

Prof. dr hab. Sławomira Skrzypek
Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Wydział Chemii UŁ,
Łódź, ul. Tamka 12
e-mail: skrzypek@uni.lodz.pl

Łódź 5.12.2020 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Sasal pt. „Analiza śladowa składników leków przeciwbólowych z wykorzystaniem elektrod sitodrukowanych w próbkach wód.”

Praca doktorska magister Agnieszki Sasal została zrealizowana w Katedrze Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Tyszczyk-Rotko prof. UMCS. Recenzowana rozprawa dotyczy badań mających na celu zastosowanie czujników sitodrukowanych (modyfikowanych, niemodyfikowanych) do detekcji istotnych biomolekuł takich jak kofeina, paracetamol i diklofenak, zanieczyszczających środowisko wodne. Zwiększona produkcja oraz konsumpcja różnych preparatów medycznych pozwala przypuszczać, że każdego roku wzrasta zanieczyszczenie środowiska substancjami, których nasz organizm nie metabolizuje całkowicie. Do tej grupy należy zaliczyć niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) m. in. produkty lecznicze, w których substancją czynną może być kwas acetylosalicylowy, diklofenak, paracetamol, ibuprofen czy naproksen. Już w 1999 roku szacowano, że dziennie leki te są przyjmowane przez około 30 milionów osób na całym świecie. Innym poważnym zanieczyszczeniem wód są związki endokrynnie czynne. Oceny ryzyka ekotoksykologicznego wynikającego z obecności tych zanieczyszczeń w środowisku wodnym są niepokojące.

Doktorantka w swoich badaniach wykorzystwała techniki woltamperometryczne. Techniki te, w szczególności technika woltamperometrii stripingowej należą do najczulszych technik stosowanych w analizie chemicznej. W przypadku oznaczania śladowych zawartości pierwiastków, zwłaszcza metali i niektórych związków chemicznych stanowią alternatywę dla metod spektroskopowych i chromatograficznych. Obecnie rozwój metod woltamperometrycznych ukierunkowany jest na

obniżenie granicy wykrywalności i oznaczalności, wzrost selektywności oznaczeń i wykorzystanie elektrod przyjaznych dla środowiska. Do takich należą właśnie elektrody drukowane (*screen printed electrodes*). Rozprawa doktorska mgr Agnieszki Sasal wpisuje się we współczesny kierunek zielonej chemii analitycznej i jest poświęcona opracowaniu procedur oznaczania śladowych stężeń wybranych farmaceutyków w próbkach wód środowiskowych (woda rzeczna, morska, oczyszczone ścieki) ze szczególnym uwzględnieniem eliminacji interferencji.

Ocena prac przedstawionych jako osiągnięcia będące podstawą do nadania stopnia doktora

Podstawą rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Sasal zatytułowanej „Analiza śladowa składników leków przeciwbólowych z wykorzystaniem elektrod sitodrukowanych w próbkach wód” są 4 spójne tematycznie oryginalne artykuły opublikowane w latach 2017-2020, przedstawiające wyniki badań własnych. Łączna wartość współczynnika oddziaływania publikacji IF dla tych prac, zgodnie z danymi zawartymi w zebranych materiałach, wynosi 12,466 co daje średni IF na publikację ok. 3.1). Poza chronologicznie pierwszą publikacją, w której Doktorantka jest drugim autorem, w 3 pozostałych jest autorem pierwszym. Wszyscy współautorzy tych publikacji złożyli oświadczenia, z których wynika indywidualny wkład mgr Sasal przy opracowywaniu koncepcji wspólnych prac oraz jej dominujący udział w wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników. Zbiór artykułów naukowych poprzedza 48-o stronicowy *Autoreferat*, wprowadzający czytelnika w tematykę badań oraz zwięźle przedstawiający osiągnięcia Doktorantki. Obiektami badań były kofeina, paracetamol, diklofenak. Tabela 2, zestawiająca voltamperometryczne procedury oznaczania w/w związków z lat 2010 – 2020 na elektrodach sito drukowanych przybliżyła w pewnym sensie czytelnikowi przegląd literatury. Można stwierdzić, że odpowiednio zebrana bibliografia dowodzi bardzo dobrej znajomości przedmiotu badań. W części doświadczalnej można wyróżnić cztery główne zadania, które stanowią podstawę przedstawionej rozprawy doktorskiej, wykorzystujące różnie modyfikowane (bądź nie) elektrody sitodrukowane. Zadanie 1 (publikacja 1) dotyczyło oznaczenia kofeiny na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej filmem bizmutu w układzie trójelektrodowym. Należy zauważyć, że elektroda węglowa została wyprodukowana przy współpracy z nieżyjącym już prof. Karelem Vytrasem, wybitnym czeskim elektrochemikiem, znawcą elektrod węglowych. W Zadaniu 2 (publikacja 2) Doktorantka skupiła się na oznaczeniu paracetamolu wykorzystując dostępną w handlu

