



Gliwice, 25.06.2016

Dr hab. inż. Jerzy K. Żak, prof. Pol.Śl.  
Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów  
Wydział Chemiczny  
Politechnika Śląska Gliwice

## Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Świetlikowskiej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Świetlikowskiej p.t. „Redukowany tlenek grafenu jako podłoże dla enzymów” została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego na kierunku Chemia w Pracowni Elektrochemii pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Pałys, prof. UW.

Tematyka pracy obejmuje dwa nowe ważne obszary we współczesnych badaniach, którymi są wykorzystanie grafenu i użycie wyizolowanych enzymów. Obszary te łączy w pracy perspektywa innej, aktualnie intensywnie rozwijanej dziedziny jaką są biosensory, w przypadku prezentowanej pracy oparte o elektrochemiczną zasadę działania. Autorka stawia sobie za główny cel zbadanie właściwości elektrokatalitycznych zredukowanego tlenku grafenu oraz możliwości jego zastosowania jako podłoża dla enzymów reakcji redoksowych. Wskazane powyżej podstawy i założenia rozprawy doktorskiej pozwalają określić jej tematykę jako aktualną, nowatorską i atrakcyjną zwłaszcza w perspektywie aplikacyjnej.

Licząca 175 stron praca przedstawiona jest w klasycznym układzie zawierającym rozdział wstępu i celu pracy wraz z jej streszczeniem, część literaturową liczącą łącznie 53 strony, część doświadczalną wraz z podsumowaniem i wnioskami liczące 99 stron oraz bibliografię zawierającą



odnośniki do 289 pozycji literaturowych. W tym miejscu mogę także podkreślić dobry język prezentacji i staranną edycję całości pracy.

Cel pracy został jasno przedstawiony, chociaż szereg określeń użytych przy charakteryzowaniu grafenu dotyczy dziedzin i właściwości prezentowanych powszechnie, a nie mających związku z zakreślonym obszarem badań (elektronika, mechanika). Co istotne, wskazane zostały jednak istotne aspekty o charakterze chemicznym tego materiału i postawiona została hipoteza o synergii połączeń grafenu z enzymami redoksowymi w procesie przeniesienia elektronów między powierzchnią elektrody a centrum aktywnym struktury białkowej.

Część literaturowa obejmuje przegląd informacji źródłowych dotyczących problematyki grafenu, tlenku grafitu, tlenku grafenu, porównania grafenu z nanorurkami węglowymi, ogólnej charakterystyki enzymów i szczególnej problematyki stosowanych w pracy enzymów lakazy i peroksydazy chrzanowej, a kończy tę część rozdział poświęcony problematyce biosensorów, w tym także wykorzystujących grafen i te enzymy, które wybrano do badań w ramach niniejszej rozprawy. Ogólnie, tematyka przeglądu literaturowego jest trafnie wybrana, uwzględnia istotne dostępne informacje składające się na stan wiedzy w założonych obszarach badań, sięga też do prac fundamentalnych w omawianych dziedzinach.

Pewne określenia użyte w tekście przeglądu wymagają zwrócenia na nie uwagi, zwłaszcza ze względu na ich ogólnikowy charakter. Przykładowo :

- str. 16 i 17: „grafen... stanowi wymarzony materiał dla elektroniki. Grafen może znaleźć zastosowanie w budowie telefonów komórkowych.” Także „grafenowy procesor polowy”, „piezoelektryczny grafen” czy „nanocząstki grafenu” są określeniami nieprecyzyjnymi i przez to błędnymi. W sformułowaniu „grafen wykazuje silne właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze co otwiera możliwości zastosowań biomedycznych” kryje się realne niebezpieczeństwo uszkodzenia zdrowych tkanek, gdyż jak stwierdzono grafen działa w tym przypadku jako fotouczulacz generujący reaktywne formy tlenowe.



- bardzo istotny rozdział omawiający chemiczną redukcję tlenku grafenu do grafenu (str. 22) zawiera klasyfikację metod, która wydaje się mało rzeczową i dyskusyjną, jako że wyróżnia metody o znanym i dobrze opisanym mechanizmie redukcji od tych, których mechanizm redukcji jest proponowany jako możliwy. Taki podział jest mało istotny, bo można się zgodzić ze stwierdzeniem, że nawet uznane opisy podlegają ewolucji w miarę ich weryfikowania, co w przypadku nowych obiektów badawczych (jak grafen) jest naturalne.

