



UNIwersytet
Opolski

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Oleska 48, 45-052, Opole
tel. 077 452 71 00
fax 077 452 71 01
chemia@uni.opole.pl
www.chemia.uni.opole.pl

Prof. dr hab. inż. Piotr P. Wieczorek
e-mail: Piotr.Wieczorek@uni.opole.pl

Opole, 2021-08-12

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr inż. Marii Elżbiety Guć

zatytułowanej

„Polimery z odciskiem molekularnym oraz układy hybrydowe do oznaczania związków chemicznych z zastosowaniem spektrometrii mas”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Marii Elżbiety Guć została wykonana w na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Schroedera, jako promotora i dr. hab. Michała Cegłowskiego jako promotora pomocniczego. Przedmiotem ocenianej rozprawy doktorskiej są zagadnienia związane z opracowaniem nowych sorbentów z odciskiem molekularnym umożliwiających oznaczanie śladowych ilości zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych.

By skutecznie monitorować obecność i stężenie związków chemicznych w środowisku i w żywych organizmach, niezbędne jest uwzględnienie faktu, że z reguły występują one w niskich stężeniach, poniżej granicy wykrywalności powszechnie stosowanych metod instrumentalnych, co uniemożliwia ich bezpośrednią analizę. Dodatkowym utrudnieniem jest to, że próbki rzeczywiste są złożonym i skomplikowanym materiałem badawczym, w którym często poziom zanieczyszczeń przewyższa stężenie właściwego analitu. Zatem procedura analityczna wymaga odpowiedniego przygotowania próbki przed właściwą analizą, polegającego na wyizolowaniu, oczyszczeniu i wzbogaceniu analizowanej substancji.

Ponieważ stosowane do tej pory metody przygotowywania próbek rzeczywistych (np. ekstrakcja ciecz-ciecz), posiadają szereg wad i ograniczeń (znaczne zużycie rozpuszczalników czy czasochłonność procesu) poszukuje się nowych, lepszych metod lub

modyfikuje się już istniejące. Optymalnym rozwiązaniem jest proces, w którym możliwe jest jednoczesne oczyszczenie, zateżenie i wydzielenie analitów w tym samym czasie, nawet ze skomplikowanych matryc, jakimi są różnego rodzaju próbki rzeczywiste. Polimery z nadrukiem cząsteczkowym, stosowane jako sorbenty w ekstrakcji do fazy stałej, skupiają najkorzystniejsze cechy tradycyjnych technik ekstrakcyjnych takie jak: prostota, wysoka selektywność i stosunkowo niewielkie koszty. Powstające podczas procesu polimeryzacji trójwymiarowe wnęki są komplementarne kształtem, wielkością i rodzajem wiązań względem związku, który został wykorzystany jako cząsteczka wzorcowa. Materiały takie mogą być następnie wielokrotnie używane bez utraty swoich właściwości wiążących i zdolności zapamiętywania. Wysoka selektywność MIPów, określanych jako „syntetyczne receptory” przyczyniła się do coraz powszechniejszego ich wykorzystania nie tylko w technikach ekstrakcyjnych, choć w tym obszarze stosowane są zdecydowanie najczęściej, ale także w wielu innych zastosowaniach (sensory, kataliza, przemysł farmaceutyczny).

Wzbogacony w procesie przygotowania analit jest następnie wmywany niewielką ilością odpowiedniego rozpuszczalnika i oznaczany powszechnie stosowanymi metodami chromatograficznymi z różnymi detektorami, w tym z wykorzystaniem spektrometrii mas. Ponieważ metoda ta często stwarza wiele problemów i wymaga stosowania często toksycznych rozpuszczalników, w ostatnich latach zastosowano nową technikę oznaczania substancji bezpośrednio w strukturze polimeru. Metoda ta polega na łagodnej plazmowej jonizacji próbki w warunkach otoczenia poza spektrometrem mas w technice FAPA-MS (*Flowing Atmospheric – Pressure Afterglow Mass Spectrometry*), w której uwolnione termicznie z MIPów anality trafiają bezpośrednio do strumienia plazmy, gdzie są jonizowane i transportowane do analizatora.

Profesor Grzegorz Schroeder z Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, jest uznanym specjalistą z zakresu chemii supramolekularnej. Zakres Jego badań obejmuje szerokie spektrum problemów począwszy od syntezy ligandów supramolekularnych, poprzez badania oddziaływań w kompleksach gość-gospodarz z zastosowaniem, między innymi spektrometrii mas, syntezy hybrydowych materiałów z selektywnymi receptorami, w tym na bazie cząstek magnetycznych, po wykorzystanie spektrometrii mas w analizie substancji bioaktywnych.

Recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Marii Elżbiety Guć, wykonana pod Jego kierunkiem, mieści się w tym zakresie i dotyczy syntezy nowych funkcjonalnych polimerów z odciskiem molekularnym oraz ich magnetycznych analogów wykazujących zdolność do selektywnego wiązania różnych klas związków organicznych, ich scharakteryzowania, ustalenia mechanizmu oddziaływań typu gość-gospodarz, zbadania możliwości wykorzystania otrzymanych sorbentów w procedurach analitycznych wybranych klas związków organicznych z wykorzystaniem techniki FAPA-MS i wstępna walidacja tych procedur.

