



dr hab. inż. Łukasz Górski

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: 022-234-7921; fax: 022-234-5631, e-mail: lukegor@ch.pw.edu.pl

Warszawa, 2019-01-03

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak

pt: *„Przepływowe detektory optoelektroniczne do oznaczania jonów fosforanowych i ich zastosowania analityczne”*

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak pt. *„Przepływowe detektory optoelektroniczne do oznaczania jonów fosforanowych i ich zastosowania analityczne”* wykonana została na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, funkcję promotora pełni prof. dr hab. Robert Koncki.

Miniaturyzacja jest obecnie ważną strategią w rozwoju wielu dziedzin nauki i technologii. Głównymi zaletami miniaturyzacji w chemii analitycznej są: niskie zużycie odczynników i materiałów, możliwość analizy małych próbek, zmniejszenie kosztów oraz możliwość integracji miniaturowych modułów. Postęp w tej dziedzinie jest możliwy głównie dzięki rozwojowi elektroniki oraz technologii materiałowych. Miniaturowe urządzenia analityczne znajdują obecnie zastosowanie we wszystkich dziedzinach chemii analitycznej. Należy podkreślić, że szczególnie analityka kliniczna wymaga doskonale zaprojektowanych i funkcjonujących narzędzi, bowiem niejednokrotnie od wyniku analizy zależy ludzkie zdrowie i życie. Innym ważnym obszarem zastosowań jest analiza środowiskowa, gdzie ważna jest mała produkcja odpadów i możliwość automatyzacji. Przedłożona mi do recenzji praca doktorska dotyczy opracowania miniaturowych, optoelektronicznych detektorów jonów fosforanowych i wapniowych oraz ich zastosowania w szeregu miniaturowych urządzeń analitycznych, przeznaczonych do analizy próbek środowiskowych i klinicznych, przez co znakomicie wpisuje się w aktualne trendy badawcze.

W dalszej części recenzji przedstawię moją opinię dotyczącą zarówno strony redakcyjnej, jak i wartości merytorycznej pracy doktorskiej mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak.

Ocena układu, języka oraz opracowania redakcyjnego rozprawy

Praca doktorska ma układ klasyczny, rozpoczyna się bowiem wstępem literaturowym, opisującym rolę jonów fosforanowych w organizmach żywych, środowisku naturalnym oraz w żywności, metody oznaczania jonów fosforanowych oraz zastosowanie detektorów optoelektronicznych w chemii analitycznej. W dalszej kolejności następuje przedstawienie celu i planu pracy oraz opis aparatury i odczynników. Rozdziały 7 - 12 stanowią zasadniczą część pracy, opisując poszczególne projekty badawcze realizowane przez Doktorantkę. Pracę zamykają: podsumowanie, wykaz dorobku naukowego Doktorantki, obszerny (zawierający 189 pozycji) spis cytowanej literatury oraz, umieszczone w nietypowym miejscu, podsumowanie w języku angielskim.

Informacje zawarte w części literaturowej pracy w bardzo dobry sposób wprowadzają czytelnika w tematykę pracy. Doktorantka przedstawiła jedynie zagadnienia istotne dla rozprawy, co pozwoliło ograniczyć tę część pracy do rozsądnych 36 stron. W pracy brak jest właściwie części eksperymentalnej, wymienione są jedynie stosowane: aparatura, akcesoria i odczynniki. Bardziej szczegółowe opisy wykonanych detektorów, sposobów prowadzenia pomiarów oraz bardzo przejrzyste schematy układów przepływowych są natomiast zawarte w rozdziałach przedstawiających wyniki badań. Choć taki układ może uchodzić za niekonsekwentny, jest on wygodny dla czytelnika i nie utrudnia śledzenia sposobu prowadzenia eksperymentów. Praca napisana jest poprawnym językiem a ilość literówek, skrótów myślowych oraz błędów językowych jest bardzo niewielka.

Ocena merytoryczna rozprawy

Pierwszym projektem opisanym w recenzowanej rozprawie było opracowanie czterodiodowego detektora optoelektronicznego, przeznaczonego do fotometrycznego i fluorymetrycznego oznaczania jonów fosforanowych. Urządzenie to testowano w układzie do analizy przepływowo-wstrzykowej, zbadane zostały jego podstawowe parametry pracy i zoptymalizowane warunki pomiarowe w obu trybach pomiarowych. Oznaczenie jonów fosforanowych w kilku rodzajach napojów typu "cola" oraz sokach owocowych zakończyło się sukcesem, choć brak jest porównania otrzymanych wyników z techniką odniesienia. Rozdział ten jest o tyle ważny, że opisany detektor, lub jego zmodyfikowane wersje, stosowane były w kolejnych projektach.

