



UNIwersytet JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Kraków, 1 lipca 2022 r.

Dr hab. Jolanta Kochana, prof. UJ
Zakład Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Jagielloński
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
email: jolanta.kochana@uj.edu.pl

Recenzja

pracy doktorskiej mgr **Pauliny Borgul**

z tytułu

**„Oznaczanie substancji psychoaktywnych na zminiaturyzowanych granicach fazowych
typu ciecz-ciecz”**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska powstała w Zakładzie Elektroanalizy i Elektrochemii w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr hab. Łukasza Pótoraka. Promotorem pomocniczym pracy był dr Konrad Rudnicki.

Praca doktorska dotyczy elektrochemicznych badań nad wybranymi substancjami psychoaktywnymi, które mogą być składnikami narkotyków ulicznych. Prace prowadzono pod kątem możliwości opracowania nowych czujników elektrochemicznych dedykowanych do oznaczania tych substancji, bazujących na zjawiskach zachodzących na granicy dwóch niemieszających się cieczy, ze szczególnym uwzględnieniem miniaturyzacji układów pomiarowych.

Współcześnie, realne zagrożenia dla środowiska i zdrowia oraz oczekiwania społeczne sprawiają, że intensywnie poszukiwane są czułe, selektywne i dokładne metody pozwalające na oznaczanie coraz większej liczby związków, przy czym coraz istotniejszy jest krótki czas analizy. Elektrochemiczne metody analizy spełniają współczesne wymagania stawiane nowym metodom, z tego też powodu należą do szybko rozwijających się gałęzi chemii analitycznej. Pokreślić tu należy

takie cechy analizy z wykorzystaniem czujników elektrochemicznych jak brak konieczności skomplikowanego przygotowania próbki, krótki czas wykonania analizy, wysoką selektywność, niskie granice oznaczalności, łatwość wykonania pomiaru oraz możliwość miniaturyzacji i automatyzacji.

Podczas realizacji pracy Doktorantka wykorzystywała stosunkowo mało popularną technikę elektrochemiczną - voltamperometrię przeniesienia jonu (*ITV – Ion Transfer Voltammetry*), badając zjawiska zachodzące na granicy dwóch nie mieszących się cieczy (*ITIES – Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions*). Technikę ITV charakteryzuje szereg zalet wyróżniających ją spośród innych technik elektroanalitycznych, umożliwia ona m.in. oznaczanie substancji nie ulegających reakcjom redoksowym na klasycznych elektrodach stałych, posiada również szerokie możliwości miniaturyzacji. Warto zauważyć, że badania zjawisk zachodzących na granicy niemieszących się cieczy pozwalają na wyznaczenie szeregu parametrów fizykochemicznych, umożliwiając kompleksowe poznanie badanych zjawisk i związków. Biorąc pod uwagę powyższe, tematyka recenzowanej pracy wpisuje się w bardzo aktualny nurt współczesnej elektrochemii analitycznej, chemii sądowej i kryminalistycznej, uwzględniając zarówno wybór badanych związków, jak i stosowane techniki badawcze.

Recenzowana praca, rozpoczynająca się od przydatnego spisu stosowanych skrótów, składa się z trzech głównych części: autoreferatu, opisu sylwetki naukowej Autorki oraz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami współautorów. Autoreferat, napisany na 47 stronach, został podzielony na kilka rozdziałów. Otwiera go wstęp umiejętnie wprowadzający czytelnika w ogólne zagadnienia związane z tematyką pracy oraz trafnie zdefiniowany cel pracy. W kolejnej części pracy Autorka zarysowała zagadnienia związane z tematyką badawczą pracy, w szczególności z elektrochemią granic fazowych typu ciecz-ciecz oraz miniaturyzacją układów badających te zjawiska. Następnie zostały opisane badane związki oraz stosowana aparatura pomiarowa. Kolejno, przedstawiono najważniejsze wyniki przeprowadzonych w ramach realizacji pracy doktorskiej badań. Autoreferat zamyka podsumowanie, zarysowanie perspektyw tego typu badań oraz spis cytowanej literatury, obejmujący 86 pozycji.