- w rozdziale omawiającym porównanie grafenu z nanorurkami węglowymi Autorka przytacza prace które praktycznie wskazują na podobieństwo tych struktur, chociaż niektóre przytoczone doniesienia (źródło internetowe) o właściwościach superkondensatorów na bazie grafenu i SWCNT wydają się mniej wiarygodne.

Cały przegląd literatury dotyczący problematyki enzymów jest dobrze opracowany zawiera istotne informacje wprowadzające w tematykę badań doświadczalnych, a w kategorii drobnych uwag wymienić można słabą czytelność kopiowanego schematu reakcji – Schemat 6 oraz używanie (w kilku miejscach) strzałek dwustronnych stosowanych powszechnie w przypadku przemian mezomerycznych zamiast powszechnie akceptowanych strzałek dla reakcji równowagowych. Również rozdział opisujący problematykę biosensorów jest opracowany rzeczowo i zawiera istotne informacje dające pogląd zarówno na kierunki badań w dziedzinie stanowiącej podstawową perspektywę badawczą rozprawy jak i uzasadniające podjęcie badań wykorzystujących obydwie wybrane enzymy.

W części doświadczalnej Autorka przedstawia w konwencjonalnym układzie metodykę badań, wyniki i dyskusję oraz podsumowanie i wnioski. W metodyce badań uwzględnione zostały także mechanizmy reakcji katalitycznych tworzenia wiązań peptydowych. Stosunkowo obszerne są opisy podstaw poszczególnych metod stosowanych w badaniach. Dotyczy to zwłaszcza głównych metod elektrochemicznych (CV, LSV, DPV, CA), metod spektroskopowych (IR, mikroskopowa FTIR) oraz metod mikroskopii elektronowej (TEM, SEM wraz z



EDS). Opis stosowanej aparatury i procedur pomiarowych uwzględnia większość niezbędnych informacji, chociaż zarówno w tej części jak i przy omawianiu poszczególnych pomiarów zabrakło danych dotyczących pomiarów UV-Vis jak i procedur przygotowania próbek do TEM. Omawiając voltamperometrię cykliczną Autorka stwierdza, że „Ważne jest, aby właściwie... dobrać szybkość przemiatań. Przy zbyt szybkim przemiatańiu część procesów może się nie odbyć.” Takie stwierdzenia są nieprecyzyjne i nie obejmują możliwych przypadków, np. gdy stosuje się szybkie skanowanie, aby wykrywać produkty pośrednie w reakcjach następczych. Charakteryzując odwracalny proces redoksy Autorka stwierdza, że do cech takiego procesu zalicza się warunek „ a) prąd piku katodowego jest równy prądowi piku katodowego” . Należy zauważyć, że taka równość prądów piku zachodzi w reakcjach odwracalnych wtedy, gdy współczynniki dyfuzji form utlenionej i zredukowanej są sobie równe, co nie zawsze jest faktem. Inna uwaga dotyczy prezentowanych w dalszej części pracy wyników uzyskiwanych w metodach CV i LSV. Brak jest w tekście uzasadnienia stosowania obu tych rodzajów pomiarów, a wyniki uzyskiwane metodą LSV zawierają pewne różnice nie uwzględnione w ich opisie (bliższe określenie zawarte jest poniżej).

Kluczowym w pracy jest tlenek grafenu, którego otrzymywanie zostało szczegółowo opisane. W scharakteryzowaniu tego produktu (i zarazem substratu) Autorka stosuje głównie mikroskopię ze spektroskopią FTIR, metody elektrochemiczne, ale także podaje widmo UV-Vis. Dane dotyczące tego ostatniego pomiaru są niekompletne, a widmo zawiesiny może mieć charakter jedynie jakościowy, co oznacza, że wartości absorpcji próbki trudno uznać za wiarygodne przy ocenie zawartości tlenu, jak to sugerują cytowane publikacje wskazane przez Autorkę. Warto byłoby w tym celu zastosować metodę XPS, która w wysokiej rozdzielczości pozwala bardziej wiarygodnie określić proporcje węgiel tlen, a zwłaszcza zidentyfikować rodzaje połączeń tlen- węgiel i proporcje między nimi. Obrazy mikroskopowe SEM dla próbek GO są rzeczywiście pomocne i dobrze opisane, chociaż większość przedstawionych w pracy obrazów TEM nie wnosi użytecznych informacji, zwłaszcza że obrazy TEM mają podobną, a nie większą rozdzielczość; są one także rzadko komentowane. Ponadto brak w przypadku



obrazów TEM danych o przygotowaniu próbki, które zazwyczaj jest dość istotną częścią procedury.