Następnym projektem zrealizowanym przez Doktorantkę było zastosowanie opracowanych wcześniej detektorów, poddanych pewnym modyfikacjom, do monitorowania usuwania jonów fosforanowych w trakcie hemodializy. Rozdział ten zaczyna się krótkim wstępem uzasadniającym podjęcie badań w tej tematyce. Następnie szczegółowo opisano stosowany detektor oraz przepływowy układ pomiarowy, przedstawiono także optymalizację procedury pomiarowej oraz kalibracji. Potwierdzono możliwość prowadzenia analizy zarówno w trybie fotometrycznym, jak i fluorymetrycznym, przy czym stwierdzono, że ten pierwszy jest lepiej dostosowany do stężenia analitu w badanych próbkach. Projekt ten uwzględnia kilka zastosowań analitycznych opracowanego układu; pierwszym z nich jest badanie próbek pochodzących z symulatora sztucznej nerki. Po wykazaniu, że możliwe jest wyznaczenie profili wymywania fosforanów w tym modelowym układzie, przystąpiono do analizy próbek płynu poddializacyjnego pochodzącego od pacjentów leczonych w Szpitalu Klinicznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Na podkreślenie zasługuje skrupulatność prowadzonych przez Doktorantkę badań, porównywanie otrzymanych wyników z dwiema metodami referencyjnymi oraz przeprowadzenie

badania dla dość dużej grupy pacjentów. Projekt ten niewątpliwie zakończył się sukcesem, a sposób jego realizacji przez doktorantkę oceniam bardzo wysoko.

Następny projekt, którego realizacji podjęła się Doktorantka, dotyczył również analizy klinicznej. Tym razem opracowany został układ do jednoczesnego oznaczania poziomu jonów fosforanowych oraz wapniowych w surowicy krwi. We wstępie uzasadniono potrzebę tego typu pomiarów możliwymi powikłaniami sercowo-naczyniowymi w przypadku niefizjologicznego poziomu wymienionych jonów. Opisane zostały też detektory, przy czym konieczne było opracowanie nowego detektora do oznaczania Ca^{2+} . Następnie zbudowano układ przepływowy i przeprowadzono optymalizację jego parametrów pracy i wykonano kalibrację z zastosowaniem wzorców pojedynczych i podwójnych. Opracowany układ zastosowano najpierw do analizy surowic kontrolnych. Konieczne było rozcieńczanie próbek, aby ograniczyć wpływ białek na wynik analizy. Po uzyskaniu prawidłowych wyników dla próbek dostępnych komercyjnie, Doktorantka przeprowadziła analizę 28 próbek, pochodzących od pacjentów Szpitala Klinicznego WUM. Prawidłowość otrzymanych wyników potwierdzona została przez porównanie z analizą wykonaną w laboratorium klinicznym. Otrzymane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że nieprawidłowe jest powszechne założenie o ścisłym powiązaniu niefizjologicznego poziomu jonów fosforanowych i wapniowych. Tak więc zastosowanie opracowanego układu w praktyce klinicznej byłoby ze wszech miar uzasadnione.

Kolejnym zastosowaniem detektora jonów fosforanowych, zaproponowanym przez Doktorantkę, jest system przepływowy do oznaczania aktywności fosfatazy alkalicznej. Nieprawidłowa aktywność tego enzymu jest często obserwowana u osób poddawanych hemodializie, tak więc można uznać te badania za kontynuację poprzedniego projektu. W trakcie pomiarów zoptymalizowano działanie układów z detekcją fotometryczną oraz fluorometryczną. Zaproponowano także zastosowanie monofluorofosforanu sodu jako taniego zamiennika częściej używanego substratu - fosforanu p-nitrofenylu. Ponownie przetestowano działanie opracowanych systemów poprzez analizę aktywności fosfatazy alkalicznej w trzech próbkach surowic dostępnych komercyjnie oraz w pięciu próbkach surowicy pochodzących od pacjentów Szpitala WUM. Zgodność wyników analiz przeprowadzonych przez Doktorantkę oraz laboratorium przyszpitalne potwierdziły prawidłowość opracowania technologicznego.

W kolejnym projekcie Doktorantka postanowiła zmienić obszar zainteresowań i zająć się analityką środowiskową. Badania dotyczyły oznaczania jonów fosforanowych w próbkach gleb i były one realizowane we współpracy z Uniwersytetem Balearów. Problem ten ma duże znaczenie zarówno z punktu widzenia oceny żyzności gleby, jak i dla ochrony środowiska przed przenawożeniem. Opracowany system był dość złożony, bowiem oprócz detektora fluorometrycznego w jego skład wchodził moduł ekstrakcyjny, w którym możliwe było przeprowadzenie wieloetapowego wydzielania fosforanów z próbki gleby. System zostało zoptymalizowany i przetestowany, dużo uwagi poświęcono usunięciu interferencji ze strony jonów krzemianowych. Dzięki korzystnym parametrom pracy możliwe było śledzenie kinetyki wymywania fosforanów z gleby, a cała analiza przebiegała bardzo szybko. Analiza próbek rzeczywistych: materiału referencyjnego (gleba z Montany) oraz gleby rolnej z Majorki potwierdziła użyteczność opracowanego systemu.

