



dr hab. Barbara Pałys, prof. U.W

Warszawa, 10-05-2016

Pracownia Elektrochemii

Zakład Chemii Fizycznej

**Recenzja rozprawy doktorskiej pana magistra Pawła Malinowskiego
zatytułowanej *Charakterystyka i zastosowanie wybranych materiałów
polimerowych w bioczujnikach z detekcją elektrochemiczną lub
spektroskopową***

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Krzysztofa Maksymiuka w Pracowni Elektroanalizy Chemicznej w Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

Jednym z celów pracy było zaproponowanie nowych sensorów elektrochemicznych lub optycznych do oznaczania między innymi amoniaku, kationów metali, mocznika oraz fosfatazy alkalicznej. Oznaczanie tych substancji ma duże znaczenie w badaniach bio-medycznych i ochronie środowiska. Jako receptory i przetworniki sygnału autor wybrał polianilinę, ureazę, mikrosfery poliakrylanowe modyfikowane fluoresceiną oraz półprzewodnikowe kropki kwantowe. Cel pracy został sformułowany we wstępie w sposób dość ogólny, co wynika prawdopodobnie z wielości zagadnień, które praca obejmuje.

Rozprawa została podzielona tradycyjnie na część literaturową i doświadczalną. Część doświadczalna obejmuje opis procedur eksperymentalnych, aparatury, zastosowanych technik badawczych oraz wyniki badań własnych i dyskusję. Część literaturowa wraz z opisem technik badawczych są obszernie w porównaniu do opisu wyników badań własnych i dyskusji. Zajmują 120 stron. Wynikom badań własnych autor poświęcił 80 stron. Przegląd literatury jest wyczerpujący. Autor odwołuje się do 232 prac naukowych. Pod względem formalnym forma prezentacji jest przejrzysta. Pomyłki językowe są nieliczne biorąc pod uwagę, że praca jest dość obszerna, liczy 205 stron. Zdarzają się wyrażenia tautologiczne, na przykład „utlenianie anodowe” (strony 26,28). Utlenianie katodowe jest niemożliwe z definicji. Dziwi też czasem logika niektórych sformułowań, na przykład: „Ze względu na dobrze poznane właściwości polianiliny, zagadnienie to zostanie zaprezentowane na przykładzie polipirolu.”

Część literaturową rozpoczyna dość szczegółowa charakterystyka czujników chemicznych z dokładnymi opisami czujników elektrochemicznych i optycznych. Autor



poświęca należytą uwagę definicjom pojęć używanych w dalszych częściach pracy. Przytacza definicje IUPAC. Cytuje wiele prac oryginalnych i historycznych, co uważam za zaletę pracy.

Jak w każdej pracy można znaleźć również słabsze strony. Niektóre fragmenty opisu czujników optycznych są moim zdaniem zbyt optymistyczne, na przykład na stronie 18 autor pisze „Zastosowanie włókien światłowodowych pozwala na praktycznie bezstratną transmisję sygnału na duży dystans”, podczas gdy powszechnie wiadomo, że ilość światła maleje wykładniczo z długością światłowodu.

Dużo uwagi w części literaturowej doktorant poświęca polimerom przewodzącym, a w szczególności polianilinie. Opisuje między innymi rodzaje nośników ładunku istniejących w polimerach przewodzących. Strukturę nośników ładunku ilustruje rysunek 5. Zastanawiający jest fakt, że struktury naładowanych dodatnio i ujemnie solitonów przedstawione na rysunkach 5 b) i 5 c) są identyczne. Czy nie brakuje na rysunku 5 c) pary elektronów?

W opisie właściwości przewodzących autor ogranicza się do stanu izolującego i półprzewodnikowego polimerów przewodzących. Można było ten opis uzupełnić o eksperymenty grupy Heegera, które pokazują, że między innymi polianilina może tworzyć tak zwaną sieć polaronową. Przewodnictwo w takim stanie jest bliskie przewodnictwu miedzi i maleje z temperaturą – wykazując w ten sposób cechy metaliczne.

Nieścisłości w opisie nośników ładunku w polianilinie pojawiają się także na stronie 47, gdzie na rysunku 17 polaron (rodnikokation) jest zamieniony miejscami z bipolaronem, co jest prawdopodobnie błędem edytorskim.

W podrozdziale opisującym metody otrzymywania polianiliny autor pisze „W pracy [39] opisano odtwarzalną metodę otrzymywania polianiliny bez użycia rozpuszczalników organicznych”. Stwierdzenie to należy chyba uściślić, gdyż polianilinę otrzymuje się głównie w zakwaszonych roztworach wodnych – także chemicznie i artykuły opisujące syntezę chemiczną polianiliny zostały opublikowane na długo przed pracą 39.

Wątpliwości budzi przypisanie pasma absorpcyjnego przy 428 nm do przejścia $\pi - \pi^*$ w pierścieniach benzenowych (na stronie 49). Sam autor rozprawy na stronie 53 przypisuje blisko położone pasmo przy 415 nm do przejścia polaronowego. Biorąc pod uwagę typową szerokość pasm absorpcyjnych polianiliny, pasma 428 nm i 415 nm można przypisać temu samemu przejściu elektronowemu.

