



Lublin, 20.11.2023r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej
mgr inż. **Marii Kuznowicz**

pt. „**DESIGN, FABRICATION AND CHARACTERISTICS
OF ELECTROACTIVE HYBRID MATERIALS
FOR SENSOR DETECTION SYSTEMS**”

(Projektowanie, wytwarzanie i charakterystyka elektroaktywnych materiałów
hybrydowych do sensorowych systemów detekcji)

Praca została wykonana pod kierunkiem prof. dra hab. inż. Teofila Jesionowskiego jako promotora oraz dra inż. Tomasza Rębisia jako promotora pomocniczego i przedłożona Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej.

Specyficzny obecnie tryb życia człowieka powiązany ściśle z niezwykle szybkim rozwojem technologicznym doprowadził do pojawienia się nowego zjawiska jakim są choroby cywilizacyjne. Wśród nich bardzo ważne miejsce zajmują choroby autoimmunologiczne czy też metaboliczne, które niejednokrotnie są trudne do diagnozowania i leczenia.

Cukrzyca jest przykładem grupy chorób metabolicznych charakteryzujących się przewlekłą hiperglikemią wynikającą z zaburzenia wydzielania i/lub działania insuliny. Z powodu braku insuliny w organizmie utrudnione jest przechodzenie glukozy z krwi do





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

komórek. Dlatego jednym z głównych objawów cukrzycy jest bardzo wysokie stężenie glukozy we krwi. Jako, niewykorzystana gromadzi się ona w nadmiarze również w innych płynach oraz w przestrzeni międzykomórkowej. Efektem znacznego zwiększenia stężenia glukozy we krwi jest nie spotykane w warunkach fizjologicznych przenikanie jej do moczu, czyli cukromocz.

Pomiar stężenia glukozy zarówno we krwi jak i w moczu stanowi obraz aktualnego poziomu cukru w organizmie i tak naprawdę pozwala na wskazanie wystąpienia choroby, wczesną diagnozę oraz zastosowanie właściwego procesu terapeutycznego.

Aby ułatwić kontrolę poziomu glukozy i w porę przeciwdziałać wzrostowi i spadkowi cukru, powstają coraz to nowsze i innowacyjne systemy do pomiaru glukozy.

Stosowanie różnorodnych czujników i protokołów analitycznych pozwala w szybki i jednoznaczny sposób wykryć daną substancję w analizowanej próbce medycznej. Taka kontrola aktywności i poziomu np. glukozy we krwi może wskazywać również na skuteczność procesu terapeutycznego pacjentów.

Nie mniej istotne wydają się pomiary oznaczania glukozy w próbkach środowiskowych, farmaceutycznych czy związanych z przemysłem spożywczym.

Tematyka badawcza rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marii Kuznowicz bardzo dobrze wpisuje się we wspomniany powyżej nurt poszukiwania i otrzymywania nowych, elektroaktywnych materiałów stosowanych do polepszenia czułości, selektywności i stabilności czasowej czujników elektrochemicznych przeznaczonych do detekcji glukozy. Obejmuje ona projektowanie, syntezę, charakterystykę i zastosowanie powstałego elektroaktywnego materiału hybrydowego w biosensorach i sensorach. Ponadto wykazano funkcjonalność zaproponowanych sensorów w komercyjnych roztworach rzeczywistych glukozy m.in. wzorcowych roztworach glukozy, płynach infuzyjnych i produktach spożywczych zawierających glukozę, jak również roztworach rzeczywistych, krwi człowieka i jej osocza.





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

W celu scharakteryzowania otrzymanych materiałów hybrydowych wykorzystano całą gamę technik pomiarowych, między innymi: mikroskopię sił atomowych (AFM), elektroforetyczne rozpraszanie światła (ELS), spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), wysokorozdzielczą transmisyjną mikroskopię elektronową (HR-TEM), skaningową mikroskopię elektronową (SEM), spektroskopię rentgenowską z dyspersją energii (EDS), transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM), rentgenowską spektroskopię fotoelektronową (XPS), a także pomiar potencjału dzeta (ζ). Otrzymane czujniki zostały szczegółowo przebadane w aspekcie elektrochemicznym z wykorzystaniem takich technik jak: amperometria, woltamperometria cykliczna oraz elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna.

