

dr hab. Leszek Zaraska, prof. UJ
Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii
Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii
Zespół Elektrochemii
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
e-mail: leszek.zaraska@uj.edu.pl; zaraska@chemia.uj.edu.pl
Tel. 12 686 25 17

Kraków, dn. 08.01.2025



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr. Adriana Koterwy pt. *Charakterystyka i modyfikacja materiałów elektrodowych w celu uzyskania platform biosensorycznych*

Niniejszą recenzję sporządziłem w związku z powołaniem mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr. Adriana Koterwy Uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Gdańskiego z dn. 13 listopada 2024 r., o czym zostałem poinformowany stosownym pismem przez Przewodniczącego Rady Dyscypliny.

Wydział Chemii

Omówienie rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Adriana Koterwy zatytułowana *Charakterystyka i modyfikacja materiałów elektrodowych w celu uzyskania platform biosensorycznych* została wykonana w Katedrze Chemii Analitycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego opieką promotorską dr hab. Pawła Niedziałkowskiego, prof. UG.

W ramach realizacji pracy autor podjął się niezwykle ambitnego zadania jakim było opracowanie metody modyfikacji wybranych materiałów elektrodowych celem otrzymania efektywnie działającej platformy biosensorycznej umożliwiającej elektrochemiczną detekcję uropatogennych szczepów bakterii *Escherichia coli* (UPEC-57) i hormonu ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG). W mojej opinii tematyka pracy jest wyjątkowo wartościowa. Wpisuje się bowiem w aktualne nurty badawcze, których celem jest znalezienie uniwersalnych i łatwych w implementacji metod otrzymywania elektrod, będących podstawą testów diagnostycznych do szybkiego i efektywnego wykrywania rozmaitych substancji bioaktywnych (w tym patogenów i hormonów) o istotnym znaczeniu klinicznym.

Podstawą rozprawy jest zbiór 4 oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2022–2023 w wiodących periodykach z listy JCR:

1. P. Niedziałkowski, **A. Koterwa**, A. Olejnik, A. Zieliński, K. Górnicka, M. Brodowski, R. Bogdanowicz, J. Ryl, *Deciphering the molecular mechanism of substrate-induced assembly of gold nanocube arrays toward an accelerated electrocatalytic effect employing heterogeneous diffusion field confinement*, *Langmuir*, 38, 31, 2022, 9597-9610.
2. **A. Koterwa**, M. Pierpaoli, B. Nejman-Faleńczyk, S. Bloch, A. Zieliński, W. Adamus-Białek, Z. Jeleniewska, B. Trzaskowski, R. Bogdanowicz, G. Węgrzyn, P. Niedziałkowski, J. Ryl, *Discriminating macromolecular interactions based on an impedimetric fingerprint supported by multivariate data*

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



analysis for rapid and label-free Escherichia coli recognition in human urine, Biosensors & Bioelectronics, 238, 2023, 115561.

3. **A. Koterwa**, M. Bojko, J. Ryl, K. Łukaszuk, K. Kozłowska, W. Sieklicki, S. Rodziewicz-Motowidło, P. Niedziałkowski, *An electrochemical biosensor for the determination of hormone Human Chorionic Gonadotropin (hCG) in human serum*, Electroanalysis, 2023, 35, 1-9.
4. **A. Koterwa**, I. Kaczmarzyk, Sz. Mania, M. Cieślik, R. Tylingo, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, P. Niedziałkowski, J. Ryl, *The role of electrolysis and enzymatic hydrolysis treatment in the enhancement of the electrochemical properties of 3D-printed carbon black/poly(lactic acid) structures*, Applied Surface Science, 574, 2022, 151587.

Publikacje te opatrzone są stosownym wstępem i omówieniem.

Rozprawę rozpoczyna wykaz publikacji będących podstawą dysertacji oraz pozostałego dorobku naukowego autora. Kolejne części pracy stanowią streszczenia w języku polskim i angielskim a także niezwykle obszerny wykaz skrótów i symboli, będący dla czytelnika sporym ułatwieniem.

