

Prof. dr hab. Mieczysław Korolczuk
Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej
Wydział Chemii UMCS
20-031 Lublin
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3
e-mail: m.korolcz@poczta.umcs.lublin.pl

Lublin, 25.08.2012

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Sylwii Smarzewskiej pt. *Elektrody przyjazne środowisku w woltamperometrii związków organicznych*

wykonanej w Zakładzie Analizy Instrumentalnej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego

Metody woltamperometryczne, a szczególnie metoda woltamperometrii strippingowej, charakteryzują się niską granicą wykrywalności i dzięki temu często są wykorzystywane do oznaczania śladowych zawartości pierwiastków i związków organicznych jako alternatywa dla metod spektroskopowych i chromatograficznych. Obecnie rozwój metod woltamperometrycznych ukierunkowany jest na obniżenie granicy wykrywalności, wzrost selektywności oznaczeń i wykorzystanie elektrod przyjaznych dla środowiska.

Rozprawa doktorska mgr Sylwii Smarzewskiej jest zgodna z trendem rozwoju metod woltamperometrycznych i jest poświęcona głównie opracowaniu nowych procedur oznaczania wybranych związków biologicznie czynnych z zastosowaniem elektrod przyjaznych dla środowiska laboratorium. Autorka nie ograniczyła się tylko do opracowania nowych procedur wybranych związków organicznych, ale również zajmowała się wyjaśnieniem mechanizmu reakcji elektrodowych wykorzystywanych do oznaczeń analitycznych. W zaproponowanych procedurach oznaczania związków organicznych wykorzystwała elektrody węglowe (elektrodę z węgla szklanego oraz elektrody drukowane) oraz elektrodę srebrną z odnawialnym filmem amalgamatu srebra. Choć ostatnia elektroda zawiera rtęć (ok. 10 μ L) jest elektrodą przyjazną dla środowiska laboratorium, ponieważ ani sole rtęci ani metaliczna rtęć nie jest obcna w ściekach laboratoryjnych generowanych przy wykorzystaniu tej elektrody. Wyniki uzyskane przy wykorzystaniu tej elektrody odznaczają się bardzo dobrą precyzją, a także sposób jej regeneracji jest bardzo prosty. Zatem wybór tej elektrody jako elektrody wskaźnikowej do oznaczeń związków organicznych uważam za trafny.

Przedstawiona do recenzji praca jest kontynuacją interesującego dorobku w oznaczeniach związków organicznych zawierających grupę guanidynową promotora pracy prof. dr hab. Witolda Ciesielskiego oraz promotora pomocniczego dr Sławomiry Skrzypek. Doktorantka trafiła więc do znanego ośrodka naukowego i potrafiła wykorzystać szansę opracowania nowych procedur oznaczania związków organicznych z wykorzystaniem elektrod przyjaznych dla środowiska, które są przedmiotem czterech publikacji i jednego artykułu wysłanego do redakcji *Electroanalysis*.

Przedstawiona do recenzji praca liczy 182 strony, zawiera 105 rysunków, 75 tabel i 153 pozycje literaturowych. We wstępie Autorka uzasadnia celowość wyboru woltamperometrii do badań związków biologicznie czynnych jak również do badań reakcji elektrodowych i reakcji kompleksowania. Uzasadnia również potrzebę opracowywania i zastosowania elektrod przyjaznych dla środowiska zgodnie z zasadami „zielonej chemii”.

Przed przeglądem literaturowym Autorka w sposób jasny sformułowała cel prowadzonych badań, którym było opracowanie nowych procedur oznaczania wybranych związków biologicznie czynnych z wykorzystaniem elektrod przyjaznych dla środowiska oraz zbadanie mechanizmu przebiegających w trakcie oznaczeń reakcji elektrodowych. Tak postawiony cel badań jest, według mojej oceny interesujący, a jego realizacja, o czym świadczą dane prezentowane w części doświadczalnej, pracochłonna. Badania takie wymagają dużej wiedzy z chemii analitycznej, w tym analizy śladowej i elektrochemicznych metod analitycznych. Według mojej oceny postawiony cel badań byłby bardziej przekonujący gdyby był umieszczony po części literaturowej, po prezentacji danych literaturowych dotyczących badanych związków oraz opisanie elektrod wprowadzanych ostatnio do badań woltamperometrycznych.

