

**Recenzja rozprawy doktorskiej pana mgr Mateusza Ochaba pt:
"Zastosowanie nowej konstrukcji elektrod do oznaczeń i specjacji wybranych jonów
i związków organicznych metodą woltamperometrii strippingowej" ,
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Mieczysława Korolczuka**

Obecność w środowisku przyrodniczym śladowych ilości toksycznych metali (np. Hg, Cd, Pb, As, Al, Tl), niektórych niemetali (np. F, Se) oraz trwałych związków organicznych (np. DDT, PCB, glifosat, dioksyny, furany i ich metabolitów), ksenoestrogenów (p-nonylofenol, bisfenol A, glifosat, ftalany) oraz dalszych niewymienionych stanowi poważny problem dla nauki, technologii i analizy chemicznej. O tym czy dany składnik biosfery np. wód, gleby czy powietrza stwarza zagrożenie biologiczne decyduje jego stężenie, zwłaszcza, że w grę wchodzi późniejsza jego bioakumulacja w łańcuchach pokarmowych. Udowodniono, że stężenia nawet rzędu ppb i ppt mogą wykazywać niekorzystne działanie biologiczne. W wielu przypadkach pierwiastki śladowe stanowią ważny i wręcz niezbędny dla roślin i zwierząt element środowiska. To wszystko stwarza konieczność oznaczania skrajnie małych stężeń coraz większej ilości substancji zarówno organicznych jak i nieorganicznych i to na różnych stopniach utlenienia. Co więcej, technologie leków wymagają wiarygodnych i precyzyjnych metod oznaczania czynnych składników. Podsumowując: wymogi stawiane metodom analitycznym co do czułości i selektywności stale rosną a to z kolei stwarza konieczność doskonalenia dotychczasowych technik i poszukiwania nowych rozwiązań. Doskonalenie metod oznaczania wybranych substancji o działaniu biologicznym jest przedmiotem recenzowanej rozprawy.

Rozprawa obejmuje dwa podstawowe rozdziały: **CZĘŚĆ LITERATUROWA** oraz **CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA** poprzedzone *Wykazem wybranych skrótów użytych w rozprawie* i krótkim, niespełna jednostronicowym, *Wstępem*. Rozdział **CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA** zawiera następujące podrozdziały: **Cel pracy (7)**, **Aparatura i odczynniki (8)** oraz wyniki badań zawarte w kolejnych podrozdziałach od **(9)** do **(15)**. Każdy z podrozdziałów od **(9)** do **(15)** zawierający wyniki badań jest podzielony wg przejrzystego schematu: **Standardowa procedura pomiarowa, Uzyskane wyniki, Wnioski**. Rozprawę kończą podrozdziały: **Wnioski (16)**; **Streszczenie (17)**; **Dorobek naukowy (18)** oraz **Literatura (19)** zawierająca w sumie 265 pozycji. Dorobek naukowy doktoranta jest przejrzysto wyodrębniony na str. 184-185. Wszystkie, wymienione rozdziały i podrozdziały rozprawy są wewnętrznie spójne a także ze sobą właściwie zharmonizowane i podporządkowane celom rozprawy. Całość rozprawy jako struktura jest logicznie uporządkowana.

Rozdział **CZĘŚĆ LITERATUROWA** str. 10-88.

Rozdział ten zawiera ogólne omówienie metody analizy strippingowej (AS), szczegółowe omówienie czterech sposobów zwiększania czułości metody AS, literaturę zawierającą omówienie oznaczeń

tych indywidualności chemicznych, które są rozwijane i udoskonalane w rozprawie m.in. molibdenu, rutozydu, kwasu foliowego oraz analizy specjacyjnej znanych form arsenu i selenu, co jak wskazuje cytowana literatura, stanowi niemały problem.

