



dr hab. inż. Łukasz Górski, prof. PW

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

Warszawa, 2021-08-02

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marii Madej

pt: „*Nowe materiały funkcjonalne w czujnikach elektrochemicznych przeznaczonych do analiz biochemicznych*”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marii Madej pt. „*Nowe materiały funkcjonalne w czujnikach elektrochemicznych przeznaczonych do analiz biochemicznych*” wykonana została na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, funkcję promotorów pełnią dr hab. Jolanta Kochana, prof. UJ oraz prof. dr hab. inż. Bogusław Baś.

Zaburzenia depresyjne to problem zdrowotny, ze skali którego wiele osób nie zdaje sobie sprawy. Chyba jeszcze rzadziej dostrzegane jest zagrożenie dla ekosystemów, jakie niesie ze sobą przedostawanie się leków przeciwdepresyjnych do środowiska. Z konieczności ochrony ekosystemów przed szkodliwym wpływem leków przeciwdepresyjnych wynika konieczność oznaczania tych związków w próbkach środowiskowych. Ciekawym rozwiązaniem są w tym przypadku sensory chemiczne, w szczególności wykorzystujące przetworniki elektrochemiczne. Aby uzyskać parametry analityczne umożliwiające oznaczanie śladowych ilości analitów w próbkach o złożonej matrycy, konieczna jest często modyfikacja powierzchni elektrody z wykorzystaniem różnego rodzaju materiałów funkcjonalnych. Przedłożona mi do recenzji praca doktorska dotyczy opracowania kilku czujników voltamperometrycznych do oznaczania leków przeciwdepresyjnych w próbkach 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 Marii Madej.

Ocena układu, języka oraz opracowania redakcyjnego rozprawy

Praca doktorska ma układ klasyczny, rozpoczyna się bowiem wstępem literaturowym, przybliżającym tematykę sensorów chemicznych oraz stosowanych w

badaniach technik woltamperometrycznych. W dalszej kolejności następuje przedstawienie nanomateriałów wykorzystywanych w czujnikach elektrochemicznych, a następnie znajdujemy obszerny fragment pracy dotyczący problemu depresji oraz leków przeciwdepresyjnych.

W dalszej kolejności następuje część eksperymentalna, rozpoczynająca się przedstawieniem celu pracy oraz opis aparatury, odczynników oraz stosowanych procedur. Rozdziały 8 - 11 stanowią zasadniczą część pracy, opisując poszczególne projekty badawcze realizowane przez Doktorantkę. Pracę zamyka: podsumowanie wyników i wnioski oraz obszerny (zawierający 156 pozycji) spis cytowanej literatury.

Informacje zawarte w części literaturowej pracy w bardzo dobry sposób wprowadzają czytelnika w tematykę prowadzonych badań. Doktorantka przedstawiła jedynie zagadnienia istotne dla rozprawy, co pozwoliło zachować prawidłowe proporcje całej pracy. Praca napisana jest poprawnym językiem a liczba literówek, skrótów myślowych oraz błędów językowych jest bardzo niewielka.

Ocena merytoryczna rozprawy

Pierwszym projektem opisanym w recenzowanej rozprawie było opracowanie metody oznaczania wiloksazyny z wykorzystaniem elektrody z diamentu domieszkowanego borem. W pierwszym etapie badań wykazano, że elektroda ta daje wyższą czułość dla badanego leku, w porównaniu do powszechnie stosowanej elektrody z węgla szklistego. Następnie ustalono mechanizm reakcji elektrodowej, jakiej ulega wiloksazyna, zbadano przy tym także wpływ pH na przebieg reakcji. Zoptymalizowano parametry prowadzenia analizy, wyznaczono także parametry analityczne opracowanej metody. Wykazano możliwość oznaczania wiloksazyny w próbkach rzeczywistych, z powodzeniem analizując próbkę wody z Wisły z różnymi dodatkami leku. Opracowana przez Doktorantkę metoda charakteryzuje się szerokim zakresem dynamicznym oraz bardzo niską granicą wykrywalności, co czyni ją konkurencyjną wobec innych metod oznaczania wiloksazyny znanych z literatury. Wyniki tego projektu zostały opisane w publikacji naukowej.