W **rozdziale I** pracy autor krótko lecz umiejętnie wprowadza czytelnika w tematykę rozprawy. **Rozdział II** stanowi licząca 24 strony „Część literaturowa”. Rozdział 1 tej części pracy poświęcony jest biosensorom. W kolejnych podrozdziałach autor kolejno definiuje biosensory elektrochemiczne, przedstawia ich najważniejsze zastosowania, by wreszcie nieco bardziej przybliżyć wybrane biosensory elektrochemiczne na bazie DNA, przeciwciał oraz peptydów i białek. W rozdziale 2 doktorant skupia się na omówieniu materiałów elektrodowych stosowanych do konstrukcji biosensorów, szczególną uwagę poświęcając stosowanym w pracy elektrodom z węgla szklanego (GC), elektrodom złotym (z uwzględnieniem nanostruktur Au), elektrodom z tlenku indu i cyny (ITO), a także elektrodom drukowanym w technologii 3D. W rozdziale 3 tej części pracy autor omawia wykorzystywane w pracy bioanalizy, tj. uropatogenne szczepy bakterii *Escherichia coli* (UPEC) oraz hormon ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG), każdorazowo uzasadniając potrzebę efektywnej detekcji obu analitów, jak również wskazując aktualne trendy badawcze w zakresie elektrochemicznych biosensorów wykorzystywanych do ich detekcji.

W **rozdziale III** rozprawy mgr Adrian Koterwa definiuje cel swojej pracy, którym było opracowanie metody modyfikacji wybranych materiałów elektrodowych, będących podstawą do elektrochemicznego wykrywania wyżej wymienionych analitów, a następnie formułuje 13 zadań badawczych, które postawił sobie podczas realizacji pracy doktorskiej.

W **rozdziale IV** autor wskazuje wykorzystywane techniki i metody badawcze, szczególną uwagę poświęcając technikom elektrochemicznym. Z kolei **rozdział V** stanowi krótkie omówienie zawartości merytorycznej poszczególnych publikacji będących podstawą rozprawy. Autor omawia również dodatkowe badania, których wyniki jeszcze nie zostały opublikowane. Prace te miały na celu wskazanie możliwości modyfikacji elektrody CB-PLA uzyskiwanej metodą druku 3D nanosześcianami



złota w celu detekcji hormonu ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG). W ostatnim rozdziale dysertacji (**rozdział VI**) autor syntetycznie podsumowuje uzyskane wyniki i wskazuje najważniejsze jego zdaniem osiągnięcia rozprawy.

Pracę zamyka spis cytowanej literatury liczący 131 pozycji (w większości artykuły opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych) a także informacja o aktywności konferencyjnej doktoranta oraz jego udziale w realizacji projektów badawczych.

Integralną i najważniejszą częścią rozprawy są pełne teksty publikacji wchodzących w skład cyklu wraz z informacjami dodatkowymi (tzw. Supplementary Information).

Publikacja 1 (Niedziałkowski et al., Langmuir, 38, 31, 2022, 9597-9610) stanowi bardzo obszerne i wnikliwe omówienie modyfikacji trzech najczęściej stosowanych do tworzenia biosensorów podłoży elektrodowych, tj. węgla szklanego (GC), elektrody złotej (Au) oraz elektrody z tlenku cyny i indu (ITO) poprzez naniesienie na ich powierzchnię nanosześciaków złota. Co szczególnie istotne w pracy nie poprzestano, jak to często bywa, na omówieniu wpływu tego rodzaju modyfikacji na wartość powierzchni elektrochemicznie aktywnej oraz stałą szybkości przeniesienia ładunku poszczególnych elektrod, ale przede wszystkim zaprezentowano przekonujące wyjaśnienia obserwowanych efektów na podstawie szczegółowych danych uzyskanych z wykorzystaniem wielu technik badawczych oraz obliczeń teoretycznych. Warto dodać, że praca ta opublikowana została w czasopiśmie o 40-letniej tradycji i ugruntowanej renomie.

