

Lublin, 08.07.2021

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr **Marii Madej**

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

Praca została wykonana pod kierunkiem dr hab. Jolanty Kochanej, prof. UJ oraz prof. dr hab. inż. Bogusława Basia jako promotorów i przedłożona Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Specyficzny obecnie tryb życia człowieka powiązany ściśle z niezwykle szybkim rozwojem technologicznym doprowadził do pojawienia się nowego zjawiska jakim są choroby cywilizacyjne. Wśród nich bardzo ważne miejsce zajmują zaburzenia psychiczne określane mianem depresji, które niejednokrotnie są trudne do diagnozowania i leczenia. Leki na depresję dobierane są indywidualnie przez lekarza, zależnie od stanu zdrowia pacjenta, rodzaju depresji oraz sytuacji życiowej. Powinny być przyjmowane systematycznie i ściśle według zaleceń specjalisty, aby uniknąć skutków ubocznych.

Istnieje zatem konieczność badania mechanizmów działania tych leków, poszukiwania sposobów kontrolowanego ich uwalniania czy oznaczania substancji aktywnych na etapie produkcji leku. Bardzo ważna wydaje się także analiza w próbkach biologicznych, m.in. w celu dobrania dawki terapeutycznej, stwierdzenia przyczyny zatrucia lub podjętej próby samobójczej.

Leki te jako substancje biologicznie aktywne zaprojektowane do działania w niskich stężeniach, w środowisku naturalnym mogą wywierać niekorzystny wpływ na organizmy „niedocelowe”, ponadto z powodu bioakumulacji są również poważnym zagrożeniem dla wszystkich poziomów troficznych łańcuchów pokarmowych, w tym potencjalnie dla zdrowia człowieka.



Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27

W świetle powyższego istotne wydaje się monitorowanie ilości i skutków działania leków antydepresyjnych.

Stosowanie różnorodnych czujników i procedur analitycznych pozwala w szybki i jednoznaczny sposób wykryć poszukiwaną substancję w analizowanej próbce, zarówno medycznej jak i środowiskowej. Bardzo dobrze w ten trend wpisują się techniki woltamperometryczne, kluczowe metody współczesnej instrumentalnej analizy chemicznej. Nieosiągalna dla wielu innych technik czułość, na poziomie pM, selektywność, czy możliwość prowadzenia analizy specjacyjnej w próbkach rzeczywistych bez ich wstępnego przygotowania sprawia, że woltamperometria cieszy się coraz większym zainteresowaniem chemików analityków. Dwa elementy decydują o przydatności woltamperometrii do rozwiązania konkretnego problemu analitycznego. Elektroda pracująca, na której zachodzą kontrolowane procesy redoks oraz elektrolit podstawowy, który zapewnia m.in. odpowiednie przewodnictwo elektrolityczne, ogranicza prąd migracyjny, determinuje potencjał zerowego ładunku i pojemność różniczkową podwójnej warstwy elektrycznej, może także przesuwac potencjał redoks oznaczanych substancji.

Mając to na uwadze mgr Maria Madej zrealizowała badania, których nadrzędnym celem było zweryfikowanie możliwości zastosowania nowatorskich materiałów funkcjonalnych do konstrukcji czujników woltamperometrycznych, wykazujących odpowiednią czułość i selektywność względem wybranych leków przeciwdepresyjnych. Jako kluczowe wskazano modyfikację powierzchni komercyjnie dostępnych elektrod z wykorzystaniem materiałów zeolitowych, sieci metaloorganicznych oraz nanowarstw polimerowych.

