

Kraków, dn. 28.08.2019r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Sipy pt.
„Nanomateriały jako modyfikatory powierzchni stałych elektrod węglowych
w voltamperometrycznym oznaczaniu wybranych związków biologicznie
czynnych”**

Recenzowana praca doktorska została wykonana w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, pod kierunkiem prof. dr hab. Sławomiry Skrzypek i dr Marioli Brycht jako promotora pomocniczego. Zespół, w którym realizowała badania naukowe to uznana i dobrze rozpoznawalna grupa badaczy zajmująca się między innymi budową czujników i ich aplikacją w elektroanalizie chemicznej. Praca mgr Karoliny Sipy dobrze wpisuje się w ten nurt badawczy i dotyczy udanych prób modyfikacji elektrod węglowych (BDDE, GCE i UTGE) i ich aplikacji w analizie pestycydów (dichlorofenu, metobromuronu, karbendazymu) oraz leku weterynaryjnego (nitroksynilu) w wodach rzecznych, glebie i mleku. Odpowiednio wysoką czułość, korzystny stosunek sygnału do szumu, i niski wpływ matrycy na rejestrowany sygnał analityczny Doktorantka osiągnęła stosując własne oryginalne procedury nanoszenia nanomateriałów węglowych (CNTs, GNPs, fG, CNHs), kompozytów węglowo-polimerowych (Nafion) i nanocząstek kompleksów inkluzyjnych (β -cyklodekstryn). Praca ma charakter aplikacyjny, stąd proponowane procedury analityczne są rzetelnie udokumentowane i skomentowane. Uważam, że podjęta tematyka badawcza jest aktualna, interesująca, i w pełni uzasadniona.

Rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Sipy została przedłożona jako jednotematyczny cykl pięciu artykułów naukowych, opublikowanych w prestiżowych czasopismach z bazy *Journal Citation Reports* ($\Sigma IF_{2018} = 18.897$), który poprzedza 35-stronicowe wprowadzenie w problematykę doktoratu. Spis literatury obejmuje umiejętnie wybrane prace, w tym kilka artykułów naukowych o znaczeniu historycznym, i w przeważającej liczbie publikacje z ostatnich kilku lat. Z satysfakcją stwierdzam, że Doktorantka dokonała właściwego wyboru, a podjęta na wstępie dyskusja potwierdza wysokie umiejętności krytycznej analizy ogólnie dostępnej wiedzy.

W dysertacji Doktorantka zamieściła przedruki artykułów, które stanowią podstawę Jej rozprawy doktorskiej i ukazały się w następujących czasopismach: *Analytica Chimica Acta* ($IF_{2018} = 5.256$, 1 praca), *Ionics* ($IF_{2018} = 2.289$, 1 praca), *Talanta* ($IF_{2018} = 4.916$, 1 praca) oraz *Journal of Electroanalytical Chemistry* ($IF_{2018} = 3.218$, 2 prace).

Stwierdzam, że cykl ten jest zbiorem ściśle tematycznie powiązanych prac, co stanowi wymóg Ustawy, jest też przykładem interesującego, logicznie zaprojektowanego i rzetelnie zrealizowanego projektu badawczego. Oprócz artykułów wymienionych w dysertacji Doktorantka jest również współautorem 4 innych publikacji w czasopismach indeksowanych w bazie JCR ($\Sigma IF_{2018} = 7.077$) oraz 2 rozdziałów w recenzowanych monografiach.

Godna uwagi jest wyjątkową aktywność naukowa Doktorantki, której dowodzi liczba 21 posterów i 18 prezentacji ustnych wygłoszonych na konferencjach, rola wykonawcy w dwóch i kierowanie jednym grantem badawczym dla młodych naukowców Uniwersytetu Łódzkiego. Doktorantka w ramach programu CEEPUS odbyła 7 staży naukowych, w takich ośrodkach jak: University of Ljubljana (2-krotnie, łącznie 47 dni), University of Novi Sad (18 dni), University of Pardubice (2-krotnie, łącznie 8 dni), Karl-Franzens University (28 dni) i Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej (15 dni). Pani mgr Karolina Sipa ukończyła w 2018r., z wynikiem bardzo dobrym, studia podyplomowe w zakresie metod chromatograficznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Działalność organizacyjna to przede wszystkim prace na rzecz komitetów organizacyjnych pięciu Ogólnopolskich Łódzkich Sympozjów Doktorantów Chemii. Doktorantka odbyła 5 szkoleń zorganizowanych przez wiodące międzynarodowe koncerty produkujące bądź dostarczające specjalistyczny sprzęt dla chemii analitycznej. W uznaniu osiągnięć mgr Karolina Sipy otrzymała między innymi list gratulacyjny, dwa stypendia z dotacji projakościowej i dwie nagrody zespołowe od Rektora UŁ i Rektora UMCS oraz złoty medal za najlepszy poster od organizatorów V Ogólnopolskiej Konferencji „*Innowacje w praktyce*”.