W **publikacji 2** (Koterwa et al. Biosens. Bioelectron. 238, 2023, 115561) przedstawiono metodę otrzymywania biosensora elektrochemicznego na bazie elektrody GC modyfikowanej nanosześciakami Au, do których dołączono aptametr DNA. Otrzymana platforma biosensoryczna została wykorzystana do wykrywania uropatogennych szczepów bakterii *Escherichia coli* zarówno w roztworach soli fizjologicznej, jak również w rzeczywistych próbkach ludzkiego moczu. Co szczególnie istotne, w pracy wykorzystano nowatorską technikę dynamicznej spektroskopii impedancyjnej (DEIS), wykazując możliwość wykrywania dużych biocząsteczek przy użyciu modulowanych oddziaływań elektrostatycznych indukowanych przez polaryzację elektrody. Warto podkreślić, że praca ta została opublikowana w jednym z najbardziej prestiżowych czasopism o tej tematyce.

W **publikacji 3** (Koterwa et al., Electroanalysis, 2023, 35, 1-9) omówiono metodę otrzymywania platformy biosensorycznej poprzez modyfikację elektrody Au syntetycznym oligopeptydem, którą następnie z powodzeniem wykorzystano do detekcji hormonu ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG), również w surowicy ludzkiej pochodzącej od pacjentów.

Z kolei w **publikacji 4** (Koterwa et al., Appl. Surf. Sci., 574, 2022, 151587) zawarto bardzo interesujące wyniki wskazujące możliwe sposoby aktywacji powierzchni elektrod otrzymywanych techniką druku 3D zarówno z wykorzystaniem elektrolizy w środowisku kwasowym i zasadowym, a także poprzez trawienie enzymatyczne za pomocą proteiny K.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



Do pracy dołączono również oświadczenia współautorów określające ich wkład w powstawanie poszczególnych manuskryptów.

Ocena rozprawy

Część literaturowa pracy napisana jest w mojej opinii w sposób bardzo dobry. Autor umiejętnie przybliży czytelnikowi tematykę pracy, przekonująco uzasadnia dobór materiałów elektrodowych i sposoby ich modyfikacji, wskazuje również na istotność problemu szybkiej i efektywnej detekcji badanych analitów. Ta część pracy nie zawiera zbędnych informacji i skupia się przede wszystkim na zagadnieniach będących istotą rozprawy. Jedynie czego mi zabrakło, to nieco szerszego omówienia dotychczasowych doniesień literaturowych w zakresie elektrochemicznej detekcji badanych analitów (w obu przypadkach ograniczono się w zasadzie do wymienienia kilku przykładów). Można by było się pokusić również o bardziej jednoznaczne zdefiniowanie problemów badawczych.

Na duże uznanie zasługuje strona edytorska rozprawy, w tym jakość ilustracji i przejrzystość pracy. Co warto podkreślić, praca napisana została dobrym językiem, co w dzisiejszych czasach niestety jest coraz rzadsze. Pojawiają się oczywiście pojedyncze błędy redakcyjne (np. ...z wybranymi analitami analit przedstawionw tabeli – str. 22), drobne błędy merytoryczne (np. nazwanie TiO_2 tlenkiem tytanu(II) – str. 25), czy niefortunnie zdefiniowane skróty (ZUT zamiast ZDM – zakażenie dróg moczowych lub UTI – urinary tract infection), jednak są to usterki o charakterze wręcz marginalnym.

