena wskazuje na dojrzałość doktorantki w projektowaniu badań i ocenie wyników doświadczalnych, osiągnięcia publikacyjne dopełniają obrazu młodego człowieka znakomicie realizującego się w pracy badawczej.

#### **Podsumowując:**

W mojej opinii rozprawa doktorska mgr Katarzyna Kłucińska spełnia z nawiązką warunki stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 roku (wraz z późniejszymi poprawkami) podanymi w Ustawie „Prawo o szkolnictwie wyższym”. Niniejszym wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie doktorantki do publicznej dyskusji nad rozprawą. Jednocześnie też wnioskuję o jej wyróżnienie.

Z poważaniem,





**POLITECHNIKA WARSZAWSKA  
WYDZIAŁ CHEMICZNY  
Zakład Mikrobioanalitiky**



**Prof. dr hab. inż. Elżbieta Malinowska, prof. zw. PW**

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: 022-234-5657; fax: 022-234-5631, E-mail: ejmal@ch.pw.edu.pl

Warszawa 2017-06-24

**Wniosek o wyróżnienie  
rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kłucińskiej  
pt: „Micele jako nanosensory fluorymetryczne”**

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Kłucińskiej pt: „Micele jako nanosensory fluorymetryczne” została wykonana w Pracowni Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Recenzowana rozprawa powstała w zespole prof. dr hab. Agaty Michalskiej-Maksymiuk, mającej olbrzymie doświadczenie i znakomity dorobek publikacyjny w zakresie sensorów chemicznych.

Jest to obszerna praca poświęcona zastosowaniu nanostruktur micelaryjnych w oznaczaniu fluorymetrycznym wybranych jonów. Koncepcja pracy bazuje na wykorzystaniu często znanych od dawna reakcji barwnych i/lub reagentów stosowanych w membranach polimerowych klasycznych opt(r)od, ale w nowym środowisku - w układach micelarnych. Pole badawcze wybrane przez Promotorkę i doktorantkę należy do aktualnych, o czym świadczą liczne publikacje z tego zakresu.

W założeniu zagadnienia poruszane w doktoracie mgr Katarzyny Kłucińskiej były ukierunkowane na zaprezentowaniu nowych koncepcji tworzenia układów optycznych i doświadczalnym potwierdzeniu zasad ich działania oraz zbadaniu czynników mających wpływ na efektywność ich funkcjonowania. Recenzowana rozprawa bez wątpienia zawiera wiele elementów nowości naukowej i dostarcza cennych informacji na temat możliwości opracowania nowoczesnych metod analitycznych na bazie układów micelarnych połączonych z detekcją fluorescencyjną. Przedłożona praca wskazuje na dojrzałość doktorantki w projektowaniu badań i ocenie wyników doświadczalnych, a jej dorobek publikacyjny dopełnia obrazu młodego człowieka znakomicie realizującego się w pracy badawczej.

W mojej opinii rozprawa doktorska mgr Katarzyna Kłucińska spełnia z nawiązką warunki stawiane rozprawom doktorskim i zasługuje na wyróżnienie. Silnym argumentem przemawiającym za wyróżnieniem recenzowanej pracy jest dorobek publikacyjny związany z jej realizacją, na który składają się 4 artykuły opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) – 3 artykuły ukazały się w czasopiśmie *Analyst* (IF<sub>2016</sub> = 4,033) i 1 w *Analytical Chemistry* (IF<sub>2016</sub> = 5,886). Ponadto, doktorantka jest współautorem jeszcze jednej publikacji w *Chemical Communication* (IF<sub>2016</sub> = 6,567). Publikacje w tak znakomitych czasopismach dodatkowo potwierdzają aktualność i atrakcyjność tematyki przeprowadzonych badań. Dodać należy, że mgr Katarzyna Kłucińska ma w swoim dorobku także szereg wystąpień konferencyjnych.

Z poważaniem,

*E. Malinowska*