



Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk

Prof. dr hab. Marcin Opałło

ul. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa

Tel. +(48 22) 3433375, 3433109

E-mail: mopallo@ichf.edu.pl

17 czerwca 2020

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Jakubów-Piotrowskiej z Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Jakubów-Piotrowskiej "Zastosowanie funkcjonalizowanych nanomateriałów jako nośników dla oksydoreduktaz w układach bioelektrokatalitycznych" dotyczy konstrukcji i przygotowania elektrod modyfikowanych nanomateriałami i enzymami oraz prowadzonych na nich procesów bioelektrokatalitycznych. Moim zdaniem tytuł należało doprecyzować, ponieważ Doktorantka używała wyłącznie nanomateriałów węglowych. Natomiast do modyfikacji elektrod wykorzystywała także funkcjonalizowane fulereny, które nie są nanomateriałami tylko cząsteczkami. Promotorem rozprawy jest dr. hab. Krzysztof Miecznikowski, specjalista od procesów elektrokatalitycznych biegnących na katalizatorach nieorganicznych. Natomiast promotorem pomocniczym rozprawy jest dr Barbara Kowalewska, w której obszarze zainteresowań znajdują się procesy bioelektrokatalityczne i konstrukcja przeznaczonych dla nich podłoży elektrodowych.

Układ rozprawy jest standardowy. Autorka w krótkim wstępie opisuje wpływ nanotechnologii na rozwój cywilizacji i wielu dziedzin życia codziennego. Wskazuje na istotną rolę nanomateriałów węglowych w nowo tworzonych urządzeniach, a szczególnie w warstwach bioelektrokatalitycznych przeznaczonych do utleniania glukozy, etanolu czy mleczanów oraz ich zastosowaniu. Podkreśla rolę licznych czynników wpływających na transport elektronu w takich układach i zwraca tu uwagę na wykorzystanie polimerów zawierających osmowe centra koordynacyjne jako materiałów katody i anody. Następnie Doktorantka zwięźle opisuje badania jakie wykonała by napisać recenzowaną rozprawę, a dopiero dalej podaje cel rozprawy.

W części literaturowej mgr Katarzyna Jakubów-Piotrowska opisuje procesy przeniesienia elektronu w układach enzymatycznych, same enzymy ze szczególnym uwzględnieniem cząsteczek wykorzystanych w swoich badaniach, nanostruktury węglowe i ich wykorzystanie do modyfikacji elektrod, na których później osadzono enzymy oraz stosowane techniki pomiarowe. Dobór zagadnień w tej części rozprawy uważam za właściwy.

Autorka rozpoczyna od zwięzłego opisu molekularnej teorii Marcusa. Opis jest w miarę poprawny. Tylko zwracam uwagę, że opis osi y wykresu na rysunku 1 (zaczepniętego z literatury) jest nieprecyzyjny, powinna tam być energia swobodna. Reguła, że efektywna odległość tunelowania nie powinna przekraczać 15 angstromów pochodzi nie z cytowanej w rozprawie pracy przeglądowej Armstronga tylko z cytowanej tam pracy Page'a i innych *Nature* **1999**, *407*, 47–52. Gdyby Doktorantka tam zajrzała zauważyłaby, że jest to reguła empiryczna, a nie wywiedziona z teorii Marcusa, i dotyczy przeniesienia elektronu pomiędzy centrami redoks enzymu a nie pomiędzy centrum aktywnym enzymu i elektrodą.

W rozdziale dotyczącym enzymów i katalizowanych przez nie reakcji Autorka koncentruje się na opisie kofaktorów, z którymi miała do czynienia w swoich badaniach, mechanizmie reakcji enzymatycznych, właściwościach enzymów wybranych do swoich badań oraz opisie kinetyki reakcji enzymatycznej. Są to zagadnienia ściśle związane z rozprawą. Nie do końca przekonują mnie argumenty Doktorantki za wykorzystaniem akurat równania Lineweavera–Burke'a do oszacowania parametrów kinetycznych reakcji. Przecież nie powinny one zależeć od metody?

W rozdziale dotyczącym nanostruktur węglowych Autorka opisuje nanomateriały wykorzystywane w swoich badaniach oraz fulereny i ich modyfikację. Opis ten jest poprawny.

W rozdziale dotyczącym technik pomiarowych, a konkretnie opisując chronoamperometrię (str. 76) Autorka słusznie napisała, że równanie Cottrella jest spełnione w przypadku dyfuzji substancji elektroaktywnej do powierzchni płaskiej. Jednak zapomniała wspomnieć, że jest to dyfuzja ze ściśle określonej przestrzeni. Ponadto równanie to opisuje prąd a nie zmiany prądu jak twierdzi Autorka, a w samym równaniu 45 brakuje symbolu pola powierzchni elektrody w liczniku. Opis pozostałych technik pomiarowych wydaje się być poprawny. Godne pochwały jest wskazanie do badania jakich obiektów i zjawisk Doktorantka wykorzystwała te techniki.

Kolejną częścią rozprawy jest „Część Eksperymentalna”, w której doktorantka przedstawia przede wszystkim uzyskane przez siebie wyniki i dyskusję, które zostały poprzedzone opisem odczynników i materiałów wykorzystanych w badaniach. Przyznam, że nie rozumiem dlaczego ten rozdział nie nosi po prostu tytułu „Wyniki i dyskusja”.

