

Łódź, dn. 28.11.2025r.

Prof.. dr hab. Sławomira Skrzypek
Kierownik Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Uniwersytet Łódzki
ul. Tamka 12, 91-403 Łódź
Tel.: (048) 042 635 57 44
e-mail: slawomira.skrzypek@chemia.uni.lodz.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Amandy Ledy pt. „Nanostrukturalne materiały na bazie wielościennych nanorurek węglowych oraz pochodnych pirenu do zastosowań w elektroanalizie i biosensorach”

Praca doktorska Pani magister Amandy Ledy została zrealizowana w Instytucie Chemii i Elektrochemii Technicznej na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej pod kierunkiem dr hab. inż. Tomasza Rębisia. Recenzowana rozprawa dotyczy badań mających na celu wytworzenie materiałów hybrydowych typu wielościenne nanorurki węglowe/pochodne pirenu na powierzchni elektrody z węgla szklanego, a także otrzymanie czujników elektrochemicznych służących do detekcji istotnych dla życia człowieka biomolekuł takich jak NADH i glukoza. W wymienionych czujnikach elementem wspólnym poza nanorurkami jest zastosowanie pirenu i jego pochodnych. Wykorzystanie tej klasy związków otwiera możliwość kontrolowania właściwości materiałów elektrodowych. Połączenie MWCNTs z pochodnymi pirenu uzasadnia przeprowadzanie ich elektroaktywacji na powierzchni elektrod, prowadzącej do powstawania nowych form redoks o korzystnych właściwościach elektrochemicznych. Interakcje typu π - π pomiędzy ściankami bocznymi nanorurek a pierścieniami aromatycznymi pochodnych pirenu umożliwiają prostą, niekowalencyjną syntezę materiałów elektrodowych.

Tematyka pracy doktorskiej realizowanej przez mgr Amandę Ledę jest bardzo ważna i wpisuje się nurt zainteresowań wielu dziedzin głównie związanych z medycyną, ale również biotechnologią. Na przykładzie biocujnika glukozy można stwierdzić, że istnieje ciągłe zapotrzebowanie na nowe rozwiązania umożliwiające oznaczanie biomolekuł mające na celu obniżenie granicy wykrywalności, zwiększenie zakresu liniowości, zmniejszenie interferencji związanych z matrycą próbek, miniaturyzację, zmniejszenie kosztów itp. Obecnie jednym z najbardziej popularnych sposobów oznaczania glukozy są procedury wykorzystujące właśnie sensory. Świadczy o tym chociażby rosnąca z roku na rok liczba artykułów naukowych poświęconych tej tematyce. Biosensory są proste w użyciu

i bardzo dokładne w przypadku wykrycia analitów. Według analizy Market Research Future¹, globalny rynek rozwoju i popytu na biosensory został wyceniony na 29,32 mld USD w 2022 r. i przewiduje się, że do 2032 r. wzrośnie do 55,6 mld USD. Rynek napędzany jest zwiększającą się częstością występowania chorób przewlekłych, postępem technologicznym i rosnącym popytem na badania w punktach opieki medycznej. Kluczowe zastosowania obejmują diagnostykę medyczną, monitorowanie środowiska i kontrolę jakości żywności, przy czym diagnostyka medyczna stanowi największy segment.