Artykuły stanowiące podstawę doktoratu mgr Karoliny Sipy są 3-, 4-, 5-, 7- i 9-autorskie, stąd do dysertacji dołączono stosowne oświadczenia o procentowym udziale wnoszonym przez poszczególnych współtwórców. Zgodnie z zaleceniami Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów oświadczenia te jednoznacznie określają wkład Doktorantki w powstanie publikacji. Na ich podstawie stwierdzam, że indywidualny wkład mgr Karoliny Sipy w doświadczalną część pracy, która stanowi istotę podjętych badań jest wiodący. W dwóch artykułach Doktorantka jest autorem korespondencyjnym, w dwóch pierwszym autorem, natomiast w jednej była zaangażowana na każdym z etapów jej powstawania.

Doceniam zwięzłe i rzeczowe sformułowanie celu, zakresu i zasadności prowadzonych badań, które rozwinięto w poszczególnych sekcjach autoreferatu. Nie mniej w kontekście wymogu dokonania obiektywnej oceny osiągnięć Doktorantki na tle innych badaczy, zabrakło mi choćby tabelarycznego zestawienia parametrów kalibracyjnych dla innych elektroanalitycznych procedur oznaczania ww. analitów za pomocą różnych elektrod roboczych. Uważam także, iż zwrot „*stałych elektrod węglowych*” użyty w tytule rozprawy sugeruje jakoby istniały także *niestałe* elektrody węglowe? Dlatego na przyszłość proponuję Doktorantce dużą ostrożność w formułowaniu szczególnie tytułów Jej kolejnych prac.

Reasumując, bardzo przychylnie odnoszę się do przedłożonej rozprawy. Materiał przedstawiony w części wprowadzającej dowodzi spełnienia wymagań Ustawy w zakresie rozeznania literatury i opanowania odpowiedniego zakresu wiedzy, i dobrze uzasadnia celowość podjętych badań z tej tematyki. Tym samym mgr Karolina Sipa dowiodła, że osiągnęła odpowiedni wysoki poziom wiedzy w reprezentowanej dyscyplinie nauki.

Znaczenie podjętej tematyki

W licznych doniesieniach literaturowych można odnaleźć wiele spektroskopowych, chromatograficznych i elektroanalitycznych metod oznaczania dichlorofenu, metobromuronu, karbendazymu oraz nitroksynilu zasadniczo różnych pod względem stosowanej aparatury, ponoszonych kosztów analizy i jakości uzyskiwanych wyników. W ich grupie, ze względu na wyjątkowo wysoką czułość, selektywność i dokładność pomiaru na szczególną uwagę zasługuje voltamperometria, która wymaga jednak użycia elektrody roboczej o „doskonale” powtarzalnej i odtwarzalnej powierzchni. W moim odczuciu, warunek ten spełniają jedynie cyklicznie odnawialne kroplowe (HMDE) i cienkowarstwowe elektrody rtęciowe (MFE). W tym kontekście, badania Pani mgr Karoliny Sipy prowadzone z wykorzystaniem komercyjnych elektrod (BDDE, GCE i UTGE) modyfikowanych nanomateriałami i kompozytami węglowymi (CNTs, GNPs, fG, CNHs) a także nanocząstkami kompleksu inkluzyjnego (β -cyklodekstryn) należy uznać za nowatorskie i dobrze wpisane w aktualny kierunek rozwoju współczesnej elektroanalizy chemicznej i strategii monitorowania środowiska.