sitodrukowana elektrodę węglową modyfikowaną nanowłóknami węglowymi. W publikacji 3 Autorka opracowała metodę oznaczania diklofenaku na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi. Tak samo modyfikowanej elektrody Doktorantka użyła do jednoczesnego oznaczenia paracetamolu i diklofenaku. Należy podkreślić, że są to pierwsze prace pokazujące zastosowanie czujników sitodrukowanych w oznaczeniach diklofenaku i jednoczesnego oznaczenia diklofenaku z paracetamolem. W przedstawionych publikacjach zaplanowany i wykonany przez Doktorantkę cykl eksperymentów można podzielić na kilka etapów mających na celu a) zoptymalizowanie składu elektrolitu podstawowego pod kątem prowadzonego oznaczenia, b) scharakteryzowanie powierzchni elektrod pracujących c) zbadanie wpływu możliwych interferentów, określenie sposobu ich minimalizacji oraz d) zastosowanie opracowanej metody w analizie próbek wód i ścieków. W moim odczuciu ostatni etap, według mnie najważniejszy, dotyczył *de facto* sprawdzenia funkcjonalności opracowanych procedur analitycznych względem różnorodnych próbek środowiskowych. Wykonane badania są niezaprzeczalnym dowodem użyteczności opracowanych metod. Zoptymalizowane procedury woltamperometryczne charakteryzują się szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych, oraz najniższymi granicami wykrywalności spośród dostępnych w literaturze prac opisujących oznaczanie kofeiny (LOD: $2,7 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹), paracetamolu (LOD: $5,4 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹), diklofenaku (LOD: $1,2 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹). Należy podkreślić, że uzyskanie tak niskich granic wykrywalności i oznaczalności związane jest z wykorzystaniem nie tylko woltamperometrii stripingowej z klasycznym etapem zateżania, ale także poprzez nagromadzanie impulsami potencjałowymi. Jest to szybki i prosty sposób minimalizacji interferencji od substancji powierzchniowo czynnych który doktorantka z powodzeniem zastosowała w przypadku jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku. Na uwagę zasługuje również fakt, że Autorka nie ograniczyła się tylko do opracowania i walidacji procedur analitycznych oznaczania wybranych związków biologicznie czynnych, ale profesjonalnie zastosowała modyfikację powierzchni czujnika sitodrukowanego, potwierdzając rozwinięcie powierzchni z wykorzystaniem techniki woltamperometrii liniowej, mikroskopii optycznej, profilometrii optycznej czy skaningowej mikroskopii elektronowej w połączeniu ze spektroskopią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego. Wyniki badań uzupełniających badania analityczne niewątpliwie podniosły poziom naukowy omawianych prac.

Podsumowując część eksperymentalną chciałabym podkreślić, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania wymagały specjalistycznej i szerokiej wiedzy. Autorce udało się zakończyć swoją pracę niewątpliwymi osiągnięciami. Świadczy to o bardzo dobrych podstawach naukowych, wszechstronności i nowoczesnym podejściu Doktorantki do postawionego problemu naukowego.

Po przeczytaniu pracy pojawia się jednak kilka uwag czy pytań odnośnie sposobu prezentacji czy dyskusji wyników, które z pewnością mogą być wyjaśnione w trakcie publicznej obrony pracy.

1) Podstawą proponowanych oznaczeń jest wykorzystywanie prądów anodowych związanych z elektrootlenianiem badanych związków. Która grupa w strukturze kofeiny- zdaniem Doktorantki - jest odpowiedzialna za pojawiający się sygnał? Czy są jakieś dane literaturowe (tego typu) odnośnie kofeiny? W artykule nie znalazłam odpowiedzi na to pytanie.