Podstawą rozprawy doktorskiej jest 5 oryginalnych prac naukowych obejmujących spójną tematykę czujników elektrochemicznych, których działanie opiera się na zjawiskach zachodzących na granicy dwóch niemieszących się cieczy. Cztery spośród publikacji dotyczą badań nad substancjami psychoaktywnymi, pod kątem możliwości opracowania czujników elektrochemicznych, w tym zminiaturyzowanych, do oznaczania tych związków. Trzy prace zostały już opublikowane w uznanych czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym, znajdujących się w bazie czasopism JCR, w szczególności dwie w *Electrochimica Acta* (IF 6,901) oraz jedna w *Sensors and Actuators B* (IF 7,460). Dwie kolejne publikacje, w momencie pisania niniejszej recenzji (1 lipca br.) są na etapie recenzji w czasopiśmie, do których zostały wysłane (nie podano nazw czasopism).

W pierwszej publikacji opisano badania dotyczące możliwości wykorzystania porowatych membran z włókna szklanego, niemodyfikowanych oraz modyfikowanych trzema różnymi polielektrolitami, nałożonymi metodą warstwa po warstwie (z ang. layer by layer, LBL), jako nośnika cieczowych granic fazowych. Badane membrany zobrazowano techniką mikroskopii optycznej, skaningowej mikroskopii elektronowej, mikroskopii sił atomowych oraz spektroskopii w podczerwieni. Eksperymenty przeprowadzone z wykorzystaniem modelowych czwartorzędowych kationów amoniowych techniką ITV potwierdziły możliwość prostego i szybkiego tworzenia cieczowych granic fazowych, charakteryzujących się właściwościami przesiewowymi zdeterminowanymi wielkością badanego jonu.

Biorąc pod uwagę główny cel pracy – skonstruowanie sensorów elektrochemicznych przeznaczonych do oznaczania substancji psychoaktywnych – w początkowym etapie badań zbadano elektrochemiczną aktywność potencjalnych interferentów, uwzględniając grupę związków często spotykanych w roli rozcieńczalników i domieszek narkotyków ulicznych. W tym celu przebadano 27 substancji, wyznaczając szereg paramentów fizykochemicznych, elektroanalitycznych i farmakochemicznych. Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na wskazanie 8 związków, które mogą wpływać na sygnał rejestrowany techniką ITV na granicy niemieszających się cieczy (ITIES).

Do skonstruowania układu pomiarowego w skali mikro, umożliwiającego oznaczenie efedryny, naturalnego alkaloidu, będącego zarówno niedozwoloną substancją dopingującą, jak i prekursorem w produkcji amfetaminy i metamfetaminy, Doktorantka wykorzystwała samoprzylepną taśmę poliimidową, w której utworzono otwory za pomocą sondy wyposażonej w zestaw mikroigieł. W celu otrzymania platformy zbudowanej z mikroporów - spolaryzowanych granic fazowych - o jak najlepszych parametrach fizykochemicznych, zoptymalizowano liczbę mikroigieł oraz głębokość nakłucia taśmy. Opracowaną mikroplatformę wykorzystano do oznaczania efedryny, wyznaczając wartości podstawowych paramentów walidacyjnych. Sprawdzono ponadto, iż opracowaną procedurę można z powodzeniem wykorzystać do wyznaczania zawartości efedryny obok kofeiny; oba te związki występują często razem w suplementach diety.

Inne podejście wytworzenia spolaryzowanych granic fazowych zaproponowano do oznaczania norkokainy, najbardziej toksycznego metabolitu kokainy. W konstrukcji czujnika wykorzystano cienką, porowatą folię aluminiową, termicznie utlenianą uprzednio w celu wytworzenia izolującej warstwy tlenku glinu o zwiększonej hydrofilowości. Do scharakteryzowania porowatego filmu wykorzystano woltamperometrię przeniesienia jonu, skaningową mikroskopię elektronową, mikroskopię sił atomowych i profilometrię optyczną, wykonano również pomiary kąta zwilżania. Dla opracowanej metody wyznaczono podstawowe parametry analityczne, a działanie sensora zweryfikowano oznaczając norkokainę w sztucznym moczu o różnej zawartości kreatyniny, oraz w próbce naturalnego moczu, wzbogacając go uprzednio analitem.