Osiągnięcia pracy

Podsumowując osiągnięcia naukowe Doktorantki należy zauważyć, że celem recenzji tak przedłożonej rozprawy doktorskiej nie jest ocena Jej dorobku, który odzwierciedla liczba opublikowanych prac i wystąpień na konferencjach, ale ocena osiągnięcia naukowego, które w tym przypadku jest rezultatem konsekwentnej realizacji konkretnych pomysłów. Stąd zweryfikowałem wszystkie etapy badań, poddałem analizie uzyskane wyniki i skonfrontowałem stawiane wnioski z moją wiedzą. Szczególnie wnikliwie oceniłem te artykuły, w których Doktorantka została wymieniona na pierwszym miejscu lub została wskazana jako autor korespondencyjny.

Do najważniejszych osiągnięć mgr Karoliny Sipy, które ewidentnie stanowią elementy nowości naukowej zaliczam:

- 1) Opracowanie oryginalnych metod modyfikacji powierzchni elektrody z węgla szklistego (GCE), elektrody diamentowej domieszkowanej borem (BDDE) i ultraśladowej elektrody grafitowej (UTGE) za pomocą materiałów węglowych, takich jak jednościenne (SWCNTs) i wielościenne (MWCNTs) nanorurki węglowe, nanorogi węglowe (CNHs), nanopłytki grafenu (GNPs) i grafen sfunkcjonalizowany grupami karboksylowymi.
- 2) Sfunkcjonalizowanie powierzchni elektrod MWCNTs-GCE i MWCNTs-BDDE poprzez osadzenie filmu nanocząstek β -cyklodekstryn (β -CDs) tj. kompleksu inkluzyjnego o rozpoznaniu molekularnym.
- 3) Przeprowadzenie dogłębnej charakterystyki morfologii powierzchni i elektrochemicznych właściwości ww. elektrod.
- 4) Opracowanie i zwalidowanie oryginalnych procedur oznaczania trzech pestycydów tj. dichlorofenu, metobromuronu i karbendazymu w wodach rzecznych i glebie oraz leku weterynaryjnego tj. nitroksynilu w mleku.
- 5) Wyznaczenie metodą potencjometryczną stałej dysocjacji (pK_a) dichlorofenu (Dcp)

- 6) Rozpoznanie stechiometrii i wyjaśnienie mechanizmów tworzenia kompleksów inkluzyjnych β -CDs – Dcp w roztworze i na powierzchni elektrody roboczej.
- 7) Dokonanie oceny podatności na korozję stali nierdzewnej AISI 316L w wodnym 3.5% roztworze chlorku sodu z dodatkiem $0.001 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ karbendazymu (Cbz).

Ocena końcowa

Praca doktorska Pani mgr Karoliny Sipy wnosi istotny wkład do dziedziny preparatyki próbek oraz elektroanalizy związków organicznych. Ma szereg walorów poznawczych, związanych z projektowaniem i wytwarzaniem nowych czujników w oparciu o komercyjnie dostępne elektrody (BDDE, GCE i UTGE), modyfikowane nanomateriałami i kompozytem węglowo-polimerowym oraz nanocząstkami kompleksu inkluzyjnego (β -CDs). Aspekt praktyczny pracy to aplikacja opracowanych elektrod i procedur do oznaczania wybranych pestycydów i leku weterynaryjnego w glebie, wodach środowiskowych i mleku.

Analizując rezultaty badań Doktorantki, należy zwrócić uwagę na bardzo duży wkład pracy własnej w przygotowanie elektrod, ich charakterystykę, i co równie istotne, trafny wybór metod badawczych. W mojej opinii każde działanie, które prowadzi do udoskonalenia lub choćby tylko poprawy niektórych parametrów metrologicznych lub użytkowych czujników stosowanych w woltamperometrii należy uznać za ważny przyczynek do rozwoju elektroanalizy chemicznej.

Rozprawa Pani mgr Karoliny Sipy jest napisana bardzo starannie, poprawnym językiem, bez rażących błędów i zwrotów żargonowych. Na bardzo wysoką ocenę zasługują układ pracy, w tym przede wszystkim spójna chronologia omawianych zagadnień i bogata szata graficzna.

