

**Prof. dr hab. Anna Lisowska-Oleksiak**

**Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej**

**Katedra Chemii i Technologii**

**Materiałów Funkcjonalnych**

**ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk**

E-mail: [alo@pg.gda.pl](mailto:alo@pg.gda.pl)

Tel. 48 58 347 25 44

48 58 348 64 34



**POLITECHNIKA  
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY

---

6 grudnia 2015

### **Recenzja**

rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Jabłońskiej pt.: „Supramolekularne żele i nanostruktury polimerowe jako podłoże dla enzymów”

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska powstała w Pracowni Elektrochemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Pałys, profesor Uniwersytetu Warszawskiego. Zespół Pani Profesor Barbary Pałys specjalizuje się w fizykochemii polimerów elektroaktywnych oraz elektrochemii biomateriałów.

Rozprawa dotyczy poszukiwania elektrochemicznych czujników, przeznaczonych do ilościowej analizy próbek zawierających związki o znaczeniu biologicznym. Użycie metod i narzędzi elektrochemicznych w analityce wpisuje się doskonale w kierunki rozwoju technologii cyfrowych. Sygnał elektryczny, jako łatwo przetwarzalny, upraszcza w znacznym stopniu akwizycję danych. Ponadto, czujniki elektrochemiczne pozwalają na miniaturyzację, czego dowodem niech będzie dynamiczny rozwój przedsiębiorstw z tej branży w krajach europejskich i na świecie. W ostatnich dwu dekadach obserwujemy intensywny wzrost zainteresowania badaniami supramolekularnych czujników, wykorzystujących działanie enzymów lub substancji syntetycznych o działaniu podobnym do związków bioaktywnych. Tematyka podjęta przez Doktorantkę wpisuje się w ten intensywnie rozwijający nurt prac badawczych i aplikacyjnych. Doktorantka podjęła się rozwiązania kwestii konstrukcji elektrody modyfikowanej, wykorzystującej nanorurki i hydrożele polimerów elektroaktywnych do wiązania enzymów przy zachowaniu ich aktywności katalitycznej.

Główny cel pracy to wytworzenie i scharakteryzowanie biosensorów z enzymami ureazą i peroksydazą chrzanową (HRP), unieruchomionych w nanostrukturach polimerowych. Wybrane nanostruktury polimerowe to nanorurki polianiliny (PANI) i hydrożele PANI z poli(2-styrenosulfonionowym) (PSS) przeciw-jonem oraz hydrożele poli(3,4-etylenodioksytiofenu) z PSS dla peroksydazy chrzanowej.

Praca obejmuje *i)* badania sposobu wytwarzania hydrożeli i nanorurek, *ii)* badania sposobu unieruchomienia wybranych enzymów na podłożu elektrody modyfikowanej hydrożelem oraz *iii)* badanie mechanizmu reakcji elektrodowej z udziałem unieruchomionych struktur białkowych.

Dysertacja zawarta jest na 130 stronach numerowanych (od 5 do 135) i dwóch pierwszych stronach nienumerowanych. Układ pracy jest tradycyjny. Rozprawa ma siedem głównych rozdziałów oraz numerowany załącznik z informacją o dorobku publikacyjnym Autorki. Część literaturowa następująca po krótko opisanych celach pracy, poprzedza rozdział o nazwie „Metodyka badań” oraz rozdział zatytułowany „Wyniki i dyskusja”. Części zatytułowane „Wnioski” oraz „Streszczenie w języku angielskim” stanowią rozdziały 5. i 6. Należy podkreślić, że Autorka zachowała dobrą wagę pomiędzy głównymi częściami spójnej rozprawy. Streszczenie bardzo dobrze zgadza się z treścią dysertacji. Bibliografia obejmuje właściwie wybrane 284 pozycje literaturowe. W ogólnej ocenie praca pod względem edytorskim jest satysfakcjonująca. Nieliczne błędy edytorskie nie wpływają na zrozumiałość treści.

### **Ocena części literaturowej pracy**

Część literaturowa wprowadza w opis poświęcony polimerom przewodzącym. Jako grupę pierwszą scharakteryzowano polimerowe przewodniki jonowe ograniczając temat do polielektrolitów. Autorka nie omawia innych przedstawicieli tej grupy takich jak joneny, jonomery, czy elektrolity polimerowe stałe, gdyż nie stosuje ich w swoich badaniach.