Kolejnym projektem zrealizowanym przez Doktorantkę były badania nad modyfikacją elektrod z węgla szklistego z wykorzystaniem nanokompozytu zeolitowego i elektrochemiczne oznaczanie innego leku przeciwdepresyjnego – amitryptyliny. Materiał zeolitowy poddano na wstępie wymianie jonowej, w wyniku czego uzyskano materiały zmodyfikowane jonami różnych metali przejściowych. Do zeolitów dodano następnie proszek grafitowy w celu poprawy przewodności. Tak przygotowane kompozyty naniesiono na elektrodę podłożową i zbadano ich właściwości elektrochemiczne. Wszystkie badane materiały charakteryzowały się aktywnością elektrochemiczną, jednak tylko zeolit zawierający jony żelaza okazał się przydatny w oznaczaniu amitryptyliny. W celu uzyskania pełniejszej charakterystyki tego kompozytu przeprowadzono analizy z zastosowaniem spektroskopii impedancyjnej, skaningowej mikroskopii elektronowej oraz spektroskopii z dyspersją energii promieniowania rentgenowskiego. Ustalono mechanizm reakcji elektrodowej amitryptyliny na modyfikowanej elektrodzie. Dokonano następnie optymalizacji warunków analizy i scharakteryzowano jej najważniejsze parametry. Dokonano następnie oznaczenia amitryptyliny w preparacie farmaceutycznym uzyskując bardzo dobrą zgodność wyniku z deklaracją producenta. Przydatność opracowanej metody do analizy próbek środowiskowych i klinicznych wykazano oznaczając lek w próbkach wody, ścieków oraz moczu. Pomimo pewnych problemów z selektywnością, wyniki analiz były bardzo dokładne. Przeprowadzone badania opisano w publikacji w cenionym czasopiśmie *Microchemical Journal*.

W dalszych badaniach skupiono się na oznaczaniu citalopramu z wykorzystaniem elektrod modyfikowanych sieciami metaloorganicznymi. Jest to niewątpliwie bardzo ciekawa i warta uwagi grupa materiałów. Do badań wybrano osiem rodzajów sieci metaloorganicznych, jednak tylko jedna z nich okazała się przydatna do dalszych badań. Z uwagi na brak przewodnictwa elektronowego, materiał ten był domieszkowany nanomateriałami węglowymi oraz nanocząsteczkami złota. Tak przygotowany materiał naniesiono na elektrody z węgla szklanego i zbadano ich parametry elektrochemiczne. Aby rzucić więcej światła na właściwości opracowanego nanokompozytu, wykonano pomiary z zastosowaniem spektroskopii impedancyjnej, dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego oraz spektroskopii w podczerwieni. Z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej ustalono mechanizm reakcji, jakiej ulega citalopram na elektrodach modyfikowanych siecią metaloorganiczną. Dzięki przeprowadzonej optymalizacji procedury oznaczania citalopramu, opracowana metoda charakteryzuje się bardzo korzystnymi parametrami analitycznymi. Pewnym problemem jest jedynie krótki czas życia czujnika oraz wpływ surfaktantów oraz matrycy biologicznej na wynik analizy. Pomimo to, Doktorantka z powodzeniem oznaczyła citalopram w próbkach środowiskowych oraz klinicznych. Na uwagę zasługuje opublikowanie wyników tych prac aż w dwu artykułach w prestiżowych czasopismach naukowych.

Ostatnią częścią prac opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej były badania dotyczące oznaczania kolejnego leku przeciwdepresyjnego, bupropionu, z zastosowaniem elektrod wykonywanych techniką sitodruku. Elektrody te były modyfikowane cienkimi warstwami polimerowymi wytwarzanymi techniką chemicznego osadzania z fazy gazowej ze wspomaganiami plazmowym. Spośród czterech prekursorów stosowanych w badaniach wstępnych, jako najbardziej korzystny wybrano akrylonitryl. Wytworzone warstwy poliakrylonitrylu charakteryzowały się najszerszym zakresem grubości oraz przewodnictwa elektrycznego. Modyfikacji poddano złote i węglowe elektrody pracujące komercyjnie dostępnych przetworników trójelektrodowych. Stwierdzono znaczne różnice we właściwościach elektrochemicznych obydwu rodzajów modyfikowanych elektrod, co powiązano z różną morfologią elektrod podłożowych, widoczną na zdjęciach ze skaningowego mikroskopu elektronowego. Jako optymalną do oznaczania bupropionu wskazano elektrodę węglową z naniesioną cienką warstwą poliakrylonitrylu. Na tej elektrodzie przeprowadzono optymalizację procedury oznaczania leku oraz wyznaczono dla niej parametry analityczne. Analiza próbek środowiskowych zawierających bupropion zakończyła się powodzeniem, problematyczna okazała się natomiast analiza próbek moczu i surowicy krwi. Dzięki zastosowaniu metody dodatku wzorca z ekstrapolacją do sygnału analitycznego pierwszego wzorca udało się jednak wyeliminować wpływ matrycy i osiągnąć zadowalające wyniki analizy.