Reasumując, mgr Karolina Sipa jest współautorem 9 artykułów z tzw. *Listy filadelfijskiej*. Sumaryczny IF₂₀₁₈ wszystkich prac to 25.974, łączna liczba punktów MNiSW to 275. Prace te do dnia 28.08.2019 były cytowane 32 razy wg bazy WoS i 38 razy wg bazy Scopus. Jest także współautorem 2 rozdziałów w monografiach. Wygłosiła 6 komunikatów i prezentowała 18 posterów na konferencjach krajowych oraz 12 komunikatów i 3 postery na konferencjach międzynarodowych, co świadczy o wyjątkowej i pożądanej obecnie umiejętności prezentowania swoich wyników badań.

Uwagi i komentarze do pracy

Recenzowanie pracy doktorskiej opartej na cyklu jednotematycznych publikacji to wyjątkowo komfortowa sytuacja dla recenzenta, gdyż prezentowane wyniki, ich interpretacja, dyskusja i stawiane wnioski były już przedmiotem wnikliwej oceny innych, kompetentnych osób i środowiska naukowego. Nie mniej z obowiązku recenzenta proponuje kilka punktów do dyskusji:

- 1) Terminy typu „metoda” i „technika” nie są tożsame, stąd już pierwsze zdanie *Wstępu* „Techniki elektroanalizy, ... wśród stosowanych technik w chemii analitycznej, ..” wymaga korekty, gdyż jest w nim mowa o metodach, a nie o technikach.
- 2) Informacja ze *Wstępu* „Zakres polaryzacji elektrody pracującej ograniczony jest zarówno od strony potencjałów ujemnych (rozkładem elektrolitu podstawowego), jak i potencjałów dodatnich (elektrochemicznym rozpuszczaniem materiału elektrody).” wymaga doprecyzowania. Już na następnej stronie rozdziału, czytamy że chodzi również o „... wysokie nad napięcie wydzielania tlenu i chloru ..” a niekoniecznie o utlenianie materiału elektrody.

- 3) Informacja, iż „Wybór elektrody pracującej powinien być podyktowany kilkoma czynnikami, takimi jak m.in. .. możliwość pracy w zakresie potencjałów dodatnich (utlenianie) bądź ujemnych (redukcja) ..” nie jest prawdziwa, gdyż o tym czy na elektrodzie pracującej zachodzi proces redukcji czy utlenienia decyduje kierunek polaryzacji (katodowy lub anodowy), a nie zakres stosowanych potencjałów, co uzasadnienia studiowanie odwracalności procesów redoks.
- 4) Nazwa „ultraśladowa elektroda grafitowa” (UTGE, ang. *ultra-trace graphite electrode*), choć wprowadzona i stosowana przez firmę Metrohm wymaga przynajmniej kilku słów krytyki ze strony Doktorantki, która jest chemikiem analitykiem. O jakich ultraśladowach jest mowa, czy o zanieczyszczeniu materiału elektrody, czy może o oznaczanych analitach w próbce.
- 5) Informacja, że „Modyfikatory stosuje się w celu zwiększenia powierzchni aktywnej elektrod komercyjnych oraz porowatości, dzięki czemu uzyskane czujniki odznaczają się lepszą czułością i niższą granicą wykrywalności.” jest dyskusyjna gdyż porowatość materiału elektrodowego jest cechą wysoce niepożądaną, stąd elektrody grafitowe nie znalazły praktycznego zastosowania w elektroanalizie, natomiast rozwinął się nowy kierunek badań nad tzw. elektrodami pastowymi.
- 6) Rozdział „Przygotowanie elektrod pracujących”, ze względu na rozwijaną tematykę badawczą uznaję za kluczowy, niestety został napisany w sposób, który wyklucza odtworzenie procedur modyfikacji elektrod. Na przykład, drugi akapit rozdziału rozpoczyna się od opisu sporządzenia roztworu mieszaniny β -CDs i MWCNTs, a kończy informacją „W analogiczny sposób przygotowałam elektrody β -CDs-GCE oraz MWCNTs-GCE.”, podobnie dalej „... przygotowana została zawiesina MWCNTs w etanolu o stężeniu $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, do której dodano 0.1 mL 5-procentowego etanolowego roztworu Nafionu.”, stąd nasuwa się pytanie, jaka była objętość roztworu zawiesiny MWCNTs w etanolu?
- 7) Tabela 1, jak wytłumaczyć 3-krotny spadek chropowatości powierzchni elektrody UTGE po naniesieniu warstwy MWCNTs, a w przypadku warstwy GNPs nawet 4-krotny, jeżeli ośrodkiem dyspergującym jest dimetyloformamid, a nie polimer?
- 8) Jeżeli β -cyklodekstryny są izolatorami elektrycznymi, o czym w dwóch miejscach w rozdziale „Charakterystyka elektrochemiczna” informuje Doktorantka, to jaki sens ma ich stosowanie w voltamperometrii, konsekwencją musi być spadek omowy potencjału i obniżenie prądu pikowego.
- 9) W Tabeli 2, zestawiono dwie znacząco różne wartości parametru χ^0 (względnego rozsunęcia potencjału pików anodowego i katodowego), tj. 1.86 i 2.98 dla elektrod GCE. Wartości te świadczą, że albo elektrody były uszkodzone, albo zostały źle przygotowane do pomiarów. Dla dwóch elektrod MWCNTs-GCE wyznaczone wartości χ^0 wyniosły odpowiednio 1.10 i 2.37, co dowodzi, iż nie jest możliwe standaryzowanie takich elektrod.
- 10) W Tabeli 4, ani w żadnym z rozdziałów dysertacji nie podano stężenia buforów, które stosowano jako elektrolity podstawowe, natomiast w każdym przypadku podano wartość pH.
- 11) W Tabeli 6, zestawiono parametry kalibracji dla dichlorofenu, metobromuronu, karbendazymu i nitroksynilu, niestety nie podano czułości opracowanych metod. W przypadku kalibracji dla nitroksynilu uzyskano dwa różne zakresy liniowości tj. $2.00\text{-}9.13$ i $29.1\text{-}90.90 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Czy w zakresie $9.13\text{-}29.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ kalibracja nie spełnia kryterium liniowości?