Przedstawiona do recenzji w klasycznym układzie na 208 stronach praca składa się z części literaturowej (52 strony) oraz części eksperymentalnej (90 strony). Przed częścią eksperymentalną Autorka zamieściła cele pracy. Podsumowaniem części doświadczalnej są przejrzyste wnioski końcowe. Dobrze napisane zwięzłe streszczenie informuje o najważniejszych osiągnięciach pracy. Rozprawa zawiera spis odnośników do cytowanej literatury obejmujący aż 251 pozycji, w pracy można znaleźć kilkadziesiąt rysunków i tabel. Poglądowe, kolorowe rysunki zostały wykonane bardzo starannie, co ułatwia czytanie i zrozumienie pracy. Przydatny też jest alfabetyczny spis skrótów stosowanych w pracy, przedstawiony przed spisem treści. Część literaturowa jest ściśle związana z tematyką prowadzonych badań eksperymentalnych. Autorka w kompetentny sposób scharakteryzowała sensory elektrochemiczne, ich zastosowanie, wyzwania i perspektywy w zakresie aplikacji sensorów. W tym punkcie przywołała wiele ciekawych, opublikowanych już rozwiązań przedstawiających sensory do oznaczania np. glukozy, związków fenolowych, dopaminy, epinefryny. Następnie Autorka przedstawiła analit NADH (dinukleotyd β -nikotynoamidoadeninowy w formie hydratu zredukowanej soli disodowej), który chciała oznaczyć: informacje ogólne, mechanizm utleniania, a także metody jego oznaczania. Ponadto omówiła nanorurki węglowe i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne jako modyfikatory elektrod. Część teoretyczną zamyka rozdział poświęcony modyfikacjom materiałów węglowych związkami organicznymi, w tym wykorzystanymi w pracy pirenem i jego pochodnymi. W tej części może warto

¹ https://www.marketresearchfuture.com/reports/global-biosensors-market-833?gad_source=1&gad_campaignid=23142126881&gbraid=0AAAABBwbpzu5y5eL11bP6qXFf625lznI6&gclid=Cj0KCQjwgpzIBhCOARIsABZm7vFbByqRmePnwr6wKApUF0EBzK1w6shNF0owOrDQsiwdx-de2bJpljwaAigyEALw_wcB

było przedstawić glukozę jako analit który oznaczano za pomocą elektrod modyfikowanych GC/MWCNTs/1-AP/Cat/GDH czy GC/MWCNTs/1-AP/3-MCat/GDH.

Reasumując uważam, że podane w części teoretycznej informacje są przydatne, umiejętnie przybliżają czytelnikowi problematykę rozprawy doktorskiej i stanowią dobre wprowadzenie do jej części eksperymentalnej. Ponadto można stwierdzić, że odpowiednio zebrana bibliografia dowodzi bardzo dobrej znajomości przedmiotu badań przez Doktorantkę. Nie mam również zastrzeżeń do logiki i sposobu narracji wprowadzenia do rozprawy. Redakcja pracy jest bardzo staranna (zauważyłam jedynie 2 „literówki” i jedno zapożyczenia z języka angielskiego) i dobrze się ją czyta.

W części doświadczalnej można wyróżnić trzy główne zadania, które stanowią podstawę przedstawionej rozprawy doktorskiej. Zadanie pierwsze dotyczyło elektrochemicznego wytwarzania 1-aminopireno-4,5,9,10-tetrolu (1-APox) na powierzchni elektrody z węgla szklanego (GC) modyfikowanej MWCNTs w celu katalitycznego utlenienia NADH. Właśnie proces elektrochemicznej aktywacji elektrody GC/MWCNT zmodyfikowanej na początku 1-aminopirenem (1-AP) z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej umożliwił powstanie nowych, elektroaktywnych form na powierzchni elektrody (1-APox). W celu identyfikacji produktu reakcji elektrodowej Doktorantka przygotowała metanolowy ekstrakt z powierzchni aktywowanej elektrody, który następnie zbadała techniką spektrometrii mas. Uzyskała przewidywane wyniki. Ponadto zbadała morfologie MWCNTs i MWCNTs/1-APox technikami mikroskopii sił atomowych (AFM) i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). W kolejnym etapie badań zarejestrowała widma FT-IR (spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera), aby przeanalizować skład chemiczny poszczególnych komponentów zmodyfikowanej elektrody GC. Ponadto, w celu dogłębnej charakterystyki grup funkcyjnych materiałów MWCNTs/1-AP i elektrochemicznie aktywowanego MWCNTs/1-APox zastosowała rentgenowską spektroskopię fotoelektronów (XPS). Kolejnym etapem badań była elektrochemiczna charakterystyka elektrody GC/MWCNT/1-APox przeprowadzona technikami woltamperometrii, chronoamperometrii i elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej w buforze fosforanowym o pH 7.4 zawierającym marker redoks. Ponadto Autorka przeprowadziła również testy mające na celu określenie stabilności elektrody modyfikowanej GC/MWCNT/1-APox. Otrzymana elektroda GC/MWCNTs/1-APox pozwoliła na elektROUTLENIANIE NADH przy relatywnie niskim potencjale (+0,1 V vs. Ag/AgCl) oraz jego oznaczanie metodą chronoamperometrii przy stałym

