

Streszczenie w języku polskim

Niniejsza rozprawa doktorska obejmuje cykl 10 prac [RD1-RD10] (w tym 9 opublikowanych i 1 zaakceptowanej do druku) w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym współczynniku wpływu IF równym 46,372 i 1440 punktach MEiN. Nadrzędnym celem badań było opracowanie woltamperometrycznych procedur oznaczania wybranych związków biologicznie czynnych, należących do grup substancji przeciwnowotworowych, przeciwbólowych, antybiotyków, hormonów i substancji psychotropowych, w próbkach środowiskowych i płynach ustrojowych z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych. Cele szczegółowe dotyczyły między innymi poprawy parametrów czujników sitodrukowanych poprzez elektrochemiczną aktywację elektrody pracującej lub/i modyfikację jej powierzchni, charakterystyki otrzymanych czujników z wykorzystaniem szerokiej gamy technik, minimalizacji interferencji pochodzących od składników próbek i zastosowania opracowanych procedur w analizie próbek rzeczywistych.

Związki biologicznie czynne będące przedmiotem badań do niniejszej rozprawy doktorskiej występują w płynach ustrojowych na poziomie stężeń rzędu 10^{-5} - 10^{-8} mol L⁻¹. Ponadto, większość z nich stanowi śladowe zanieczyszczenia środowiska wodnego (stężenia rzędu 10^{-9} - 10^{-12} mol L⁻¹) i jest zagrożeniem dla organizmów wodnych, jak również organizmu człowieka. W oznaczeniach woltamperometrycznych stosuje się całą gamę elektrod pracujących, a dobór elektrody determinuje możliwość prowadzenia oznaczeń na niskich poziomach stężeń. W trakcie prowadzonych badań skupiono się na grupie czujników sitodrukowanych z uwagi na ich zalety, tzn. niski koszt produkcji, odpowiedni poziom odtwarzalności elektrod, dostępność oraz możliwość zastosowania w analizatorach przenośnych. W literaturze można odnaleźć prace dotyczące zastosowania tych czujników w analizie wybranych do niniejszej rozprawy grup związków. Niemniej jednak w większości przypadków uzyskane parametry analityczne nie pozwalają na oznaczanie rzeczywistych stężeń tych związków w płynach ustrojowych i próbkach środowiskowych. W związku z powyższym istotne wydaje się opracowanie woltamperometrycznych procedur oznaczania charakteryzujących się niższymi granicami wykrywalności i oznaczalności oraz lepszą selektywnością w porównaniu z metodami opisanymi w literaturze.

Opracowano woltamperometryczne procedury oznaczania związków o działaniu przeciwnowotworowym (8-(4-metoksyfenylo)-4-okso-4,6,7,8-tetrahydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyno-3-karboksylanu etylu - EIMTC [RD1] i 8-(4-chlorofenylo)-3-fenylo-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyno-4-(6H)-onu - 4-Cl-PIMT [RD6] na sitodrukowanej

elektrodzie węglowej modyfikowanej warstwą nanowłókien węglowych (SPCE/CNFs), 3-(4-nitrofenylo)-8-(2,3-dimetylofenylo)-7,8-dihydroimidazo[2,1-c][1,2,4]triazyn-4(6H)-onu (NDIT) na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej dodecylosiarczanem sodu (SPCE/SDS) [RD8], bleomycyny (BLM) na wstępnie przygotowanej elektrochemicznie sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej nanocząstkami ołowiu (pSPCE/PbNPs) [RD7]) i przeciwbólowym (paracetamolu (PA), diklofenaku (DF) i tramadolu (TR) na elektrochemicznie aktywowanej sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej SDS (aSPCE/SDS) [RD2]) oraz procedurę oznaczania antybiotyku ryfampicyny (RIF) na elektrochemicznie aktywowanej sitodrukowanej elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem (aSPBDDE) [RD3], procedurę oznaczania testosteronu (TST) na pSPCE/PbNPs [RD5] oraz procedurę oznaczania związku przeciwpsychotycznego, tiorydazyny (TDZ) na sitodrukowanej elektrodzie złotej (SPAuE) [RD9]. Cykl prac wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej zawiera również prace przeglądową [RD4], w której podsumowano woltamperometryczne procedury oznaczania związków o działaniu przeciwbólowym (paracetamolu, diklofenaku, tramadolu, ibuprofenu, ketoprofenu, naproksenu i kwasu acetylosalicylowego) z użyciem czujników sitodrukowanych. Opisane w literaturze procedury pogrupowano biorąc pod uwagę rodzaj stosowanych czujników sitodrukowanych (czujniki modyfikowane nanomateriałami węglowymi, modyfikowane polimerami oraz czujniki elektrochemicznie aktywowane).