W ramach prowadzonych przez Doktorantkę badań skonstruowano następujące czujniki woltamperometryczne przeznaczone do oznaczania antydepresantów:

- elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną nanokompozytem składającym się z naturalnego zeolitu poddanego wymianie jonowej względem kationów Fe^{3+} oraz grafitu w osnowie polistyrenu do oznaczenia amitryptyliny (AMI),



Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27

- elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną siecią metaloorganiczną JUK-2, wielościennymi nanorurkami węglowymi oraz nanocząstkami złota do oznaczenia citalopramu (CIT),

- węglową elektrodę sitodrukowaną pokrytą cienką warstwą poliakrylonitrylu, naniesioną na powierzchnię elektrody w procesie chemicznego osadzania z fazy gazowej wspomaganego zimną plazmą do oznaczenia bupropionu (BUP).

Dodatkowo opracowano woltamperometryczną procedurę oznaczania wiloksazyny (WIL) za pomocą elektrody diamentowej domieszkowanej borem.

Dla każdego czujnika dokonano optymalizacji procedury przygotowania i aktywacji elektrody pracującej, biorąc pod uwagę metodę modyfikacji powierzchni oraz skład kompozytu nanoszonego na elektrodę.

Kolejny etap dotyczył weryfikacji właściwości elektrochemicznych czujnika oraz badań jego morfologii. Do tego celu posłużyło bogate spektrum technik takich jak: skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM), spektroskopia z dyspersją energii promieniowania rentgenowskiego (EDS), spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fourier'a (FT-IR) czy dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego (XRD).

Dla każdego oznaczanego antydepresantu wyjaśniano mechanizm reakcji elektrodowej, wskazując tym samym na źródło sygnału analitycznego oraz zoptymalizowano warunki prowadzenia pomiarów. Dokonano również częściowej walidacji opracowanych metod oznaczania wybranych leków oraz weryfikacji możliwości zastosowania opracowanych czujników w analizie próbek rzeczywistych takich jak: leki, syntetyczne materiały odniesienia moczu i surowicy krwi oraz materiały referencyjne wód środowiskowych, dotowanych lekiem.

Przedłożona do recenzji dysertacja, licząca 198 strony została podzielona na 18 części. Rozpoczyna się od *Wykazu akronimów*. Następnie *Wprowadzenie* uzasadnia wybór tematyki badawczej oraz wskazuje na jej istotne znaczenie.

Studia literaturowe przedstawione na 38 stronach oparto o 129 pozycje bibliograficzne. Zawierają one dokładną charakterystykę czujników chemicznych, popularnych technik woltamperometrycznych oraz stosowanych nanomateriałów w konstrukcji czujników woltamperometrycznych.



W końcowych fragmentach tej części zwrócono uwagę na chorobę cywilizacyjną jaką jest depresja, jej leczenie i uboczne skutki tego leczenia w tym również wpływ leków i ich metabolitów na inne organizmy żywe.

Ta część pracy napisana jest w sposób logiczny, a podział na kolejne rozdziały zapewnił przejrzystość przedstawionych tak istotnych zagadnień.

W kolejnej części rozprawy Autorka klarownie wskazuje na *Cel i zakres badań*. Ze względu na szeroki zakres prowadzonych badań przedstawiła i sumarycznie scharakteryzowała wszystkie etapy planowanych badań.

W części doświadczalnej, którą stanowi rozdział 7 Autorka opisała stosowane odczynniki i roztwory, aparaturę i procedury pomiarowe. Istotne wydało się dla mnie wskazanie zasad interpretacji wyników.

Ta część dysertacji pokazuje bardzo szeroki zakres badań eksperymentalnych oraz bogate spektrum technik, które to umożliwiły realizację założonego celu badawczego. Na uwagę zasługuje również fakt współpracy naukowej z różnymi zespołami i ośrodkami badawczymi.

Najobszerniejsza część pracy dotyczy wyników badań i ich omówienia. Podzielona na 4 główne rozdziały dedykowane wybranym antydepresantom skonkretyzowano w odniesieniu do: badań wstępnych, optymalizacji parametrów eksperymentalnych i procedur przygotowania czujników, charakterystyki i morfologii elektrod modyfikowanych, badania mechanizmu reakcji elektrodowej, charakterystyki analitycznej opracowanej metody, analizy próbek rzeczywistych oraz podsumowania i wniosków.