Podobnie kluczowym w pracy jest proces redukcji GO. Autorka wykazuje tu w odpowiednich pomiarach wyższość redukcji elektrochemicznej nad chemiczną, a tę pierwszą prowadzi w trybie CV i LSV. Wiąże się z tym szereg uwag. Opis zarejestrowanych krzywych CV przedstawionych na rys. 21A stwierdza, że nie obserwuje się piku reakcji odwrotnej, co wskazuje na proces nieodwracalny. Tak jest istotnie, ale w zastosowanym obszarze potencjałów (-0.4 do -1.2 V) trudno oczekiwać jakiegoś procesu utleniania w tym układzie (dotyczy to także grup tlenowych wspomnianych jako produkty redukcji). Porównując wyniki CV i LSV Autorka stwierdza, że proces w warunkach LSV zachodzi wolniej, na co rzeczywiście wskazywałyby zróżnicowane wielkości potencjałów piku redukcji w obu przypadkach. Jednakże warto zwrócić uwagę na fakt, że kolejne skany LSV rozpoczynają bieg przy bardzo zróżnicowanych prądach początkowych, co wskazuje na niestabilność warunków początkowych elektrody. Potwierdzają to także dalsze wyniki LSV i CV, Rys. 22 vs. Rys.23 oraz Rys.44 vs. Rys.45.

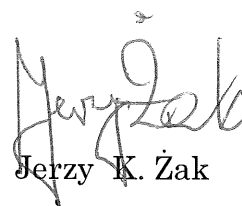
Badania redukcji tlenu w obecności lakazy zaadsorbowanej na różnych elektrodach lub w fazie roztworu pozwoliły wykazać jak ważnym jest podłoże dla unieruchamianego enzymu. W opisie wielkości rejestrowanych prądów Autorka często stosuje do porównań (przy braku wyraźnego piku prądowego) wartość potencjału redukcji jako potencjał, przy którym obserwuje się początek wzrostu prądu redukcji, co jest jednakże wielkością trudną do porównywania, przykładowo wartość -0.63 V odczytana z Rys. 46. W przypadku krzywych CV dla lakazy zaadsorbowanej (Rys. 30) i w fazie roztworu przyjęta skala potencjałów jest znacząco różna dla tej samej reakcji redukcji tlenu; na rys. 20 oznaczenia a i b dla przebiegów CV są mylnie podane. Komentarz do Rys. 35 ilustrującego redukcję grup tlenowych zarejestrowaną metodą DPV mówi „o parze redoks przy 0.25 V...”. Rzeczywista wartość potencjału piku na rys. 35 wyraźnie odbiega od podanej wartości (z odczytu jest ok. 0.05 V), ponadto trudno ten proces określać jako wykazujący istnienie pary redoksowej.



W dalszej części pracy Autorka rzetelnie opisuje wpływ warunków eksperymentalnych na stabilność układu elektroda grafenowa - enzym . Bada także wpływ określonego środowiska na stabilność utworzonych warstw aktywnych elektrody. Rozpatruje tu liczne układy uwzględniające zróżnicowany stopień redukcji GO, obecności linkera-aktywatora EDC i NHS, wpływ środowiska amoniakalnego prowadzącego do wytworzenia powierzchniowej hydroksylaminy, bada uzyskane elektrody enzymatyczne w reakcji redukcji nadtlenu wodoru, przedstawia przebiegi chronoamperometryczne elektrody-sensora w roztworze  $H_2O_2$  o zmieniającym się stężeniu. Podobne badania przeprowadzone zostały dla drugiego enzymu HRP. Istotnymi, oprócz wyników pomiarów elektrochemicznych, są prezentowane obszernie dane spektroskopowe FTIR potwierdzające wpływ przeprowadzanych pomiarów i eksperymentów na stabilność wytworzonych powierzchniowych struktur grafenowo-enzymatycznych.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska zarówno w części literaturowej jak i doświadczalnej stanowi interesujące i łączące kilka dziedzin przedsięwzięcie badawcze wykazujące znamiona nowości naukowej. Autorka rozprawy wykazała umiejętność posługiwania się licznymi narzędziami badawczymi w rozwiązywaniu złożonej problematyki hybrydowych elektrod wykorzystujących wyizolowane substancje enzymatyczne.

Biorąc pod uwagę powyższą moją ocenę uważam, że recenzowana rozprawa całkowicie spełnia ustawowe i zwyczajowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Świetlikowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym do publicznej dyskusji nad rozprawą.