Więcej uwagi poświęcono polimerom elektroaktywnym. Polimery te zostały przedstawione jako przewodniki elektronowe na przykładzie polianiliny i poli(3,4-etylenodioksytiofenu). Autorka przytacza znane z literatury opisy przemian redokсовых PANI i PEDOT-u. Najistotniejsze cechy obu różniących się polimerów elektroaktywnych zostały opisane w stopniu wystarczającym. Autorka przywołuje m. in. prace Łapkowskiego i Pronia, w których autorzy wykazali możliwość tworzenia formy chinoidowej polimeru PEDOT. Znajdujemy też poprawną formę polaronu tiofenowego, potwierdzoną dla polimeru PEDOT w systematycznych pomiarach EPR (Łapkowski M. et. al. *Electrochim. Acta* 53 (2008) 4580).

Opisując nanorurki polimerowe Autorka przywołuje szereg publikacji dotyczących polianilinowych nanostruktur, których wytwarzanie jest domeną ośrodka macierzystego Doktorantki. W dalszej części opisano hydrożele polimerowe analizując metody otrzymywania, ich odporność na działanie środowiska i wynikające z właściwości możliwe aplikacje. Zebrana literatura obejmuje bardzo szeroki przedział czasowy, począwszy od lat 50 XX wieku. Wynika to z faktu iż, wykorzystanie polimerów elektroaktywnych, a ostatnio hydrożeli i nanostruktur do unieruchomienia enzymów znane jest z wielu wcześniejszych prac. Wybór matrycy hydrożelu do immobilizacji enzymu jest podyktowany łatwością penetracji porowatej struktury dzięki dużej zawartości rozpuszczalnika. Obecność wody powinna wspomagać funkcje analityczne czujnika. Ta cecha hydrożeli polimerowych została podkreślona w dysertacji.

Zwięźle i poglądowo, opracowany jest rozdział poświęcony enzymom (nr 2.4). Autorka przywołuje obowiązujący podział enzymów zgodnie z nomenklaturą Międzynarodowej Unii Biochemii i Biologii Molekularnej oraz analizuje sposoby unieruchomienia enzymów na podłożach przewodzących. Dalej znajdujemy opis mechanizmów przeniesienia ładunku w biosensorach. Oddzielne podrozdziały poświęcone są dwóm enzymom, które stanowią obiekt badawczy doktoratu. Są to ureaza (EC 3.5.1.5) oraz peroksydaza chrzanowa HRP (EC 1.11.1.7). Przywołane zostały przyjęte w literaturze mechanizmy przeniesienia ładunku w reakcjach elektrokatalitycznych z udziałem enzymu HRP i ureazy, zilustrowane poglądowymi schematami. Przedstawione mechanizmy są w dysertacji wykorzystane w interpretacji wyników eksperymentalnych oznaczania nadtlenu wodoru za pomocą biosensora z enzymem HRP oraz mocznika za pomocą biosensora z ureazą.

Doktorantka zastosowała szereg metod badawczych, które opisała w sposób zadowalający. Przedstawiono metody polaryzacyjne: woltamperometrię i chronoamperometrię. Opisano zwięźle metody spektroskopowe ATR FTIR oraz rezonansową spektroskopię Ramana, które posłużyły do badań struktury. Dalej zaprezentowano skaningową mikroskopię elektronową (SEM), która została wybrana do badań morfologii nanostruktur polimerowych. Spectrum metod i technik może nie jest zbyt rozbudowane, lecz całkowicie wystarczające, aby zrealizować zamierzony cel badawczy.

