

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr Ewy Wierzbickiej

pt.

Electrochemical sensors for epinephrine determination based on gold nanostructures

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Ewy Wierzbickiej pt. „*Electrochemical sensors for epinephrine determination based on gold nanostructures*” została wykonana w Zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod kierownictwem dra hab. Grzegorza Sulki, prof. UJ.

Podstawą rozprawy doktorskiej są trzy oryginalne prace, stanowiące zwarty cykl tematyczny, opublikowane w czasopismach będących na liście JCR: dwie prace w *Sensors and Actuators B* (**IF = 4,748**) oraz jedna w *Journal of Electroanalytical Chemistry* (**IF = 2,822**). Pomimo publikacji w roku 2016 jedna z prac została już zacytowana cztery razy.

Celem niniejszej pracy było wykorzystanie złota jako elektrochemicznego sensora do oznaczania epinefryny. Doktorantka skupiła się nad doбором odpowiedniej formy i struktury elektrod decydując się na zastosowanie złota w formie nanometrycznej. W tym celu wytworzyła trzy typy elektrod o różnej strukturze. W pierwszej kolejności zostały wytworzone elektrody nanoporowate w postaci cienkiej warstwy złota na matrycy Al₂O₃. Kolejnym typem były elektrody w formie nanoporowatej gąbki złotej domieszkowanej srebrem, dzięki któremu powinny poprawić się właściwości katalityczne tak wytworzonych

sensorów. Ostatnim typem elektrod były nanorurki Au, do otrzymywania których wykorzystano matryce z nanorurek Al_2O_3 . Właściwości elektrochemiczne elektrod nanostrukturalnych zostały porównane do właściwości litego złota. Należy tu wspomnieć o ogromie pracy włożonej przez Doktorantkę w opracowanie metodyki i optymalizację sposobu wytwarzania odpowiednich elektrod, co jasno nie wynika z przedstawionych publikacji. Podejmowana tematyka leży w nurcie badawczym zespołu prof. G. Sulki, obejmującym wytwarzanie materiałów o rozmiarach nanometrycznych oraz zastosowaniu tych materiałów w różnych dziedzinach nauki (biomateriały, kataliza, elektroanaliza).

W związku z tym, że opublikowane prace mają bardzo podobny schemat, który różni się głównie zastosowanym materiałem elektrodowym, pozwolę sobie na ich wspólne omówienie.

Epinefryna (adrenalina) jest bardzo ważnym hormonem oraz neurotransmiterem, który kontroluje układ nerwowy u ssaków. Zaburzenia stężenia tego hormonu we krwi powodują szereg niekorzystnych oddziaływań mogących prowadzić do różnych poważnych chorób. Z tego względu niezmiernie istotne jest prawidłowe oznaczenie zawartości epinefryny we krwi. Doktorantka proponuje tu zastosowanie elektrochemicznej metody analizy, wskazując jako jej główną zaletę mobilność i możliwość wykonania oznaczeń poza laboratorium analitycznym. W opublikowanych pracach w głównej mierze skupiono się na opracowaniu metody analitycznej pod kątem oznaczania epinefryny właśnie w próbkach biologicznych. Wspomniano także, że proponowana metoda może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Niestety wzmianki na ten temat nie zostały dostatecznie rozwinięte, a np. opracowany sensor elektrochemiczny mógłby zostać zastosowany do ciągłej kontroli produkcji epinefryny.

Jak wspomniałem wcześniej schemat prac jest bardzo podobny. Doktorantka wytwarza elektrody złote, a następnie poddaje je, zgodnie ze sztuką, wytypowanym badaniom elektrochemicznym stosując następujące techniki: chronoamperometria, woltamperometria liniowa i różnicowa, a także woltamperometria cykliczna. Dzięki zastosowaniu chronoamperometrii i woltamperometrii cyklicznej wyznacza i wylicza parametry elektrochemiczne procesu utleniania epinefryny. W każdej z prac Doktorantka

podjęła się dyskusji na temat niewyjaśnionego do tej pory mechanizmu utleniania epinefryny, co wskazuje na jej dojrzałość jako naukowca.

Uzyskane wyniki doświadczeń elektrochemicznych nie wykazały znacznych różnic we właściwościach elektrod nanometrycznych. Zaobserwowano jedynie różnice w wartościach niektórych parametrów elektrochemicznych. Wykazano natomiast znaczącą różnicę pomiędzy litym złotem, a nanostrukturalnym w stosunku do utleniania epinefryny. W przypadku stosowania litego złota nie zaobserwowano pików utleniania epinefryny w badanym zakresie jej stężenia.

Na zarejestrowanych woltamperogramach widoczne są wyraźne piki utleniania epinefryny. Ich liczba zmienia się i jest zależna od rodzaju zastosowanej elektrody nanostrukturalnej. W zależności od typu elektrody utlenianie jest procesem dwu lub trójelektronowym. W każdym przypadku jest to jednak proces kontrolowany dyfuzyjnie. W trzeciej publikacji składającej się na rozprawę doktorską Doktorantka przedstawiła wyniki badań mających na celu potwierdzenie mechanizmu utleniania epinefryny. W tym celu zastosowała system ROXY-MS. Na podstawie zebranych danych wskazała, iż proces utleniania przebiega zgodnie z mechanizmem ECE (transfer elektronu - reakcja chemiczna - transfer elektronu).