Na szczególną uwagę zasługuje zastosowanie nowatorskich metod podwójnego nagromadzenia i strippingu oraz zastosowanie elektrody stałej z metalicznego ołowiu; także zastosowanie mikroelektrod pojedynczo oraz jako zespół. Całość rozdziału obejmuje dotychczasowy stan wiedzy na omawiany temat. Stanowi także dobre kompendium odnośnej wiedzy.

Rozdział **CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA** str. 90-178.

Ogólna część doświadczalna *sensu stricto* obejmuje jedynie strony od 90 do 94. Jest to uzasadnione tym, że dalsze części omawianego rozdziału, przy omawianiu poszczególnych wyników badań, zawierają opis im przynależnych procedur eksperymentalnych zapisywany wg schematu: **Standardowa procedura pomiarowa, Uzyskane wyniki, Wnioski**. Taki nietypowy układ integracji to bardzo dobry pomysł, stosowny do typu rozprawy i zawartych w niej treści. Dzięki temu czytający ma blisko zestawione te trzy podstawowe elementy co pozwala na szybkie zrozumienie istoty przekazu. Stosowane w rozprawie elektrochemiczne techniki analityczne to AdSV, ASV oraz CV.

Wyniki badań, zawarte w tym rozdziale, to pełny opis siedmiu procedur analitycznych, sporządzonych w rezultacie optymalizacji takich parametrów jak rodzaj elektrody, potencjał i czas osadzania, pH, stężenie buforu, stężenie ligandu i inne. Kryterium optymalizacji stanowiła wielkość i wyrazistość sygnału analitycznego oraz użyteczny zakres krzywej wzorcowej, zwłaszcza dolny, w tym granica wykrywalności oznaczana jako LOD w $[\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}]$. W wymienionych procedurach stosowano następujące cztery rodzaje elektrod, odpowiednio:

Procedura	Analit	Elektroda	
6	As(III)	AuFE/GC AuMEA	blonkowa elektroda złota na powierzchni elektrody GC; zespół mikroelektrod złotych
2	Co(II) Ni(II)	PbE	stała elektroda ołowiowa
7	Se(IV)	AuFE/GC AuMEA	blonkowa elektroda złota na powierzchni elektrody GC; zespół mikroelektrod złotych
1	Mo(VI)	PbE	stała elektroda ołowiowa
4	Rutozyd	PbE	stała elektroda ołowiowa
3	Cytrynian sildenafilu	PbE	stała elektroda ołowiowa
5	Rutozyd Kwas foliowy	PbE	stała elektroda ołowiowa

Każda z siedmiu procedur jest zakończona przejrzystą i wiarygodną walidacją.

Omówienie siedmiu opracowanych procedur analitycznych

Procedura 1: Podrozdział 9. Analiza strippingowa molibdenu na stałej elektrodzie ołowiowej. Str. od 95 do 105.

(Uwaga 1). Str. 95. Technika fali prostokątnej, podane są jej parametry; wskazane byłoby podanie symbolu techniki np. Square Wave Stripping Voltammetry (SWSV).

(Uwaga 2). Rys. 9.6. Czy oś x jest w tym przypadku opisana prawidłowo? Prawdopodobnie ta oś powinna być opisana w $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ a nie jak podano w $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ co wprost wynika z treści dolnego akapitu na str. 100, umieszczonego przed omawianym rysunkiem.

(Uwaga 3). Rys. 9.7. Podpis pod rysunkiem może sugerować metodę dodatków a tak nie jest. W podpisie mamy np. a) $+2\cdot 10^{-9}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, powstaje pytanie czy to wynikowe stężenie badanego roztworu czy też stężenie roztworu Mo (VI) dodawanego do roztworu tła oznaczonego jako a), bez podania objętości roztworu dodawanego. Nie jest to błąd, sądzę że wystarczyłoby podać samo stężenie bez znaku "+", tak aby nie sugerować metody dodatków.

Z drugiej strony w podpisie Rys. 10.5 stężenia są podane w sposób całkowicie jednoznaczny.

Procedura 2. Podrozdział 10. Analiza strippingowa kobaltu i niklu na stałej elektrodzie ołowiowej. Str. 106-115.