2) Opracowując procedurę oznaczania kofeiny na elektrodzie modyfikowanej filmem bizmutu Autorka wykorzystuje pulsowo-różnicową voltamperometrię strippingową (Fig.3 w artykule). Czy etap wytwarzania filmu bizmutu *in situ* może powodować adsorbcję kofeiny? Proszę o komentarz.

3) Czy zdaniem Doktorantki możliwe jest jednoczesne oznaczenie w próbkach środowiskowych kofeiny z paracetamolem i diklofenakiem? Co Pani zdaniem jest powodem, że mimo tak wysokiej czułości opracowanych metod nie wykryła Pani (z wyjątkiem zrzutu ścieków) tak popularnych farmaceutyków w wodzie rzecznej (np. w Wisle)?

4) W publikacjach na wielu wykresach, w tym na wykresach przedstawiających zależność natężenia prądu badanego sygnału lub różnicy prądów od stężenia badanego związku przedstawiane są słupki błędów. Jakie były parametry statystycznej oceny wyników (n , P , α)? Podobny brak zauważam przy podawaniu przedziału ufności podczas określania stężeń badanych analitów. Jest to szczególnie ważne w sytuacji kiedy czułość sensora jest bardzo wysoka

5) Co Pani rozumie pod pojęciem analizy polowej?

6) W publikacjach, a także w Autoreferacie pisze Pani, że próbki środowiskowe nie były w żaden sposób przygotowywane przed pomiarem i że odpowiednia ilość próbki do analizy była pobierana bezpośrednio z pojemnika czerpakowego (str. 43 Autoreferatu). Czy próbki wody były jednak wcześniej utrwalane? Proszę o komentarz hipotezy, że próbki z

Morza Bałtyckiego czy z rzeki Wisły, analizowane w laboratorium w Lublinie bez utrwalenia, mogły zmienić swój skład (kontaminacja na ścianach naczynia w którym przewożono próbki)

Ponadto w pracy znalazłam kilka moim zdaniem niefortunnych sformułowań typu „woda kranowa” zamiast „woda wodociągowa”, woltamperometria impulsowa” zamiast „woltamperometria pulsowa”, „elektrochemiczne utlenianie paracetamolu ma charakter adsorpcyjny” zamiast „prąd elektrochemicznego utleniania paracetamolu ma charakter adsorpcyjny”. Na zakończenie tej części recenzji chciałam zauważyć, że moje uwagi dotyczące rozprawy mają raczej charakter polemiczny a nie krytyczny i w żaden sposób nie umniejszają bardzo wysokiej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej.

2. Ocena pozostałego dorobku naukowego i aktywności doktorantki

Na dorobek naukowy Pani mgr Agnieszki Sasal składa się 9 publikacji naukowych, z których 8 zostało opublikowanych w czasopismach z bazy Journal Citation Reports Sumaryczny IF wszystkich 9 prac wynosi łącznie 20,457. Prace ukazały się w latach 2017-2020, stąd niezbyt duża liczba cytowań, jednakże nie mam wątpliwości, że prace te znajdują szerszy oddźwięk. Dorobek powiększają 4 monografie i 5 recenzowanych komunikatów w materiałach pokonferencyjnych. Dodatkowo Doktorantka prezentowała swoje wyniki w postaci 3komunikatów i 8posterów na konferencjach międzynarodowych, a także na konferencjach krajowych (18 komunikatów i 29 posterów). Jest to imponujący wynik wzięwszy pod uwagę 4-o letni czas studiów doktoranckich i fakt, że postery i komunikaty były 5-o krotnie wyróżniane.

4. Podsumowanie recenzji

Pomimo moich kilku uwag, które mają oczywiście charakter dyskusyjny chciałabym wyrazić moje uznanie dla wkładu pracy Doktorantki, podkreślić wysokie znaczenie naukowe uzyskanych wyników i ocenić recenzowaną przeze mnie pracę doktorską bardzo dobrze. Przedstawioną pracę cechuje wysoki poziom naukowy, praca wykazuje oryginalność rozwiązań, posiada wyraźny element nowości naukowej i spełnia wszelkie wymagania Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym z dnia 17 marca 2003 r.(wraz z późniejszymi zmianami) stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę

wniosek o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Agnieszki Sasal do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o jej wyróżnienie.

Prof. Sławomira Skrzypek

