



**UMCS**

Dr hab. Małgorzata Grabarczyk prof. UMCS  
Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej  
Wydział Chemii UMCS w Lublinie  
e-mail: mgrabarc@poczta.umcs.lublin.pl

Lublin 14.07.2015

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister Eweliny Sochy  
pt. „Przewodzące materiały kompozytowe na bazie poli(3,4-  
etylenodioksytiofenu) z immobilizowaną oksydazą glukozową”**

Praca doktorska magister Eweliny Sochy została zrealizowana w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, pod kierunkiem prof. UŁ dr hab. Sławomiry Skrzypek oraz promotora pomocniczego dr. Pawła Krzyczmonika. Recenzowana rozprawa dotyczy badań mających na celu otrzymanie biosensorów elektrochemicznych czułych na glukozę opartych na modyfikacji elektrod platynowych i złotych za pomocą poli(3,4-etylenodioksytiofenu) z immobilizowaną oksydazą glukozową.

Tematyka pracy wybranej przez magister Ewelinę Sochę jest bardzo ważna i wpisuje się nurt zainteresowań wielu dziedzin głównie związanych z medycyną, ale również biotechnologią, czy też przemysłem spożywczym. Dokładność i szybkość określenia poziomu glukozy jest szczególnie istotne w przypadku osób chorych na cukrzycę. W związku z tym istnieje ciągle zapotrzebowanie na nowe rozwiązania umożliwiające oznaczanie tego cukru prostego, mające na celu obniżenie granicy wykrywalności, zwiększenie zakresu liniowości, zmniejszenie interferencji związanych z matrycą próbki, miniaturyzację, zmniejszenie kosztów itp. Obecnie jednym z najbardziej



popularnych sposobów oznaczania glukozy są procedury wykorzystujące sensory. Świadczy o tym chociażby rosnąca z roku na rok liczba artykułów naukowych poświęconych tej tematyce. Opierając się na danych zebranych przez ISI Web of Knowledge w 2002 roku opublikowano niewiele ponad 300 artykułów opisujących sensory glukozy, podczas gdy w roku 2011 było już ich prawie 800. Nie dziwi więc fakt, że tą tematyką zainteresowała się również Doktorantka. Rozprawa doktorska magister Eweliny Sochy została przedstawiona w formie oprawionego maszynopisu obejmującego 180 stron, do którego dodane zostały kopie czterech artykułów, których współautorem jest Doktorantka. Spis literaturowy zawiera 154 pozycje i na podkreślenie zasługuje fakt, że zaprezentowano je wraz z podaniem tytułu każdego cytowanego artykułu, co wymagało od Doktorantki większego nakładu pracy, lecz dzięki temu rozprawa zyskała na wartości. Bardzo użyteczny jest dodany do pracy wykaz używanych skrótów. Struktura pracy jest tradycyjna i składa się z dwóch części: teoretycznej i doświadczalnej. W części pierwszej, która składa się z 8 rozdziałów, po wstępie, następuje wprowadzenie literaturowe przedstawione na 53 stronach.

Wstęp literaturowy jest ściśle związany z tematyką prowadzonych badań eksperymentalnych. Na początku Doktorantka opisuje polimery przewodzące, ze szczególnym uwzględnieniem poli(3,4-etylenodioksytyofenu). Kolejny z rozdziałów poświęcony jest sensorom chemicznym i biosensorom, ich klasyfikacji, zastosowaniu oraz sposobom immobilizacji enzymów w biosensorach. Bardzo zwięźle i logicznie Doktorantka podaje najważniejsze informacje o oksydazie glukozowej i glukozie, które wykorzystuje w swoich pomiarach. Następnie opisane są biosensory glukozy wraz z porównaniem najważniejszych parametrów dla wybranych, opracowanych na przestrzeni lat amperometrycznych biosensorów glukozy wykorzystujących oksydazę glukozową jako enzym. W każdym przypadku autorka wyjaśniła, w jaki sposób unieruchamiany był enzym. Na koniec części teoretycznej Doktorantka przedstawia chemiczne i enzymatyczne metody oznaczania stężenia glukozy oraz najważniejsze informacje o metodach pomiarowych zastosowanych w niniejszej rozprawie. Uważam, że podane informacje są bardzo przydatne, umiejętnie przybliżają czytelnikowi problematykę



rozprawy doktorskiej i stanowią dobre wprowadzenie do jej części eksperymentalnej. Podsumowując część literaturową, można stwierdzić, że odpowiednio zebrana bibliografia dowodzi dobrej znajomości przedmiotu badań. Nie mam również zastrzeżeń do logiki i sposobu narracji wprowadzenia do rozprawy. Redakcja pracy jest staranna i dobrze się ją czyta.

Z obowiązku recenzenta muszę jednak zauważyć, że Autorka nie ustrzegła się pewnych drobnych niedociągnięć:

- I tak, w podpisach do większości rysunków prezentowanych w części teoretycznej (dokładnie w 37 z 45) brakuje odnośników literaturowych. A w większości przypadków jak można się domyślać np. zdjęcia naukowców, schematy reakcji, są to dane zaczerpnięte z literatury.
- str. 26. Autorka pisze „Sensory i biosensory pozwalają zabezpieczyć produkty spożywcze...” Moim zdaniem jest to zbyt duży skrót myślowy i zamiast „zabezpieczyć” powinno być np. „kontrolować”.
- zdarzają się też drobne literówki, np. str. 55 „określona jest równanie...” zamiast „określona jest równaniem...”, „differentia” zamiast „differential”. Ale takie drobne błędy są nie do uniknięcia przy tak obszernym materiale.
- Odnośniki literaturowe na końcu zdania raz podawane są po kropce kończącej zdanie, a raz przed. Moim zdaniem powinno to być ujednolicone.

W części doświadczalnej można wyróżnić dwa główne zadania, które stanowią podstawę przedstawionej rozprawy doktorskiej:

- 1) *Otrzymanie biosensora glukozy z wykorzystaniem polimeru przewodzącego oraz oksydazy glukozy jako enzymu stosując jako podłoże elektrodę platynową.*
- 2) *Otrzymanie biosensora glukozy typu plaster miodu z wykorzystaniem polimeru przewodzącego oraz oksydazy glukozy jako enzymu stosując jako podłoże elektrodę złotą.*

W przypadku pierwszego zadania Autorka dokładnie opisuje w jaki sposób przygotowywała powierzchnię elektrody platynowej oraz następnie jej modyfikację z wykorzystaniem kompozytu na bazie EDOT-u z kwasem poliakrylowym lub EDOT-u z



kwasem antranilowym. W ten sposób otrzymała dwie różne elektrody, które w pracy nazwane zostały biosensorem A i B. Kolejnym krokiem była immobilizacja na powierzchni tych modyfikowanych elektrod oksydazy glukozy. Na podstawie danych literaturowych Doktorantka opracowała własną procedurę immobilizacji enzymu, którą opisała w rozdziale 6. W celu uzyskania biosensorów o jak najlepszych parametrach Doktorantka dokonała optymalizacji szeregu parametrów takich jak: rodzaj kompozytu modyfikującego, grubość warstwy kompozytu, dobór czynnika domieszkującego kompozyt. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów Autorka jako związek domieszkujący wybrała roztwór soli litowej kwasu poli(4-styrenosulfonowego) i dokładnie zbadała wpływ jego stężenia na pracę biosensora. Kolejnym krokiem było zbadanie czynników warunkujących unieruchomienie oksydazy glukozowej na powierzchni zmodyfikowanej elektrody. W tym celu zbadany został wpływ stężenia chlorowodoru N-(3-dimetyloaminopropyl)-N-etylokarboimidu oraz stężenia oksydazy glukozy. Na koniec Doktorantka zbadała stabilność i trwałość otrzymanych w zoptymalizowanych warunkach biosensorów oraz wyznaczyła ich krzywe wzorcowe oznaczania glukozy. Zarówno biosensor A jak i B zostały zbadane pod kątem wykorzystania ich jako sensorów I i III generacji. W przypadku zastosowania opracowanych biosensorów A i B jako sensorów III generacji Autorka uzyskała niezadawalające wyniki i eksperymentalnie potwierdziła, że opracowane przez nią elektrody są odpowiednie do pracy jako sensory I generacji.

Doktorantka w celu sprawdzenia praktycznego zastosowania opracowanych przez nią biosensorów sprawdziła wpływ kwasu askorbinowego jako potencjalnego interferenta oraz przeprowadziła oznaczanie glukozy w produktach pochodzenia naturalnego, takich jak sok jabłkowy, napój winogronowy, napój energetyczny i miód.

W przypadku drugiego zadania, które było celem tej pracy, Autorka dokładnie opisuje w jaki sposób przygotowała biosensor typu plaster miodu na bazie elektrody złotej. W tym celu, podobnie jak w przypadku pierwszego zadania, opisany został sposób przygotowania powierzchni elektrody złotej, w jaki sposób nakładana była matryca polistyrenowa umożliwiająca uzyskanie struktury plastra miodu oraz warunki



modyfikacji kompozytem przewodzącym. Doktorantka opisała charakterystykę zarówno parametrów fizycznych jak i chemicznych otrzymanych warstw mikrostrukturalnych. Niestety, przeprowadzone pomiary stężenia glukozy z użyciem biosensorów typu plaster miodu nie przyniosły satysfakcjonujących rezultatów i jak napisała sama Doktorantka biosensory te wymagają dalszej optymalizacji, w celu poprawy ich funkcjonowania. Mimo niezadawalających w pełni wyników należy docenić wkład pracy jaki włożyła Doktorantka w opracowanie otrzymania biosensorów typu plaster miodu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka sama sprecyzowała z czym związane były problemy dla tego typu otrzymanych przez nią biosensorów, co świadczy, że jest obiecującym młodym naukowcem potrafiącym krytycznie podejść do otrzymanych wyników.