(Uwaga 4). W tym podrozdziale występuje problem znaku sygnału prądowego oznaczanego indywidualnie chemicznie. Z opisu podanego na str.106 wynika, że zastosowano metodę AdSV i był rejestrowany prąd katodowy w zakresie potencjału od $-0,68$ do $-1,63\text{ V}$. Dlatego oczekujemy prądu ze znakiem minus (-) i tak zaznaczono na Rys. 10.2, 10.5 i 10.6 (na rysunkach można było podać który pik odpowiada osadzaniu Ni a który osadzaniu kobaltu, poza tym na Rys. 10.5 pik niklu najwyraźniej nie mieści się w skali rysunku). Z drugiej strony mamy Rysunki 10.1, 10.3 i 10.4, gdzie zaznaczone prądy są dodatnie czyli w domyśle anodowe (potencjał nagromadzenia $-0,68\text{ V}$ leży poza zakresem redukcji kompleksów Ni i Co). Należy wyjaśnić tę kwestię. Z kolei Rys. 10.2: dlaczego skala potencjału (oś x) jest dodatnia skoro prąd (oś y) jest ujemny czyli katodowy? Rys. 10.3: dlaczego skala prądu jest dodatnia skoro sygnał analityczny czyli prąd pikowy jest katodowy?

(Uwaga 5). Czy Autor stwierdził efekt katalityczny przy jednoczesnym osadzaniu niklu i kobaltu?

Z literatury przedmiotu wynika, że przy współosadzaniu zachodzi kataliza wydzielania Ni pod wpływem kobaltu: nikiel wydzielany jest przy mniej ujemnym potencjale w obecności kobaltu i jego pik jest lepiej wykształcony. Czy i tak jest w tym przypadku rozstrzygnąć może nałożenie graficzne pików wydzielania Ni i Co zarejestrowanych oddzielnie ("solo"), dokładnie w warunkach z Rys. 10.2, na krzywe mieszaniny z Rys. 10.2, jeśli takie dane są dostępne. W takim przypadku ew. przesunięcie katalityczne powinno być widoczne.

Procedura 3. Podrozdział 11. Analiza strippingowa cytrynianu sildenafilu na stałej elektrodzie ołowiowej. Str. 116-126.

Bez uwag.

Procedura 4. Podrozdział 12. Analiza strippingowa rutozydu na stałej elektrodzie ołowiowej Str. 127-136.

Zwraca uwagę znaczna liczba przebadanych interferentów. Bez uwag.

Procedura 5. Podrozdział 13. Analiza strippingowa rutozydu i kwasu foliowego na stałej elektrodzie ołowiowej. Str. 137-147.

Oba związki były oznaczane jednocześnie. Stanowiło to trudny przypadek ze względu na wpływ nadmiaru rutyny na sygnał kwasu foliowego i odwrotnie. Bez uwag.

Procedura 6. Podrozdział 14. Analiza specjacyjna arsenu przy zastosowaniu podwójnego nagromadzenia i strippingu. Str. 148-165.

Podrozdział zawiera szczegółową optymalizację procedury opisanej w pracy [D1] i jest najbardziej rozbudowany. Interesującym i zaawansowanym podejściem jest zastosowanie dwóch elektrod roboczych (pracujących): jako pierwszej błonkowej elektrody z Au nakładanej ex situ na GCE Φ 12 mm oraz jako drugiej 4 mikroelektrod Au Φ 25 μ m zatopionych w żywicy. Istotną wydaje się być omawiana kwestia wyboru czym utleniać arsen osadzony na powierzchni elektrody: tlenem cząsteczkowym obecnym w roztworze czy też dodatnim potencjałem $E=+0,3V$. Wybrano tlen bo wynik przedstawiony na Rys. 14.12 sugeruje że elektrochemiczne utlenianie arsenu na elektrodzie daje zawyżony prąd (krzywa d) w obecności nadmiaru jonów Cu.

