

Prof. dr hab. inż. Krzysztof Fitzner

Zaczarowane Koło 7 m.27

30-087 Kraków,

Emerytowany profesor zwyczajny

Akademii Górniczo-Hutniczej im St.Staszica w Krakowie.

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Ewy Wierzbickiej pt. „*Electrochemical sensors for epinephrine determination based on gold nanostructures*”.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Ewy Wierzbickiej, doktorantki Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, dotyczy opracowania elektrochemicznego sensora zdolnego do określenia stężenia epinefryny obecnej w organizmie ludzkim.

Epinefryna (adrenalina) jest substancją obecną we krwi, powodującą przyśpieszenie akcji serca, podwyższenie ciśnienia tętniczego, oraz wzrost poziomu glukozy we krwi. Spadek poziomu epinefryny powoduje objawy kardiogenego wstrząsu, który może prowadzić do tragicznych skutków. Tak więc szybkie oznaczenie stężenia epinefryny może w danym przypadku być pomocne w wyborze sposobu leczenia. Z tego też powodu temat pracy doktorskiej mgr Ewy Wierzbickiej jest ciekawy i jak najbardziej uzasadniony.

Rozprawa doktorska pani Ewy Wierzbickiej opiera się na trzech publikacjach, których doktorantka jest współautorem. Do nich został dołączony opis w języku angielskim dający pogląd o całości wykonanej pracy. Dwie publikacje :

E.Wierzbicka, G.D.Sulka: *Fabrication of highly ordered nanoporous thin Au films and their application for electrochemical determination of epinephrine* ; Sensors and Actuators B: Chemical, 222 (2016)270

oraz

E.Wierzbicka, G.D.Sulka: *Nanoporous spongelike Au-Ag films for electrochemical epinephrine sensing*; J.Electroanal. Chem., 762 (2016) 43

zostały opublikowane wraz z promotorem pracy.

Trzecia publikacja :

E.Wierzbicka, M.Szultka-Młyńska, B.Buszewski, G.D.Sulka: Sensors and Actuators B:Chemical, 237 (2016) 206

powstała we współpracy z Wydziałem Chemii UMK w Toruniu, dzięki czemu doktorantka uzyskała dostęp do unikalnej aparatury badawczej. Dzięki tym publikacjom wyniki badań doktorantki stały się dostępne środowisku naukowemu na całym świecie, a tym samym poddane ocenie tego środowiska czyli otwarte na krytykę i wymianę poglądów. W takiej sytuacji rola recenzenta jest niejasna, gdyż praca *de facto* została już zrecenzowana i to na poziomie międzynarodowym, a skoro ukazała się po recenzjach w anglojęzycznych czasopismach o poziomie światowym to znaczy że spełnia wymogi stawiane przez środowisko ustanawiające w tej dziedzinie swoje standardy.

Przyjemność bycia recenzentem tej rozprawy, skłania mnie jednak do zwrócenia uwagi na kilka elementów zaprezentowanej pracy, które z mojego punktu widzenia, mogą być niejasne dla czytelnika i być może ich dyskusja pomoże doktorantce w Jej dalszej działalności.

W opisie pracy, który jest swego rodzaju „przewodnikiem” po publikacjach, brakuje moim zdaniem poruszenia dwóch problemów. Pierwszy dotyczy samego sensora. Rozwój konstrukcji tego typu urządzeń opartych o systemy w skali *nano* jest obecnie intensywnie rozwijany i modnym kierunkiem badawczym (patrz np. P.D.Howes et al.; Science, 346 , 3 October

2014) gdyż zastosowanie nanomateriałów stwarza nadzieje na miniaturyzację tego typu urządzeń. Dlatego też, myślę, że na podstawie analizy dostępnej literatury doktorantka powinna opisać istniejące typy konstrukcji sensorów, i po ich porównaniu zaproponować model swojego oraz podać zasadę na jakiej praca tego sensora ma się oprzeć. Samo znalezienie korelacji między mierzoną wielkością fizyczną (prąd, napięcie) w zależności od stężenia oznaczanej substancji jeszcze sensorem nie jest. Podstawowe pytanie na jakie należy odpowiedzieć to dlaczego ma on być lepszy od innych i czy da się taką konstrukcję zminiaturyzować. Autorka wybrała typ sensora oparty na pomiarze woltamperometrycznym, ale chciałbym wiedzieć dlaczego uważa że jest on lepszy od sensora potencjometrycznego? Obawiam się, że nie mając wizji działającego urządzenia pozostaną po nim tylko publikacje.

Druga sprawa to definicja pewnych parametrów. Liczyłem, że w opisie pracy znajdą się matematyczne definicje używanych przez Autorkę takich parametrów jak **Recovery** czy **Repeatability**. Niestety takich definicji w tym opisie nie znalazłem. Wróć do tego zagadnienia przy analizie kolejnych etapów pracy.

W pierwszej ze swoich publikacji doktorantka zajmuje się konstrukcją elektrody mogącej selektywnie reagować na obecność epinefryny. W tym celu najpierw zajmuje się wytworzeniem elektrod pokrytych złotem, które posiadają nanoporowate powierzchnie. Po opanowaniu tej trudnej sztuki przystępuje do badania reakcji zachodzącej na granicy elektroda / elektrolit, a w szczególności do znalezienia korelacji między maksimum gęstości prądu a stężeniem epinefryny w roztworze, która to korelacja jest podstawą działalności sensora. Ta praca doświadczalna jest wykonana na wysokim poziomie, niemniej nasuwa się w stosunku do niej kilka pytań:

- nawet przy wysokim stopniu organizacji wytworzonej struktury trudno jest ocenić jej powierzchnię, a ta jest konieczna do prawidłowego określenia

gęstości prądu. Doktorantka ją oblicza, ale czy nie można jej było określić doświadczalnie np. metodą adsorpcji BET? Skąd pewność że elektrolit penetruje te struktury całkowicie?

