

Poznań, 4 grudnia 2023 roku



Dr hab. Olena Ivashchenko
Prof. UAM

Centrum NanoBioMedyczne
Uniwersytet Adama Mickiewicza
Wszechnicy Piastowskiej 3,
61-614 Poznań
oleiva@amu.edu.pl

Recenzja

pracy doktorskiej **mgr inż. Marii Kuznowicz**

pod tytułem: „**Design, fabrication and characteristics of electroactive hybrid materials for sensor detection systems**”

Dyscyplina naukowa	Nauki chemiczne
Promotor	prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski
Promotor pomocniczy	dr inż. Tomasz Rębiś

Podstawą wykonania recenzji rozprawy doktorskiej jest pismo Dziekana Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, prof. dr hab. inż. Ewy Kaczorek z dnia 17.10.2023, powołujące się na uchwałę Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej (RD-20/1/2023) z dnia 17 października 2023 roku o powołaniu recenzentów.

Zgodnie z art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, recenzent ocenia, czy rozprawa doktorska dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej doktoranta w dyscyplinie nauk chemicznych, czy wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej.

Rozprawę doktorską Pani mgr inż. Marii Kuznowicz stanowi praca pisemna na podstawie sześciu opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych dotyczących syntezy, charakterystyki i zastosowań elektroaktywnych materiałów hybrydowych do czujników nieenzymatycznych i enzymatycznych. Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy łącznie 213 stron, jest zredagowana w formie 11 rozdziałów, w tym zawiera publikacje wchodzące do cyklu, oraz oświadczenia współautorów. Praca jest zilustrowana 59 rysunkami i zawiera 20 tabeli. Praca doktorska została napisana w języku angielskim, bardzo starannie i przejrzysto, jej części ułożone są logicznie, a dołączone ilustracje wspierają zrozumienie treści.

Część literaturowa pracy doktorskiej (rozdział *Introduction*) przedstawia krytyczną analizę literatury w trzech kierunkach: powłoki biomimetyczne na bazie polimerów katecholowych, materiały hybrydowe do zastosowań elektrochemicznych oraz nieenzymatyczne i enzymatyczne czujniki elektrochemiczne. W tej części zostały dokładnie scharakteryzowane właściwości fizykochemiczne i strukturalne polidopaminy oraz polimerowego kwasu kawowego, przedstawiono cele i zalety ich wytwarzania. Zostały także omówione materiały hybrydowe do zastosowań elektrochemicznych, w tym metody ich klasyfikacji, właściwości, obszary zastosowań, oraz korzyści użycia materiałów hybrydowych w projektowaniu i produkcji czujników. Przedstawiony w rozdziale 3.2 przegląd literatury na temat nanomateriałów węglowych oraz materiałów hybrydowych na bazie metali wskazują sposoby ich klasyfikacji, funkcjonalizacji, a także ich cechy, w tym zalety i wady, potencjał znanych czujników elektrochemicznych i biosensorów do detekcji określonych substancji (analitów). W niniejszej dysertacji doktorskiej przedstawiono także dogłębną zasadę działania czujnika elektrochemicznego, przedstawiając przykłady materiałów stosowanych jako warstwy receptorowe, istotne cechy (niezależność od ograniczeń fizycznych (tj. temperatury lub pH), selektywność, czułość, granica wykrywalności (LOD), granica oznaczalności (LOQ), zakres liniowości (związany z dokładnością), stabilność (w czasie), czas reakcji i powtarzalność). Ponadto, podano porównywalną analizę czujników biologicznych i chemicznych, omawiając metody i ich główne założenia pomiarowe.