Podsumowując należy stwierdzić, że recenzowana rozprawa doktorska ma bardzo dużą wartość zarówno z uwagi na jej aspekt praktyczny, jak i nowość naukową. Opracowano kilka metod oznaczania leków przeciwdepresyjnych, wyznaczono ich parametry analityczne, a ich użyteczność potwierdzono wykonując analizy próbek farmaceutycznych, środowiskowych i klinicznych. Doktorantka przeprowadziła usystematyzowane i szczegółowe badania mechanizmów reakcji elektrodowych badanych związków. Do charakteryzacji warstw receptorowych wykorzystano, oprócz woltamperometrii, inne techniki analityczne.

Jakość wykonanych przez mgr Marię Madej badań oraz sposób ich opisu oceniam bardzo wysoko. Jednakże, na recenzencie ciąży także obowiązek wskazania Autorce niedociągnięć pracy. Dlatego też poniżej wymieniam swoje uwagi

do niniejszej rozprawy prosząc, aby Doktorantka w czasie obrony ustosunkowała się do następujących kwestii:

- str. 14: Doktorantka stwierdza, że czujniki woltamperometryczne mają dużo większą czułość niż elektrody jonoselektywne. Wydaje mi się, że porównywanie czułości różnych technik analitycznych jest jednak trudne, ponieważ jednostka czułości zawiera jednostkę mierzonego sygnału analitycznego. Tak jest np. w recenzowanej pracy, gdzie jednostka czułości to $\mu\text{A mmol L}^{-1}$. Chciałbym poznać opinię Doktorantki na temat porównywania czułości różnych technik analitycznych.
- W trakcie prac optymalizacyjnych nad danym sensorem dążono do uzyskania jak najwyższej czułości analizy. Czemu wybrano akurat ten parametr? Być może optymalizacja pod kątem uzyskania np. jak najlepszej selektywności prowadziłyby do wybrania innych warstw receptorowych, umożliwiających analizę w próbkach o bardziej złożonej matrycy.
- str. 76: tabela 8.2 oraz analogiczne tabele w kolejnych rozdziałach zawierają zakres wartości testowanych parametrów oraz wartości wybrane jako optymalne. Zdarza się, że jako wartość optymalna wybierana jest wartość skrajna. Rodzi to pytanie, czy nie należałoby w tych przypadkach poszerzyć zakresu testowanych wartości.
- str. 84: Doktorantka postuluje wpływ wielkości kationu wprowadzonego do struktury zeolitu na czułość odpowiedzi woltamperometrycznej. Czy wiadomo jakie są przyczyny takiej zależności?
- str. 93: rys. 9.9 a) przedstawia zależność prądu utleniania amitryptyliny od zastosowanego elektrolitu. Wyniki te przeanalizowano pod kątem wpływu kationu soli zastosowanej jako elektrolit, natomiast uwagę zwraca także znacząca różnica między pomiarami w roztworach KCl i KNO_3 . Czy znany jest powód tak znacznego wpływu anionu na prąd utleniania amitryptyliny?
- Jaka była przyczyna wyboru danego typu elektrody do oznaczania określonego leku? Czemu np. na elektrodzie z diamentu domieszkowanego borem oznaczano wiloksazynę, a nie inny lek przeciwdepresyjny? Związane z tym problemem jest pytanie, czemu nie badano selektywności danego typu elektrody wobec różnych leków przeciwdepresyjnych?