### **Ocena części eksperymentalnej**

Wyniki badań i ich dyskusję zebrano w rozdziale 4., na który składa się 59 stron zawierających 40 rysunków i 4 tabele. W części eksperymentalnej Autorka przedstawiła

wyniki badań dotyczące hydrożeli supramolekularnych PANI-PSS i PEDOT-PSS oraz nanorurek polianiliny z unieruchomionymi enzymami ureazą i peroksydazą chrzanową. Hydrożele wytworzone poprzez syntezę polianiliny w obecności PSSNa wykazały różnice w budowie w zależności od pH środowiska. Autorka wykazała, że istnieje dualizm w sekwencji połączenia fenazyńowego pierścieni. Na podstawie analizy widm w podczerwieni i widm Ramana wykazano, iż struktura hydrożelu PANI-PSS jest bogatsza dla łagodniejszych warunków polimeryzacji. Jest to obserwacja wcześniej w literaturze nieznaną. Oba podłoża, syntezowane przy pH=0 i pH=5, zostały użyte do konstrukcji czujnika z ureazą i peroksydazą chrzanową. Autorka wykazała, że czułość elektrody zależy od struktury układu supramolekularnego, a mianowicie jednoczesna obecność struktur fenazyńowych połączonych według schematu *tail-head-head* oraz *head-to-head* gwarantuje zwiększenie sygnału prądowego czujnika. Hydrożele PANI-PSS okazały się dobrymi podłożami dla ureazy, gwarantując wyższą czułość oznaczenia mocznika w porównaniu z elektrochemicznie naniesioną warstwą PANI z fizycznie adsorbowanym enzymem.

Należy podkreślić, że proponowane przez Doktorantkę unieruchomienie enzymu po syntezie hydrożelu okazało się być dobrym wyborem. Enzym zachował swoją aktywność i skuteczność analityczną układu zyskała na nowym sposobie wytwarzania układu supramolekularnego. Jest to w mojej ocenie jedno z ważniejszych osiągnięć Autorki. Pokazuje, iż podążanie za ogólnie przyjętymi poglądami nie zawsze prowadzi do dobrych rozwiązań. Doktorantka przyjęła odmienną strategię od powszechnie stosowanej okluzji enzymów w trakcie wytwarzania nanostruktur polimerowych, unikając narażania białkowych, bioaktywnych form na nieodwracalne zmiany.

Nanorurki PANI z enzymem HRP okazały się konkurencyjne w stosunku do pozostałych badanych układów. Wyniki dotyczące zastosowania nanostruktur polianiliny zostały opublikowane w renomowanych czasopiśmie naukowych o wysokich współczynnikach IF ( J. Phys. Chem. C. 2015. 119 (2015) 12514. oraz Electrochim Acta 126 2014 90-97).

Hydrożel poli(3,4-etylenodiksytyofenu) z polimerowym przeciwjonem PSS został użyty do konstrukcji sensora z peroksydazą chrzanową. Hydrożel PEDOT-PSS syntezowany przy pH=5 z fizycznie adsorbowanym enzymem HRP jest aktywnym układem do elektrochemicznego oznaczania  $H_2O_2$ . W dysertacji wykazano, że dochodzi do bezpośredniego przeniesienia elektronu, bez konieczności utleniania łańcucha PEDOT. Mechanizm ten jest odmienny od opisanego dla hydrożelu PANI-PSS, gdzie Autorka

zaobserwowała zmiany stopnia domieszkowania polianiliny, przebiegające w trakcie reakcji z udziałem enzymu.

We wszystkich przedstawionych przypadkach Autorka wykazała się dociekliwością i starała się wyciągać wnioski na podstawie krytycznej i wnikliwej analizy wyników pomiarowych.

Nasuwa się kilka uwag i pytań dotyczących pracy. Najważniejsze z nich podaję w treści recenzji poniżej, w celu podjęcia dyskusji z Autorką w trakcie obrony.