W rozdziale 4 (*Motivations, aim and scope of the work*) zostały sformułowane trzy hipotezy badawcze i określono metodologie badań. Zostały one sformułowane w sposób jasny i logiczny, wpływający z dokładnego przeglądu literatury naukowej. Przedstawiona w pracy doktorskiej analiza teoretyczna **wykazuje zapoznanie Pani mgr inż. Marii Kuznowicz z tematyką badawczą i dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej Doktorantki w dyscyplinie nauk chemicznych.**

Kolejne części omawianej pracy to skrócone opisy najważniejszych wyników z sześciu opublikowanych artykułów stanowiących rozprawę dokorską. Pani mgr inż. Maria Kuznowicz posiada bardzo dobry dorobek publikacyjny – sześć publikacji w indeksowanych czasopismach z IF 4,20-7,31 (IF_{średni} stanowi 5,24). W tych publikacjach opracowano pięć sensorów enzymatycznych i nieenzymatycznych na glukozę i jeden czujnik nieenzymatyczny na dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH). Trzy z tych hybrydowych czujników oparte na nanocząstkach magnetytu, trzy na wielościennych nanorurkach węglowych powlekanych przez polidopaminę lub polimerowy kwas kawowy. W tych układach jako receptory zastosowano oksydazę glukozową lub elektrochemicznie aktywne nanocząstki CuO i Ni(OH)₂.

Istotną zaletą prezentowanych badań jest ich kompleksowe podejście - oprócz standardowej charakterystyki fizykochemicznej, amperometrii i voltamperometrii cyklicznej, opracowane czujniki zostali zbadane też w roztworach rzeczywistych, takich jak standardy glukozy, płyny infuzyjne, produkty farmaceutyczne dla diabetyków o wysokiej zawartości glukozy, krew ludzka oraz surowica ludzka. Te badania pozwoliły określić skuteczność detekcji glukozy przez opracowane czujniki w warunkach roboczych oraz ich potencjał aplikacyjny. Kolejną zaletą przedstawionych badań jest porównywanie otrzymanych wyników z podobnymi układami opracowanymi przez inne grupy badawcze. W pracy doktorskiej przedstawione są tabele porównawcze, które zawierają takie parametry jak: (i) zakres liniowości, (ii) czułość, (iii) aktywność, (iv) czas przechowywania, wraz z odnośnikami literaturowymi. To zestawienie pozwoliło porównać i odnieść rezultaty otrzymane przez Doktorantkę do innych znanych układów sensorowych przedstawionych w literaturze. Opracowane czujniki oparte na materiałach hybrydowych przewyższają istniejące odpowiedniki wieloma parametrami (np., zastosowany potencjał, granica wykrywalności, zakres liniowości, stabilność podczas przechowywania), co świadczy o ich konkurencyjności oraz potencjale rynkowym. Przedstawione

warianty czujników stanowią dobrą podstawę do uruchomienia startupu i wprowadzenia tych rozwiązań do produkcji.

Do najważniejszych osiągnięć pracy doktorskiej Pani mgr inż. Maria Kuznowicz zaliczam:

- opracowanie technologii materiałów hybrydowych z elektroaktywnymi właściwościami do modyfikacji powierzchni elektrodowych w czujnikach do wykrywania glukozy oraz NADH. Przedstawione materiały hybrydowe są **oryginalnym połączeniem znanych związków**, takich jak nanorurki węglowe, nanocząstki magnezytu, tlenki miedzi, wodorotlenek niklu, z biopolimerami inspirowanymi naturą (polidopamina, poli(kwas kawowy)) i enzymem;
- zaproponowane materiały hybrydowe do modyfikacji powierzchni elektrodowych w czujnikach stanowią **skuteczną alternatywę do znanych analogów**. W szczególności, te układy wykazują szerszy zakres liniowy, niższą dolną granicę wykrywalności, dłuższy okres stabilności czasowej, są skuteczne przy obniżonym potencjale elektrokatalitycznym, mają niższe koszty jednostkowe systemu w porównaniu do wcześniejszych systemów sensorowych;
- zastosowanie kompleksowego podejścia do opracowania technologii elektroaktywnych materiałów hybrydowych, z **analizowaniem opracowanych układów w warunkach zbliżonych do rzeczywistych**. Szczególnie, oprócz standardowego kompleksu badań fizykochemicznych, te materiały były testowane w roztworach rzeczywistych (standardy glukozy, płyny infuzyjne, produkty farmaceutyczne dla diabetyków o wysokiej zawartości glukozy, krew ludzka, surowica ludzka). Wyniki tych badań pozwalają stwierdzić, że opracowane elektroaktywne materiały hybrydowe nadają się do testowania na rzeczywistych roztworach w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