Recenzowana rozprawa doktorska napisana jest w języku angielskim i oparta jest na cyklu sześciu publikacji naukowych, które ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych z listy Filadelfijskiego Instytutu Informacji Naukowej (*Measurement, Biochemical Engineering Journal, Electrochimica Acta, Microchimica Acta, Chemosensors, Molecules*). W pięciu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem a jej udział w ich powstaniu jest dominujący. Deklarowany zakres merytoryczny jest szeroki i dotyczy opracowania koncepcji i metodologii, przeprowadzenia badań, analizy wyników oraz przygotowania manuskryptów. Sumaryczny współczynnik wpływu (*Impact Factor*) tych publikacji wynosi 31,413, co daje wysoki średni IF przypadający na jedną pracę równy 5,235. Biorąc powyższe fakty pod uwagę, stwierdzam, że Doktorantka wykazała się wysoką aktywnością na wszystkich etapach badań, co świadczy o jej dużej samodzielności i szerokiej wiedzy w zakresie podjętego tematu badawczego.

Teksty publikacji naukowych wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały poprzedzone częścią opisową, która liczy 119 stron. Składają się na nią następujące rozdziały: lista skrótów, wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę rozprawy, abstrakt (również w języku polskim), część literaturowa, cel i zakres badań, komentarz





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

Autorki do serii publikacji, wnioski, perspektywy badań, bibliografia oraz aktywność naukowa. Dysertacja zawiera również oświadczenia współautorów.

Komentarz Autorki do serii publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej obejmuje przedstawienie metodyki syntez i charakterystyki badanych materiałów oraz streszczenie wyników zaprezentowanych szczegółowo w publikacjach. Doktorantka oparła część opisową na 238 pozycjach literaturowych, wśród których przeważającą większość stanowią najnowsze doniesienia ściśle powiązane z tematyką rozprawy. Świadczy to zatem o dużej aktualności problemu badawczego, jaki został zdefiniowany i rozwiązany przez Autorkę w toku przeprowadzonych eksperymentów.

Przedstawiony przez Panią mgr inż. Marię Kuznowicz materiał doświadczalny, a także wnikliwa analiza i dyskusja uzyskanych wyników wnosi znaczący element nowości naukowej w obecny stan wiedzy. Wszystkie postawione cele pracy zostały poprawnie i w pełni zrealizowane, a hipotezy badawcze właściwie zweryfikowane. Wyniki badań zostały przedstawione w przejrzysty i zrozumiały sposób. Odznaczają się one oryginalnością, a ich rezultaty wskazują na duży potencjał aplikacyjny. Jest to niezwykle istotne z punktu widzenia stale rosnącego zapotrzebowania na nowe, innowacyjne rozwiązania dotyczące protokołów analitycznych, które to pozwalają na szybką i jednoznaczną detekcję glukozy w analizowanej próbce.

Za najważniejsze i najbardziej wartościowe osiągnięcia recenzowanej rozprawy doktorskiej uważam:

- Zaprojektowanie nowych nanomateriałów hybrydowych obejmujących kombinację wyselekcjonowanych materiałów węglowych, tlenków/wodorotlenków metali (materiał węglowy (MWCNT), magnetyt, tlenek miedzi(II), wodorotlenek niklu(II)) o doskonałych właściwościach elektrokatalitycznych oraz powłok biopolimerowych (polidopamina (PDA) i poli(kwas kawowy) (PCA)) z licznymi grupami funkcyjnymi;