Oceniając wkład p. Adriana Koterwy w powstawanie poszczególnych publikacji mam po lekturze pracy pewien niedosyt, gdyż nie znalazłem informacji wprost i jednoznacznie wskazujących na rolę autora w poszczególnych badaniach. Jeśli zamieszczone w rozdziale V podrozdziały „Opis wykonanej pracy badawczej” zawierają rzeczywiście opis badań wykonanych osobiście przez doktoranta, to proszę o potwierdzenie tego faktu podczas publicznej obrony. Jeśli nie, to tym bardziej proszę o doprecyzowanie jaki był jego wkład w powstawanie poszczególnych prac. Biorąc pod uwagę fakt, iż w 3 z 4 prac będących podstawą rozprawy p. mgr Adrian Koterwa jest pierwszym autorem oraz lektura oświadczeń pozostałych współautorów pozwala jednak na założenie, że jego rola była na tyle istotna, by poszczególne prace można uznać za podstawę uzyskania stopnia naukowego doktora. Będę jednak wdzięczny za ostateczne wyjaśnienie tej kwestii w trakcie obrony.

W rozdziale III na str. 39 autor pisze, że *zaprojektowane biosensory elektrochemiczne oparto na nanosześcianach złota (AuNCs) ze względu na ich unikalne właściwości, co stanowi element wiążący wszystkie prace ujęte w cyklu publikacji wybranych do dysertacji*, podczas gdy ani w pracy nr 3 ani 4 nie znalazłem wzmianki o stosowaniu nanosześcianów złota do modyfikacji elektrod. Proszę zatem o wyjaśnienie, co autor miał na myśli.

Na uznanie zasługuje kolejność omawiania poszczególnych publikacji, które układają się w logiczny ciąg, a każda następna stanowi rozwinięcie koncepcji i wykorzystuje wyniki otrzymane w poprzednich pracach. Warto również podkreślić mnogość



stosowanych technik badawczych, często bardzo zaawansowanych i nowatorskich (np. DEIS), a także wysoką rangę czasopism, w których opublikowano wyniki. Mimo stosunkowo krótkiego czasu, jaki upłynął od momentu ich publikacji, prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej doczekały się już ponad 40 niezależnych cytowań.

Nieco szkoda jednak, że autor nie pokusił się w autoreferacie o nieco bardziej obszerny lecz syntetyczny przegląd i omówienie wyników zawartych w poszczególnych pracach lecz poprzestał jedynie na fragmentarycznym, kilkudzaniowym opisie konkretnych publikacji. Również pewien niedosyt pozostawia zawartość podrozdziału „Materiały dodatkowe, nieopublikowane”. Mam świadomość, iż wyniki tych badań nie miały w zamierzeniu doktoranta stanowić podstawy rozprawy, są jednak na tyle interesujące, że prosiłbym autora o ich bardziej szczegółowe przedstawienie podczas obrony, o ile tylko nie istnieją obiektywne przeciwwskazania (np. przygotowywane zgłoszenie patentowe itp.)

Przechodząc do merytorycznej oceny wyników zawartej w pracy chciałbym zaznaczyć, iż jest to zadanie niezwykle trudne, gdyż poszczególne publikacje przeszły już procedurę oceny przez niezależnych recenzentów. Biorąc pod uwagę wysoką rangę i ugruntowaną renomę czasopism, w których opublikowano te prace można założyć, iż proces recenzji był niezwykle rygorystyczny. Nie mam zastrzeżeń do wyników będących podstawą rozprawy. W mojej opinii są one wartościowe i wnoszą istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki chemiczne.

W trakcie lektury poszczególnych publikacji nasunęło mi się kilka pytań. W związku z tym chciałbym, żeby doktorant, oprócz kwestii poruszonych powyżej, również odniósł się do nich w trakcie obrony.