Jerzy K. Zak



UNIwersytet  
Warszawski



23 czerwca 2016 roku

### RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ PANI MGR AGNIESZKI ŚWIETLIKOWSKIEJ

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Agnieszki Świetlikowskiej zatytułowana „Redukowany tlenek grafenu jako podłoże dla enzymów” została wykonana pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Pałys, prof. UW na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

Tematyka rozprawy obejmuje opis przygotowania i badanie właściwości fizykochemiczne tlenku grafenu i zredukowanego tlenku grafenu funkcjonalizowanego grupami azotowymi z możliwością potencjalnego zastosowania, jako nośnika dla enzymów do konstrukcji biosensorów oraz dyskusja ich przydatności do oznaczania (monitorowania) istotnych substancji, takich jak tlen czy nadtlenek wodoru, z punktu widzenia wcześniej diagnostyki nowotworowej. Pomiarzy zostały wykonane zarówno za pomocą konwencjonalnych metod elektrochemicznych jak i metod spektroskopowych i mikroskopowych. Przedmiotem zainteresowań Autorki jest synteza tlenku grafenu wykorzystująca zmodyfikowaną metodologię zaproponowaną przez Hummera-Ofdfemana, jak również opracowanie efektywnej metody redukcji tlenku grafenu do struktur grafenowych zawierających tlenowe grupy funkcyjne czy wprowadzenie na powierzchnię warstw grafenowych dodatkowych azotowych grup funkcyjnych (dobór optymalnych warunków), oraz koncepcji wytworzenia na drodze warstwa na warstwę (layer-by-layer) biosensora opartego na zaproponowanych nośnikach na bazie tlenku grafenu lub zredukowanego tlenku grafenu z azotowymi grupami funkcyjnymi do unieruchomienia enzymów (lakazy lub peroksydazy chrzanowej). Mając na względzie takie parametry jak czułość, selektywność i



UNIwersytet  
Warszawski



wykrywalność, Autorka zwróciła także uwagę na konieczność przygotowania warstw o odpowiednich grubościach, porowatości i stabilności. Podjęta w pracy problematyka jest z pewnością zgodna ze współczesnymi trendami w chemii materiałów, biomateriałów, elektrochemii analitycznej i bioelektrochemii, a w szczególności w badaniach elektroanalitycznych zmierzających do konstrukcji biosensorów wykorzystujących układy biologicznie aktywne zdolne do selektywnego oraz czułego oznaczania danego analitu. Należy podkreślić, że w ostatnich latach zainteresowanie materiałami grafenowymi lub grafenopodobnymi i ich wykorzystanie do konstrukcji sensorów i biosensorów do oznaczania i monitorowania reagentów o znaczeniu biologicznym i klinicznym jest znaczne. Za cenne uważam też podjęcie próby przygotowania efektywnego biosensora opartego na tlenku grafenu i zredukowanego tlenku grafenu funkcjonalizowanego azotem z unieruchomionymi enzymami (laktazą lub peroksydazą chrzanową) do oznaczania odpowiednio tlenu, nadtlenu wodoru. Uzyskane wyniki są również bardzo ważne dla rozwoju metod bioanalitycznych.

Praca doktorska Pani Agnieszki Świetlikowskiej składa się z następujących rozdziałów: Wstępu i celu pracy, Streszczeniem w języku polskim i angielskim; Części literaturowej obejmującej między innymi otrzymanie, właściwości, charakterystykę fizykochemiczną i zastosowanie grafenu i tlenku grafenu, porównanie struktur grafenowych z nanorurkami węglowymi, opis ogólnie właściwości fizykochemicznych enzymów, wpływ różnych czynników (pH, temperaturę czy aktywatorów i inhibitorów) na ich aktywność, opisuje również kinetykę reakcji enzymatycznych. Ponadto, na przykładzie enzymu laktaza wprowadza czytelnika w zagadnienie transportu ładunku w enzymach, w ostatniej części tego rozdziału Autorka opisuje problematykę biosensorów. W części doświadczalnej Autorka opisuje aparaturę pomiarową, odczynniki stosowane podczas realizacji badań oraz takie zagadnienia jak procedury pomiarowe. W kolejnym rozdziale, Wyniki i dyskusja, Autorka przedstawia rezultaty pomiarów preparatywnych i diagnostycznych z wykorzystaniem biosensorów na bazie tlenku grafenu i zredukowanego elektrochemicznie tlenku grafenu funkcjonalizowanego grupami azotowymi i wybranymi enzymami czułymi względem tlenu i





UNIwersytet  
Warszawski



nadtlenku wodoru. W końcowej części pracy znajduje się rozdział Podsumowanie i wnioski oraz Bibliografią. Praca obejmuje 175 strony, w tym 73 rysunki, 1 schemat i 3 tabele oraz 289 odnośników literaturowych.