Porównując poszczególne typy elektrod nanometrycznych Doktorantka stwierdziła, że uzyskane parametry metody analitycznej (czułość, zakres oznaczalności, granica wykrywalności, współczynnik korelacji) znacząco się nie różnią. Najniższą granicę wykrywalności uzyskano stosując technikę woltamperometrii różnicowej. Niezależnie od typu elektrody i technik analitycznej nie osiągnięto odpowiedniej granicy wykrywalności aby móc zastosować proponowaną metodę do oznaczania próbek biologicznych.

Doktorantka potwierdziła możliwość oznaczania epinefryny metodą elektrochemiczną w obecności innych substancji, w tym również dających sygnał elektrochemiczny. Weryfikacją stosowanej metody było potwierdzenie stężenia epinefryny w próbkach metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z spektrometrem masowym (HPLC-MS), a także porównanie oznaczonego do znanego stężenia epinefryny

w produkcji handlowym. Zarówno w jednym jak i drugim przypadku uzyskano bardzo zbieżne wyniki.

Wyniki badań Doktorantki zostały opublikowane w czasopiśmie o bardzo dobrym wskaźniku oddziaływań IF, co oznacza, że zostały już wnikliwie zrecenzowane. Pomimo tego w rozprawie znalazło się kilka stwierdzeń i drobnych niejasności, które należy wyjaśnić.

1. Doktorantka wskazuje, iż w literaturze opisano różne metody oznaczania epinefryny oraz podaje te najpopularniejsze. Nie podaje natomiast jakie metody stosuje się najczęściej w praktyce laboratoryjnej.
2. Wskazano, że prowadzi się pomiary elektrochemiczne z wykorzystaniem elektrod enzymatycznych umożliwiającymi oznaczanie epinefryny o niskich stężeniach nie precyzując jednak zakresu tych stężeń.
3. Co Doktorantka rozumie pod pojęciem mechanicznie stabilne nanoporowate warstwy Au? Czy były prowadzone badania mechaniczne otrzymanych elektrod?
4. Doktorantka sugeruje, mając oczywiście rację, że wielkość powierzchni aktywnej elektrod może mieć wpływ na wielkość uzyskanego sygnału elektrochemicznego. Czy możliwe jest określenie powierzchni aktywnej wytworzonych elektrod nanostrukturalnych?
5. Wytrawianiu poddaje się metal, a nie jego jony.
6. Uzyskana dokładność wyników, podawana jako odzysk, mieszcząca się w zakresie od 97,5 do 113,9% jest bardzo dobra. Została jednak określona tylko dla jednego stężenia epinefryny (30 lub 70 μM w zależności od pracy), podczas gdy powinna być szacowana dla przynajmniej trzech różnych poziomów stężenia z badanego zakresu.
7. Doktorantka podaje, że opracowana metoda pomiarowa może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. Stwierdzenie to wymaga komentarza, ponieważ jest zbyt ogólnikowe. Czy na tym etapie możliwe jest wskazanie w których etapach produkcji epinefryny może być wykorzystywana metoda elektrochemiczna, a także w jakim zakresie stężeń będzie stosowana. Rodzi się także pytanie o wpływ zanieczyszczeń procesu w procesie produkcyjnym na elektrochemiczne oznaczanie epinefryny.

Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska leży w obszarze badań podstawowych. Zawiera ona w swojej treści elementy nowości naukowej, a także co najważniejsze z mojego punktu widzenia – propozycję zastosowania praktycznego uzyskanych wyników. Przedstawione drobne uwagi nie mają najmniejszego wpływu na moją ocenę rozprawy, która jest bardzo dobra. W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Ewy Wierzbickiej spełnia wymogi pracy doktorskiej, o których mowa w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki*. Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Ewy Wierzbickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Przedstawiona do oceny praca w głównej mierze dotyczy badań podstawowych, dzięki którym Doktorantka uzyskała nową wiedzę o procesie elektrochemicznego utleniania epinefryny z zastosowaniem elektrod złotych o różnej morfologii. Jednym z istotniejszych elementów przeprowadzonych badań było potwierdzenie mechanizmu utleniania elektrochemicznego epinefryny – ECE. Opublikowane badania mają bardzo wysoką wartość naukową, o czym także świadczy ranga czasopism, w których się ukazały. Sumaryczny IF publikacji związanych bezpośrednio z rozprawą doktorską wynosi **12,318**, co stanowi bardzo dobry wynik. Biorąc pod uwagę wartość naukową rozprawy doktorskiej Pani mgr Ewy Wierzbickiej, a także rangę czasopism, w których opublikowała wyniki wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego prośbę o wyróżnienie ocenianej rozprawy.

Wojciech Simka