



UMCS

Prof. dr hab. Małgorzata Grabarczyk
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii UMCS w Lublinie

Lublin 01.06.2021

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

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska mgr Kamili Morawskiej, zrealizowana pod kierunkiem prof. dr hab. Witolda Ciesielskiego jako promotora i dr Sylwii Smarzewskiej jako promotora pomocniczego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, w Zakładzie Analizy Instrumentalnej.

Celem pracy było opracowanie nowych procedur oznaczania związków biologicznie czynnych metodami woltamperometrycznymi a także zbadanie mechanizmu oddziaływania wybranych związków biologicznie czynnych z DNA. Metody woltamperometryczne są często wykorzystywane do celów analitycznych jak i do wyjaśnienia mechanizmów procesów redukcji lub utleniania oraz ostatnio coraz częściej do ustalenia sposobu oddziaływania związków biologicznie czynnych ze środowiskiem w którym występują. Ta ostatnia tematyka jest bardzo interesująca i jest jednym z problemów rozwiązywanych w tej pracy. Jest to obszar badań, w którym dotychczas wykorzystywane były głównie metody spektroskopowe. Tym niemniej, biorąc pod uwagę stosunkowo niski koszt aparatury wymaganej do pomiarów woltamperometrycznych,



możliwość uzyskiwania niskich granic wykrywalności oraz możliwość miniaturyzacji uważam, że Doktorantka bardzo dobrze dobrała metody badawcze.

W pracy doktorskiej mgr Kamila Morawska zaproponowała nowe procedury oznaczania trzech wybranych związków biologicznie czynnych (takich jak: sezamol, laktofen i metoksyfenozyd) oraz w przypadku trzech związków (takich jak: lamotrygina, laktofen i metoksyfenozyd) zbadano sposób ich oddziaływania z DNA. Taka tematyka pracy jest bardzo interesująca, a uzyskanie pozytywnych wyników może przyczynić się do bardziej powszechnego zastosowania metod woltamperometrycznych w celach wykraczających poza ilościowe oznaczanie związków organicznych i jonów metali.

Ocena formalna i merytoryczna pracy doktorskiej

Rozprawa doktorska magister Kamili Morawskiej została przedstawiona w formie oprawionego maszynopisu obejmującego 38 stron, ze spisem literatury obejmującym 44 pozycje, do którego dołączony został opis sylwetki Doktorantki, publikacje stanowiące podstawę dysertacji oraz oświadczenia współautorów publikacji wraz z opisem zakresu ich udziału w tych publikacjach. W celu bardziej przejrzystego przedstawienia uzyskanych wyników Autoreferat został wzbogacony o 7 tabel, w których zostały zebrane najważniejsze parametry i wyniki przeprowadzonych badań. Użyteczny jest również dodany na początku maszynopisu wykaz używanych skrótów, które ułożone są alfabetycznie, co znacznie ułatwia korzystanie z niego.

W tym miejscu chciałaby zaznaczyć, że recenzowanie pracy doktorskiej opartej na cyklu jednotematycznych publikacji jest dużym ułatwieniem dla recenzenta, gdyż prezentowane wyniki, ich interpretacja, dyskusja i wnioski były już przedmiotem wnikliwej oceny innych, kompetentnych osób z międzynarodowego środowiska naukowego. Szczególnie, że prace opublikowane zostały w wiodących czasopismach chemicznych, takich jak: *Electroanalysis*, *Food Chemistry*, *Bioelectrochemistry* oraz *Journal of Electroanalytical Chemistry*. Są to czasopisma o cyrkulacji międzynarodowej i wysokim współczynniku oddziaływania. W tych czasopismach publikowane są najlepsze prace poświęcone opracowaniu nowych procedur analitycznych jak również prace