potencjałe w próbkach modelowych w zakresie 1-110 μM i rzeczywistych (suplementy diety). Zadanie drugie dotyczyło elektrochemicznego osadzania 3-metoksykatechlu (3-MCat) lub katecholu (Cat) na powierzchni MWCNTs modyfikowanych 1-aminopirenem, a następnie restrukturyzacji powierzchni w wyniku skanowania elektrody (technika woltamperometrii cyklicznej). Taka modyfikacja elektrody z węgla szklanego pozwoliła na otrzymanie elektroaktywnych produktów także charakteryzujących się odwracalnym przejściem chinon – hydrochinon. Etapy przygotowania elektrody modyfikowanej GC/MWCNTs/1-AP/3-MCat, w tym adsorpcji 1-AP na MWCNTs oraz przyłączenia 3-MCat w reakcji addycji Michaela Autorka bardzo dobrze przedstawiła na Rys.38. W kolejnych badaniach Doktorantka zastosowała szeroką analizę fizykochemiczną otrzymanych materiałów elektrodowych uzyskując potwierdzenie swoich tez. Bardzo ciekawe są też badania elektrochemiczne sprzężone z elektrochemiczną mikrowagą kwarcową (EQCM). Wraz ze wzrostem wykonanych cykli (CV), zarówno w przypadku skanowania w roztworze Cat, jak i 3-MCat, widoczny jest stopniowy spadek częstotliwości, co z kolei potwierdza, że przyłączenie katecholu i 3-metoksykatecholu zachodzi podczas polaryzowania elektrody do potencjałów anodowych. W tym miejscu należy podkreślić, że Doktorantka bardzo wnikliwie podchodzi do interpretacji wyników badań elektrochemicznych w całej pracy, co nie jest łatwe i wymaga dużej znajomości zachodzących procesów elektrodowych. Kolejnym etapem było zoptymalizowanie przez Doktorantkę ilości katecholu i 3-metylokatecholu do modyfikacji elektrod i oznaczenie NADH na GC/MWCNTs/1-AP/3-MCat oraz GC/MWCNTs/1-AP/Cat technikami amperometrycznymi. Następnie Doktorantka przeprowadziła statystyczną ocenę wyników i parametry walidacyjne porównała z innymi przedstawionymi w literaturze (Tabela 8). Ponadto Autorka przeprowadziła immobilizację dehydrogenazy glukozowej na powierzchni w/w elektrod modyfikowanych i amperometrycznie oznaczyła glukozę. Uzyskane wyniki poddała analizie statystycznej, a zwalidowaną metodę zastosowała do oznaczenia glukozy w próbce rzeczywistej (napój izotoniczny). Zadanie trzecie związane było z elektrochemiczną aktywacją innych pochodnych pirenu tj. 1-hydroksypirenu (1-HP) i kwasu 1-pirenoboronowego (PBA), co pozwoliło na otrzymanie nowych elektroaktywnych form redoks na powierzchni elektrod modyfikowanych tj. GC/MWCNTs/1-HPox i GC/MWCNTs/PBAox. Ze względu na dobrą kinetykę transferu elektronów tak modyfikowane elektrody mogą być wykorzystane dalej w elektroanalizie. Wszystkie przedstawione badania zawarte w przedłożonej do oceny pracy wykonano poprawnie. Część eksperymentalna jest bardzo obszerna i wymagała od Doktorantki bardzo dobrej znajomości technik elektrochemicznych i spektroskopowych. Wiele badań jakie przedstawiła w swojej pracy doktorskiej znalazły odzwierciedlenie w 2 publikacjach

w wysoko punktowanym czasopiśmie z listy filadelfijskiej *Electrochimica Acta* $I_f_{2023} = 5.3$. Poza tym Pani Amanda jest współautorką 7 innych publikacji opublikowanych w dobrych czasopismach z listy JCR, 17 posterów i 6 prezentacji ustnych przedstawionych na konferencjach naukowych.