(Uwaga 6). Oczekiwałbym tu nieco szerszego wyjaśnienia dlaczego układ 4 mikroelektrod Φ 25 μ m każda jest lepszy od jednej elektrody o równoważnej powierzchni.

Procedura 7. Podrozdział 15. Analiza specjacyjna selenu przy zastosowaniu podwójnego nagromadzenia i strippingu. Str.166-178.

Zastosowano nowatorskie podejście z wykorzystaniem podwójnego nagromadzenia i strippingu w celu obniżenia granicy wykrywalności, analogiczne do opracowanego do oznaczania arsenu. Otrzymano obniżenie granicy wykrywalności przy zastosowaniu dwóch elektrod pracujących, w porównaniu z układem z jedną elektrodą. Stanowi to optymalizację procedury opisanej w odnośniku [D4]. Bez uwag.

Podsumowanie procedur 1-7

Tablica 17.1 daje przejrzysty obraz tego, co zostało zrobione. Brak mi jedynie w przedostatniej kolumnie określenia rodzaju prądu: deelektronacji (anodowy) przy utlenianiu osadzonego metalu lub elektronacji (katodowy) przy redukcji osadzonego na drodze adsorpcji kompleksu jonu.

Uwagi ogólne i sugestie wynikające z obowiązków recenzenta

1. Tzw. "literówki", nie jest ich wiele, rzecz bez istotnego znaczenia.

Lp.	Strona	Jest	Powinno być
1		analiza strippingowa	Analiza strippingowa
	str. 43	podczas nagradzania	nagromadzania
	Rys. 2.3. podpis	w trakcie nagradzania	nagromadzania
	74	nawozach fosforanowych	nawozach fosforowych
	78	o około 20 razy	około 20 razy
2	86	chromatograf uzyskany	chromatogram uzyskany
3	137 Pomyłka w tytule podrozdziału.	13. Analiza strippingowa rutozydu i kwasu foliowego na stałej elektrodzie foliowej.	13. Analiza strippingowa rutozydu i kwasu foliowego na stałej elektrodzie ołowiowej.
4	148 góra Niezręczne sformułowanie, jony As(III) nie były gromadzone	b) nagromadzanie jonów As(III) na powierzchni pierwszej elektrody, w wyniku ich redukcji do postaci metalicznej.	b) nagromadzanie metalicznego As na powierzchni pierwszej elektrody, w wyniku redukcji jonów As(III) do postaci metalicznej.

2. Rysunki

Podpisy pod rysunkami są generalnie zbyt skrótowe, co wymaga posiłkowania się tekstem rozprawy, co prawda blisko położonym. Moim zdaniem rysunki powinny być samoczytelne stąd podpisy powinny być bardziej kompletne i zawierać dane takie jak: **rodzaj elektrody** (generalnie jest tego brak, np. 9.6, Rys. 11.6, Rys. 11.7), technika pomiarowa (brak), skład roztworu (jest podany zawsze). Poza tym warto umieszczać istotne dane np. stężenia bezpośrednio przy poszczególnych krzywych co często praktykuje się w publikacjach. Przykłady: Rys. 11.8, Rys. 12.6, Rys. 12.7.

W rozprawie, w części zawierającej wyniki własne, nie ma kolorów na rysunkach a szkoda. Są natomiast niekiedy w części literaturowej (np. Rys.6.2 jest kolor chociaż przedstawia jedną krzywą, piki są przejrzysto opisane, podobnie Rys. 6.3, Rys. 6.12). Kolor daje znacznie pełniejszy przekaz, lepsze byłoby także rozróżnianie poszczególnych krzywych. Trzy przykłady na poparcie tej tezy: Rys. 10.2, Rys. 10.5, Rys. 10.6.

Poza tym na Rys. 10.5 piki powinny być opisane jako Ni oraz Co, zwłaszcza że pik niklu jest tak wysoki, że nie mieści się w skali rysunku. To samo dotyczy innych rysunków, które są mało wypełnione i stąd łatwo tam pomieścić użyteczną informację.