dotyczące badania mechanizmu procesów elektrodowych. Sumaryczny IF czterech prac, na których oparta jest dysertacja ma wartość 17,379, co daje średni IF 4,345. Należy podkreślić, że jest to wysoka wartość, świadcząca o tym, że opublikowane artykuły uzyskały wysoką ocenę recenzentów. Tak pozytywna ocena prac świadczy o wysokim poziomie merytorycznym zaplanowanych badań, poprawności ich wykonania i znaczących korzyściach, które mogą być uzyskane przy praktycznym ich wykorzystaniu. W pracach tych opisano nowe procedury oznaczania wybranych związków biologicznie czynnych oraz zbadano sposób oddziaływania wybranych związków z DNA. Opracowując nowe procedury analityczne, poza optymalizacją parametrów pomiarowych, zwrócono uwagę na możliwość wykorzystania tych procedur w analizie próbek rzeczywistych oraz na walidację przeprowadzoną w oparciu o badanie odzysku z próbek naturalnych wzbogaconych znanym dodatkiem oznaczanych związków. Artykuły wchodzące w skład rozprawy są wieloautorskie, ale należy zaznaczyć, że w trzech z nich Doktorantka jest pierwszym autorem, a udział Doktorantki w powstaniu prac zgodnie z oświadczeniami współautorów wynosi odpowiedni 80, 70, 50 i 35%.

W tym miejscu chciałabym jeszcze dodać, że oprócz czterech publikacji stanowiących podstawę ocenianej dysertacji Doktorantka jest również współautorką trzech innych publikacji, z których aż w dwóch jest pierwszym autorem a ich sumaryczna wartość IF wynosi 13,919, co daje średni IF 4,640. Można z tego wnioskować, że Doktorantka jest dobrze przygotowana do dalszej samodzielnej pracy naukowej a jej aktywność naukowa nie ogranicza się tylko do ocenianej dysertacji.

Ocena Autoreferatu

W Autoreferacie, po krótkim wstępie, Doktorantka w zwięzły sposób przedstawiła temat i cel badań, o którym wspominałam już powyżej. Następnie opisane zostały obiekty badań, którymi były cztery związki biologicznie czynne (sezamol, lamotrygina, laktofen i metoksyfenozyd). Dla każdego z nich przedstawiony został wzór strukturalny oraz krótka charakterystyka obejmująca między innymi występowanie, właściwości, mechanizm działania, zastosowanie, wpływ na organizm ludzki i innych organizmów żywych. Przed



przystąpieniem do omówienia uzyskanych wyników Autorka opisała stosowane układy pomiarowe, w których kluczową rolę odgrywała elektroda pracująca. Do pomiarów stosowane były następujące elektrody pracujące: elektrody z węgla szklistego, elektroda diamentowa domieszkowana borem oraz elektroda srebrna z odnawialnym filmem amalgamatu srebra (Hg(Ag)FE). Taki wachlarz diametralnie różnych elektrod pozwolił Doktorantce wybranie najbardziej optymalnych warunków pomiarowych. Również w szerokim zakresie przeprowadzone zostały badania mające na celu dobranie odpowiedniego elektrolitu podstawowego, uwzględniały one zarówno szeroki zakres pH (od kwasowego do zasadowego) jak i jego skład. Najbardziej uniwersalny okazał się bufor Brittona–Robinsona, który został wybrany dla dwóch z czterech analizowanych związków. Kolejne badania miały na celu dobór optymalnych warunków pomiarowych umożliwiających zwiększenie czułości analizy, takich jak amplituda, częstotliwość, krok potencjału a w przypadku zastosowania techniki woltamperometrii fali prostokątnej z zateżaniem (SWSV) również potencjału i czasu zateżania. Opierając się na wynikach przeprowadzonej optymalizacji dla każdej procedury wyznaczona została granica wykrywalności i granica oznaczalności oraz zakres liniowości. Zdecydowanie najniższą granice wykrywalności jak i oznaczalności uzyskano dla oznaczania laktofenu, zarówno stosując technikę woltamperometrii fali prostokątnej bez zateżania (SWV) jak i z zateżaniem (SWSV). W celu potwierdzenia praktycznej możliwości wykorzystania opracowanych procedur przeprowadzono analizę badanych związków w różnorodnych próbkach rzeczywistych, takich jak woda wodociągowa, woda rzeczna, sok winogronowy, uzyskując bardzo dobre wartości odzysków w zakresie od 95,6% do 105%. W przypadku sezamolu analizie poddano próbki oleju sezamowego uzyskując dobrą precyzję oznaczeń.