- Rozpuszczalność monomeru EDOT w wodzie jest dość ograniczona. Jak należy rozumieć skalę oznaczoną jednostkami mol/dm<sup>-3</sup> podaną na rys. 38, 39?
- Czy użycie hydrożelu PEDOT-PSS do unieruchomienia enzymu HRP według procedury proponowanej przez Doktorantkę daje lepsze wyniki analitycznego oznaczania H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> od wyników prezentowanych w pracy Åsberga i Inganäsa?<sup>1</sup> Jakie czynniki mogą decydować o obserwowanych różnicach, czy też ich braku?
- W badaniach hydrożelu PEDOT-PSS za pomocą spektroskopii Ramana pojawienie się pewnych sygnałów Autorka interpretuje jako obecność formy przewodzącej. (Badania spektroskopowe prowadzono przy długości wiązki promieniowania lasera 632,8 nm a nie 632.8 nm). Jaka inna technika pomiarowa mogłaby posłużyć do potwierdzenia obecności udziału formy przewodzącej w strukturze hydrożelu?
- Co miała Autorka na myśli pisząc „...dla układów po wyżarzeniu” na str. 104. W ocenie recenzenta zły czasownik został użyty dla opisu czynności wygrzewania.
- Właściwości mechaniczne nanorurek PANI zostały określone następująco: „nanorurki są elastyczne i kruche”, str. 103. Proszę o wyjaśnienie, czy oznaczano kruchość i elastyczność i jak cechy te przekładają się na chemizm nanostruktury.
- Synteza hydrożelu PEDOT-PSS w środowisku silnie kwasowym (pH=0), opisana na str. 98, nie uwzględnia chemii czynnika utleniającego i jego trwałości w funkcji pH. Jak zmiana kwasowości mogłaby zmienić warunki utlenienia monomeru EDOT, jeśli uwzględnić rozkład nadsiarczanu w środowisku o niskim pH?

Pomimo moich nielicznych uwag chcę wyrazić uznanie dla wkładu pracy Pani magister Anny Jabłońskiej w badania nad nowymi materiałami elektrodowymi i opracowanie metody wytwarzania supramolekularnych sensorów enzymatycznych oraz zaprezentowanie

---

<sup>1</sup>Przykład pracy dotyczącej użycia hydrożelu PEDOT-PSS – HRP do oznaczania H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peter Åsberg, Olle Inganäs, *Biosensor and Bioelectronics Vol.19, (3), 30 November 2003, 199–207*

mechanizmu reakcji. Należy tu podkreślić, że stopień trudności badania mechanizmu reakcji elektrodowych z udziałem związków białkowych jest wysoki i wymaga znacznej przenikliwości.

Przedstawione wyniki zostały częściowo opublikowane w czasopismach naukowych i zaprezentowane w postaci komunikatów na konferencjach międzynarodowych, spotykając się z dużym zainteresowaniem. Kolejne dwie publikacje zostały wysłane do druku. Należy uznać, że Dorobek naukowy Pani mgr Anny Jabłońskiej jest odpowiedni dla kandydata do stopnia naukowego doktora.

Po zapoznaniu się z przedłożoną do recenzji rozprawą doktorską magister Anny Jabłońskiej nie mam wątpliwości, że młoda badaczka zasługuje na stopień doktora. Z przekonaniem stwierdzam, że praca doktorska Pani Anny Jabłońskiej spełnia kryteria ustawowe stawiane rozprawom doktorskim w zakresie nauk chemicznych. Zatem wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do publicznej dyskusji nad rozprawą.

*Anna Lisowska-Oleksiak*

*Anna Lisowska-Oleksiak*



Wydział Chemii  
Uniwersytetu Warszawskiego  
Prof. dr hab. Renata Bilewicz

---

4-12-2015, Warszawa.

### ***Recenzja rozprawy doktorskiej***

#### ***Magister Anny Jabłońskiej***

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anny Jabłońskiej p.t. „Supramolekularne żele i nanostruktury polimerowe jako podłoże dla enzymów” została wykonana w Pracowni Elektrochemii Zakładu Chemii Fizycznej UW pod kierunkiem dr hab. Barbary Pałys, prof. UW.

Cienkie warstwy z polimerów przewodzących znajdują wiele zastosowań, wśród których znaczące miejsce ma ich wykorzystanie do modyfikacji podłoży przewodzących, używanych jako elektrody w analizie oraz katalizie. Obecnie zwracają uwagę ich zastosowania biomedyczne i biosensorowe, ze względu na możliwość trwałego zakotwiczenia w warstwach polimerowych cząsteczek biologicznych. Dotyczy to także wiązania enzymów, przebiegającego bez utraty ich aktywności katalitycznej. Tematyka pracy jest więc istotna i nowoczesna, a otrzymane warstwy mogą być okazać się użyteczne jako kompozytowe materiały aktywne katalitycznie. Celem pracy doktorskiej Pani Anny Jabłońskiej było otrzymanie i charakterystyka nanorurek i hydrożeli polimerowych, jako podłoża do unieruchamiania ureazy oraz peroksydazy chrzanowej. Praca składa się ze Wstępu, w ramach którego sformułowano cele pracy, 30 stron części literaturowej i 11 stron poświęconych opisowi metod badawczych stosowanych w pracy. Na 56 stronach mgr Jabłońska opisała swoje badania; zakończyła je wnioskami, streszczeniem pracy w języku angielskim, listą publikacji powstałych w czasie doktoratu i bibliografią zawierającą 284 odnośniki.