1. W publikacji nr 1 do modyfikacji elektrod stosowano AuNCs o doświadczalnie zweryfikowanych rozmiarach 32 ± 2 nm. Czy próbowano syntezować cząstki o innych rozmiarach i kształtach, ewentualnie nanocząstki innych metali? Czy doktorant spodziewa się analogicznych efektów dla innego typu cząstek? Proszę o komentarz w tej sprawie.
2. Powierzchnię elektrod GC modyfikowano AuNCs przy użyciu metody drop casting. Czy proces modyfikacji jest w pełni powtarzalny? Przykładowo, czy powierzchnia elektrochemicznie aktywna dla kilku elektrod otrzymanych przy użyciu tej samej procedury jest porównywalna?
3. W podsumowaniu rozprawy autor pisze, że *przedstawione metody modyfikacji materiałów elektrodowych mogą zostać wykorzystane jako alternatywne biosensory, których produkcja może być bardziej ekonomiczna w zestawieniu z powszechnie stosowanymi procedurami diagnostycznymi*. Nasuwa się więc pytanie jak daleko jesteśmy od tego celu i jakie kluczowe aspekty i problemy pozostają jeszcze do rozwiązania aby zaproponowane strategie mogły być stosowane przy produkcji komercyjnie dostępnych czujników.

Powyższe pytania stanowią jedynie zaproszeniem do dyskusji i wynikają przede wszystkim z ciekawości i zainteresowań badawczych recenzenta.



Na całkowity dorobek naukowy mgr. Adriana Koterwy składa 8 publikacji w renomowanych czasopismach międzynarodowych oraz 2 rozdziały w monografiach. Doktorant prezentował również swoje wyniki na licznych konferencjach krajowych i międzynarodowych, choć przedstawiony w pracy wykaz wystąpień konferencyjnych nie wskazuje jednoznacznie, które prezentacje były wygłaszane przez niego osobiście, a w których przypadkach był on współautorem prezentowanych wyników. Warto podkreślić, że recenzowana praca powstała w ramach realizacji projektu NCN OPUS 19 *Elektrochemiczny Au-Minecraft: nowe podejście do budowy systemów biosensoryki impedancyjnej*, kierowanego przez prof. Jacka Ryla, którego pan mgr Adrian Koterwa był wykonawcą. Co istotne doktorant kierował również dwoma projektami finansowanymi w ramach Inicjatywy Doskonałości Uczelnia Badawcza (IDUB) w Uniwersytecie Gdańskim. Uważam, że dotychczasowy dorobek naukowy pana mgr. Adriana Koterwy należy uznać za wyróżniający na tym etapie kariery naukowej.

Wniosek końcowy

W mojej opinii recenzowana rozprawa doktorska pana mgr. Adriana Koterwy zawiera elementy nowości naukowej. Doktorant z powodzeniem podjął się rozwiązania oryginalnego problemu badawczego, jakim było otrzymanie efektywnie działających platform biosensorycznych do elektrochemicznej detekcji uropatogennych szczepów bakterii *Escherichia coli* (UPEC-57) i hormonu ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG). Efektem tych badań są 4 oryginalne prace opublikowane w wiodących międzynarodowych periodykach naukowych, a wkład doktoranta w powstawanie tych prac jest istotny.

Biorąc powyższe pod uwagę, pracę oceniam **jednoznacznie pozytywnie**. Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że praca doktorska mgr. Adriana Koterwy **spełnia wymogi ustawowe** (ustawa z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz.U. 2020 r. poz. 85, z późn. zm.) stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora, dlatego **wniosuję** do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr. Adriana Koterwy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorską tematykę rozprawy, niezwykle szeroki zakres prowadzonych badań, przelomowy charakter uzyskanych wyników (wyjaśnieni zjawisk obserwowanych podczas modyfikacji elektrod różnego typu nanocząstkami Au o określonym kształcie, opracowanie nowego typu platform biosensorycznych mogących znaleźć zastosowanie do detekcji substancji bioaktywnych o istotnym znaczeniu klinicznym oraz opracowanie innowacyjnej metody aktywacji elektrod uzyskiwanych techniką druku 3D), a przede wszystkim rangę czasopism, w jakich opublikowano wyniki tych badań, a także całkowity dorobek naukowy doktoranta zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o **wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Adriana Koterwy**.

Leszek Zaraska

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl