



AGH

**AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE**

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

KATEDRA CHEMII ANALITYCZNEJ I BIOCHEMII

Prof. dr hab. inż. Bogusław Baś

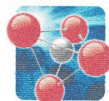
Kraków, dn. 14.06.2021r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Kamili Morawskiej pt.
„Wykorzystanie technik woltamperometrycznych w elektroanalizie
i badaniach interakcji DNA”**

Recenzowana praca doktorska została wykonana pod opieką naukową prof. dr hab. Witolda Ciesielskiego i dr Sylwii Smarzewskiej jako promotora pomocniczego, w Zakładzie Analizy Instrumentalnej w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Zespół, w którym Doktorantka realizowała badania naukowe i przygotowała dysertację to dobrze rozpoznawalna i uznana grupa badaczy zajmująca się między innymi projektowaniem i wytwarzaniem innowacyjnych czujników woltamperometrycznych, a także ich aplikacją w elektroanalizie chemicznej. Praca mgr Kamili Morawskiej obejmuje dwa fundamentalne zadania badawcze, tj. opracowanie i validację oryginalnych procedur woltamperometrycznego oznaczania takich analitów jak, naturalny antyoksydant (*sezamol*), lek przeciwpadaczkowy (*lamotrygina*), herbicyd (*laktofen*) i insektycyd (*metoksyfenozyd*) oraz dogłębne studia interakcji ww. pestycydów i leku z jedno- i dwuniciowym kwasem deoksyrybonukleinowym (DNA). Odpowiednio niskie progi detekcji, czułość, korzystny stosunek sygnału do szumu i niski wpływ matrycy na rejestrowany sygnał Doktorantka osiągnęła optymalizując wszystkie etapy procesu, począwszy od wyboru czujnika, techniki i parametrów rejestracji woltamogramów, przygotowania próbki, interpretacji danych po kryteria validacji. W mojej opinii, praca ma duży potencjał aplikacyjny dlatego doceniam fakt, że wszystkie proponowane procedury zostały rzetelnie udokumentowane i skomentowane. Uważam, że podjęta tematyka badawcza doskonale nawiązuje do aktualnych i przyszłościowych kierunków rozwoju współczesnej chemii analitycznej.

Praca doktorska Pani mgr Kamili Morawskiej została przedłożona jako spójny cykl czterech artykułów naukowych, opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy *Journal Citation Reports* ($\Sigma IF_{2019} = 17.379$, średni $IF = 4.345$), który poprzedza krótkie, 30-stronicowe wprowadzenie i uzasadnienie celowości podjętych badań. Spis literatury obejmuje artykuły naukowe i monografie głównie z ostatnich kilku lat. Z satysfakcją stwierdzam, że Doktorantka dokonała właściwego wyboru, a podjęta polemika potwierdza umiejętność krytycznej analizy dostępnej wiedzy.

W dysertacji Doktorantka zamieściła przedruki artykułów, które stanowią podstawę Jej dysertacji i ukazały się w następujących czasopismach: *Bioelectrochemistry* ($IF_{2019} = 4.722$, 1 praca), *Electroanalysis* ($IF_{2019} = 2.544$, 1 praca), *Food Chemistry* ($IF_{2019} = 6.306$, 1 praca) oraz *Journal of Electroanalytical Chemistry* ($IF_{2019} = 3.807$, 1 praca).



WIMiC

**Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Chemii Analitycznej i Biochemii**
al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,
tel. +48 12 617 2529, +48 12 617 2473, kom. 604 616 574
e-mail: bas@agh.edu.pl, www.agh.edu.pl, www.galaxy.uci.agh.edu.pl/~kca/

Stwierdzam, że cykl ten jest zbiorem ściśle tematycznie powiązanych prac, co stanowi wymóg Ustawy. Oprócz artykułów wymienionych w dysertacji Doktorantka jest także współautorem 3 innych publikacji w czasopismach indeksowanych w bazie JCR ($\Sigma IF_{2019} = 13.919$), 1 artykułu w przygotowaniu, 6 rozdziałów w recenzowanych monografiach i 1 opublikowanej pracy w materiałach pokonferencyjnych.

Artykuły stanowiące podstawę doktoratu mgr Kamili Morawskiej są wieloautorskie dlatego do dysertacji dołączono stosowne oświadczenia o procentowym udziale wnoszonym przez poszczególnych współtwórców. Oświadczenia te jednoznacznie wskazują na wiodącą rolę Doktorantki w ich przygotowaniu. W trzech artykułach jest pierwszym i korespondencyjnym autorem, w jednym była zaangażowana na każdym z etapów jego powstawania.

Bardzo wysoko oceniam aktywność Doktorantki w zakresie popularyzacji własnych wyników badań o czym świadczy liczba wygłoszonych komunikatów ustnych na konferencjach krajowych (5) i międzynarodowych (9), a także 11 prezentowanych posterów. Była wykonawcą jednego projektu, tj. Grantu dla Młodych Naukowców UŁ w 2018 r. (Projekt: B1811100001859.02 „*Innowacyjne techniki instrumentalne odpowiedzi na potrzeby współczesnej analizy chemicznej*”). W ramach programu CEEPUS (CIII-RO-1111-02-1718) odbyła 2 staże naukowe na Transilvania University of Brasov, Romania (10.05-31.05.2018 i 24.08-09.09.2018). Ukończyła 2 szkolenia naukowe, w Rumunii (4 dni) i na Węgrzech (5 dni). Na uwagę zasługuje działalność dydaktyczna Doktorantki, mianowicie w okresie 2018-2020 r. prowadziła samodzielnie zajęcia na czterech kierunkach kształcenia, w ramach czterech różnych przedmiotów i współuczestniczyła w realizacji jednego przedmiotu. Działalność organizacyjna obejmuje prace na rzecz komitetów organizacyjnych czterech ogólnopolskich konferencji i sympozjów doktorantów i studentów chemii, ponadto pełniła funkcji sekretarza w Sądzie Koleżeńskim Doktorantów UŁ i w Wydziałowej Radzie Samorządu Doktorantów WCh UŁ. Wybitne zdolności do zgłębiania problemów naukowych znajdują odzwierciedlenie w przyznanych Jej licznych wyróżnieniach i nagrodach, i tak z wyróżnieniem ukończyła studia na Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (2015) i dwa lata później indywidualne studia na WCh UŁ zwieńczone *Medalem za Chlubne Studia*. Otrzymała także jedną nagrodę I stopnia, cztery stypendia dla najlepszych doktorantów z dotacją jakościową od Rektora UŁ, dwie nagrody I i II stopnia Dziekana WCh UŁ, a także nagrody im. „*Profesora Romualda Skowrońskiego*” i *Metrohm Young Chemist Award 2018* za najlepszą pracę magisterską.

Bardzo przychylnie odnoszę się do treści przedłożonej rozprawy. Materiał przedstawiony w części wprowadzającej dowodzi spełnienia wymagań Ustawy w zakresie rozeznania literatury i opanowania odpowiedniego zakresu wiedzy w reprezentowanej dyscyplinie nauki.

Znaczenie podjętej tematyki

Jak słusznie zauważa Doktorantka w roku 2015, w bazie *Chemical Abstract System (CAS)* zarejestrowanych było ok. 100 mln substancji chemicznych, dziś ich liczba przekracza 176 mln. Wiele z nich to substancje toksyczne, mutagenne lub kancerogenne. Stąd przeważająca liczba aktualnych doniesień literaturowych dotyczy instrumentalnych metod ich wykrywania i oznaczania, bardzo różnych pod względem stosowanej aparatury, ponoszonych kosztów i jakości uzyskiwanych wyników. Kluczową rolę przypisuje się voltamperometrii, którą oprócz szeregu zalet analitycznych

oferuje duże możliwości studiowania procesów elektrodowych i interakcji substancji biologicznie czynnych z DNA itp. W tym kontekście badania Pani mgr Kamili Morawskiej należy uznać za oryginalne, inspirujące i dobrze wpisane w aktualny kierunek rozwoju elektroanalizy chemicznej i współczesnej strategii monitorowania środowiska.

Osiągnięcia pracy

Opiniując dysertację Pani mgr Kamili Morawskiej ocenie poddałem zarówno stawiane hipotezy jak i zakres przedsięwziętych badań, szczegółowej analizie poddałem uzyskane wyniki jak i sformułowane na ich podstawie wnioski. Skrupulatnie oceniłem te artykuły, które Doktorantka wskazała jako stanowiące podstawę Jej dysertacji doktorskiej. Do najważniejszych osiągnięć mgr Kamili Morawskiej, które bez wątpienia stanowią elementy nowości naukowej zaliczam:

- 1) Opracowanie i zwalidowanie trzech oryginalnych metod woltamperometrycznego oznaczania sezamolu (*Sez*), laktofenu (*Lct*) i metoksyfenozydu (*Met*) w olejach, sokach i próbkach wód na poziomie detekcji zbliżonym do metod chromatograficznych, co ważne bez wstępnego etapu przygotowania próbek w przypadku pestycydów.
- 2) Wyjaśnienie mechanizmów reakcji elektrotleniania względnie elektroredukcji ww. analitów na elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem (BDDE), z węgla szklanego (GCE) i odnawialnej elektrodzie błonkowej (Hg(Ag)FE).
- 3) Innowacyjne zastosowanie woltamperometrii cyklicznej (CV) i fali prostokątnej (SWV) dla wyjaśnienia interakcji pomiędzy *lamotryginą* (*Lmt*) a jedno- (ssDNA) i dwuniciowym kwasem deoksyrybonukleinowym (dsDNA) oraz *laktofenem* i *metoksyfenozydem* a dsDNA.
- 4) Oszacowanie stałych wiązania kompleksów *Lmt*-ssDNA, *Lmt*-dsDNA oraz *Met*-dsDNA w oparciu o woltamogramy SW i komparatywne metody spektroskopowe.
- 5) Wyjaśnienie charakteru oddziaływania *Lct*-dsDNA i wskazanie możliwości pośredniego, oznaczania dwuniciowego DNA na podstawie sygnału elektroredukcji laktofenu.
- 6) Przeprowadzenie pionierskich badań wpływu siły jonowej na interkalacyjne i elektrostatyczne oddziaływania pomiędzy *lamotryginą* a ss/dsDNA i *metoksyfenozydem* a dsDNA.

Ocena końcowa

Praca doktorska Pani mgr Kamili Morawskiej wnosi istotny wkład do dziedziny elektrochemii i elektroanalizy substancji biologicznie czynnych (*sbc*). Posiada szereg walorów poznawczych, związanych z propozycją zastosowania woltamperometrii w analizie interakcji *sbc*-DNA. Jej aspekt praktyczny to nowo opracowane i zwalidowane procedury oznaczania ww. analitów w lekach, olejach, sokach oraz wodach powierzchniowych i wodzie wodociągowej.

Analizując rezultaty badań Doktorantki, należy zwrócić uwagę na bardzo duży wkład pracy własnej na każdym etapie przygotowania dysertacji. Recenzując pracę doktorską Pani dr Natalii Festinger wspomniałem już, że takie podejście do zgłębiania problemu jest elementem, który wyróżnia prace doktorskie realizowane w łódzkiej szkole elektrochemii, z jej mentorem Profesorem Witoldem Ciesielskim, wybitnym znawcą elektrochemii i elektroanalizy chemicznej.

Pani mgr Kamila Morawska jest współautorem 7 artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy JCR. Sumaryczny IF₂₀₁₉ tych prac to 31.298, łączna liczba punktów MNiSW to 740. Prace te do dnia złożenia dysertacji były cytowane 20 razy, w dniu sporządzenia recenzji już 25 razy (bez autocytowań) wg Scopus. Wszechstronne umiejętności prezentowania i dyskusowania wyników miałem okazję śledzić w trakcie wygłaszanego przez Doktorantkę komunikatu na XVII Konferencji z cyklu „Elektroanaliza w teorii i praktyce” 19-20.11.2020 r. w Krakowie, organizowanej przez Zespół Elektroanalizy Komitetu Chemii Analitycznej PAN.

Uwagi i komentarze do pracy

Recenzowanie dysertacji opartej na spójnym cyklu publikacji to wyjątkowo komfortowa sytuacja dla recenzenta, gdyż prezentowane wyniki, ich interpretacja, dyskusja i formułowane wnioski były już przedmiotem wnikliwej oceny innych, kompetentnych osób i środowiska naukowego. Nie mniej z obowiązku recenzenta wskazuję kilka polemicznych punktów licząc na uzyskanie odpowiedzi oraz ich wyjaśnienie w trakcie publicznej obrony:

- 1) Strona 24. „W przypadku uzyskania liniowej zależności natężenia prądu pikowego od wartości pierwiastka z szybkości skanowania ($v^{1/2}$) ($I_p = f(v^{1/2})$) uważa się, że etapem limitującym w badanym mechanizmie jest proces dyfuzji ..” Proszę o sprostowanie tej informacji, gdyż zależność ta ma uzasadnienie w równaniu Randlesa-Ševčika, dla układów odwracalnych.
- 2) Tabela 5. Podane wartości wyrazów wolnych w równaniach prostych regresji wymagają korekty liczby cyfr znaczących, w spójności z podaną wartością współczynników nachylenia.
- 3) Strona 26. „Obserwowane obniżenie wartości natężenia prądu pikowego badanego związku, po dodatku DNA, z dużym prawdopodobieństwem wynika z przyłączenia dużej, wolno dyfundującej cząsteczki DNA do analitu. Powinno to skutkować znaczącym spadkiem współczynnika dyfuzji (D_f).” Na podstawie analizy woltamogramów CV z Rys. 6 (*Electroanalysis* 2018, 30, 94-100), Autorzy wnioskowali o tworzeniu się kompleksu *laktofenu* z dsDNA. W mojej opinii, tak wyraźne obniżenie prądu szczątkowego elektrody i „zbliżenia się” przebiegu katodowego do anodowego, po dodatku DNA do roztworu, świadczy o adsorpcji DNA na elektrodzie, czemu towarzyszy obniżenie prądu pojemnościowego, głównej składowej prądu szczątkowego. Co oczywiście nie wyklucza tworzenia kompleksu *Lct*-dsDNA, o czym może świadczyć nieznaczne obniżenie prądu pikowego redukcji *Lct*. Takich wątpliwości nie budzi proponowany schemat tworzenia kompleksu *Lmt* z DNA, gdyż na Rys. 4 (*Bioelectrochemistry* 2020, 136, 107630) nie obserwuje się spadku prądu szczątkowego a jedynie spadek prądu pikowego utleniania *Lmt*.
- 4) Tabela 6. Współczynnik dyfuzji dla *Lmt*-ssDNA jest wyraźnie mniejszy niż współczynnik dyfuzji dla *Lmt*-dsDNA, mimo to heterogeniczna stała szybkości reakcji (k^0) dla kompleksu *Lmt*-ssDNA jest wyższa, jak to wytłumaczyć? Stałe szybkości k^0 szacowano w oparciu o wyznaczone wcześniej wartości D_f , jednak w Tabeli 6 nie podano wartości D_f dla *laktofenu* i *Lct*-dsDNA, a wyznaczono dla nich wartości k^0 – w jaki sposób je wyznaczono?
- 5) Strona 27. „Wartości k^0 umieszczono w tabeli 6. Na ich podstawie można stwierdzić, iż obecność kwasów nukleinowych wpływa na zdolność przenoszenia elektronów przez wszystkie z badanych związków.” Proszę wyjaśnić w jaki sposób obecność DNA wpływa na zdolność przenoszenia elektronów.

- 6) Redakcja pracy jest wyjątkowo staranna i rzetelna z zachowaniem wszelkich zasad poprawnej polszczyzny. Doszukałem się tylko kilku niezręczności, jak „... chemia analityczna odgrywa niezwykle ważną rolę ... jej znaczenie będzie, niestety, dynamicznie rosnąć.”; „szkodliwych gatunków motyli”; „znalezienie optymalnego pH”; „przemiatanie potencjałem”; „analizy urozmaicono”; „oszacowania typu zachodzącej interakcji”.

Reasumując, w odniesieniu do meritum pracy trudno sformułować jakiegokolwiek zastrzeżenia merytoryczne. Sygnalizowane przeze mnie uwagi dotyczą zagadnień znikomej rangi i nie rzutują na moją bardzo wysoką ocenę. Uważam, że praca wnosi szereg nowych informacji do dziedziny zgłębianej wiedzy. Należy podkreślić, iż podjęta tematyka dotyczy bardzo trudnych i złożonych procesów (bio-)elektrochemicznych, których interpretacja wymaga zarówno odpowiedniego zaplecza jak i dobrze ugruntowanej wiedzy i doświadczenia eksperymentatora.

Wniosek końcowy

W mojej ocenie rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie kilku kluczowych problemów analitycznych i badawczych, potwierdza też szeroką interdyscyplinarną wiedzę Doktorantki w reprezentowanej dyscyplinie, a także Jej wybitne umiejętności prowadzenia pracy naukowej. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa mgr Kamili Morawskiej pt. „Wykorzystanie technik voltamperometrycznych w elektroanalizie i badaniach interakcji DNA” **spełnia wszystkie wymagania odpowiednich przepisów prawnych i zwyczajowych stawianych pracom doktorskim i wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Kamili Morawskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Biorąc pod uwagę znaczenie podjętej tematyki, zakres przedsięwziętych badań, ich innowacyjność, którą wyraża współautorstwo siedmiu artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania IF, współautorstwo sześciu rozdziałów w monografiach, a także ich wysoki potencjał naukowy i aplikacyjny, przedkładam Radzie Dyscypliny Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego **wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Kamili Morawskiej.**

Kraków, 14.06.2021r.