



Instytut Chemii
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach



Kielce, 20.07.2021 r.

Dr hab. Sławomir Michałkiewicz prof. UJK
Instytut Chemii
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
ul. Uniwersytecka 7
25-406 Kielce

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Kingi Koneckiej

pt. „Woltamperometryczna analiza leków z wykorzystaniem różnych elektrod węglowych”

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Elektroanalizy i Elektrochemii Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Sławomiry Skrzypek jako promotora oraz przy udziale Pani dr Marioli Brycht jako promotora pomocniczego.

Recenzję sporządzono na zlecenie Pani prof. dr hab. Sławomiry Skrzypek, Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego (pismo z dnia 26.05.2021 r.) na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Wprowadzenie

Rozwój współczesnej medycyny oraz dążenie człowieka do polepszenia jakości życia i jego wydłużenia wiąże się ze wzmożoną produkcją różnorodnych środków leczniczych. Są one dedykowane nie tylko człowiekowi, ale również zwierzętom. Tego typu preparaty oraz ich metabolity coraz częściej dostają się różnymi drogami do środowiska stanowią ogromne zagrożenie dla całego ekosystemu, w tym również dla samego człowieka. Ogromnie ważnym zagadnieniem jest więc prowadzenie badań zmierzających do opracowywania metod pozwalających na ich skuteczne oznaczanie na możliwie najniższym poziomie stężeń. Dotyczy to zarówno badań związanych z zanieczyszczeniem środowiska, jak również z diagnostyką medyczną. Mają w tym swój udział techniki elektrochemiczne, a szczególnie woltamperometryczne. W tematykę poszukiwania czułych i selektywnych woltamperometrycznych metod analizy substancji leczniczych wpisuje się recenzowana rozprawa doktorska. Obejmuje ona badania zmierzające do opracowania procedur analitycznych oznaczania wybranych substancji leczniczych: imatynibu, teryflunomidu i bitionolu z zastosowaniem elektrod węglowych: elektrody diamentowej domieszkowanej borem (BDDE) i elektrody z grafitu pirolitycznego z prostopadle ułożonymi warstwami

grafitowymi (EPPGE). Opracowane procedury dotyczą oznaczania wymienionych powyżej leków w próbkach moczu z dodatkiem analitu. Aspekt analityczny pracy był w każdym przypadku poprzedzony badaniem właściwości elektrochemicznych leków. Z tego powodu podjęte w recenzowanej pracy badania są ważne zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia.

Tematyka badawcza Pani mgr Kingi Koneckiej jest trudnym wyzwaniem dla analityka, który musi zmierzyć się z wieloma problemami jak np. doбором odpowiedniego materiału elektrody i właściwym przygotowaniem jej powierzchni, niskimi stężeniami analitów, złożonością matrycy czy interferencjami pochodzącymi od jej składników. Założone cele Doktorantka systematycznie realizowała, a wyniki pracy są podstawą recenzowanej rozprawy doktorskiej.

Sylwetka naukowa doktorantki

Z przedstawionych w dysertacji danych wynika, że Pani mgr Kinga Konecka jest współautorką 7 publikacji naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach indeksowanych w bazie JCR. Trzy spośród nich stanowią podstawę rozprawy doktorskiej i zostały opublikowane w czasopismach: *Diamond and Related Materials*, *RSC Advances* i *Electroanalysis*. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w jednej z prac Doktorantka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Sumaryczny IF publikacji stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora nauk chemicznych wynosi 8.041, a dla całego dorobku naukowego - 20.446 (dane z roku opublikowania, na podstawie WoS). Do dorobku Doktorantki wchodzi też trzy rozdziały w krajowych monografiach naukowych. Wyniki badań były prezentowane na 40 konferencjach, w tym na 8 międzynarodowych. Działalność naukowa Pani mgr Kingi Koneckiej była wielokrotnie nagradzana przez władze Uniwersytetu Łódzkiego. W mojej ocenie taki dorobek Doktorantki zasługuje na uznanie i świadczy o dużym zaangażowaniu w pracę naukową.