W części literaturowej, Doktorantka opisała wybrane polimery przewodzące oraz sposoby ich domieszkiwania i mechanizm przewodzenia. Opis jest wyczerpujący –

sięga początków tej dziedziny i kończy się na najnowszych pracach, dotyczących także metod syntezy i właściwości nanorurek polimerowych oraz żeli polimerowych.

Doktorantka klarownie tłumaczy mechanizm przewodzenia polimerów, rolę sieciowania, ma szczególny dar popularyzowania i przedstawiania omawianej tematyki w kontekście historycznym, co jest, moim zdaniem, wartościowym elementem części literaturowej tej pracy i powoduje, że czyta się ją z zainteresowaniem. Podobna uwaga dotyczy ogólnego wstępu na temat definicji, podziału i charakterystyki enzymów.

W opisie metod unieruchamiania enzymów zabrakło metody opartej na wykorzystaniu oddziaływań  $\pi$ -elektronowych, ważnych w przypadku unieruchamiania enzymów modyfikowanych grupą aromatyczną, na różnych materiałach węglowych (prace Lisdata, Cosniera itp.) Brakuje mi też wyjaśnienia czy proces polimeryzacji chemicznej wykonany po zmieszaniu monomeru z enzymem nie wywołuje zmian aktywności enzymu.

W rozdziale na temat mechanizmu przenoszenia ładunków (2.4.3) warto się zastanowić, czy sformułowanie „bezpośredni lub mediowany transport elektronów” i „direct or mediated electron transfer” są równoznaczne – moim zdaniem nie, bo „transfer” to nie „transport”.

Omawiając proces mediowanego przeniesienia elektronu należało podkreślić, że typowe mediatory mogą się uwalniać z przestrzeni przyelektrodowej, zmieniając efektywność procesu katalitycznego, mogą także przy dłuższym kontakcie atakować sam enzym i dlatego szukanie warunków bezmediatorowego przeniesienia elektronu jest tak ważne. Struktura i mechanizm katalizowanych procesów, omówione są dokładniej dla enzymów będących przedmiotem rozprawy – ureazy i peroksydazy chrzanowej.

W części trzeciej, Autorka podaje metodykę swoich badań: procedury przygotowania hydrożeli polimerowych, nanorurek polianilinowych, sposoby umieszczania obu enzymów w warstwach hydrożelu, a także wykorzystywaną w pracy aparaturę. W części poświęconej opisowi stosowanych metod elektrochemicznych warto było omówić nie tylko prosty proces dyfuzyjny, ale także proces i równania elektrokatalizy oraz elektrochemiczne metody badania aktywności enzymatycznej, bo tego dotyczy przecież praca.



W rozdziale 4, Autorka przedstawia syntezę hydrożelu PANI-PSS oraz jego porowatą strukturę i skład, zobrazowane metodą SEM i widm w podczerwieni oraz Ramana. Woltamogramy wykazują przesunięcia piku anodowego pierwszej pary redoks dla polianiliny, co może świadczyć o skracaniu się sprzężonych łańcuchów polimeru w hydrożelu w roztworach o pH 5. W silnie kwaśnym środowisku woltamogram hydrożelu przypomina krzywą uzyskiwaną dla polianiliny. Autorka szczegółowo opisuje właściwości hydrożelu PEDOT-PSS; analizuje charakterystyczne pasma w widmach ATR-FTIR, przypisując je poszczególnym drganiom wiązań obecnych w hydrożelu syntezowanym w roztworach o pH 0 lub 5. Badania elektrochemiczne potwierdzają, że w roztworach wodnych warstwa PEDOT-PSS wykazuje przewodnictwo, a kształt woltamogramu i układ pików utleniania i redukcji przypomina układ opisany w pracy Zhanga i wsp. Spadki omowe w warstwie są jak widać znaczne i sygnały nie są zbyt dobrze wykształcone.