Poniżej wymieniam drobniejsze uwagi do rozprawy, do których Doktorantka nie musi odnosić się podczas obrony:

- str. 11: biosensory mają w warstwie receptorowej substancje pochodzenia biologicznego, natomiast substancje biologiczne czynne to związki mające wpływ na żywe organizmy. Wydaje się, że nie można używać tych dwu określeń jako synonimów.
- str. 18: woltamperometria cykliczna charakteryzuje się raczej wysoką, a nie niską granicą oznaczalności na tle innych technik woltamperometrycznych.
- str. 24: koncentracja to pojęcie z dziedziny psychologii, w opisie technik strippingowych należy raczej użyć słowa „zatężanie”.
- str. 47: tetrakis(p-chlorofenylo)boran potasu to wymiennicz jonowy, a nie jonofor – związek ten oddziałuje z analizowanymi jonami jedynie elektrostatycznie.
- str. 54: skrót PBS oznacza się zwyczajowo Phosphate-buffered saline, a nie Phosphate buffer solution.

- str. 158: umieszczenie na rysunku 11.18 bezwzględnych wartości zmian sygnału dla bupropionu jest nieco mylące i utrudnia ocenę wpływu substancji przeszkadzających.

Wyniki badań przeprowadzonych przez mgr Marię Madej zostały opublikowane dotychczas w pięciu artykułach z listy JCR, przy czym cztery z nich są związane z tematyką doktoratu. Należy zwrócić uwagę na wysoką rangę czasopism, w których ukazały się publikacje. Kolejna publikacja jest zgodnie z deklaracją Doktorantki w przygotowaniu. Dodatkowo w dorobku mgr Marii Madej znajdujemy aż osiem rozdziałów w monografiach naukowych i materiałach pokonferencyjnych oraz liczne wystąpienia konferencyjne. Za dwa wystąpienia konferencyjne Doktorantka została nagrodzona. W trakcie doktoratu mgr Maria Madej odbyła staż naukowy w ośrodku krajowym. Sumarycznie należy ocenić dorobek Doktorantki jako bardzo dobry.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marii Madej spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki z dn. 14 marca 2003 roku oraz art. 179 ustawy z dn. 3 lipca 2018 roku i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Doktorantki do publicznej dyskusji nad rozprawą.

Z poważaniem,





dr hab. inż. Łukasz Górski, prof. PW

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

Warszawa, 2021-08-02

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE

rozprawy doktorskiej mgr Marii Madej

pt: „*Nowe materiały funkcjonalne w czujnikach elektrochemicznych przeznaczonych do analiz biochemicznych*”

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska zawiera bez wątpienia istotne elementy nowości naukowej oraz rozwiązania analityczne o bardzo dużym potencjale aplikacyjnym. Sposób zaplanowania i przeprowadzenia badań świadczy, że Doktorantka jest dojrzałym naukowcem. Doktorantka nie ogranicza się do analizy sztucznych roztworów czy preparatów farmaceutycznych, lecz działanie opracowanych metod analitycznych sprawdza na próbkach rzeczywistych (np. wody, ścieków, moczu, osocza). Pod tym względem sposób prowadzenia przez mgr Marię Madej badań powinien stanowić wzór dla doktorantów wykonujących swoje prace w dziedzinie chemii analitycznej. Wzorcowe jest również przygotowanie samej rozprawy, całość jest bardzo estetyczna i spójna, a sposób opisu prowadzonych badań ułatwia czytelnikowi ich śledzenie i zrozumienie.

Za najważniejsze elementy rozprawy uważam:

- dojrzałość Doktorantki w sposobie myślenia, projektowania i wykonywania doświadczeń, a także analizy wyników,
- podjęcie badań w celu rozwiązania trudnych, ale bardzo ważnych problemów w analityce środowiskowej i klinicznej,
- opracowanie czterech unikalnych metod analizy leków przeciwdepresyjnych w próbkach rzeczywistych,
- bardzo dobry opis i analizę przeprowadzonych badań i ich wyników.

Na podkreślenie zasługuje dorobek publikacyjny Doktorantki. Mgr Maria Madej jest autorką 5 artykułów z listy JCR, a publikacje te ukazały się w czasopismach o bardzo wysokiej randze (Microchemical Journal, Talanta, Microchimica Acta, Journal of the Electrochemical Society). Potwierdza to aktualność i ważność tematyki badań, a także ich jakość. Biorąc pod uwagę powyższe argumenty, wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Marii Madej.

Z poważaniem,