Materiał do części literaturowej został dobrany bardzo starannie. Autorka szczegółowo opisała rodzaje elektrod stosowanych w pomiarach woltamperometrycznych. W pierwszej kolejności Autorka opisała elektrody rtęciowe przez dziesięciolecia najczęściej wykorzystywane w pomiarach woltamperometrycznych i dotychczas posiadające najlepszą charakterystykę. Opisane zostały zarówno elektrody, które obecnie nie są już używane i mają znaczenie historyczne oraz te obecnie najczęściej wykorzystywane. Duża część zajmuje także opis elektrod stałych, głównie elektrod węglowych. Autorka scharakteryzowała materiały węglowe stosowane do otrzymywania elektrod oraz podała charakterystykę analityczną elektrod otrzymanych z tych materiałów. Podana charakterystyka elektrod stanowi cenną część pracy ponieważ może być przydatna przy wyborze elektrody do dalszych badań, szczególnie dla osób rozpoczynających badania elektrochemiczne.

Szczegółowo opisano elektrody stałe z błonkami metali. Elektrody pokryte błonkami metali innymi niż rtęć obecnie w wielu pomiarach mogą zastąpić elektrody rtęciowe. Ich

zastosowanie ogranicza wykorzystanie soli rtęci, które po analizie dostają się do ścieków. Inną zaletą elektrod błonkowych jest możliwość prowadzenia pomiarów spektroelektrochemicznych o czym pisze Autorka rozprawy. W rozprawie opisane są metody wytwarzania tej grupy elektrod oraz materiały wykorzystywane do ich produkcji. Z punktu widzenia analityka ważne jest zestawienie zalet błonkowych elektrod metalicznych. Może mniej popularne, ale warto opisać elektrody metaliczne pokryte błonkami amalgamatów. Jedną z takich elektrod, a mianowicie elektrodę srebrną pokrytą błonką amalgamatu rtęci wykorzystano w części doświadczalnej pracy. Jak już pisałem Autorka trafnie wybrała tę elektrodę do swoich badań. Charakteryzuje ją szeroki zakres dostępnych potencjałów, możliwość regulowania w szerokim zakresie wielkości powierzchni oraz łatwość regeneracji co zapewnia dobrą precyzję pomiarów. W rozdziale tym opisano także elektrody modyfikowane chemicznie oraz ostatnio coraz bardziej popularne mikroelektrody.

Uważam, że pierwszy rozdział części literaturowej bardzo dobrze wprowadza czytelnika w problematykę poruszana w pracy, która dotyczy wykorzystania elektrod przyjaznych dla środowiska w metodach woltamperometrycznych. Rozdział ten napisany jest zarówno w oparciu o historyczną, jak i najnowszą literaturę i świadczy o tym, że Autorka dobrze zapoznała się ze światowym trendem dotyczącym wykorzystania w pomiarach woltamperometrycznych elektrod przyjaznych dla środowiska laboratorium.

W kolejnym rozdziale opisane są najczęściej wykorzystywane techniki uzyskiwania sygnału w woltamperometrii. Wymienione są zalety woltamperometrii w stosunku do innych metod analitycznych oraz typowe jej zastosowania. Dużo uwagi poświęcono woltamperometrii fali prostokątnej i adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej. Jest to zrozumiałe biorąc pod uwagę fakt, że metody te były najczęściej wykorzystywane przy opracowaniu nowych procedur oznaczania związków organicznych.

W ostatnim rozdziale części teoretycznej Autorka opisała związki organiczne zawierające grupę guanidynową, które są przedmiotem badań w tej pracy oraz glukozę. Choć ostatni związek nie należy do grupy związków, której poświęcona jest większa część pracy, umieszczenie charakterystyki tego związku wynika z faktu, że opracowaniu sensora tego związku z wykorzystaniem drukowanych elektrod węglowych modyfikowanych konkanawaliną Autorka poświęciła wiele czasu. Poza charakterystykę opisanych związków podane są granice wykrywalności dla tych związków (poza chlorkiem metyloctemetylocholinowym) z wykorzystaniem innych metod analitycznych.

Część eksperymentalna rozpoczyna się od opisu stosowanej aparatury, wykorzystywanych elektrod, sposobu przygotowania roztworów buforowych, roztworów wzorcowych i próbek. Zasadnicza część eksperymentów dotyczy opracowania nowych

procedur analitycznych wybranych związków organicznych metodą woltamperometrii lub woltamperometrii strippingowej.

W pierwszej kolejności opisano procedurę oznaczeń chlorku metyloiometylocholinowego. Jest to nowo zsyntetyzowany związek i w pracy po raz pierwszy podano charakterystykę elektrochemiczną tego związku, opracowano procedurę oznaczeń oraz zaproponowano mechanizm elektrodowego utleniania tego związku. Do wyjaśnienia mechanizmu utleniania tego związku wykorzystano nie tylko metody elektrochemiczne, ale również nowoczesne metody spektroskopowe: NMR i spektrometrię mas. Zastosowanie tych metod ułatwiło zaproponowanie szczegółowego mechanizmu utleniania i wzmacniło jego wiarygodność.

Kolejny rozdział dotyczy opracowania amperometrycznego czujnika do oznaczeń glukozy, konkurencyjnego do tych dostępnych w handlu. W tym celu Autorka wykorzystwała modyfikowane elektrody drukowane. Choć Autorka uzyskała dobrą charakterystykę analityczną dla opracowanego czujnika, nie jest on konkurencyjny dla czujników dostępnych komercyjnie. Pomimo, że uzyskany zakres pracy czujnika nie odpowiadał postawionym na wstępie wymaganiom Autorka zdobyła dużą wiedzę odnośnie otrzymywania modyfikowanych elektrod drukowanych i można sądzić, że wykorzysta ją w przyszłej pracy naukowej.

Autorka opracowała również woltamperometryczną procedurę oznaczania dinotefuranu w oparciu o proces redukcji grupy nitrowej i zaproponowała mechanizm redukcji elektrodowej. Opracowaną procedurę wykorzystwała z sukcesem do oznaczeń dinotefuranu w szczepionym soku marchwiowym. Opracowana procedura może stanowić alternatywę dla metod chromatograficznych.

W przypadku blastycydyny, Autorka opracowała procedurę oznaczeń metodą woltamperometrii i dodatkowo wykorzystwała możliwość złączenia tego związku w procedurze woltamperometrii strippingowej. Obie opracowane procedury mogą mieć praktyczne zastosowanie, co wykazała na przykładzie oznaczeń tego związku w szczepionych próbkach ryżu. Zaproponowano także mechanizm reakcji elektrodowej, według którego blastycydyna może pełnić funkcję elektrokatalizatora redukcji jonów wodorowych.

Ostatnia opracowywana procedura woltamperometryczna dotyczy oznaczania pruguanilu. Po optymalizacji warunków pomiarowych Autorka z powodzeniem wykorzystwała opracowaną procedurę do oznaczeń stężenia tego związku w szczepionym moczu i preparacie farmaceutycznym.

Należy zaznaczyć, że w przypadku wszystkich opracowanych procedur Autorka dokonała analizy statystycznej podstawowych parametrów analitycznych.

W podsumowaniu Autorka zaznaczyła, że część eksperymentalna pracy poświęcona jest trzem problemom: opracowaniu procedur oznaczania wybranych substancji organicznych, zastosowaniu tych procedur do analizy próbek naturalnych i preparatów farmaceutycznych oraz zbadaniu mechanizmu procesów elektrodowych przebiegających w trakcie woltamperometrycznego oznaczania. Jak wynika z prezentowanych wyników i podsumowania zdecydowana większość zaplanowanych badań zakończyła się sukcesem.

Z obowiązku recenzenta muszę stwierdzić, że w przedstawionej do recenzji rozprawie można zauważyć nieliczne usterki, które wymknęły się podczas korekty pracy. Poniżej zwracam uwagę na te niedociągnięcia.

Str. 6 *granice detekcji* - powinno być granice wykrywalności.

Str. 7 *współczesne zadania chemii analitycznej, a także i mojej pracy doktorskiej, można sprecyzować jako poszukiwania elektrod przyjaznych środowisku* - jest to tylko jedno z zadań badawczych w woltamperometrii.

Str. 11 *SWSV woltamperometria inwersyjna z falią prostokątną* - bardziej poprawnie woltamperometria strippingowa lub woltamperometria z zateżaniem

Str. 13 *wysoki stosunek sygnału do szumu* - lepiej! jak najwyższą wartość stosunku sygnału do szumu

nadnapięcie - poprawnie nadpotencjał

Str. 18 *woltamperometria dyskowych elektrod wirujących* - woltamperometria z zastosowaniem dyskowych elektrod wirujących

Str. 19 *przez elektroosadzanie na węglu jonów rtęci wprowadzonych do roztworu próbki* - poprawnie - przez elektroosadzanie rtęci z wprowadzonych do roztworu próbki soli rtęci

Str. 30 *wysokością prądów fca* - wartością prądu fca

Str. 52 *a wysokość schodka ΔE_c jest równa 10 ms* - wysokość schodka wyrażamy w mV, a czas trwania pojedynczego schodka np. 10 ms

W metodzie SWV natężenie prądu mierzy się dwukrotnie - tuż przed przyłożeniem impulsu (i_1 - prąd katodowy) i pod koniec trwania impulsu (i_2 - prąd anodowy) - to zdanie jest prawdziwe tylko przy założeniu zmian potencjału w jednym określonym kierunku. Przy polaryzacji elektrody w odwrotnym kierunku i_1 nie będzie prądem katodowym.

