

Kraków, 10 grudnia 2017

### Recenzja pracy doktorskiej

#### *Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)-based detection of ions*

wykonanej przez Pana Piotra Piotrowskiego pod kierunkiem  
Pani Prof. dr hab. Jolanty Boruckiej-Bukowskiej  
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

Recenzowana rozprawa dotyczy spektroskopowej analizy jonów, a więc z jednej strony dotyczy zagadnień ważnych w chemii analitycznej, a z drugiej pokazuje nowe, wręcz nowatorskie, podejście metodyczne do tego typu analiz. Praca opiera się na technice SERS (ang. *Surface-Enhanced Raman Scattering*) i poprzez prowadzone analizy zmierza do pogłębienia wiedzy i zrozumienia fizyki tego zjawiska, oraz czynników wpływających na wzmocnienie efektu, który leży u podstaw techniki. Jak wiadomo bowiem, rozpraszanie ramanowskie jest stosunkowo słabym efektem, ale można poprawić czułość tej metody dzięki lokalnemu wzmocnieniu pola elektromagnetycznego jeżeli badana cząsteczka jest zaadsorbowana do porowatej powierzchni metalu. Metoda ta nazwana spektroskopią powierzchniowo wzmocnionego rozproszenia ramanowskiego (ang. SERS), pozwala na pomiary związków w niskich stężeniach, a nawet stosowana jest do badań pojedynczych cząsteczek. Metodologia SERS rozwijana jest od wielu lat przez Panią Profesor Jolantę Borucką-Bukowską w Pracowni Oddziaływań Międzycząsteczkowych Zakładu Chemii Fizycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, a wyniki tej grupy zostały zauważone i docenione na forum międzynarodowym. Grupa Pani Profesor wykorzystuje SERS do badania różnych układów biologicznych, poszukując odpowiednich reporterów, pokazując nowe zastosowania, ale przede wszystkim dając lepsze zrozumienie mechanizmów adsorpcji związków na powierzchniach metalicznych. W ten nurt badań wpisuje się też praca Pana Mgr Piotra Piotrowskiego, kolejna świetna rozprawa doktorska wykonana pod opieką Pani Profesor.

## OGÓLNA OCENA ROZPRAWY

Recenzowana rozprawa napisana jest w języku angielskim na 143 stronach maszynopisu. Rozpoczyna ją *Streszczenie i Abstrakt*, krótkie *Wprowadzenie*, po czym następuje *Część Teoretyczna* (2 rozdziały) oraz *Wyniki i Dyskusja* (5 rozdziałów). Całość kończą *Konkluzje*, *Lista publikacji Doktoranta* i *Referencje*. Układ pracy wydaje się standardowy, przy czym metodyka pomiarów nie została wyodrębniona jako jeden rozdział jak to zazwyczaj ma miejsce, ale poprzedza każdy z pięciu podrozdziałów części wynikowej.

*Cel pracy* to opracowanie nowych czujników optycznych wykrywających kationy metali i aniony soli nieorganicznych, ze szczególnym uwzględnieniem czujników wykorzystujących nanostruktury metaliczne.

*Część teoretyczna* (rozdział 1 i 2) przedstawia skrótowo, ale konkretnie podstawy zjawiska SERS oraz drugiej stosowanej w pracy metody, *Polarisation Modulation-Infrared Reflection Absorption Spectroscopy* (PM-IRRAS) oraz obecny stan wiedzy na temat optycznych sensorów w analizie jonów.

*Wyniki i dyskusja* to opis eksperymentów testujących sensory optyczne do analizy jonów, nowe nanosubstraty oraz ich zastosowanie. Opisany w pracy nanoczujnik na kationy (rozdział 3) działa w oparciu o widmo SERS anionu 2-merkaptotanosulfonowego (MES) zaabsorbowanego na nanocząsteczkach srebra (Ag-MES). Pasmami markerowymi do oznaczenia analitu (jonów  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ) są dwie składowe przypisane drganiom symetrycznym rozciągającym grup sulfonowych. Doktorantowi udało się tak dopracować metodę, że możliwa była detekcja jonów wapnia przy stężeniu  $10^{-8}$  M. Ponieważ jedno z pasm markerowych zależy od rodzaju oddziałującego jonu to możliwe też było współoznaczenie jonów magnezu i wapnia.

Szczególnie interesujące wydają mi się badania w kierunku zastosowania czujników optycznych nanometrycznych rozmiarów do badania wnętrza komórki (rozdział 4). Jednym z zastosowań mogłoby być oznaczanie pH komórki w kontekście detekcji wczesnych zmian nowotworowych (wg niektórych doniesień pH komórki spada wtedy nawet o 1 jednostkę pH), ale też badanie zaburzeń gospodarki jonów w organizmie.

W rozdziale 5 Doktorant wykazał, że nanocząstki pokryte krzemionką wykazują gorszy limit detekcji kationów, ale jest to rekompensowane podwyższeniem czułości czujnika. Podjął też próbę zastosowania nowych wysokowydajnych nanopodłoży SERS, nanogwiazdek złota pokrytych srebrem oraz magnetycznych nanocząstek janusowych (rozdział 6).

Ostatni problem badawczy podjęty w ramach recenzowanej pracy to analiza anionów z użyciem sensorów, pochodnych 1,8-diamino-3,6-dichlorokarbazolu (rozdział 7). W tych

badaniach oprócz techniki SERS wykorzystano PM-IRRAS, i pokazano, że receptory karbazolowe po adsorpcji na powierzchni zachowują zdolność wiązania jonów  $\text{SO}_4^{2-}$ .