Do zagadnień, które można było potraktować szerzej w części literaturowej jest omówienie równania Donnana – równanie 2 na stronie 34. Autor podaje je bez liczb przenoszenia, czyli w formie słusznej, gdy membrana jest przepuszczalna, tylko dla jednego rodzaju jonów, co w rzeczywistych układach nie sprawdza się, jak pokazuje dalsza część rozprawy.



Do zalet części literaturowej należy rzetelne przedstawienie obecnie publikowanych prac dotyczących właściwości jonowymiennych polimerów przewodzących. Należy podkreślić, że wkład grupy profesora Maksymiuka w rozwój tej dziedziny badań jest znaczący. Wysoko oceniam także przegląd literatury na temat czujników wykorzystujących ureazę i fosfatazę alkaliczną.

Część poświęconą wynikom własnym rozpoczyna opis konstrukcji jednorazowych czujników złożonych z warstw polianiliny na foliach poliestrowych. Właściwości tego rodzaju czujników – nazywanych dalej „all-plastic” autor badał za pomocą metod elektrochemicznych oraz spektroskopowych. Warstwy polianiliny na foliach były osadzane z zawiesiny nanocząstek. Autor porównuje właściwości elektrochemiczne i optyczne czujników all-plastic z właściwościami elektropolimeryzowanych warstw polianiliny, które są dobrze znane z literatury. W celu takiego porównania rejestrował między innymi odpowiedzi woltamperometryczne warstw w roztworach o różnym pH. Przykładowe wyniki przedstawia rysunek 65 na stronie 130. Zastanawiające jest, że autor zaobserwował przesuwanie się pary redoks polianiliny w stronę ujemnych potencjałów wraz ze wzrostem wartości pH. W cytowanej przez autora pracy 75 zaobserwowano przesuwanie się pary redox w odwrotną stronę. Również w pracach innych autorów, dotyczących elektropolimeryzowanej polianiliny, pierwsza para redox polianiliny w słabo kwaśnych lub obojętnych roztworach jest przesunięta w stronę dodatnich potencjałów w porównaniu do pH=0 i pH=1. Warstwy badane przez autora wykazują zatem nieco inne właściwości niż elektropolimeryzowana polianilina. Mam nadzieję, że autor wyjaśni tę rozbieżność w trakcie obrony.

Doktorant bardzo dokładnie opisał charakterystyki potencjometryczne warstw polianiliny w roztworach o różnych wartościach pH oraz dla różnych stężeń elektrolitu podstawowego - azotanu potasu. Warstwy wykazywały niemal nernstowskie nachylenie krzywych potencjał – pH w zakresie od 5.5 do 11.00, co umożliwia praktyczne zastosowanie tego rodzaju warstw w czujnikach reagujących na zmianę pH. W tym samym rozdziale przedstawiono także widma czujników all-plastic w zależności od pH roztworu, w którym były zanurzane oraz wyniki badań przewodnictwa warstw polianiliny w funkcji pH. Wyniki te są bardzo podobne do danych literaturowych dla elektropolimeryzowanych warstw polianiliny.

W poddziale 8.3 autor podjął próbę określenia wpływu amoniaku na właściwości elektrochemiczne i spektroskopowe badanych warstw polianiliny. Kształt woltamperogramów cyklicznych zmieniał się wyraźnie pod wpływem amoniaku o stężeniu $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Zmiany te były odwracalne podobnie jak w przypadku opisanych w literaturze warstw elektropolimeryzowanej polianiliny. W kolejnych eksperymentach autor rozprawy wykazał, że kształt woltamperogramów zależy w większym stopniu od stężenia jonów amonowych niż wodorotlenowych. Dyskusja mechanizmu reakcji redukcji polianiliny w obecności jonów



amonowych byłaby ciekawym uzupełnieniem tego rozdziału. Mam nadzieję, że autor przedyskutuje ten mechanizm w czasie obrony.

Czułość elektrod all-plastic na stężenie amoniaku była badana potencjometrycznie, konduktometrycznie i spektroskopowo. Jak wynika z przedstawionych doświadczeń i z dyskusji oznaczenie amoniaku potencjometryczne jest najciekawsze pod względem praktycznym, gdyż charakteryzuje się dużą czułością i dużym liniowym zakresem stężeń. Chciałabym podkreślić, że wykorzystanie warstw polianiliny do czujników potencjometrycznych na amoniak jest ciekawym, oryginalnym pomysłem, gdyż w literaturze znacznie częściej spotyka się czujniki konduktometryczne na amoniak.