Podsumowując część eksperymentalną chciałabym podkreślić, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania wymagały specjalistycznej i szerokiej wiedzy. Doktorantce udało się zakończyć swoją pracę niewątpliwymi osiągnięciami. Świadczy to o bardzo dobrych podstawach naukowych, wszechstronności i nowoczesnym podejściu Doktorantki do postawionego problemu naukowego. Po przeczytaniu pracy pojawia się jednak kilka uwag krytycznych czy pytań odnośnie sposobu prezentacji czy dyskusji wyników, które z pewnością mogą być wyjaśnione w trakcie publicznej obrony pracy.

1) Jak Doktorantka definiuje określenie „detekcja”, a jak „oznaczenie” związku chemicznego? Np. tytuł rozdziału 2, czy podrozdziału 2.2.4 mówi o amperometrycznej detekcji NADH, ale już dany podrozdział dotyczy de facto jego (NADH) oznaczenia i ostatecznie podawany jest zakres stężeń w którym ten związek może być oznaczony za pomocą opracowanego czujnika, granice oznaczalności i wykrywalności metody. W tym kontekście sformułowanie „porównano parametry analityczne uzyskane dla elektrod modyfikowanych...” (np. str. 139) jest niefortunne, ponieważ może sugerować, że parametry walidacyjne takie jak chociażby zakres liniowości, LOD, LOQ precyzja dotyczą samej elektrody, a nie metody oznaczenia konkretnego związku z wykorzystaniem tej elektrody.

2) Opracowując chronoamperometryczną metodę oznaczenia NADH z wykorzystaniem elektrody GC/MWCNTs/1-APox Doktorantka badała selektywność metody (str. 107). Czym podyktowany był wybór stosowania interferenta w stężeniu równym stężeniu NADH (1:1), a nie w stężeniu kilka razy większym czy wielokrotnie większym? Analogiczne pytanie do oznaczania glukozy (str.141)

3) Badając stabilność zmodyfikowanej elektrody GC/MWCNTs/1-APox (str. 109) Autorka pisze, że „Po dodaniu 10 μM NADH widoczny jest gwałtowny wzrost prądu, który spadał wraz z upływem czasu. Po 1 godzinie spadek sygnału wynosił około 30%”. W jaki sposób Autorka poradziła sobie z tym problemem prowadząc eksperyment? Czy zmodyfikowana elektroda była aktywowana po każdym pomiarze w środowisku kwaśnym?

4). Doktorantka oznaczyła NADH w suplementach diety. Określiła średnią zawartość i przedział ufności. Jakie były parametry statystycznej oceny wyników (n , P , α)? Podobne pytanie dotyczy również oznaczenia glukozy (str.137).

5) Co zainspirowało Autorkę do modyfikacji elektrody konkretnie katecholem i 3-metoksykatecholem? Proszę o dyskusję w trakcie obrony pracy.

6) Doktorantka korzystając z techniki woltamperometrii cyklicznej w opisach często stosuje sformułowanie „szybkość przesuwu potencjału”. Dużo lepszym sformułowaniem jest „szybkość przykładanego potencjału” czy „szybkość przemiatania potencjałem”.

7) Z obowiązku recenzenta muszę też zwrócić uwagę na używanie wyrażenia „wykształcony sygnał” w przypadku rejestrowanych sygnałów woltamperometrycznych. Moim zdaniem sygnały woltamperometryczne są raczej ukształtowane, niż „wykształcone”.

Pomimo moich powyższych uwag, które mają oczywiście charakter dyskusyjny chciałabym wyrazić moje uznanie dla wkładu pracy Doktorantki, podkreślić znaczenie naukowe uzyskanych wyników i ocenić recenzowaną przeze mnie pracę doktorską bardzo dobrze. Przedstawioną pracę cechuje wysoki poziom naukowy, praca wykazuje oryginalność rozwiązań, trafne opisy wyjaśniające zachodzące zjawiska i posiada wyraźny element nowości naukowej. Niniejszym spełnia kryteria określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę wniosek o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Amandy Ledy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.