Ocena formalno-merytoryczna pracy

Recenzowana praca doktorska ma układ klasyczny, jest napisana w języku polskim, liczy 199 stron oraz zawiera teksty trzech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Tekst dysertacji składa się z części teoretycznej, bardzo szczegółowego opisu wyników badań własnych, podsumowania i wniosków, bibliografii oraz opisu dorobku naukowego i organizacyjnego Autorki. Części teoretyczna, a szczególnie doświadczalna są bogato udokumentowane za pomocą 71 rysunków i 66 tabel. Rozprawa jest napisana w oparciu o 188 pozycji literaturowych. Doktorantka nie uwzględniła w niej streszczeń w języku polskim i angielskim.

Tekst rozprawy jest poprzedzony obszernym, pięciostronicowym spisem stosowanych skrótów. Wykaz ten powinien według mnie zawierać terminy w języku angielskim, od których często wywodzą się skróty. Pojawiają się one dopiero w tekście rozprawy, np. na str. 25, 29, 32, 40, 41 i 46. W zamian za to Doktorantka niepotrzebnie wyjaśnia terminy powszechnie znane, np. wzór kwasu siarkowego, chlorku sodu czy wodorotlenku sodu.

Właściwa część rozprawy rozpoczyna się wstępem, w którym Doktorantka uzasadnia celowość podjętej tematyki wskazując na zagrożenia środowiska związane z zanieczyszczeniem lekami i ich metabolitami. W związku z tym istnieje konieczność

opracowywania nowych i skutecznych metod oznaczania substancji leczniczych, w tym również przyjaznych dla środowiska metod elektrochemicznych. W następnej części pracy Autorka przedstawiła cel pracy doktorskiej, którym było opracowanie czułych i selektywnych woltamperometrycznych metod oznaczania wybranych substancji leczniczych: imatynibu, teryflunomidu i bitionolu z zastosowaniem elektrod węglowych. Zaplanowane badania miały obejmować określenie ich właściwości elektrochemicznych, wybór odpowiedniej techniki woltamperometrycznej wraz z parametrami, dobór optymalnych warunków pomiarów: elektrolitu podstawowego i jego pH oraz określenie parametrów analitycznych metod.

W następnej, liczącej 44 strony części rozprawy zatytułowanej *Część teoretyczna* Doktorantka w sposób zwięzły i przystępny scharakteryzowała węgiel i jego odmiany alotropowe oraz woltamperometryczne elektrody węglowe zwracając szczególną uwagę na elektrodę diamentową domieszkowaną borem (BDDE) oraz elektrodę z grafitu pirolitycznego z prostopadle ułożonymi warstwami grafitu (EPPGE), stosowane w badaniach własnych. Ta część rozprawy zawiera również podstawowe informacje dotyczące woltamperometrii, układu elektrod, technik woltamperometrycznych: woltamperometrii cyklicznej, pulsowej różnicowej, fali prostokątnej, adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej fali prostokątnej oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej, mikroskopii sił atomowych i skaningowej mikroskopii elektronowej. Wszystkie omówione techniki były stosowane podczas wykonywania pracy doktorskiej. Podczas czytania tej części pracy natknąłem się na stwierdzenia, które nie są precyzyjne i wymagają wyjaśnienia. Omawiając woltamperometrię cykliczną Doktorantka stwierdziła (str. 33), że „*przebieg w kierunku potencjałów ujemnych jest przebiegiem pierwotnym, natomiast przebieg po zmianie kierunku polaryzacji jest przebiegiem powrotnym, a potencjał zawracania następuje przy zmianie kierunku polaryzacji*”. Czy rzeczywiście zawsze tak jest? Czy takie sformułowanie jest uzasadnione w przypadku badań własnych? Autorka słusznie zauważa, że charakter procesu elektrodowego oraz liczbę elektronów biorących w nim udział można określić na podstawie kryterium opierającego się na różnicy pomiędzy potencjałem piku anodowego i katodowego. Nie jest to jednak jedyne kryterium. Co będzie w przypadku braku piku powrotnego, jak to ma miejsce w opisywanych wynikach badań? Nie rozumiem też sformułowania, jakoby CV była techniką przydatną głównie w badaniach jakościowych (str. 35). Proszę o wyjaśnienia. Omawiając technikę DPV Doktorantka nie uwzględniła istotnych zależności: natężenia prądu piku i jego powiązania ze stężeniem analitu oraz szerokości połówkowej piku. Uwaga dotyczy również woltamperometrii fali prostokątnej. Część teoretyczną kończy rozdział charakteryzujący obiekty badań: imatynib, teryflunomid i bitionol.