Opis w następnym rozdziale dotyczy wprowadzania do otrzymanego żelu PANI – PSS ureazy. Trudno jednak porównać woltamogram dla samego żelu (Rys. 36b) z otrzymanym po wprowadzeniu enzymu, gdyż nie podano w pierwszym przypadku szybkości zmiany potencjału. Nie wiadomo też jak zmienia się stężenie mocznika w roztworze badanym (Rys 46). Autorka słusznie przypisuje zmiany w położeniu sygnałów zmianom pH, wynikającym z przebiegu reakcji enzymatycznej w warstwie. Znaczący prąd pojemnościowy utrudnia jednak analityczne zastosowanie badanego układu. Być może zastosowanie metody różnicowej pulsowej woltametrii poprawiłoby wykształcenie sygnałów związanych ze wzrastającym stężeniem mocznika w roztworze. Nieliniowość zależności dla przypadku syntezy w pH 5 i kowalencyjnie związanej ureazy wobec liniowej zależności gęstości prądu od stężenia mocznika dla ureazy fizycznie tylko zaadsorbowanej budzi pytanie o przyczynę, ale Doktorantka nie podjęła tego tematu. Ciekawe też, jak zmieniają się te wykresy ze wzrostem ilości enzymu na elektrodzie i czy można tę ilość oszacować. W zastosowaniach analitycznych należy podawać zawsze błąd pomiaru. Zabrakło danych statystycznych zarówno w przypadku analizy mocznika z użyciem ureazy jak i oznaczania  $H_2O_2$  z wykorzystaniem hydrożelu PANI-PSS. Wydaje się, że dodanie, w analizie mocznika, także pomiarów metodą chronoamperometryczną mogłoby dać nośne analitycznie wyniki. Zaproponowany mechanizm procesu z udziałem peroksydazy chrzanowej, odpowiada propozycji

podanej przez Ferapontową. Doktorantce udało się wykazać, że obecność mieszaniny dwóch sekwencji połączeń pierścieni fenazyńowych (głowa do ogona oraz ogon-głowa-głowa) sprzyja zwiększeniu sygnału analitycznego.

Mediowanie polianiliny uzyskano w roztworach o pH lekko zakwaszonym, a więc z udziałem przewodnictwa protonowego, co umożliwiło wybranie wariantu I jako mechanizmu badanego procesu.

Do unieruchamiania peroksydazy chrzanowej wykorzystano oba hydrożele polietylenodioksytiofen- polistyrenosulfonian (PEDOT-PSS) i polianilina – PSS. W części eksperymentalnej opisano, że peroksydazę nie tylko adsorbowano fizycznie, ale także wiązano kowalencyjnie. Z pewnością trudno określić, w jakim stopniu mieszanina do kowalencyjnego wiązania EDC+NHS istotnie odgrywa rolę i wiąże enzym z nanorurkami lub warstwą hydrożelu. W przypadku HRP i hydrożelu PEDOT-PSS trudno oczekiwać tworzenia wiązania peptydowego przy użyciu EDC. Pozostała więc adsorpcja fizyczna. Hydrożel otrzymany w pH=0 nie wykazał odpowiedzi katalitycznej w stosunku do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Charakterystyczny jest także oporowy przebieg woltamogramów, co świadczy o braku właściwości przewodzących polimeru tworzonych w tym środowisku, co w połączeniu ze słabą adsorpcją enzymu decyduje o braku odpowiedzi elektrody w obecności analitu. Tłumaczenie takiego zachowania na podstawie analizy widm IR i Ramana, oraz morfologii próbki wydaje się właściwe. Interesujący natomiast jest wynik badań w przypadku, gdy hydrożel otrzymywano w pH 5. Co ciekawsze, PEDOT nie jest w tym przypadku mediatorem, a jedynie rodzajem drutu kontaktującego elektrycznie enzym z elektrodą, ponieważ procesy elektrodowe polimeru występują przy odmiennym potencjale. Układ ten umożliwił użycie modyfikowanej elektrody do bezmediatorowego oznaczania nadtlenu wodoru. Zabrakło jedynie, tak jak poprzednio, elementów statystycznej analizy wyników koniecznej w zastosowaniach analitycznych (Jaki jest błąd pomiaru?).