W ostatnim projekcie Doktorantka podeszła w nowatorski sposób do projektowania układów przepływowych, proponując wykorzystanie bibuły filtracyjnej jako podłoża, a więc tworząc system Lab-on-Paper przeznaczony do jednoczesnego oznaczania jonów fosforanowych i wapniowych. Jest to więc przeniesienie opracowanego już wcześniej przez Doktorantkę układu przepływowego

"klasycznego" na całkowicie nową architekturę. Niewątpliwymi zaletami tego typu systemów jest prostota i szybkość pomiarów oraz niski koszt wykonania. Zbadana została możliwość pomiarów w trybie odbiciowym i transmisyjnym oraz zastosowania fotometrii oraz fluorymetrii. Przeprowadzono próby zarówno dla świeżo przygotowanych pasków, jak i dla przechowywanych przez pewien czas. Działanie zoptymalizowanego systemu zostało przetestowane na próbkach surowicy kontrolnej oraz pobranej od pacjentów. Zgodność otrzymanych wyników z wartościami deklarowanymi przez laboratorium kliniczne świadczy o poprawności działania układu proponowanego przez Doktorantkę. Podjęto także wstępne próby analizy pełnej krwi, co zakończyło się powodzeniem dla jonów wapnia, natomiast dalszej pracy wymaga kwestia oznaczania fosforanów. Należy stwierdzić, że koncepcja Lab-on-Paper, zaproponowana przez Doktorantkę, jest niewątpliwie przyszłościowa i warta dalszego rozwijania.

Podsumowując, należy stwierdzić, że recenzowana rozprawa doktorska ma bardzo duży aspekt praktyczny. Opracowano kilka sensorów optoelektronicznych oraz urządzeń analitycznych, a ich prawidłowe działanie potwierdzono przez porównanie wyników otrzymanych z ich wykorzystaniem z innymi technikami analitycznymi, przy czym analizowano zarówno próbki sztuczne, jak i rzeczywiste. Autorka wykazała się bardzo dużym talentem konstruktorskim, projektując i budując skomplikowane systemy pomiarowe.

Jakość wykonanych przez mgr Martę Fiedoruk-Pogrebniak badań oraz sposób ich opisu oceniam bardzo wysoko. Jednakże, na recenzencie ciąży także obowiązek wytknięcia Autorce niedociągnięć pracy. Dlatego też poniżej wymieniam swoje uwagi do niniejszej rozprawy prosząc, aby Doktorantka w czasie obrony rozprawy ustosunkowała się do następujących kwestii:

- str. 8: "Metody przepływowe zapewniają (...) zmniejszenie zużycia reagentów oraz próbek, jak również ograniczenie produkcji odpadów...". Czy jest to cecha układów przepływowych, czy może efekt miniaturyzacji w chemii analitycznej, niezależnie od trybu prowadzenia pomiarów?
- str. 32: "...jony te w roztworach wodnych charakteryzują się dużą entalpią..." O jaką entalpię chodzi i jaki jest jej wpływ na możliwość potencjometrycznego oznaczania jonów (np. fosforanowych)?
- str. 32, "...tworzenia pary jonowej pomiędzy oznaczanym jonem a jonoforem". Czy istotnie między jonem i jonoforem tworzą się kompleksy o charakterze par jonowych? A co w przypadku jonoforów obojętnych elektrycznie?
- str. 49. "...reakcja powstawania błękitu molibdenowego ma charakter kinetyczny...". Każda reakcja ma określoną kinetykę, prosiłbym Doktorantkę o uściślenie tego stwierdzenia.

Poniżej wymieniam drobniejsze uwagi do rozprawy:

- Doktorantka stosuje (prawie) konsekwentnie nieprawidłowy zapis nazw związków chemicznych w systemie Stocka: między nazwą pierwiastka a jego stopniem utlenienia nie powinno być spacji (np. kwas siarkowy (VI)); powinno być: kwas siarkowy(VI)).
- str. 24: Tabela 5 byłaby znacznie bardziej czytelna, gdyby w kolumnach LOD i Zakres liniowy były takie same jednostki dla wszystkich podawanych przykładów. Szczególnie problematyczna jest obecność w tabeli zarówno stężeń molowych, jak i masowych.

- str. 32: "Podstawą oznaczenia jest rozproszenie światła padającego na próbkę (dokładniej na cząsteczkach zawieszonych w roztworze)...". Myślę, że rozproszenie zachodzi raczej na zawieszonych cząstkach.
- str. 37: Umieszczenie ASA w rozdziale poświęconym technikom rozdzielczym to chyba nienajlepszy pomysł.

Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę w ramach recenzowanej rozprawy zostały opublikowane w 8 artykułach z listy JCR, przy czym należy zwrócić uwagę na wysoką rangę czasopism, w których ukazały się te publikacje ($\Sigma_{IF}=33,962$). Ulubionym czasopismem mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak jest niewątpliwie *Talanta* (6 publikacji), pismo publikujące najczęściej artykuły dotyczące metod o dużym znaczeniu praktycznym. Na uwagę zasługuje także prowadzenie przez Doktorantkę współpracy ze Szpitalem Klinicznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Uniwersytetem Balearów w Hiszpanii.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak spełnia 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*" i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie doktorantki do publicznej dyskusji nad rozprawą. Ponadto wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Marty Fiedoruk-Pogrebniak, co uzasadniam w osobnym dokumencie.

Z poważaniem,