Na podstawie analizy treści przedstawionych w części teoretycznej stwierdzam, że ich zamieszczenie w rozprawie jest uzasadnione i bezpośrednio powiązane z tematyką badawczą Doktorantki.

W głównej części tekstu rozprawy zatytułowanej *Część doświadczalna* Doktorantka opisała kolejno etapy związane z realizacją celów badawczych. Na wstępie omówiła aparaturę z uwzględnieniem trójelektrodowego układu pomiarowego. Autorka uwzględniła również aparaturę stosowaną do charakterystyki topograficznej elektrod roboczych, do pomiaru pH roztworów oraz sprzęt pomocniczy. Część wstępna zawiera również spis odczynników oraz bardzo szczegółowy opis sposobu przygotowania roztworów do badań. W mojej ocenie znaczna część podawanych tu informacji jest zbędna, np. masy odważanych substancji czy

objętości kolb miarowych. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego Doktorantka traktuje aceton, acetonitryl, kwas octowy i metanol jako roztwory (str. 64) mimo, że ich stopień czystości wynosi odpowiednio 99%, 99.5%, 99.5% i 99.8%? Zastanawiające są również różne dokładności odważania odczynników: większość do 0.1 mg (np. heksacyjanożelaziany, teryflunomid, bitionol) a imatynib do 0.01 mg. Mam wątpliwości co do dokładnego odważenia masy 0.0005 g i na tej podstawie sporządzenia roztworu o stężeniu 100.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

W dalszej części dysertacji Pani mgr Kinga Konecka opisała wyniki badań dotyczących charakterystyki powierzchni elektrod roboczych przedstawiając kolejno dane uzyskane za pomocą mikroskopu sił atomowych, a w przypadku EPPGE dodatkowo przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego oraz woltamperometrii cyklicznej za pomocą heksacyjanożelazianu(II) potasu. Krzywe CV wykazywały istnienie dwóch pików, co dało Doktorantce podstawy do wyciągnięcia wniosków dotyczących charakteru procesu elektrodowego oraz powierzchni czynnej elektrody. W mojej ocenie przedstawione dane są dobrze udokumentowane i nie budzą zastrzeżeń. Nie rozumiem jednak, dlaczego Autorka przedstawia czytającemu tak szczegółowe dane numeryczne zamieszczone np. w Tabeli 13 i 14 oraz 16 i 17 jak natężenie prądu pików i logarytm z niego, szybkość zmiany potencjału i logarytm z tej wielkości. Dodatkowo, te same wartości pojawiają się w obydwu tabelach, a następnie są prezentowane w postaci graficznej na rysunkach 28 i 32. Problem nadmiernego przedstawiania danych dotyczy całego tekstu rozprawy i powoduje, że rozrasta się ona do bardzo dużych rozmiarów. Niepokoi mnie brak spójności treści przedstawianych w części teoretycznej i podczas interpretacji uzyskanych wyników. Doktorantka twierdzi (str. 73 i 78), że różnice pomiędzy potencjałami pików utleniania i redukcji markera redoks odpowiednio na BDDE i EPPGE mieszczą się w przedziale 0.134-0.345 mV i 0.146-0.335 mV, co świadczy o quasi-odwracalnym charakterze procesu elektrodowego. Jak się to ma do danych przedstawionych na str. 34, gdzie dla tego typu procesu omawiana różnica powinna mieścić się w granicach 60-120 mV, a dla procesu nieodwracalnego – powyżej 120 mV? Proszę o wyjaśnienia podczas publicznej obrony.