Przedstawione w rozdziałach 4-6 motywacje, cele pracy, dobór metod badawczych, opis wyników badań i ich krytyczna analiza, oraz umiejętność interpretacji wyników na tle literatury przedmiotu **wskazuje na bardzo dobry poziom naukowy oraz na wysoki potencjał zastosowania tych wyników badań w sferze gospodarczej**.

Pani mgr inż. Maria Kuznowicz w rozdziale 7 (*Future outlook*) wskazuje perspektywy dalszego rozwoju badań w zakresie materiałów hybrydowych do zastosowań sensorowych. Doktorantka proponuje interesujące podejście do konstrukcji układów z możliwością bezpośredniego transportu elektronów (biosensory trzeciej generacji), poprzez zaprojektowanie i otrzymanie docelowych białek enzymatycznych z grup oksydoreduktaz i dehydrogenaz (np. dla analiz etanolu i glukozy). Ponadto podkreśla wykorzystanie techniki elektropolimeryzacji i polimeryzacji chemicznej poli(kwasu kawowego) lub innych związków na bazie katecholi, stosując inne podłoża węglowe (np., grafen, tlenek grafenu). Autorka wskazuje na ciekawą perspektywę tworzenia hybryd organiczno-nieorganicznych z przyłączeniem różnych materiałów biologicznych (aptamerów, kwasów nukleinowych) i detekcję określonych biomarkerów. Zaproponowane przez Doktorantkę perspektywy świadczą o Jej dojrzałości naukowej oraz głębokim zapoznaniu z tematyką badawczą z dziedziny sensorowej.

Wkład własny Pani mgr inż. Maria Kuznowicz w przygotowanie wchodzących w pracę doktorską publikacji polegał, zgodnie z oświadczeniami autorskimi, w opracowaniu metodologii, analizie formalnej wyników, prowadzeniu badań, pisanie manuskryptów świadczy o tym, że Autorka jest dobrym eksperymentatorem i potrafi zinterpretować otrzymane wyniki w sposób właściwy. W szóstej publikacji z cyklu pod tytułem "*Nature-Inspired Biomolecular Corona Based on Poly(caffeic acid) as a Low Potential and Time-Stable Glucose Biosensor*", która została opublikowana w czasopiśmie *Molecules* (IF: 4,6, MEN 140), wkład własny Pani mgr inż. Maria Kuznowicz, oprócz wyżej

wymienionego, polegał również na konceptualizacji przedstawionych badań naukowych, co świadczy o istotnym wzroście poziomu naukowego i potencjale Autorki. Podsumowując, wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorską **wykazują umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Pani mgr inż. Maria Kuznowicz.**

Ponadto mam kilka uwag i komentarzy do dyskusji, które mogłyby się przydać przy kontynuacji badań Autorki w kierunku materiałów hybrydowych podwyższając poziom naukowy publikowanych prac. Te uwagi nie zmniejszają mojej wysokiej oceny pracy doktorskiej Pani mgr inż. Maria Kuznowicz:

1. Zestawienie najważniejszych parametrów detekcji (materiał modyfikujący, rodzaj elektrody, potencjał, mediator) oraz najważniejsze cechy proponowanych czujników (zakres liniowości, czułość, LOD, stabilność czasowa) podano w tabeli 20. Dobrze byłoby jednak usłyszeć opinie Autorki, który z zaproponowanych czujników ma największy potencjał pod względem konkurencyjności rynkowej?
2. W publikacjach 1 i 2 cyklu, materiały hybrydowe są oparte na nanocząstkach magnetytu. Dla charakterystyki nanocząstek magnetytu zastosowano takie techniki badawcze jak spektroskopia w podczerwieni z transformatą fourierowską (FTIR), transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), mikroskopia sił atomowych (AFM), dynamiczne rozpraszanie światła (DLS). Te techniki pozwoliły udowodnić wiązania Fe-O, oraz ocenić rozmiar cząstek, jednak nie są wystarczające, żeby potwierdzić obecność fazy magnetytu. Rozumiem, że tego typu badania nie były głównym celem, jednak przy kontynuacji tych badań warto wykorzystać technikę dyfrakcji rentgenowska (XRD), która jest istotną metodą w analizie fazowej.
3. Przy kontynuacji prac z materiałami hybrydowymi bardzo pomocną byłaby też technika mapowania elementarnego przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego połączonego z spektroskopią rentgenowską z dyspersją energii (SEM-EDS). Zastosowanie mapowania elementarnego pozwoliłoby dokładnie zlokalizować nanocząstki z zawartością niklu, żelaza, miedzi w wytworzonych materiałach hybrydowych.
4. W przedstawionych publikacjach bardzo dokładnie zostały opisane reakcji utleniania i redukcji (redoks), zachodzące w analizowanym roztworach (glukoza, NADH) przy powierzchni modyfikowanej szklistej elektrody węglowej (GC). Natomiast procesy zachodzące w materiale hybrydowym, np. procesy przenoszenia ładunków lub tworzenie wiązań chemicznych pomiędzy poszczególnymi komponentami warstw materiału hybrydowego nie zostały dokładnie przedstawione.
5. Dużo uwagi w przedstawionych pracach było poświęcone stabilności czasowej modyfikowanych elektrod. Ich stabilność czasowa była znacznie wyższa niż znanych analogów, co jest bardzo obiecującym wynikiem. Czy zdaniem Autorki ta stabilność jest związana ze stabilnością warstwy modyfikującej elektrody, jej odpornością w roztworach analizowanych substancji oraz adhezji (siły łącząca materiały hybrydowe i powierzchnie elektroda na ich styku)? Do analizy właściwości elektrochemicznych modyfikowanych elektrod można byłoby dołączyć analizę morfologii ich powierzchni (np., SEM) pod wpływem czynników roboczych, oraz zwracając uwagę na adhezję na styku warstw materiału hybrydowego i szklistej elektrody węglowej.

6. W publikacjach 4 i 5 wykazano, że nanocząstki tlenku miedzi oraz wodorotlenku niklu mają tendencję do przyłączania się do uszkodzonych struktur nanorurek węglowych, a nie do dobrze uporządkowanych miejsc. W związku z tym, czy Autorka uważa, że obiecującym byłoby celowe zwiększenie defektów strukturalnych nanorurek węglowych przed syntezą materiałów hybrydowych, np., z użyciem trawienia kwasowego?

Podsumowując, praca doktorska Pani mgr inż. Marii Kuznowicz wykazuje znajomość Autorki w wybranej tematyce badawczej, a także dowodzi Jej ogólnej wiedzy teoretycznej w dyscyplinie nauk chemicznych, wykazując umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, wprowadzając nowość naukową.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marii Kuznowicz spełnia wymagania formalne wynikające z Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 poz. 742 tekst jednolity). **Wnioskuje o przyjęcie niniejszej pracy oraz dopuszczenie jej do publicznej obrony.**

Ponadto, biorąc pod uwagę oryginalne osiągnięcia naukowo-badawcze, oraz użyteczny charakter pracy wnioskuje o wyróżnienie opiniowanej rozprawy doktorskiej.

Prof. UAM, dr hab. Olena Ivashchenko