Brak jest oznaczenia trzeciej części rysunku 27 zgodnie z opisem rysunku.

Str. 53 *Strippingowa woltamperometria adsorpcyjna to jedna z inwersyjnych metod elektroanalitycznych, składająca się z dwóch etapów: wstępnego załężania (akumulacji) oraz oznaczania techniką woltamperometryczną. Podczas przejścia z pierwszego do drugiego etapu następuje zmiana charakteru elektrody (inwersja) – elektroda pełniąca początkowo rolę katody staje się anodą i odwrotnie. Strippingowa woltamperometria adsorpcyjna nie jest metodą inwersyjną. Dalej w tekście zaznaczamy że nagromadzenie w tej metodzie ma charakter fizyczny.*

Bardzo niskie granice detekcji osiąga się również dzięki akumulacji analitu na powierzchni elektrody lub w objętości elektrody – stosunkowo małej w porównaniu do objętości roztworu.
– W nazwie metody mamy podane słowo adsorpcyjna, a adsorpcja to zjawisko powierzchniowe.

Str. 54 Co miała na myśli Autorka pisząc o *nieodwracalnej powierzchni* ?

Str. 59 W pracy naukowej powinno unikać się jednostek *ppm*. Ponadto na tej stronie jest *ppm* zamiast *ppm*.

Str. 61 W porównaniu czułości innych metod oznaczeń dimetofuranu lepiej było użyć jednakowe jednostki zawartości tego związku. Ponadto zawartość dimetofuranu podana jest w $g\ kg^{-1}$ zamiast $\mu g\ kg^{-1}$.

Str. 67 Odważki odczynników do sporządzenia roztworów buforowych jak podano, ważono z dokładnością do piątego miejsca po przecinku – uważam tak dokładny dobór odważki za niecelowy. Części ułamkowe grama powinny być oddzielone przecinkiem a nie kropką.

Str. 74 *W tym celu zdjęłam woltamperogramy...* lepiej zarejestruwam.

Str. 82 Błędnie podany w tekście nr rysunku 40 zamiast 43.

Str. 94 *dobór potencjału i czasu elektrody Hg(Ag)FE* – prawdopodobnie powinno być czasu kondycjonowania.

Str. 119 Stosowano zbyt małe dodatki wzorca przy oznaczaniu blastocydyny S co zilustrowano na rys. 72

Str. 120 *reakcja 2 jest reakcją elektrodową w której katalizator ulega redukcji i powstaje atomowy wodór* - redukcji ulega forma zprotonizowana katalizatora

Str. 131 Liniowość krzywej kalibracyjnej od 6×10^{-7} a pomiary od $7 \times 10^{-7}\ mol\ L^{-1}$ - błąd?

Str. 137 i 120 W reakcjach wyjaśniających mechanizm procesu redukcji jonów wodorowych podano, że proguanil ulega adsorpcji na elektrodzie podobnie jak blastocydyna S. Czy podjęto

próby oznaczania tego związku stosując metodę / zatażaniem podobnie jak w przypadku
blastocydyny?

Str. 180-182 W spisie literatury wielokrotnie stosowano pełne nazwy czasopism zamiast
skrótów.

Wszystkie wymienione powyżej moje uwagi nie wpływają na wysoką merytoryczną
ocenę tej rozprawy. Doktorantka starannie opracowała nowe procedury oznaczeń wybranych
związków organicznych stosując elektrody przyjazne dla środowiska, zastosowała te
procedury do oznaczeń w próbkach naturalnych i wyjaśniła mechanizm wykorzystywanych
reakcji elektrodowych. Duża część wyników została opublikowana.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że praca spełnia warunki stawiane rozprawom
doktorskim zgodnie z Ustawą o Stopniach Naukowych / dnia 14 marca 2003 roku. W
związku z tym zwracam się z uprzejmą prośbą do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu
Łódzkiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę dorobek publikacyjny, uzyskane rezultaty i sposób ich
udokumentowania oraz skalę trudności przeprowadzonych badań przedkładam propozycję
wyróżnienia rozprawy stosowną nagrodą.