W kolejnych rozdziałach rozprawy Doktorantka bardzo szczegółowo opisała wyniki badań dotyczące kolejno zastosowania aktywowanej anodowo elektrody diamentowej domieszkowanej borem do woltamperometrycznego badania i oznaczania imatynibu, elektrody z grafitu pirolitycznego z prostopadłe ułożonymi warstwami grafitowymi do badania i oznaczania teryflunomidu i bitionolu. Omawiane wyniki były opublikowane w czasopiśmie naukowych wymienionych w części wstępnej recenzji. Każda z prac jest prezentowana oddzielnie i według takiego samego planu. Doktorantka podaje kolejno informacje dotyczące charakteru procesu elektrodowego badane techniką CV i jego mechanizmu, doboru elektrolitu podstawowego i jego pH, optymalizacji parametrów techniki DPV, a w przypadku oznaczania bitionolu – techniki SWV i SWAdSV, badania ilościowe z uwzględnieniem konstrukcji krzywej kalibracyjnej i wyznaczania parametrów analitycznych procedur, wynikami oznaczania analitów w próbkach moczu z dodatkiem analitu metodą wielokrotnego dodatku wzorca, badania dotyczące selektywności procedur. Omawianie każdej z prac kończy się podsumowaniem uzyskanych wyników. Nie mam zastrzeżeń do przedstawionych w części doświadczalnej treści leżących u podstaw każdej metody analitycznej. Autorka poprawnie opisała wszystkie elementy procedury walidacyjnej. Podtrzymuję jednak wcześniej wyrażony pogląd, że prezentowane dane są zbyt szczegółowe i nierzadko powielane w kolejnych tabelach

(Tabele 24 i 25, 36 i 37, 53 i 54 i 58 i 59) oraz na rysunkach. Chciałbym też zwrócić uwagę na kilka nieścisłości interpretacyjnych dotyczących badania stopnia odwracalności procesów elektrodowych. Według mnie brak pików powrotnych na krzywych CV nie jest wystarczającym dowodem wskazującym na nieodwracalność procesu elektrodowego jak to sugeruje Doktorantka na str. 83, 109 i 132. Nie do końca potwierdzają to zmiany potencjału pików utleniania analitów w miarę zwiększania się szybkości skanowania potencjału. Efekt taki, ale w mniejszym wymiarze występuje również w przypadku procesu quasiodwracalnego. Ma to prawdopodobnie miejsce w przypadku utleniania bitionolu, gdzie różnica potencjałów pików rejestrowanych przy $v = 10$ i 450 mV s^{-1} wynosi jedynie 55 mV (Tabela 45). Taka interpretacja byłaby zgodna z wynikami uzyskanymi dla tego samego procesu techniką SWV, omawianymi na str. 142. Przyczyną braku pików powrotnych może być też nietrwałość produktów utleniania analitów, co jest częste w przypadku związków organicznych. Określając stopień odwracalności reakcji elektrodowej Doktorantka mogła zastosować kryteria opierające się na analizie jednego pików na krzywych CV. Trudno mi się zgodzić ze stwierdzeniem (str. 142), że „mechanizm elektrodowy bitionolu na EPPGE ma charakter $EC_{nieodwr}$, gdzie E oznacza reakcję elektrodową a $C_{nieodwr}$ jest następczą nieodwracalną reakcją elektrochemiczną”. Jest ono też niezgodne z danymi zawartymi w publikacji źródłowej. Oczekuję na wyjaśnienia podczas publicznej obrony.