- 12) Do grupy potencjalnych interferentów zaliczono jony: Cd^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} , NO_2^- i NO_3^- , czym uzasadnić ich wybór, skoro redukują się w zakresie katodowym, a oznaczenia prowadzono w zakresie anodowym?
- 13) Mimo zapewne skrupulatnie przeprowadzonej korekty tekstu, odnajduję kilka niezręczności i pomyłek:
- „... krótkim czasem prowadzenia pomiarów ..”, „... aby wybrana elektroda pracująca nie była toksyczna ..” (str. 13)
 - „... wolny transport elektronów do/od powierzchni elektrody ..” (str. 14)
 - „... doskonałą wydajność elektrochemiczną ..” (str. 16)
 - „... wyznaczyłam względną separację potencjału piku anodowego i katodowego (χ^0).” (str. 26)
 - „... oraz morfologię rejestrowanych sygnałów.” (str. 29)
 - „Optymalne parametry wybranych związków biologicznie czynnych ..” (str. 32)
 - „... przeprowadziłam statystykę ..”, „... wprowadzenie modyfikacji na powierzchnię ..” (str. 33)
 - „Analityczne zastosowanie opracowanych procedur analitycznych ..” (str. 35)
 - „... selektywność metody prowadziłam stosując ..” (str. 36)
 - „... przeprowadziłam walidację opracowanych procedur analitycznych, a ich poprawność zweryfikowałam poprzez oznaczenie ..” (str. 43)

które przekazuje Doktorantce celem przemyślenia i wykorzystania w przyszłości.

W odniesieniu do meritum pracy, wskazane powyżej drobne niedociągnięcia nie umniejszają jej wartości naukowej i merytorycznej, i nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę.

Wniosek końcowy

W mojej ocenie rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie kilku bardzo istotnych problemów naukowych, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Drobne błędy, które wymieniłem w niniejszej recenzji nie wpływają na moją wysoką ocenę merytoryczną przeprowadzonych badań. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa mgr Karoliny Sipy pt. *„Nanomateriały jako modyfikatory powierzchni stałych elektrod węglowych w voltamperometrycznym oznaczaniu wybranych związków biologicznie czynnych”* **spełnia wymagania odpowiednich przepisów prawnych i zwyczajowych stawianych pracom doktorskim i wnioskuje do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Karoliny Sipy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Biorąc pod uwagę bardzo szeroki zakres podjętych badań, ich interdyscyplinarność i aktualność, potwierdzoną współautorstwem 9 publikacji w prestiżowych czasopismach z bazy JCR, a także sposób zgłębiania problemów i aplikacyjny charakter tych badań przedkładaam Wysokiej Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego **wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Sipy.**

Kraków, 28.08.2019r.