Kolejne rozwiązanie bazujące na zjawiskach elektrochemicznych zachodzących na spolaryzowanych granicach fazowych typu ciecz-ciecz w skali mikro, umożliwiło oznaczanie heroiny w kropli roztworu. Wykorzystano do tego specjalny układ, wydrukowany w technologii druku 3D, połączony z nośnikiem fazy organicznej, która była umieszczona w kapilarze krzemionkowej zatopionej w końcówce mikropipety. W ramach badań sprawdzono możliwość oznaczania heroiny, obecnej samodzielnie w roztworze próbki, oraz w obecności dwóch najczęściej spotykanych domieszek narkotyków ulicznych: paracetamolu i kofeiny.

W przypadku rozprawy doktorskiej opartej na cyklu prac, opublikowanych (lub będących w procesie publikacyjnym) w recenzowanych czasopismach, rola recenzenta jest w zasadzie ograniczona. Wydane manuskrypty zostały już zaopiniowane i przeanalizowane przez wybitnych specjalistów z danej dziedziny, a ewentualne niedociągnięcia wskazane Autorom i przez nich skorygowane. Oryginalność rozwiązania problemu naukowego, w kontekście ukazania się prac w recenzowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, nie może budzić wątpliwości. Nieopublikowane manuskrypty również przedstawią oryginalne badania oraz autorskie rozwiązania aparaturowe. Recenzentowi pozostaje więc stwierdzenie, jaki był udział Autorki w badaniach, ponieważ wszystkie prace zgłoszone do rozprawy są wieloautorskie. Oświadczenia współautorów wyraźnie wskazują na dominujący wkład Doktorantki w realizację badań. Ponadto, we wszystkich publikacjach mgr P. Borgul jest pierwszym autorem. Należy podkreślić, iż średnia wartość współczynnika oddziaływania trzech opublikowanych manuskryptów wynosi 7,09, co jest wartością ponadprzeciętną, jeżeli chodzi o dorobek publikacyjny doktorantów na tym etapie rozwoju naukowego.

Praca jest napisana przejrzysto, poszczególne rozdziały logicznie wprowadzają czytelnika w prezentowaną tematykę. Treść została zobrazowana starannymi rysunkami i tabelami. Podsumowanie trafnie uwypukla wszystkie najważniejsze wyniki badań. Z merytorycznego punktu widzenia oceniam pracę bardzo wysoko. Doktorantka opracowała nowe procedury analityczne do oznaczania substancji psychoaktywnych, zaprojektowała i wykonała nowatorskie mikroplatformy. Ich przygotowanie jest proste, tanie i szybkie, ponadto nie wymaga żadnych zaawansowanych przyrządów ani narzędzi, co jest niezmiernie ważne w kontekście potencjalnego wprowadzania procedury analitycznej do rutynowej praktyki laboratoryjnej. Możliwość prowadzenia analizy w skali mikro- niesie ze sobą szereg korzyści, poza oczywistymi, takimi jak mniejsze zużycie odczynników, wpływa również na polepszenie parametrów analitycznych: obniżenie granicy wykrywalności oraz polepszenie czułości oznaczeń. Skonstruowane mikroplatformy stanowią doskonały punkt wyjścia do dalszych badań nad innowacyjnymi mikroukładami przeznaczonymi do oznaczania szerokiej grupy analitów.

Podczas czytania rozprawy nasunęło mi się kilka uwag i pytań, o charakterze dyskusyjnym. Chciałabym poprosić Autorkę o ustosunkowanie się podczas obrony pracy do poniższych kwestii.