Rysunki czarno-białe typu "opracowanie własne" są bardzo dobrze wykonane i czytelne.

3. Statystyczne opracowanie wyników i ich walidacja

(Uwaga 7). Walidacja jest stale obecna, umieszczona w podrozdziałach. Są podane równania prostych typu $y=(a\pm\Delta a)\cdot x + b\pm\Delta b$. Odchylenie standardowe powinno być jednoznacznie zdefiniowane stosowanym wzorem, ponieważ jest to pojęcie różnie definiowane. Najprościej chyba robi się to przy pomocy programu ORIGIN, gdzie error a i error b to po prostu s_a i s_b , co nie jest podane w tym programie. Na podstawie wartości error a i error b można wyznaczyć przedziały ufności. Odnośnie definicji odchylenia standardowego to w miarę klarownie i prosto podaje to np. statystyka: J.R. Taylor, Wstęp do analizy błędu pomiarowego, PWN, Warszawa 1999 oraz publikacja S. Afr. J. Chem., 2016, 69, 166–173 (proszę mi wybaczyć podawanie własnej pracy ale sami musieliśmy te sprawy uporządkować po to, aby je dobrze zrozumieć).

Jakie oprogramowanie stosowano do obróbki danych w postaci elektronicznej?

4. Jednostki w których wyrażane są stężenia

(Uwaga 8). Autor rozprawy konsekwentnie stosuje stężenia wyrażone w pod-wielokrotnościach mol/L roztworu rozpatrywanej substancji co jest jak najbardziej prawidłowe merytorycznie. Czy nie warto było poza tym zestawić stężeń w mol/L roztworu ze stężeniami wyrażonym w formie udziału masowego czyli ppm, ppb i ppt? Żaden z tych symboli nie występuje w rozprawie, nawet jeden raz. Mimo że czytelnik może łatwo dokonać przeliczenia, wyniki uzyskałyby dodatkowy przekaz działający na wyobraźnię czytelnika, zwłaszcza, że wymienione jednostki są często stosowane w literaturze dotyczącej analizy śladowej. Niekiedy (Część Literaturowa, str.19) jest stosowane stężenie w $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ roztworu a stąd już bardzo blisko do ppm i ppb. Pochodząca z cytowanej literatury (str. 20) granica wykrywalności Ni^{2+} i Co^{2+} wynosząca 0,6 i 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, po przeliczeniu daje odpowiednio 0,6 i 1,0 ppb. Podane na str. 20 (górną akapit) rozprawy stężenie bizmutu wynosi $1,0\cdot 10^{-4}$ mol $\cdot\text{L}^{-1}$ Bi(III) co po przeliczeniu daje wartość 20,9 ppm. Kolejny przykład z str. 20 (górną akapit): granica wykrywalności jonów Co(II) równa $1,1\cdot 10^{-10}$ mol $\cdot\text{L}^{-1}$ daje jego udział 6,5 ppt.

5. Pozostałe uwagi

(Uwaga 9). Co oznacza określenie "oczyszczone w wyniku destylacji powierzchniowej" ? (str. 92).

Czy nie można było podać tu odnośnika literaturowego?

(Uwaga 10). "Woda oczyszczana w systemie milipore". Czystość wody jest kluczowa dla analizy śladowej. Oczekiwałbym tu podania parametrów wody "przed" i "po" oraz korzyści w odniesieniu do standardowej wody dejonizowanej.