W trakcie prowadzonych badań zoptymalizowano procedury przygotowania czujników i oznaczania wybranych związków. Zbadano jak na wartość natężenia prądu pików oznaczanych związków i ich powtarzalność wpływa szereg czynników takich jak: rodzaj i pH elektrolitu podstawowego, czas i potencjał nagromadzenia analitu (w przypadku adsorpcyjnego i mieszanego procesu elektrodowego), a także parametry techniki rejestracji sygnału – woltamperometrii impulsowo-różnicowej (DPV) (amplitudę, szybkość rejestracji sygnału i czas modulacji) lub woltamperometrii fali prostokątnej (SWV) (amplitudę, krok potencjału i częstotliwość).

Elektrochemiczną aktywację lub/i modyfikację powierzchni elektrod sitodrukowanych surfaktantem lub nanocząstkami ołowiu zastosowano w celu wzmocnienia sygnałów analitycznych oznaczanych związków, poprawy powtarzalności sygnałów i ich kształtu oraz minimalizacji interferencji od składników próbek. Zmiany w strukturze, składzie powierzchni i właściwościach elektrochemicznych czujnika potwierdzono na podstawie badań wykonanych z wykorzystaniem szerokiej gamy technik instrumentalnych, takich jak skaningowa (SEM) i transmisyjna (TEM) mikroskopia elektronowa, profilometria optyczna, spektroskopia

dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS) i rentgenowska spektroskopia fotoelektronów (XPS), woltamperometria cykliczna (CV) i elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna (EIS). Poza wykazaniem zmian w morfologii powierzchni stwierdzono, że elektrochemiczna aktywacja lub/i modyfikacja powierzchni przyczynia się do zmniejszenia oporu przenoszenia ładunku (R_{ct}), zwiększenia powierzchni aktywnej (A_s) i poprawy efektywności przenoszenia elektronów.

Przy użyciu woltamperometrii cyklicznej określono także charakter procesów elektrodowych zachodzących na powierzchni stosowanych elektrod. Wykazano, że transport EIMTC do powierzchni SPCE/CNFs zachodzi na drodze dyfuzji, a związek ten redukuje się w sposób nieodwracalny dając jeden pik. Jeden pik zaobserwowano również w przypadku nieodwracalnej redukcji 4-Cl-PIMT na SPCE/CNFs i testosteronu na pSPCE/PbNPs, a także nieodwracalnego utleniania tiorydazyny na SPAuE. W tych czterech przypadkach stwierdzono adsorpcyjny charakter procesów elektrodowych. Podczas oznaczania bleomycyny na pSPCE/PbNPs rejestrowano trzy piki redukcji przy jednoczesnym braku piku utleniania, natomiast nieodwracalna redukcja NDIT na SPCE/SDS zachodziła dwustopniowo. W obu przypadkach charakter procesu elektrodowego określono jako mieszany. Charakter mieszany procesu elektrodowego stwierdzono również w przypadku utleniania ryfampicyny na aSPBDDE. Związek ten daje trzy piki anodowe i dwa katodowe. W przypadku procedury jednoczesnego oznaczania paracetamolu, diklofenaku i tramadolu charakter procesu elektrodowego określono rejestrując krzywe pojemności różniczkowej warstwy podwójnej na granicy faz elektroda/elektrolit podstawowy. Widoczne na krzywych piki desorpcji paracetamolu i diklofenaku potwierdzają adsorpcję tych związków na aSPCE/SDS, natomiast nie zaobserwowano piku desorpcji tramadolu, co świadczy o dyfuzyjnym charakterze procesu. W oparciu o badania własne lub dane literaturowe starano się przedstawić prawdopodobny mechanizm reakcji elektrodowych, jakim ulegają oznaczane związki.