Po krótkim wprowadzeniu, Pani Świetlikowska poprawnie definiuje obiekt i cele pracy oraz opisuje znaczenie naukowe i praktyczne podjętego tematu. Następnie Autorka dość starannie i przejrzyście wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące syntezy, właściwości oraz możliwości wykorzystania grafenu i tlenku grafenu, chemicznej i elektrochemicznej redukcji tlenku grafenu, w szczególności w kontekście zastosowania, jako nośnika dla układów biologicznie czynnych. W odczuciu recenzenta, ta dość istotna część pracy uwzględnia najważniejsze zagadnienia i najnowsze osiągnięcia w wyżej wymienionych dziedzinach. Dalej Pani Agnieszka Świetlikowska dokonuje opisu warunków eksperymentalnych (stosowanej aparatury i odczynników czy procedur pomiarowych), a potem przechodzi do przedstawienia uzyskanych przez siebie wyników oraz do ich dyskusji. Tutaj można rozróżnić kilka nurtów tematycznych obejmujących syntezę tlenku grafenu opartej na utlenianiu grafitu poprzez zastosowanie zmodyfikowanej metodzie zaproponowanej przez Hummera-Offemana, metodologię efektywnego elektrochemicznego redukowania tlenku grafenu z tlenowymi grupami funkcyjnymi, funkcjonalizowania powierzchni tlenku grafenu grupami azotowymi, metodologię przygotowania warstw i ich charakterystykę fizykochemiczną, w tym spektroskopową, mikroskopową i elektrochemiczną oraz zastosowanie zaproponowanych warstw na bazie tlenku grafenu lub zredukowanego tlenku grafenu wraz z unieruchomionymi wybranymi enzymami, jako potencjalne biosensory do oznaczania i monitorowania tlenu lub nadtlenku wodoru.

Przedmiotem zainteresowań Autorki jest przygotowanie i szczegółowa charakterystyka warstw tlenku grafenu i zredukowanego tlenku grafenu uzyskanego metodą elektrochemiczną z azotowymi grupami funkcyjnymi oraz ich wykorzystaniem, jako elementów składowych do konstrukcji biosensorów do oznaczania wybranych substancji o istotnym znaczeniu klinicznym takich jak tlenu i nadtlenku wodoru. W swojej pracy Pani



UNIwersytet  
Warszawski



Świetlikowska zwraca również uwagę na zalety elektroredukcji tlenku grafenu wobec redukcji chemicznej, co pozwala na kontrolę stopnia zredukowania tlenku grafenu, a w konsekwencji na optymalizację biosensora. W ramach dyskusji wyników Pani mgr Świetlikowska wskazuje użyteczność biosensorów opartych na zredukowanym tlenku grafenu z azotowymi grupami funkcyjnymi, jako nośnika do trwałego unieruchamiania wybranych enzymów (lakazy oraz peroksydazy chrzanowej) do oznaczania tlenu i nadtlenu wodoru. W odczuciu recenzenta, niektóre zaproponowane przez Panią mgr Świetlikowską podejścia badawcze mają charakter bardziej ogólny i wydaje się, że w przyszłości będą mogły być z powodzeniem wykorzystane do projektowania zarówno innego rodzaju biosensorów jak i czułych na inne istotne substancje z punktu widzenia analityki medycznej (np. cukry) opartych na bazie zredukowanego tlenku grafenu funkcjonalizowanego grupami azotowymi. W części końcowej pracy, Autorka zamieszcza ponad 289 odnośników literaturowych, które - w odczuciu recenzenta - poprawnie cytują w tekście rozprawy.