6. Literatura

(Uwaga 11). Literatura obejmuje aż 265 pozycji literaturowych w tym zaledwie 2 linki do stron internetowych poz. 160 i 178, co jest moim zdaniem zaletą. Poz. 160 to link do definicji specjacji, moim zdaniem zbędny. Literatura przedmiotu jest podana poprawnie, obszerna i kompletna,

odnotowałem jedynie nieobecność przeglądowej pracy dotyczącej metod elektrochemicznego oznaczania arsenu autorstwa W. Ozimek, I. A. Rutkowska, J. A. Cox, P. J. Kulesza: Współczesne podejścia elektrochemiczne do oznaczania arsenu, *Wiadomości Chemiczne* **69** (2015) 9-10, gdzie szeroko jest omawiana metoda woltamperometrii strippingowej a problemy związane z oznaczaniem różnych form arsenu są dobrze wyartykułowane. Część odnośników literaturowych zawiera braki i nieścisłości w numeracji stron itp. usterki np. odnośnik [21]: jest 8 (2016) 1187, powinno być str. 1187-1195, podobnie w [32] powinno być strony 1075-1081. Dalsze nieścisłości: odn. [63]; odn. [71]: tom 133 zamiast podany 131; odn. [80, 81, 85] niepełna numeracja stron; odn. [92]: prawdopodobnie ma być M. Grabarczyk and A. Koper, *Talanta*, 2011, 84, 393–399; odn. [227]: nieprecyzyjnie jest cytowany rozdział z książki tzn. J.M. McNeal, L.S. Balistreri, *Selenium in Agriculture and the Environment*, 1, 1989; odn. [233]: pełne strony to 413-417; poz. [252]: trudna do rozpoznania publikacja.

PODSUMOWANIE

Dorobek naukowy doktoranta obejmuje w sumie współautorstwo czterech publikacji w wysoko notowanych czasopismach zagranicznych z listy A w tym trzech obejmujących tematykę rozprawy, jednego artykułu w wydawnictwie książkowym *Elektrochemia Stosowana* oraz sześciu komunikatów z konferencji naukowych, w tym jednej zagranicznej. Jest to dorobek znaczący i świadczący bardzo pozytywnie o poziomie rozprawy i opanowaniu warsztatu naukowego przez doktoranta. **Dlatego, moim zdaniem, recenzowana rozprawa zasługuje na wyróżnienie.**

Z przyjemnością czytałem opisy metod elektrochemicznych i wzbogaciłem swoją wiedzę o aktualne modyfikacje i rozwinięcia technik elektroanalizy. Najistotniejszy oryginalny dorobek rozprawy to opracowanie siedmiu wszechstronnie zoptymalizowanych procedur analitycznych ilościowego oznaczania ważnych z praktycznego punktu widzenia jonów i związków organicznych w skrajnie niskich stężeniach i obniżenia granicy ich wykrywalności. Wymagało to z pewnością ogromnego nakładu żmudnej pracy laboratoryjnej i intelektualnej. Doktorant wykazał się także dużymi zdolnościami typu inżynierskiego o czym świadczy przygotowane zaawansowanych technicznie elektrod i naczynek do badań. Część teoretyczna i uzyskane procedury analityczne zawarte w rozprawie mogą służyć jako pomoc naukowa dla osób specjalizujących się w analizie śladowej.

Podane uwagi krytyczne mają charakter jedynie porządkowy lub też mogą wynikać z innych doświadczeń recenzenta. Nie mają wpływu na ogólną wysoką ocenę rozprawy.

Omówione merytoryczne rezultaty przedmiotowej rozprawy upoważniają mnie do końcowego podsumowania. Rozprawa spełnia formalne przewidziane prawem wymagania zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października

2014 sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim z późniejszymi zmianami (tekst jednolity ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki; Dz. U. z 21.06.2016, poz. 882), w której sformułowano wymóg: "Art. 13. 1. Rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora albo pod opieką promotora i promotora pomocniczego, o którym mowa w art. 20 ust. 7, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub oryginalne dokonanie artystyczne oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej."

Rozprawa spełnia także wymagania zwyczajowe.

W konkluzji wnioskuję o przyjęcie recenzowanej rozprawy i dopuszczenie pana mgr Mateusza Ochaba do dalszych etapów przewodu doktorskiego w tym do publicznej obrony zaprezentowanych wyników i wniosków.

Dr hab. inż. Przemysław Sanecki, prof. PRz

Rzeszów, 27.08.2018.