Jednym z etapów prowadzonych badań było sprawdzenie selektywności opracowanych procedur. W tym celu badano wpływ wzrastających stężeń możliwych interferentów (jonów metali i związków organicznych) na sygnał analityczny oznaczanych substancji. W przypadku procedury oznaczania EIMTC [RD1] i 4-Cl-PIMT [RD6] zastosowano układ przepływowy do analizy próbek surowicy. Pozwoliło to na wymycie zanieczyszczeń i pozostałości produktów reakcji elektrodowej analitu po każdym pomiarze. W celu minimalizacji interferencji stosowano również wstępne odbiałczanie próbek, krótkie czasy nagromadzania analitów, modyfikacje powierzchni surfaktantem, dodatek do roztworu czynnika kompleksującego (soli sodowej kwasu pentetynowego, DTPA), czy duże rozcieńczenie próbek (możliwe dzięki

bardzo niskim wartościom granic wykrywalności i oznaczalności).

W trakcie prowadzonych badań wykonano pomiary do krzywych kalibracyjnych oznaczanych związków, obliczono granice wykrywalności i oznaczalności. Stwierdzono, że zoptymalizowane procedury charakteryzują się szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych, a także jednymi z najniższych lub najniższymi granicami wykrywalności spośród woltamperometrycznych procedur opisanych w literaturze. Granice wykrywalności obliczone dla oznaczeń RIF ($2,2 \times 10^{-13}$ mol L⁻¹) [RD3] i BLM ($2,8 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹) [RD7] są najniższymi jakie uzyskano na czujnikach sitodrukowanych. Natomiast granica wykrywalności obliczona dla TDZ ($2,9 \times 10^{-12}$ mol L⁻¹) [RD9] jest najniższą spośród wszystkich opisanych woltamperometrycznych oznaczeń tego związku. Należy podkreślić, że zaproponowane procedury oznaczania RIF i BLM są pierwszymi wykorzystującymi czujniki sitodrukowane. Ponadto, procedury oznaczania trzech związków o właściwościach przeciwnowotworowych – EIMTC [RD1], 4-Cl-PIMT [RD6] i NDIT [RD8], są pierwszymi sposobami analizy ilościowej tych substancji. Celem potwierdzenia praktycznej użyteczności opracowanych procedur do analizy wybranych związków wykonano analizy próbek biologicznych (mocz, surowica) i środowiskowych (wody rzeczne, ścieki komunalne i ścieki szpitalne). W przypadku procedury oznaczania PA, DF i TR analizowano również preparaty farmaceutyczne. Warto nadmienić, że większość analizowanych próbek nie była w żaden sposób przygotowywana przed pomiarami. Próbkę wód rzecznych i preparatów farmaceutycznych poddano jedynie filtracji, a próbki surowicy poddano odbiałczaniu. Wartość odzysków bliskie 100% świadczą o niewielkim wpływie matrycy próbek na sygnał analityczny. Zgodność wyników uzyskanych z tymi otrzymanymi z wykorzystaniem metod porównawczych (wysokosprawną chromatografią cieczową z detektorem diodowym (HPLC/PDA), ultrawysokosprawną chromatografią cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas (UHPLC-ESI-MS) lub tandemową spektrometrią mas (UHPLC-ESI-MS/MS)) świadczą o możliwości zastosowania opracowanych procedur w analizie próbek rzeczywistych.

Dodatkowe badania (praca zaakceptowana 26.09.2023r. w czasopiśmie Measurement) pokazały perspektywę wykorzystania nanoporowatej sitodrukowanej elektrody węglowej (NPSPCE) w woltamperometrycznych oznaczeniach antybiotyku ciprofloksacyny (CFX) [RD10]. Porowatą strukturę elektrody pracującej uzyskano dzięki elektrochemicznej aktywacji. Przyczynia się ona do spadku R_{ct} , zwiększenia A_s , poprawę efektywności przenoszenia elektronów i wzmocnienia sygnału CFX. Obliczona granica wykrywalności jest najniższą jaką uzyskano na czujnikach sitodrukowanych. Zoptymalizowaną procedurę zastosowano do oznaczania CFX w próbkach wody rzecznej, ścieków komunalnych i szpitalnych. Warto dodać,

że po raz pierwszy przy użyciu czujników sitodrukowanych oznaczono rzeczywiste stężenie CFX w próbce ścieków szpitalnych.