Autor badał ponadto czułość polianilinowych elektrod all-plastic na szereg kationów. Wykazał, że badane warstwy mają właściwości kationo-wymienne w roztworach o neutralnym pH ze względu na obecność nieruchomych anionów na trwale związanych z polianiliną. Wyniki są ciekawe, gdyż zwykle polianilina wykazuje właściwości anionowymienne w obojętnych roztworach. Oddziaływanie warstw polianiliny z kationami badano także za pomocą spektroskopii UV/VIS, co pozwoliło autorowi rozdzielić wpływ reakcji redoks pomiędzy polimerem, a kationami od wpływu wymiany jonowej na potencjał warstwy polianilinowej. Wyniki te przyczyniają się do zrozumienia zachowania warstw polianiliny w warunkach w jakich są stosowane w czujnikach i bioczujnikach.

Badania właściwości warstw polianilinowych zostały zastosowane do projektowania czujników na mocznik opartych na ureazie unieruchomionej na polianilinowych elektrodach all-plastic. W pracy przedstawiono zarówno odpowiedzi potencjometryczne jak spektrofotometryczne tego rodzaju czujników. Spektrofotometryczna metoda detekcji okazała się bardziej czuła.

Kolejna część pracy opisuje właściwości czujników fluorescencyjnych zbudowanych z mikrosfer poliakrylanowych modyfikowanych fluoresceiną i ureazą. Badanym sygnałem była w tym przypadku fluorescencja. Autor otrzymał bardzo dobrą czułość w zakresie niskich stężeń mocznika z limitem detekcji wynoszącym 10^{-8} M, co jest bardzo dobrym wynikiem. Parametry analityczne czujnika fluorescencyjnego opartego na kropkach kwantowych okazały się gorsze w porównaniu do czujnika opartego na mikrosferach. Limit detekcji wynosił w tym przypadku 10^{-6} M. Należy jednak zauważyć, że w porównaniu z typowymi limitami detekcji mocznika, jest to również dobry rezultat.

Kolejny rodzaj czujnika enzymatycznego zaproponowany przez autora pracy to czujnik zawierający fosfatazę alkaliczną i polianilinę. Celem było oznaczanie zawartości samego enzymu: fosfatazy alkalicznej lub oznaczanie jonów monofluorofosforanowych, których rozkład katalizuje fosfataza alkaliczna. Podobnie jak w oznaczeniach amoniaku i mocznika autor zastosował zarówno detekcję spektrofotometryczną, jak potencjometryczną. Otrzymał



dobrą czułość na jony monofluorofosforanowe zwłaszcza po deprotonowaniu warstwy polianiliny przed pomiarem w buforze o pH równym 9. Metoda spektrofotometryczna okazała się czulsza podobnie jak w przypadku czujników z ureazą. Ilość prac literaturowych na temat oznaczania fosfatazy z zastosowaniem polianiliny jest niewielka, dlatego wyniki przedstawione w rozprawie mają dużą wartość poznawczą. Metoda oznaczania tego enzymu zaproponowana w recenzowanej pracy doktorskiej wyróżnia się ponadto prostotą i niskimi kosztami ewentualnych oznaczeń enzymu, co stanowi niewątpliwie zaletę.

Podsumowując, rozprawa zawiera kompleksowe badania czułości polianiliny na zmianę pH, zmianę stężenia kationów metali o potencjale redoks wyższym i niższym od potencjału redoks polimeru oraz na obecność jonów amonowych. Badano polianilinę w postaci filmów złożonych z nanocząstek naniesionych na przezroczyste poliestrowe podłoża. Czułość polianiliny badano na podstawie odpowiedzi potencjometrycznych, konduktometrycznych oraz spektrofotometrycznych. Wyniki badań właściwości polianiliny wykorzystano do konstrukcji czujników enzymatycznych, gdzie w wyniku reakcji enzymatycznej zmienia się pH roztworu (reakcje katalizowane przez fosfatazę alkaliczną) lub powstają jony amonowe (rozkład mocznika katalizowany przez ureazę). Zaproponowane przez autora rozprawy czujniki wykazywały dobre lub bardzo dobre parametry analityczne. Wyniki badań zostały opublikowane w dwóch artykułach oryginalnych - w czasopismach z listy filadelfijskiej.

Wyniki uzyskane dla czujników opartych na polianilinie porównano z układami, gdzie elementami czułymi na pH i obecność jonów amonowych były mikrosfery poliakrylanowe modyfikowane fluoresceiną lub półprzewodnikowe kropki kwantowe. Limity detekcji dla tego rodzaju układów były znacząco niższe w porównaniu do czujników polianilinowych, jednak zakres liniowych odpowiedzi był mniejszy. Wyniki dla czujników opartych na mikrosferach i kropkach kwantowych stanowią dobry materiał na publikację naukową.

Ze względu na niskie koszty wytwarzania i obiecujące parametry analityczne konstrukcje czujników zaproponowane w rozprawie mogą znaleźć liczne zastosowania praktyczne.

W mojej opinii recenzowana rozprawa całkowicie spełnia wymagania odnośnie prac doktorskich, które są określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595), dlatego wnoszę o dopuszczenie magistra Pawła Malinowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Barbara Pałys