Prezentację wyników kończy rozdział zatytułowany *Podsumowanie i wnioski końcowe*, w którym Doktorantka podkreśla fakt opracowania przyjaznych dla środowiska woltamperometrycznych metod oznaczania imatynibu, teryflunomidu i bitionolu na elektrodach węglowych. Szkoda, że nie uwzględniła tu analizy porównawczej wyników uzyskanych podczas badań trzech analitów (np. zakresu liniowości, granic oznaczalności i wykrywalności). Byłoby to uzasadnione, tym bardziej że w każdym przypadku matryca była taka sama. Interesujące byłoby też porównanie wyników własnych z danymi literaturowymi, prezentowanymi w Tabelach 6, 8 i 10.

Rozprawa doktorska jest napisana w oparciu o 188 pozycji literaturowych. W większości są to publikacje pochodzące z renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym, prawidłowo dobrane pod względem tematycznym.

W mojej ocenie struktura pracy, podział treści są poprawne, logiczne i poza wymienionymi powyżej uwagami nie budzą zastrzeżeń. Tekst rozprawy jest napisany jasnym i poprawnym językiem. Można w nim znaleźć drobne uchybienia natury językowej i edytorskiej. Z obowiązku recenzenta muszę wskazać najważniejsze:

1. symbol $E_{p/2}$ w równaniu Nicholsona i Shaina (str. 35 oraz 111) nie oznacza potencjału półfali lecz potencjał odpowiadającym $\frac{1}{2}$ natężenia prądu pików,
2. konsekwencją braku numerowania równań jest ich powielanie (np. str. 35 i 111, 35 i 85),
3. pojawiają się błędy, które można określić jako „literówki”, np. na str. 10, 14, 40, 47, 52, 123, 142, 154, 162 oraz przesunięcie linii tekstu na str. 89, 99, 168,
4. błędnie podany czas trwania amplitudy (str. 94): w tekście można znaleźć wartość 500 ms , a w Tabeli 23 – 50 ms ,
5. błąd w podpisie Rys. 33, podpis pod Rys. 40 znalazł się na innej stronie, błąd techniczny na Rys. 69 (str. 154),
6. błędny numer ostatniej tabeli na str. 163,

7. dziwią mnie sformułowania „*Badane próbki moczu pobrałam od trzech zdrowych osób w różnym wieku i o różnej płci w dniu prowadzenia pomiarów*” (str. 99, 121 i 158) oraz „*wartość typowa dla transportu substancji do powierzchni elektrody odbywającego się na drodze adsorpcji*” (str. 134, 165),

Wszystkie wskazane w recenzji uwagi i niedociągnięcia traktuję jako wynik pośpiechu i braku czasu na dokładną korektę rozprawy. Nie wpływają one na moją wysoką ocenę pracy Pani mgr Kingi Koneckiej. Opieram ją przede wszystkim na jakości wyników przydatnych do rozwiązywania problemów analitycznych. Wnikliwa analiza tekstu rozprawy oraz publikacji, których doktorantka jest współautorką pozwala stwierdzić, że sformułowane cele naukowe zostały osiągnięte. Uzyskane w trakcie realizacji tematu badawczego wyniki noszą znamiona nowości naukowej, wnoszą istotny wkład w rozwój woltamperometrycznych metod analitycznych i mogą znaleźć zastosowanie w rutynowych analizach.

Podsumowanie

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Kingi Koneckiej pt. „*Woltamperometryczna analiza leków z wykorzystaniem różnych elektrod węglowych*” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595) oraz w artykule 187 ustęp 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478). Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki, a także umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W związku z tym zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne z wnioskiem o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Kingi Koneckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc jednocześnie pod uwagę znaczny dorobek naukowy Pani mgr Kingi Koneckiej w postaci współautorstwa siedmiu publikacji z bazy JCR o sumarycznym IF równym 20.446, zawierający istotne elementy nowości naukowej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

Stanisław Michalski