Tym samym Doktorant pokazał w swej pracy szerokie spektrum możliwości techniki SERS (i PM-IRRAS) do detekcji jonów nieorganicznych. Zaletą tej metody jest nieinwazyjność, Doktorant widzi też potencjał w czułości metody, która jak na razie tylko w niektórych przypadkach okazała się obiecująca.

Praca napisana jest poprawnym językiem, lekko, zwięźle, jasno i przejrzysto, starannie pod względem graficznym. Doktorant od pierwszych słów swej pracy prowadzi ciekawą narrację i prowadzi czytelnika poprzez najważniejsze i najciekawsze wyniki, dobrze udokumentowane.

## UWAGI SZEGÓŁOWE

Kilka pytań i drobnych komentarzy, które nasunęły się podczas czytania rozprawy:

1/ Praca napisana jest ładnym poprawnym językiem angielskim, poza *Streszczeniem* w języku polskim. Czasem jednak pojawiają się niezbyt zgrabne sformułowania jak np. „optyczny charakter pracy” (str. 8).

2/ Rysunki często oddalone są znacznie od tekstu gdzie są opisywane (np. rys. 19, 20 itp.). Staranniejsza redakcja pracy ułatwiłaby lekturę pracy.

3/ Czym różnią się rysunki, z rozdzielczością 100nm, pokazane na str. 78? Dlaczego Autor zdecydował się pokazać ich aż pięć?

4/ Jakie jest przypisanie pasma 700-800 nm na widmie UV-vis (str. 15)? Autor podaje, że jest to dowód agregacji nanocząstek obserwowanej gdy rośnie w otoczeniu stężenie kationów. Prosiłabym o bliższe wyjaśnienie.

5/ Zasadnicza część pracy to oznaczenia ilościowe kationów. Autor szczegółowo podaje jakie zmiany/fluktuacje na widmach należy wziąć pod uwagę by analizy wykonać prawidłowo i wskazuje stosunek intensywności pasm  $I_1/I_2$  jako „wewnętrzną normalizację sygnału analitycznego”. Czy poprawnym byłoby też sformułowanie, że stosunek tych pasm jest „markerem oznaczanych zmian ilościowych”? W spektroskopii normalizacji używamy jako wzorca, pewnej stałej wartości integralnej dla wszystkich zmierzonych widm. Na rys. 14. widać jak bardzo zmienia się stosunek  $I_1/I_2$  i trudno mi zrozumieć, jak można znormalizować wszystkie widma do zmieniającego się stosunku pasm? Choć rozumiem ideę tych analiz to zastanawia mnie poprawność sformułowania: „wewnętrzna normalizacja sygnału analitycznego”.

6/ W części dotyczącej wewnątrzkomórkowych analiz z użyciem SERS wykorzystano kilka linii komórkowych. W metodyce (str. 65) podano nazwę linii HUVEC, bez opisu tej

linii. Przy opisie badań cytotoksycznych (str. 65) brak jest informacji jakie linie komórkowe wykorzystano. Później podano wyniki dla 3 linii komórkowych (HeLa, CHO.K1, HUVEC), przy czym poddane one były różnym testom/analizom. Skąd taka różnorodność linii i niespójność w podejściu do ich analizy? Być może jest to tylko moje mylne wrażenie, proszę o komentarz.

7/ Jak wyznaczono stężenie jonów  $K^+$  w analizach, o których mowa w moim pytaniu nr 6, opisanych na str. 72 pracy?

## PODSUMOWANIE

Rozprawę oceniam bardzo wysoko i uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska Pana Piotra Piotrowskiego spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Podejście metodyczne zastosowane w pracy jest nowatorskie, oparte na najnowszej wiedzy i wykracza poza standardowe techniki. Ograniczeniem takiego podejścia jest wieloetapowość (uzyskanie odpowiednich nanocząstek, doczepienie reportera, kontrola jakości układu, która może być wykonana tylko przez doświadczonego badacza) i taka optymalizacja procedury by mgła być wykorzystywana rutynowo. Do tego dochodzi analiza wyników wymagająca znajomości metod analitycznych. Te wszystkie umiejętności Pan Piotr posiadał i bardzo dobrze wykorzystał w prowadzonych badaniach.

Wnoszę o wyróżnienie pracy.

Praca pokazuje nowatorskie podejście metodyczne w analizie jonów. Została starannie zaplanowana, badania były systematycznie prowadzone, szczegółowo i poprawnie przeanalizowane i przedyskutowane. Doktorant miał świadomość potencjalnych błędów/artefaktów, które należy kontrolować i w miarę możliwości eliminować. Pokazuje to Jego dojrzałość badawczą, ale też zasługuje na podkreślenie jako element wyróżniający tę pracę. Dodatkowo należy podkreślić dorobek publikacyjny Doktoranta. Wg zamieszczonego zestawienia to 3 bardzo dobre publikacje (*J Phys Chem C, Sensors and Actuators B: Chemical, Analyst*) i rozdział w książce (*Springer*), z zakresu rozprawy doktorskiej, oraz 1 praca spoza tej tematyki.

Podsumowując, uważam, że złożona rozprawa spełnia w pełni wymagania stawiane pracom doktorskim określone w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora*, wnoszę o jej wyróżnienie i wnioskuje o dopuszczenie Pana Piotra Piotrowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

M. Bawajda