Kolejne rozdziały Autoreferatu poświęcone zostały zaprezentowaniu selektywności opracowanych procedur oraz elektrochemicznym badaniom dotyczącym procesów zachodzących na elektrodach pracujących, które pozwoliły na stwierdzenie, że we wszystkich przypadkach procesy były nieodwracalne oraz określeniu charakteru



zachodzących procesów elektrodowych, który w trzech przypadkach okazał się dyfuzyjny a w jednym dyfuzyjno-adsorpcyjny.

Na koniec Autoreferatu przedstawione zostały według mnie najciekawsze wyniki dotyczące badania interakcji DNA z trzema z badanych związków, tj. z laktofenem, lamotryginą i metoksyfenozydem. W tym celu oszacowano wartości współczynników dyfuzji D_f w obecności i przy braku obecności DNA, które to wartości potwierdziły w przypadku lamotryginy i metoksyfenozydu powstawanie kompleksów pomiędzy badanymi związkami a DNA. Doktorantka wyznaczając heterogeniczne stałe szybkości reakcji (k^0) stwierdziła, iż obecność kwasów nukleinowych wpływa na zdolność przenoszenia elektronów przez wszystkie z badanych związków. Doktorantka oszacowała również wartości stałych wiązania powstających kompleksów badanych analitów z DNA. Oprócz techniki woltamperometrycznej Autorka przeprowadziła pomiary techniką spektrofotometryczną, potwierdzając w ten sposób poprawność wyznaczonych wielkości. Przeprowadzona została również analiza interakcji oznaczanych analitów z DNA poprzez zbadanie wpływu siły jonowej i wyznaczenie wartości stałej wiązania (K), energii swobodnej Gibbsa oraz liczby koordynacyjnej powstałych kompleksów.

Podsumowując, uważam, że Autoreferat napisany jest logicznie, przejrzysto, i w bardzo zwięzły sposób przekazuje najważniejsze informacje.

Ocena dorobku Doktorantki

Jak już wspominałam dysertacja oparta jest na czterech publikacjach a kolejne trzy stanowią dorobek uzupełniający. Podsumowując, Doktorantka jest autorką siedmiu publikacji a kolejna jest przygotowywana do druku. Sumaryczny IF opublikowanych artykułów wynosi 31,298, co daje średni IF na pracę 4,471. Uważam to za bardzo dobry dorobek, osiągnięty w niecałe cztery lata - prace ukazały się w latach 2018-2021. Natomiast średnia wartość IF - prawie 4,5 - przypadająca na pracę świadczy o bardzo wysokim poziomie prowadzonych badań oraz ich aktualności. Dodatkowo Doktorantka jest współautorką jednej publikacji pokonferencyjnej oraz sześciu rozdziałów w monografiach, w tym jednego rozdziału w j. angielskim wydanego przez wydawnictwo



Elsevier, które jest renomowanym i zarazem jednym z największych światowych wydawnictw naukowych. Doktorantka jest współautorką 14 prezentacji ustnych na konferencjach, z czego aż 9 na konferencjach międzynarodowych oraz 11 razy prezentowała swoje badania w postaci posterów.