Pierwszy z rozdziałów przedstawiających uzyskane wyniki dotyczy elektrody modyfikowanej elektrochemicznie zredukowanym tlenkiem grafenu, nanorurkami węglowymi i oksydazą glukozy. Rzeczywiście intrygujące jest pojawienie się na voltamogramach (rys. 35) pików redukcji przy potencjale ok. $-0,8$ V w obecności nanorurek, które takiego sygnału nie wykazują. Na podstawie zależności potencjałów pików od szybkości polaryzacji Autorka wyznacza stałą szybkości przeniesienia elektronu. Ciekaw jestem jaki jest udział nieskompensowanego oporu w obserwowanym efekcie. Odpowiedź na to pytanie mogłyby dać eksperymenty w roztworach zawierających odwracalny układ redoks. Jest to już pewien standard w badaniu nowych materiałów elektrodowych. Autorka m.in. podjęła próbę wyjaśnienia czy kofaktor FAD oksydazy glukozy zaadsorbowanej na badanym materiale znajduje się głęboko w strukturze enzymu czy na zewnątrz. Nie zauważyłem w tekście konkluzji tej dyskusji. Doktorantka przedstawia argumenty zarówno za i przeciw m.in. sprzeczność otrzymanych wyników z literaturowymi. Oczekiwałbym podsumowania tej dyskusji na obronie rozprawy.

Następnie Doktorantka osadzała oksydazę mleczanową na elektrodzie modyfikowanej elektrochemicznie zredukowanym tlenkiem grafenu, nanorurkami węglowymi. Tu wyniki i wnioski są bardzo podobne.

Kolejny rozdział poświęcony jest elektrodom modyfikowanym funkcjonalizowanym grafenem gdzie również zaobserwowano sygnały voltametryczne związane aktywnością redoks kofaktorów. Szkoda, że nie przeprowadzono eksperymentów z grafenem nie funkcjonalizowanym, ale rozumiem, że powiększyło by to i tak już szeroki zakres badań.

Następny rozdział dotyczy elektrod modyfikowanych funkcjonalizowanymi fulerenami C_{60} lub C_{70} i enzymami. W tym jednak przypadku wyniki przeprowadzonych eksperymentów kontrolnych pozwalają m.in. na ocenę wpływu ich funkcjonalizacji.

W kolejnym rozdziale Doktorantka powróciła to elektrod modyfikowanych funkcjonalizowanym grafenem, które następnie zmodyfikowała nierozpuszczalnym w

wodzie mediatorem: tetratiofulwenem. Nie rozumiem dlaczego Doktorantka analizuje odwracalność procesu elektrodowego tak jakby tetratiofulwen był rozpuszczony w elektrolicie, a dwa zdania dalej pisze o wyznaczaniu jego stężenia powierzchniowego? Woltamogramy przedstawione na rys. 113 wskazują, że po dalszej modyfikacji tej elektrody oksydazą glukozy na pewno zachodzi bioelektrokatalityczne utlenianie glukozy z udziałem mediatora.

W ostatnim rozdziale autorka powraca do warstw fulerenowych, tym razem modyfikowanych dehydrogenazą glukozową i demonstruje przydatność modyfikowanych nimi elektrod of utleniania glukozy w obecności dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego. Tu nie ma wątpliwości co do obserwowanego procesu bioelektrokatalitycznego

Rozprawę kończy podsumowanie i wnioski, który powinien być jednym z najważniejszych rozdziałów rozprawy. Jest on napisany dość przejrzysto i kończy się listą najważniejszych osiągnięć pracy

Rozprawa stanowi wyzwanie dla recenzenta ze względu na pokaźną objętość, ponad 200 stron. Jednak czyta się ją w miarę dobrze co ułatwia staranna, czytelna i dobrze opisana grafika. Praktycznie trudno w niej znaleźć wyrażenia żargonowe czy takie niezręczności jak „Ich zastosowanie wpływa pozytywnie na proces przeniesienia elektronu...” (str.217). Edycja pracy jest dość staranna. Ponadto Autorka zadbała, aby recenzent wiedział, które wyniki zostały uzyskane przez nią, a które przez inne osoby.

Warto podkreślić niemały dorobek publikacyjny Doktorantki w postaci sześciu publikacji, z których niektóre są bardzo odległe tematycznie od recenzowanej rozprawy. Ich pobieżny przegląd wskazuje, że prawie cały materiał zawarty w rozprawie nie przeszedł jeszcze przez sito recenzentów czasopism naukowych.

Recenzowana rozprawa jest poprawioną wersją rozprawy przedstawionej mi do recenzji w 2019 roku. Autorka włożyła ogromny wysiłek w jej poprawienie. Dotyczy to zarówno pracy nad tekstem i wnioskami, ale także wykonanych dodatkowych eksperymentów kontrolnych, które pozwoliły na przedstawienie tym razem uzasadnionych wniosków. Bardzo dziękuję też Doktorantce za przygotowanie osobnego ponad 50 stronicowego dokumentu zawierającego odpowiedzi na moją poprzednią recenzję. Co nie znaczy, że do samej rozprawy nie zajrzałem.

Podsumowując, przedstawiona rozprawa jest bardzo obszerna, zawiera wiele interesujących wyników i elementy nowości naukowej. Uważam, że rozprawa doktorska "Zastosowanie funkcjonalizowanych nanomateriałów jako nośników dla oksydoreduktaz w układach bioelektrokatalitycznych" w swojej obecnej postaci powinna zostać dopuszczona do dalszych etapów procedury doktorskiej.