Wyniki badań zostały jasno przedstawione, wyczerpująco omówione oraz odniesione do istniejącego stanu wiedzy.

Kompleksowe wnioski wynikające z przeprowadzonych doświadczeń zostały poprawnie sformułowane i zamieszczone w części *Podsumowanie badań i wnioski końcowe*. Końcowe fragmenty pracy zawierają spis cytowanej literatury, tabel oraz rysunków, streszczenie w językach polskim i angielskim oraz prezentację dorobku naukowego Autorki. Pragnę zauważyć, że praca oparta jest na 156 pozycjach bibliograficznych, z których większość pochodzi z ostatnich lat, co świadczy o dużej aktualności podjętych badań.



Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27

Recenzowana rozprawa Pani mgr Marii Madej jest w mojej ocenie pracą zdecydowanie wyróżniającą się. Wszystkie postawione cele pracy zostały w pełni zrealizowane. Przedstawiony materiał doświadczalny oraz jego interpretacja wnoszą znaczący element nowości naukowej w obecny stan wiedzy, a przeprowadzone badania odznaczają się oryginalnością i mają duży potencjał w aspekcie ich zastosowania w praktyce. Pragnę zaakcentować również włożony przez Autorkę niezwykle wysiłek intelektualny i badawczy w realizację tej dysertacji.

W moim przekonaniu do najważniejszych osiągnięć recenzowanej rozprawy należy zaproponowanie:

- oryginalnej procedury woltamperometrycznego oznaczania wiloksazyny za pomocą elektrody diamentowej domieszkowanej borem,
- nowatorskiego czujnika (FeZ-G/GCE) do oznaczania amitryptyliny wytworzonego na drodze modyfikacji elektrody z węgla szklanego nanokompozytem złożonym z naturalnego zeolitu poddanego wcześniej wymianie jonowej na kationy Fe^{3+} i grafitu w osnowie polistyrenowej,
- innowacyjnego czujnika (JUK-2-MWCNTs-AuNPs/GCE) do oznaczania citalopramu skonstruowanego na drodze modyfikacji elektrody z węgla szklanego nanokompozytem utworzonym z sieci metaloorganicznej JUK-2, wielościennych nanorurek węglowych i nanocząstek złota,
- czujnika (PACN/C-SPE) przeznaczonego do oznaczania bupropionu wytworzonego na drodze modyfikacji węglowej elektrody sitodrukowanej nanowarstwą poliakrylonitrylu nanoszoną w technologii chemicznego osadzania z fazy gazowej wspomaganego zimną plazmą, po raz pierwszy opisanego.

Należy zaznaczyć, że w kontekście analizy leków przeciwdepresyjnych wszystkie ww. czujniki oferowały znacznie korzystniejsze parametry jakości i czułości w porównaniu do elektrod niemodyfikowanych. Opracowane zaś nowe procedury oznaczania antydepresantów wyróżniają: szeroki zakres liniowości, doskonała czułość, bardzo niski próg detekcji, dobra precyzja i dokładność, zadowalająca powtarzalność i odtwarzalność oraz istotna odporność względem wielu potencjalnych interferentów.

Olbrzymie znaczenie ma tutaj aspekt praktyczny przeprowadzonych przez Doktorantkę badań a możliwość oznaczania leków w różnorodnych próbkach szybko, prosto, bez



Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27

wstępnego etapu przygotowania z wykorzystaniem metod woltamperometrycznych wykorzystujących zaproponowane przez Doktorantkę czujniki, stanowi interesującą i bardzo konkurencyjną alternatywę do popularnych np. metod chromatograficznych czy spektroskopowych.