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

- Syntezę elektrochemicznych materiałów hybrydowych ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PDA-GO}_x$, GC/PCA@MWCNT , PCA@MWCNT-CuO ; $\text{PCA@MWCNT-Ni(OH)}_2$; $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PCA}$) z wykorzystaniem wspomnianych powyżej związków, które to posłużyły do konstrukcji enzymatycznych i nieenzymatycznych układów sensorycznych;
- Immobilizację enzymów na powierzchni otrzymanych materiałów hybrydowych mającą na celu poprawę właściwości elektrochemicznych i stabilność biosensora w aspekcie aplikacyjnego zastosowania;
- Przeprowadzenie pełnej charakterystyki fizykochemicznej, dyspersyjno-morfologicznej i strukturalnej wytworzonych materiałów hybrydowych w celu określenia m.in.: stabilności termicznej i mechanicznej; właściwości elektrokinetycznych; morfologii powierzchni; porowatości oraz wpływu środowiska;
- Konstrukcję czujników enzymatycznych lub nieenzymatycznych z wykorzystaniem elektrod z węgla szklanego (GC) lub elektrody sitodrukowanej (SPE);
- Optymalizację procedury przygotowania i aktywacji sensorów oraz weryfikację właściwości elektrochemicznych;
- Częściową walidację opracowanych metod oznaczania glukozy oraz wskazanie na możliwość zastosowania badanych czujników w analizie próbek komercyjnych i rzeczywistych.

Obowiązkiem recenzenta jest również wskazanie pewnych nieścisłości oraz kwestii dyskusyjnych, których oczywiście bardzo trudno uniknąć podczas opracowywania tak obszernego materiału badawczego jaki został przesłany do recenzji. Zadanie to zostało mi ułatwione, ponieważ oceniany cykl prac został poddany rzeczowej i dogłębnej analizie przez kompetentnych ekspertów w procesie recenzji związanej z ich publikacją na łamach renomowanych czasopism naukowych. Niemniej jednak w czasie lektury rozprawy





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

doktorskiej, nasunęły mi się pewne uwagi, wątpliwości i pytania, które przytoczyłam poniżej oraz proszę o odniesienie się do nich podczas publicznej obrony pracy.

- Jednym z najważniejszych parametrów opisujących sensor jest jego selektywność. Znaczenie tego parametru podkreśla również Doktorantka wspominając o tym kilkakrotnie w swojej pracy. W prezentowanych publikacjach stanowiących trzon doktoratu temat ten jest poruszony w 1 i 2 publikacji dotyczących sensorów enzymatycznych oraz w publikacjach 5 i 6 dotyczących sensorów nieenzymatycznych. W wymienionych publikacjach selektywność badanych sensorów testowano w obecności sacharozy, fruktozy i maltozy oraz związków nie będących cukrami. O ile w przypadku sensorów enzymatycznych opartych na oksydazie glukozowej, ich selektywność nie budzi wątpliwości. O tyle w przypadku sensorów nieenzymatycznych jest to bardzo ważne zagadnienie i dobór substancji mających testować selektywność powinien być dobrze przemyślany. Czym kierowała się doktorantka dobierając te właśnie cukry do testów? Wydaje się, że zamiast np. dwucukrów należałoby dodać kilka aldoheksoz, takich jak galaktoza i mannoza. Zwłaszcza galaktoza byłaby cennym dodatkiem ponieważ jest interferentem zakłócającym przebieg niektórych testów chemicznych na glukozę i występuje w płynach ustrojowych np. w osoczu. Zazwyczaj podnosi ona wynik oznaczania glukozy.
- Czym sugerowała się Pani dobierając wartości szybkości polaryzacji elektrody (zakresy od 5 – 100 mV·s⁻¹ lub 10 – 100 mV·s⁻¹)?
- Czy nie myślała Pani o zastosowaniu techniki elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej do badań związanych z procesami adsorpcyjno-desorpcyjnymi?
- Autorzy w 1 pracy (*Measurement*) (str.123) piszą, że potencjał dzeta modyfikowanych polimerem cząstek Fe₃O₄ ma wartość -27,6 mV i twierdzą, że taka suspensja jest stabilna. W przypadku cząsteczek tlenków





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

niemodyfikowanych jest to słuszne. Jednak w przypadku cząsteczek pokrytych warstewkami polimerowymi, nawet przy dużych wartościach bezwzględnych potencjału dzeta obserwuje się destabilizację układu. Dowodem tego w badanym układzie jest chociażby wzrost wielkości agregatów (Tabela nr 3 str. 124).