Magister Kamila Morawska była wykonawcą w jednym projekcie badawczym oraz brała udział w trzech szkoleniach na Transilvania University of Brasov w Rumunii i w Siófok na Węgrzech oraz odbyła prawie miesięczny staż naukowy na Transilvania University of Brasov w Rumunii w ramach projektu CEEPUS. Doktorantka była też laureatką wielu nagród przyznawanych zarówno na Uniwersytecie Łódzkim jak i poza nim, co potwierdza jej dużą aktywność naukową i wysoki poziom prezentowanych badań. Świadczy o tym również powierzenie jej dwóch recenzji w renomowanym czasopiśmie międzynarodowym, tj. *Journal of Electroanalytical Chemistry*.

Pytania i uwagi

Czytając recenzowaną dysertację nasunęły mi się następujące pytania i uwagi:

- Uważam, że *Wstęp* jest zbyt lakoniczny i zabrakło mi w nim lub w rozdziale dotyczącym *Obiektów badań* bardziej szczegółowych informacji przedstawiających aktualny stan wiedzy w zakresie analizowanych substancji pod kątem procedur ich oznaczania. Takie wiadomości pozwoliłyby czytelnikowi odnieść wyniki badań opisanych w dysertacji do tych dotychczas opisanych w literaturze.
- W tabelach prezentowanych w Autoreferacie zabrakło mi odnośników do prac, w których te dane zostały opublikowane.
- W Tab. 2 moim zdaniem powinna być dodana kolumna z informacją jaką techniką prowadzone były pomiary dla danego związku i wybranej elektrody pracującej. Czy była to technika SWV czy SWSV ? Podobnie w Tab. 3 dla dwóch procedur podano stosowane techniki a w pozostałych czterech przypadkach nie.
- Czy dla poszczególnych badanych związków biologicznie czynnych prowadzone były badania z wykorzystaniem innych elektrod niż te opisane w dysertacji ?



- Czy oprócz stosowanych technik SWSV i SWV Doktorantka podejmowała próby przeprowadzenia oznaczania wybranych związków innymi technikami ?
- Dlaczego do publikacji będących podstawą ocenianej dysertacji nie włączono prac nr 2 i 3 z cyklu publikacji uzupełniających ? Szczególnie, że dotyczą one również interakcji z DNA substancji biologicznie czynnych a Pani mgr Kamila Morawska jest w nich pierwszym autorem.
- Biorąc pod uwagę, że niektóre prezentacje ustne i w formie posterów były wieloautorskie, przydatne byłoby zaznaczenie (np. poprzez podkreślenie osoby prezentującej), które wystąpienia Doktorantka prezentowała osobiście, a w których brała udział tylko w przygotowaniu.

Wniosek końcowy

Przesłaną do recenzji pracę oceniam bardzo wysoko a mgr Karolina Morawska dała się poznać jako doświadczony eksperymentator, umiejący zaprojektować eksperyment i wyciągnąć z otrzymanych rezultatów prawidłowe wnioski. Uważam, że realizacja zamierzonych celów zakończyła się sukcesem, co świadczy o dobrych podstawach naukowych Doktorantki. Zakres badań oraz ich realizacja wskazują na bardzo dobre przygotowanie mgr Karoliny Morawskiej do kontynuowania działalności naukowej. **Tym samym uważam, że praca doktorska pt. „Wykorzystanie technik woltamperometrycznych w elektroanalizie i badaniach interakcji DNA” spełnia wymagania odpowiednich przepisów prawnych i zwyczajowych stawianych pracom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Morawskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Wniosek o wyróżnienie

Biorąc pod uwagę szeroki zakres podjętych badań, aktualność tematyki badawczej oraz przede wszystkim pionierskość prowadzonych badań, potwierdzoną współautorstwem czterech artykułów naukowych, na których opiera się przedstawiona dysertacja, opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy JCR (o średnim IF



przypadającym na pracę 4,345) oraz ze względu na znaczący dorobek naukowy spoza rozprawy doktorskiej wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Kamili Morawskiej.

Małgorzata Grabarczyk