- zależności pokazane na rysunkach 5 i 6 nie mają zaznaczonego odchylenia standardowego dla otrzymanych punktów. Trudno ocenić czy jest to pokazany wynik jednego eksperymentu, czy średnia kilku. Autorka pracy pisze, że powtarzała doświadczenie kilkakrotnie, ale nie mówi czy były to próby dokonane na tej samej elektrodzie czy za każdym razem na innej? Takie dwie sytuacje nie są równoważne.

- nie wątpię, że eksperyment był przeprowadzony poprawnie, ale jeśli jakiś parametr przekracza 100 % budzi to podejrzenie błędu. Podobnie powtarzalność na poziomie 2% nie byłaby powodem do dumy (patrz Tabela 2). Dlatego warto takie parametry jak *Recovery* i *Repeatability* precyzyjnie zdefiniować.

- zależność i vs. C_{EP} (rys.8) nie wskazuje na istnienie dolnej granicy detekcji epinefryny. Takie ograniczenie chyba jednak istnieje, a ponieważ jest to parametr dla sensora ważny powinno być ono doświadczalnie określone i zaznaczone na tym wykresie linią poziomą.

Druga publikacja przedstawia wyniki pracy dotyczące innej elektrody. Jest nią nanoporowata powierzchnia utworzona tym razem z warstwy Au-Ag. W tym przypadku chyba trudniej jest otrzymać regularną powierzchnię o postaci nanorurek. Doktorantka liczy, że wprowadzenie srebra poprawi detekcję dzięki katalitycznemu wpływowi samej elektrody. Istotnie wyniki wskazują, że na tej elektrodzie transfer ładunku może być łatwiejszy. Brakuje jednak analizy czy jest to tylko wynikiem wprowadzeniem do niego srebra, które posiada lepsze przewodnictwo elektryczne niż złoto. Natomiast poprawy właściwości katalitycznych dla badanej elektrody nie udało się stwierdzić. Szkoda także, że doktorantka na tym samym wykresie nie porównała funkcji kalibracji i vs. C_{EP}

dla różnych elektrod tj badanych w pracy pierwszej i drugiej. Byłby to lepszy obraz istniejących różnic.

Autorka bada również mechanizm elektrochemicznego utleniania epinefryny. Pozwala to na śledzenie w dalszej części pracy reakcji elektrody na utlenianie epinefryny w obecności innych substancji w roztworze, a tym samym na ocenę jej selektywności. Jednak stwierdzenie, że reakcje utleniania i redukcji są kontrolowane przez dyfuzję budzi niepokój, że wyznaczane stężenie odpowiada raczej stanowi ustalonemu na powierzchni elektrody, a nie stężeniu równowagowemu w roztworze.

W trzeciej, ostatniej pracy, elektroda jest preparowana w sposób pozwalający na otrzymanie regularnej struktury nanorurek na jej powierzchni. Doktorantka opanował tę sztukę bardzo dobrze o czym świadczy zdjęcie zamieszczone w pracy (Fig.2). Sama technika pomiarów jest podobna jak w dwóch poprzednich pracach z tym, że tym razem poszerzono obszar badań dzięki dostępowi do systemu ROXY. Umożliwiło to identyfikację produktów reakcji elektrochemicznych, a tym samym dało lepszy wgląd w mechanizmy zachodzących procesów.

Aby potwierdzić poprawność działania elektrochemicznego systemu zbudowanego przez doktorantkę, przeprowadzono badania sprawdzające stosując inną metodę analityczną czyli chromatografię cieczową sprzężoną z spektrometrem masowym. Jest to bardzo dokładna technika pozwalająca na detekcję epinefryny przy jej bardzo małych stężeniach. Porównanie wyników wykazało, że proponowana metoda elektrochemiczna może być stosowana do wykrywania tej substancji, choć nie dla bardzo niskich zawartości.

O ile więc w pracy zostały potwierdzone takie cechy sensora jak selektywność, zakres liniowy korelacji (choć nie zaznaczono w sposób wyraźny granic górnej i dolnej) oraz powtarzalność wyniku, to autorka pracy nie wspomniała o czasie odpowiedzi systemu. Jaki jest czas potrzebny dla dojścia systemu do stanu równowagi? Czy ma na to wpływ mieszanie roztworu

i czy jest ono konieczne? Odpowiedzi na te pytania mają bezpośredni wpływ na konstrukcję sensora.

Podsumowując moją recenzję chcę zaznaczyć, że opis załączony do kompletu dokumentów jest wykonany starannie. Doktorantka wykonała ogromną pracę eksperymentalną, co pokazuje że jest osobą pracowitą i utalentowaną. Dlatego oceniając całość przedłożonej mi do recenzji pracy stwierdzam, że:

- doktorantka opanowała doskonale szereg technik eksperymentalnych nie tylko z obszaru elektrochemii ale także inżynierii materiałowej, Aby wykonać swoją pracę musiała wykazać się dużą pracowitością i inwencją.

- otrzymane wyniki potrafiła właściwie zinterpretować,

- określiła doświadczalnie zależność gęstości prądu od stężenia epinefryny stanowiącą podstawę działania elektrochemicznego sensora.

- wyniki jego pracy zweryfikował inną metoda analityczną.

W związku z powyższym uważam, że przedłożona do recenzji praca odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim i określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach i tytule naukowym wraz z jej późniejszymi zmianami i w związku z tym może być dopuszczona do publicznej obrony.

Kraków, dnia 12 -09- 2016

Krzysztof Fitzner