Głównym osiągnięciem pracy jest pokazanie że polimer przewodzący użyty jako warstwa modyfikująca elektrodę może pełnić dwie funkcje – być typowym mediatorem w procesie katalitycznym, lub pełnić rolę przenośnika elektronów, umożliwiającego kontakt elektryczny enzymu z podłożem elektrodowym. Udało się także Doktorantce uzyskać polianilinowe nanorurki o średnicach ok 100nm o różnych właściwościach w zależności od rodzaju kwasu użytego do ich syntezy. Scharakteryzowano je metodami

IR i Ramana oraz SEM-EDS. Nanorurki lepiej niż warstwa polianiliny wiążą peroksydazę chrzanową, a jednocześnie zachowują jej aktywność. W procesie katalitycznej redukcji  $H_2O_2$  przez peroksydazę chrzanową wyraźnie pełnią funkcję mediatora. Szkoda, że nie pokazano redukcji  $H_2O_2$  na nanorurkach polianilinowych bez enzymu, a jedynie, za innymi autorami stwierdzono, że wkład tego procesu jest pomijalnie mały.

Korzyści z zastosowania materiału nanorurkowego, zamiast warstwy polianiliny wynikają w dużej mierze z większej porowatości materiału nanorurkowego nałożonego na elektrodę. Należałoby więc sprawdzić, jaką fizyczną powierzchnię mają oba typy warstw – pewnie powierzchnia elektrodowa pokryta nanorurkami jest znacząco większa od bardziej zwartej warstwy polimerowej, a gęstości prądu podawane w pracy podawane są prawdopodobnie na geometryczną powierzchnię elektrody złotej. Dopiero znając powierzchnię faktycznie dostępną dla analitu można postulować ew. wkład wysokiego przewodnictwa nanorurek w porównaniu z samym polimerem. Sieciowanie w przypadku nanorurek może zmniejszać porowatość całej struktury na elektrodzie – stąd niższe wartości prądu, ale oczywiście jest to tylko hipoteza. Nie wiemy też, jak zmienia się dostępna powierzchnia dla analitu w wyniku obróbki termicznej - może dlatego obróbka nie przynosi spodziewanych korzyści mimo tworzenia się pierścieni fenazynowych.

Istotnym wynikiem pracy Pani mgr Jabłońskiej jest więc konstrukcja wartościowego i nowego czujnika  $H_2O_2$  w oparciu o nieusieciowane i nie poddawane obróbce termicznej nanorurki polianilinowe osadzone na złotej elektrodzie. Ciekawi mnie czy podłoże mogłoby być także węglowe?

Drobne uwagi:

1. Nie podoba mi się powtarzające się w pracy sformułowanie: bezpośredni transfer elektronów – lepiej mówić o przeniesieniu elektronów.
2. Strona 34 – Nie bardzo rozumiem określenie „siły hydrofobowe”
3. Strona 39 – powinno się pisać filmy Langmuira-Blodgett, a nie Langmuir –Blodgett. Blodgett się nie odmienia bo to nazwisko kobiety, ale nazwisko Langmuir należy odmieniać.

4. Zdanie na str. 107 „Analogiczna odpowiedź prądowa .... charakteryzuje się występowaniem prądu pojemnościowego o niewyraźnych pikach redoks” nie jest jasne, choć mogę zrozumieć, co Autorka miała na myśli.

Podsumowując pracę doktorską pani mgr Anny Jabłońskiej uważam, że jest to wartościowy wkład w dziedzinie tworzenia nowych materiałów elektrodowych z wykorzystaniem dwu typów polimerów przewodzących w formie hydrożelu, a także ciekawych form nanostrukturalnych, jakimi są nanorurki polianilinowe. Doktorantka pokazała użyteczność tych materiałów jako matryc do unieruchamiania wybranych enzymów i z powodzeniem zastosowała modyfikowane elektrody w elektroanalizie. Praca jest porządnie przygotowana, błędów edytorskich jest bardzo mało i czyta się ją z przyjemnością. Pani mgr Anna Jabłońska jest współautorką 2 publikacji w bardzo dobrych czasopismach naukowych.

W oparciu o przeprowadzoną analizę rozprawy stwierdzam, że praca mgr Anny Jabłońskiej spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Renata Bilewicz