Niezależnie jednak od mojej bardzo wysokiej oceny jakości badań zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Marii Madej nasunęły mi się w czasie jej lektury drobne uwagi i pytania. Dotyczą one następujących zagadnień.

- Warto pochylić się nad sposobem obliczania granicy wykrywalności (LOD) i oznaczalności. Według mojej wiedzy, wartość granicy oznaczalności (LOQ) nie powinna być wyższa niż pierwsze stężenie z zakresu liniowego krzywej kalibracyjnej. Można obliczyć LOD i LOQ w oparciu o odchylenie standardowe z wyrazu wolnego z krzywej kalibracyjnej (P. Konieczka, J. Namieśnik, Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, Wydawnictwo WNT).
- Pewną moją wątpliwość budzi wybór możliwych interferentów w trakcie oceny selektywności czujnika. Brakuje mi chociażby badań wpływu jonów metali ciężkich na sygnał badanych substancji. Bardzo proszę o wyjaśnienie.
- Czy zastosowanie dłuższego czasu aktywacji elektrochemicznej elektrody BDD mogłoby mieć wpływ na sygnał woltamperometryczny?
- Pragnę również zwrócić uwagę na pewne niefortunne sformułowania, „komercyjne elektrody podłożowe” (str. 50), czy „próbki wzbogacone lekiem” (np. str. 63). W trakcie badań oznaczane były substancje czynne leku, a nie lek. Ponadto, PBS to nie jest bufor fosforanowy tylko buforowana fosforanem sól fizjologiczna.
- Dbając o poprawność językową w pracach uważam, że powinno się stosować następujące terminy: obrazy SEM zamiast zdjęcia SEM, potencjał i czas nagromadzenia lub zateżania zamiast potencjał i czas akumulacji, woltamperometria impulsowo różnicowa zamiast impulsowa woltamperometria różnicowa, krzywa kalibracyjna zamiast wykres kalibracyjny.

Powyższe uwagi, sugestie i zapytania nie umniejszają jednak wartości merytorycznej prezentowanych rezultatów oraz mojej bardzo pozytywnej oceny.



Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27

Chciałabym również szczególnie podkreślić dorobek naukowy Doktorantki. Pani mgr Maria Madej jest współautorem 5 oryginalnych publikacji naukowych, spośród których w 4 występuje jako pierwszy autor. Prace te ukazały się w renomowanych czasopiśmie z listy filadelfijskiej. Całkowita wartość współczynnika IF wynosi 20,235. Dorobek naukowy Doktorantki stanowią również: 8 rozdziałów w monografiach naukowych i materiałach pokonferencyjnych oraz 23 prezentacje na konferencjach międzynarodowych i krajowych, w tym 12 wystąpień ustnych.

Na wyróżnienie zasługuje udział Doktorantki w stażu naukowym, który odbyła w Katedrze Inżynierii Molekularnej, Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej.

Reasumując, na podstawie przeprowadzonej analizy rozprawy doktorskiej Pani mgr Marii Madej stwierdzam, że recenzowana praca jest bardzo wartościowym opracowaniem, które stanowi znaczące rozszerzenie wiedzy w dziedzinach: elektrochemii, elektroanalizy i chemii analitycznej. Na uwagę zasługuje bardzo szeroki zakres wykonanej pracy doświadczalnej, a także umiejętność stosowania wielu nowoczesnych technik pomiarowych. Świadczy to o bardzo dobrych podstawach naukowych Autorki, wszechstronności i nowoczesnym podejściu do postawionego problemu badawczego.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska Pani mgr Marii Madej w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami).

Dlatego też wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie pracy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z aktualnością tematyki badawczej, wysoką wartością poznawczą i użytkową prezentowanych wyników oraz ich istotnym wkładem w istniejący stan wiedzy, a także znaczącą aktywnością naukową Pani mgr Marii Madej składam **wniosek o wyróżnienie** przedstawionej przez Nią rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. Agnieszka Nosal – Wiercińska