Oceniana rozprawa nie została napisana w klasycznym układzie pracy doktorskiej i zgodnie z przepisami zawartymi w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455, art. 13, ust. 2 stanowi spójny tematycznie zbiór 5 prac opublikowanych w prestiżowych międzynarodowych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania (IF) poprzedzony Autoreferatem. Autoreferat to zwięzłe 33 stronicowe omówienie wyników badań zawartych w załączonych publikacjach. Wszystkie prace, stanowiące podstawę przewodu habilitacyjnego, to prace wieloautorskie. W materiałach zamieszczono również oświadczenia określające wkład, rodzaj zadań i zakres prac wykonanych przez współautorów publikacji. Z oświadczeń tych wynika, że w pracach tych udział Doktorantki w ich realizacji był znaczący, zarówno w realizacji, jak i w opracowaniu manuskryptów publikacji, o czym świadczy fakt, iż we wszystkich tych pracach mgr Maria Elżbieta Gać jest zarówno pierwszym autorem, jak i autorem korespondencyjnym.

Dostarczone dokumenty, zawierają streszczenia w języku polskim i angielskim, życiorys i dorobek naukowy Doktorantki, w którym wymienione są również odbyty staż, udział w realizacji projektów badawczych, oświadczenia współautorów prac i otrzymane nagrody. W ramach projektu POWR.03.02.00-00-1023/17 Doktorantka odbyła trzymiesięczny staż w zakładzie chemiczno-farmaceutycznym „FARMAPOL”, uczestniczyła również w realizacji projektu INNChem i OPUS 2016/21/B/ST4/02082. Na uwagę zasługuje fakt, iż przedstawiona w dokumentacji lista prac naukowych zawiera również 5 publikacji z listy filadelfijskiej i 3 rozdziały w monografiach oraz 3 prace w materiałach pokonferencyjnych, które nie wchodzi w skład rozprawy doktorskiej oraz siedem wystąpień ustnych i trzynaście prezentacji konferencyjnych. W spisie publikacji podane są również współczynniki oddziaływania publikacji Autorki. Sumaryczny IF wszystkich publikacji

wynosi 34,213, a indeks h=4, wg bazy Scopus. Zdaniem recenzenta dorobek Doktorantki osiągnięty w krótkim przecież czasie studiów doktoranckich jest znaczący.

Zasadniczym celem badań podjętych w ramach pracy doktorskiej była synteza nowych funkcjonalnych polimerów z odciskiem molekularnym oraz ich magnetycznych analogów wykazujących zdolność do selektywnego wiązania różnych klas związków organicznych, użytecznych w ich wydzieleniu, wzbogacaniu i oznaczaniu.

Przystępując do realizacji tego celu mgr Maria Elżbieta Guć, w pierwszej kolejności zsyntezowała polimery z odciskiem molekularnym (MIP) oraz ich magnetyczne odpowiedniki (magMIP) zdolne do wiązania ważnego flawonoidu, kwercetyny. Do ich otrzymania użyła standardowych odczynników, akrylamidu, jako monomeru funkcyjnego, dimetakrylanu glikolu etylenowego jako odczynnika sieciującego, 2,2'-azobis(2-metylopropionylonitrylu) jak inicjatora reakcji, mieszaniny chloroformu i DMF jako porogenu oraz kwercetyny jako wzorca. Tych samych reagentów użyła do syntezy magMIP, stosując jako magnetyczny rdzeń tego sorbentu typu rdzeń-powłoka Fe_3O_4 (praca 1). Otrzymane sorbenty scharakteryzowała za pomocą spektroskopii FT-IR, analizy termogravimetrycznej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Na tej podstawie stwierdziła, że zsyntezowane materiały miały strukturę amorficzną. Otrzymane kopolimery wykorzystwała do wzbogacania kwercetyny w celu jej oznaczania za pomocą ESI-MS po uprzednim uwolnieniu analitu do roztworu. Zbadła również możliwość wykorzystania metody FAPA-MS, umożliwiającej pominięcie etapu desorpcji do roztworu, do analizy tej substancji. Wykazała, że metoda ta pozwoliła na obniżenie granicy wykrywalności oraz ewidentnego zmniejszenia ilości stosowanych rozpuszczalników, wynikającej z możliwości pominięcia etapu desorpcji do roztworu.

Następnie opracowaną metodę wykorzystwała w syntezie polimerów z odciskiem molekularnym do selektywnego wydzielenia i oznaczania żeńskich hormonów płciowych, estronu i β -estradiolu (praca 2). Wykazała, że otrzymane sorbenty są selektywne w stosunku do tych estrogenów oraz że magMIP wiążą odpowiednie substancje szybciej i z większą wydajnością. Natomiast zastosowanie metody jonizacji plazmą wytworzoną poza spektrometrem mas w warunkach ciśnienia atmosferycznego (FAPA-MS), bez etapu wymywania ich do roztworu pozwoliło na obniżenie granicy wykrywalności estronu i β -

estradiolu o dwa rzędy. Opracowaną procedurę wykorzystano do oznaczania tych substancji w próbkach wody.