Podsumowując przedstawiony do oceny dorobek doświadczalny chciałabym podkreślić, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania wymagały bardzo specjalistycznej i szerokiej wiedzy oraz zastosowania różnych metod pomiarowych takich jak elektroliza stałoprądowa, chronowoltamperometria cykliczna, woltamperometria pulsowa różnicowa, spektrofotometria UV-VIS czy też mikroskopia sił atomowych. Świadczy to o bardzo dobrych podstawach naukowych, wszechstronności i nowoczesnym podejściu Doktorantki do postawionego problemu naukowego. Doktorantce udało się wykonać zamierzone cele i zakończyć swoją pracę niewątpliwymi osiągnięciami.

Z obowiązku recenzenta muszę jednak zauważyć, że Autorka prezentując swoje badania w części doświadczalnej nie ustrzegła się pewnych drobnych niedociągnięć:

- 1) Brak informacji, na podstawie jakich danych literaturowych Doktorantka przeprowadziła test aktywności enzymu unieruchomionego na powierzchni elektrody (rozdział 6.2).
- 2) Moim zdaniem nie było potrzeby powtarzania tych samych rysunków (Rys. 25, 26, 29 i 30), które były już zaprezentowane w części teoretycznej.
- 3) Tabela 9, str. 88. Czy badane były niższe i wyższe stężenia glukozy niż podane w tabeli? A jeżeli tak, to warto byłoby napisać, czy dla wyższych wartości stężeń glukozy prąd pików rósł, malał, czy też nie ulegał zmianie.



- 4) Str. 89, pierwsza linijka. Zamiast rys. 66 powinno być rys. 63.
- 5) Brak informacji w części doświadczalnej, które pomiary zostały już opublikowane. Moim zdaniem powinny być odpowiednie odnośniki literaturowe. Dotyczy to zarówno informacji tekstowych, jak i rysunków, które zostały już opublikowane np. rys. 51, 52, 54, 65, 66, 71, 72 są zamieszczone w pracy *Bioelectrochemistry* 101 (2015) 8-13.
- 6) W rozdziale 8.7 Autorka stwierdza, że biosensory są stabilne i trwałe przez 30 dni. Jednak to nie wynika z danych podanych w tabeli 17, w której podane są informacje na temat działania biosensora po 21 dniach a następnie po 102. Nie wiadomo jakie były parametry w okresie pomiędzy 21 a 102 dniem. Na jakiej więc podstawie Doktorantka określiła stabilność i trwałość na okres 30 dni ?
- 7) Dane przedstawione w Tabeli 25 (stężeniu  $0.03 \text{ mol L}^{-1}$  glukozy odpowiada natężenie prądu  $10,84 \pm 0,75 \mu\text{A}$ ) nie są zgodne z rys. 79, na którym dla stężenia glukozy  $0.03 \text{ mol L}^{-1}$  natężenie prądu jest poniżej  $10 \mu\text{A}$ .
- 8) W rozdziale 10 Doktorantka opisuje badania dotyczące wpływu kwasu askorbinowego na oznaczanie glukozy. Moim zdaniem z korzyścią dla pracy byłoby również zbadanie innych interferentów, które często są obecne w matrycy próbek zawierających glukozę np. kwas moczowy, mocznik, cholesterol, NaCl. Można by było mieć wtedy więcej informacji na temat potencjalnego, praktycznego wykorzystania opracowanych biosensorów dla różnych próbek naturalnych.
- 8) W rozdziale 13.2 Autorka opisuje sposób nakładania matrycy polistyrenowej ale brak informacji na jakiej podstawie wybrane zostały stężenia stosowanych odczynników, temperatura i czas poszczególnych etapów.
- 9) W rozdziale 13.4 podane są powierzchnie zmodyfikowanych elektrod i o ile są one większe w porównaniu do elektrod niezmodyfikowanych, jednak brak informacji w jaki sposób były one wyznaczane.
- 10) W spisie publikacji (str. 177) Doktorantka podaje 5 opublikowanych artykułów, zaś do pracy dołączone są kopie tylko 4.

Mimo poczynionych uwag pracę oceniam bardzo pozytywnie, a mgr Ewelina Socha dał się poznać jako doświadczony eksperymentator, umiejący wybrać odpowiednią



metodę badawczą, zaprojektować doświadczenie i wyciągnąć z otrzymanych rezultatów prawidłowe wnioski. Należy podkreślić, że recenzowana praca wnosi nowe elementy do prężnie rozwijającego się działu nauki jakim są biosensory glukozy. Uważam, że realizacja zamierzonych celów zakończyła się sukcesem, co świadczy o dobrych podstawach naukowych, wszechstronności i nowoczesnym podejściu Doktorantki do stawianych problemów naukowych.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa zatytułowana „Przewodzące materiały kompozytowe na bazie poli(3,4-etylenodioksytiofenu) z immobilizowaną oksydazą glukozową”, spełnia wymagania merytoryczne i formalne Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym stawiane pracom doktorskim. Wniosuję o dopuszczenie mgr. Eweliny Sochy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Małgorzata Grabarczyk