1. We wstępie pracy, na str. 12, Autorka opisuje elementy układów przeznaczonych do pomiarów woltamperometrycznych. Odnoszę wrażenie, iż podane informacje odnoszą się nie tylko do technik woltamperometrycznych, ale i potencjometrycznych. W pomiarach potencjometrycznych stosuje się ogniwa pomiarowe, składające się z elektrody wskaźnikowej i elektrody odniesienia. Natomiast pomiary woltamperometryczne realizuje się najczęściej w układach pomiarowych trójelektrodowych, najważniejsza w takim układzie jest elektroda pracująca (robocza). Wśród wymienionych w ostatnim akapicie elektrod znalazły się zarówno elektrody wskaźnikowe (np. elektroda szklana), jak i pracujące (np. stałe elektrody o podłożu z metali szlachetnych lub węgla szklanego).
2. W moim odczuciu, w części pracy zatytułowanej „Elektrochemiczne badania wybranych związków na granicy faz niemieszających się elektrolitów” (strony 30-36) zabrakło choćby krótkiej interpretacji podanych w tabelkach wyznaczonych wartości parametrów analitycznych.
3. Odnoszę wrażenie, iż Autorka używa słowa „detekcja” w dwóch znaczeniach: wykrywania analitu oraz oznaczania analitu. Proszę o wyjaśnienie, czy opracowane (mikro)platformy ITIES umożliwiają selektywne wykrywanie substancji, jak to napisano w ostatnim zdaniu podsumowania (strona 37), czy też raczej są przeznaczone do analizy ilościowej, na co wskazuje wyznaczenie szeregu parametrów analitycznych, charakteryzujących opracowane czujniki.
4. Przeanalizowanie wartości sumarycznych IF w tabelkach podsumowujących dorobek publikacyjny Autorki (strony 54 i 55), wskazują na to, iż Autorka uwzględniała w nich publikacje, które zostały dopiero wysłane do czasopism. Proszę o wyjaśnienie tej kwestii.
5. Kilka drobniejszych uwag:
 - w spisie treści zabrakło kilku fragmentów/części tekstu: brak „Celu pracy” oraz fragmentu zatytułowanego „Elektrochemia granic fazowych typu ciecz-ciecz”;
 - określenie „cutting agent” powinno zostać przetłumaczone; w polskiej nomenklaturze od wielu lat stosowane są określenia: rozcieńczalniki narkotyków i substancje domieszkujące narkotyki;
 - Autorka nie uniknęła niepoprawnych sformułowań, np. „walidacja uzyskanych wyników” (str. 15) lub „miniaturyzacja utworzona na folii poliimidowej” (str. 20).

Powyższe uwagi i komentarze nie wpływają na bardzo pozytywny odbiór pracy.

W pracy widać bardzo dobrą znajomość tematyki badawczej oraz duże zaangażowanie Doktorantki w prowadzone badania. Duże zróżnicowanie stosowanych technik pomiarowych - do charakterystyki otrzymywanych cieczowych granic fazowych z wykorzystaniem skonstruowanych platform, poza voltamperometrią przeniesienia jonu (ITV), stosowano również mikroskopię optyczną (OM), skaningową mikroskopię elektronową (SEM), mikroskopię sił atomowych (AFM) oraz spektroskopię IR - co pozwala wnioskować o szerokiej wiedzy Doktorantki z zakresu technik badawczych i świadczy o jej dobrym przygotowaniu do dalszej pracy badawczej. Dorobek naukowy mgr Pauliny Borgul, jak na młodego naukowca, należy uznać za wyróżniający. Jest ona współautorem 5 publikacji o sumarycznym IF wynoszącym 41.07, dwóch manuskryptów będących w procesie recenzji w czasopiśmie z listy filadelfijskiej oraz jednego rozdziału w książce. Ponadto jest ona wykonawcą w projekcie NCN oraz kierownikiem projektu badawczego realizowanego w ramach Doktoranckich Grantów Badawczych na Uniwersytecie Łódzkim. W swoim dorobku Doktorantka posiada również zgłoszenie patentowe, którego jest współautorem. Mgr P. Borgul wielokrotnie uczestniczyła w konferencjach krajowych i zagranicznych, podczas których wygłosiła 15 wystąpień ustnych (głównie na spotkaniach krajowych) oraz zaprezentowała wyniki badań w formie około 40 posterów.

Podsumowując, z pełnym przekonaniem stwierdzam, iż przedstawiona praca doktorska całkowicie spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w ustawie o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz stopniach i tytułach w zakresie sztuki (z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Pauliny Borgul do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