W kolejnej pracy Doktorantka wykazała, że metoda FAPA-MS może być wykorzystana do analizy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, naproksenu, ibuprofenu i diklofenaku, po ich ekstrakcji za pomocą komercyjnie dostępnych MIPów (praca 3). Wykazała, że pomimo tego iż związki te były zaabsorbowane w jednej matrycy polimerowej, możliwe jest ich selektywne uwalnianie i oznaczanie, wykorzystując różnice w wartościach ich temperatur topnienia. Metoda ta, w porównaniu z klasyczną analizą za pomocą HPLC-MS stosowaną po wymyciu z sorbentu, daje znacznie lepsze wyniki, przy zaledwie 2 minutowym czasie analizy. Może zatem stanowić ciekawą alternatywę dla standardowych metod oznaczania tych związków w próbkach rzeczywistych.

Natępna praca dotyczy syntezy magMIPów z amigdalina jako substancją odwzorowującą (praca 4). Sorbenty te wykorzystano do absorpcji tego związku, stosowanego w terapii przeciwnowotworowej, i jego oznaczania za pomocą HPLC-UV/MS i FAPA-MS w próbkach wody, ekstraktach i materiale biologicznym. Wykazała, że liniowość oraz granice wykrywalności i oznaczalności są podobne dla obydwu metod. W konkluzjach stwierdza, że metody te są efektywne w oznaczaniu amigdaliny w próbkach wody, środowiskowych i w materiale biologicznym z wyjątkiem osocza krwi.

Biorąc pod uwagę fakt, iż badane sorbenty mogą być wykorzystywane do selektywnego wydzielania i wzbogacania analitów z próbek środowiskowych i biologicznych, ostatnia praca z przedstawionej serii to badania wpływu tego typu polimerów na organizmy żywe występujące w wodach powierzchniowych (praca 5). Ta ciekawa, zrealizowana we współpracy z biologiem praca dotyczy bezpieczeństwa tych sorbentów dla środowiska. Zbadano zatem toksyczność MIPów *in vivo* dla dwóch modelowych organizmów *Tetrademus obliquus* (Turpin) M.J. Wynne i *Daphnia magna* Straus. Zsyntezowała MIPy dla herbicydów, kwasu 2,4-dichlorooctowego (2,4-D) i kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA) oraz dwóch antyoksydantów, rutyny i kwercetyny oraz wyznaczyła ich parametry analityczne. Wykazała, że granice wykrywalności z użyciem metody FAPA-MS do ich oznaczania były prawie o rząd niższe od granice wykrywalności uzyskanych dla ESI-MS jako metody detekcji. Natomiast w wyniku badań toksyczności wykazała, że rutyna i kwercetyna wykazują większą toksyczność od użytych herbicydów w stosunku do badanych organizmów.

Natomiast same polimery nie wpływają negatywnie na te organizmy. Wypływa zatem z tego wniosek, że proponowane procedury analityczne mogą być bezpiecznie stosowane do wydzielenia i wzbogacania analitów bezpośrednio z wód powierzchniowych.

Nie mam większych zastrzeżeń dotyczących merytorycznej strony publikacji przedstawionych do oceny jako rozprawa doktorska. Prace te zostały bowiem gruntownie ocenione przed opublikowaniem przez odpowiednich recenzentów, tym bardziej że zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokiej renomie. Niemniej jednak ma jedną uwagę/pytanie do dyskusji:

Dlaczego w badając struktury syntezowanych MIPów nie określono również ich powierzchni właściwych i porowatości (średnica porów, rozkładu wielkości porów) a jedynie nie zawsze pozwalające na jej jednoznaczne określenie, spektroskopię FT-IR, analizę termogravimetryczną i skaningową mikroskopię elektronową (SEM)?

Na podstawie lektury publikacji wchodzących w skład rozprawy przypuszczam, że Doktorantka sprawnie posługuje się językiem angielskim. Na uwagę zasługuje fakt, iż Autoreferat jest dobrze napisany i zawiera tylko nieliczne drobne błędy literowe, których nie warto nawet wymieniać.

Podsumowując chciałbym stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska reprezentuje wysoki poziom badań i zawiera wiele elementów nowości naukowej. Zakres badań, zawarte w niej wyniki doświadczalne, sposób interpretacji oraz wnioski wskazują, że mgr Maria Elżbieta Guć wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych i wniosła istotny wkład w rozwój badań z zakresu chemii analitycznej, a szczególnie opracowania nowych procedur wydzielenia i oznaczania związków organicznych zarówno w próbkach środowiskowych, jak i biologicznych. Po zapoznaniu się z rozprawą mgr Marii Elżbiety Guć **stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia wszelkie wymagania stawiane w Ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych rozprawom doktorskim i wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