- Pragnę zauważyć, że tekst abstraktu w języku polskim po tłumaczeniu z angielskiego nie został wystarczająco starannie poprawiony.

Przedstawione powyżej uwagi, pytania lub sugestie nie umniejszają w żadnym stopniu wysokiej wartości merytorycznej zaprezentowanych wyników, a co szczególnie istotne nie wpływają na moją bardzo pozytywną ocenę recenzowanej dysertacji. Ich wskazanie może okazać się jednak przydatne w planowaniu przyszłych badań oraz podczas przygotowywania kolejnych opracowań naukowych.

Na podstawie przeprowadzonej analizy rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marii Kuznowicz stwierdzam, że recenzowana praca jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem, które stanowi znaczące rozszerzenie wiedzy w wielu dziedzinach nauki. Tak zmodyfikowane sensory stanowią interesującą alternatywę dla czułego, selektywnego i stabilnego w czasie pomiaru glukozy ze względu na ich unikalne właściwości fizykochemiczne i elektrochemiczne.

Na podkreślenie zasługuje szeroki zakres wykonanej pracy doświadczalnej, a także umiejętność interpretacji danych uzyskanych przy zastosowaniu różnych technik pomiarowych. Wskazuje to na solidne podstawy naukowe Autorki, a także nowoczesne podejście do postawionego problemu badawczego. Dodatkowo, tematyka pracy bardzo dobrze wpisuje się w realizowane aktualnie strategie rozwoju współczesnej diagnostyki medycznej, co ma na celu poprawę jakości życia chorych ze zdiagnozowaną na wczesnym etapie chorobą metaboliczną oraz wydłużenie ich średniej długości życia.





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

Chciałabym również podkreślić dorobek naukowy Doktorantki. Pani mgr inż. Maria Kuznowicz jest współautorem 10 oryginalnych publikacji naukowych, spośród których w 5 występuje jako pierwszy autor. Prace te ukazały się w renomowanych, wysoko punktowanych czasopismach z listy filadelfijskiej. Dorobek naukowy Doktorantki stanowi również 1 rozdział w książce (wydany przez konsorcjum Elsevier) oraz 35 prezentacji na konferencjach międzynarodowych i krajowych, w tym 17 wystąpień ustnych.

Naukowy potencjał Doktorantka prezentuje również jako wykonawca w projekcie badawczym Narodowego Centrum Nauki (OPUS 14 (2017/27/B/ST8/01506) oraz NAWA (STER – Mobility I). Na wyróżnienie zasługuje udział Doktorantki w dwóch stażach naukowych.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska Pani mgr inż. Maria Kuznowicz spełnia kryteria określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej o przyjęcie pracy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego celem uzyskania stopnia doktora nauk chemicznych w dyscyplinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dziedzinie nauki chemiczne.





Prof. dr hab. Agnieszka Nosal - Wiercińska
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii
Pl. M. Curie – Skłodowskiej 3/518
20-031 Lublin
Tel. 81 537 56 27
agnieszka.nosal-wiercinska@mail.umcs.pl

Ponadto składam wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej, motywując go aktualnością podjętej tematyki badawczej, jej rozległym zakresem, wysoką jakością prezentowanych wyników, ważnym aspektem praktycznym oraz istotnym wkładem uzyskanych rezultatów w istniejący stan wiedzy. Chciałabym podkreślić również nowatorskie podejście do postawionego problemu badawczego, a także samodzielność Doktorantki w jego rozwiązaniu. W mojej ocenie znacząca aktywność naukowa Pani mgr inż. Marii Kuznowicz w pełni zasługuje na wyróżnienie.

Prof. dr hab. Agnieszka Nosal – Wiercińska