Przechodząc do merytorycznej oceny pracy, należy stwierdzić, że istotnym osiągnięciem pracy jest opracowanie oraz krytyczna ocena przydatności tlenku grafenu oraz zredukowanego tlenku grafenu funkcjonalizowanego grupami azotowymi do konstrukcji biosensorów czułych na tlen i nadtlenek wodoru, substancjami istotnymi z punktu widzenia diagnostyki nowotworowej. Należy podkreślić, że Pani Agnieszka Świetlikowska wykonała systematyczne badania zmierzające do optymalizacji działania materiałów elektrodowych w zaproponowanych biosensorach. Dość ciekawą i oryginalną koncepcją badań było zastosowanie zredukowanego w różnym stopniu tlenku grafenu stosując w tym celu metody elektrochemiczne, co pozwoliło na określenie wpływu stopnia redukcji materiału grafenowego na parametry pracy zaproponowanych biosensorów. Obok prac preparatywnych Autorka dokonała charakterystyki fizykochemicznej warstw stosując między innymi różne techniki pomiarowe, takie jak woltamperometria cykliczna, woltamperometria z liniowym przemiataciem potencjału (LSV), mikroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), czy skaningowa i transmisyjna mikroskopia elektronowa (SEM i TEM). Uzyskane



UNIWERSYTET  
WARSZAWSKI



przez Autorkę wyniki pozwalają wyciągnąć ważne wnioski odnośnie przydatności zaproponowanych biosensorów na bazie struktur grafenowych. Praca doktorska Pani Agnieszki Świetlikowskiej prezentuje znaczną ilość wyników poprzednio nieznanymi w literaturze naukowej. Ponadto Autorka dokonuje krytycznej oceny uzyskanych przez siebie wyników na tle dostępnej literatury naukowej. Uważam, że praca jest opracowana starannie, a wyniki są opisane zwięzłym i precyzyjnym językiem. Stronę edytorską pracy oceniam również wysoko, chociaż Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów zarówno edytorskich jak i językowych. Obecność powtórzeń pewnych informacji można uzasadnić tym, że ułatwiają one zrozumienie tekstu pracy. Recenzent nie ma wątpliwości, że pomiary zostały przeprowadzone sumiennie, a uzyskane wyniki są przekonujące. Podobne stwierdzenie odnosi się do wniosków.

Podjęte przez Panią mgr Świetlikowską badania z pogranicza chemii materiałów czy biomateriałów, elektrochemii analitycznej, fizykochemii powierzchni zmierzające do rozwinięcia metodologii wytwarzania biosensorów na bazie materiałów grafenowych i grafenopodobnych oraz lepszego zrozumienia ich działania są bardzo ważne zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i też ze względu na konieczność poszukiwania nowych i tanich narzędzi w szeroko pojętej diagnostyce medycznej.

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

- (1) W pracy pojawiają się nieliczne błędy w oznaczeniach rysunków (przykładowo na stronie 144-145 w tekście rys. 61 krzywa CV a rys. 61 widmo FTIR).
- (2) Jak był określany stopień zredukowania tlenu grafenu? Czy tylko na podstawie liczby wykonanych cykli w voltamperometrii cyklicznej? W trakcie obrony pracy oczekiwałbym szerszej dyskusji tego zagadnienia.



UNIwersYTET  
WARSAWski



- (3) Istotnym parametrem biosensorów jest ich trwałość (stabilność) w czasie, czy były prowadzone w tym kierunku badania zaproponowanych biosensorów?
- (4) Podczas przygotowania warstw tlenku grafenu z jednoczesnym osadzaniem i elektroredukcją utworzonej warstwy tlenku grafenu czy roztwór zawiesiny był mieszany czy nie w trakcie tego procesu? Jak długo zawiesina była jednorodna i jak długo była stabilna?
- (5) Czy w przypadku procesu redukcji tlenu w układzie zredukowany tlenek grafenu funkcjonalizowany grupami azotowymi i lakazą był określany wpływ samego układu grafenowego (bez enzymu) na proces redukcji tlenu w badanym zakresie potencjałów, ponieważ w literaturze jest wiele przykładów wskazujące, że grafen funkcjonalizowany różnymi atomami (np. S, N) wykazuje właściwości katalityczne wobec redukcji tlenu.

Pomimo moich powyższych uwag, które mogą mieć w niektórych przypadkach charakter dyskusyjny, chciałbym wyrazić moje uznanie dla wkładu pracy doktorantki, podkreślić wysokie znaczenie naukowe uzyskanych wyników i ocenić recenzowaną przeze mnie pracę doktorską pozytywnie. Jednocześnie stwierdzam, że praca Pani mgr Agnieszki Świetlikowskiej w pełni spełnia kryteria ustawowe stawiane rozprawom doktorskim w zakresie nauk chemicznych. Wnoszę o dopuszczenie doktorantki do publicznej dyskusji nad rozprawą.

Krzysztof Miecznikowski