

Evaluation of the PhD. Thesis

THE APPLICATION OF SOME CARBON BASED ELECTRODES IN ELECTROANALYSIS

presented by **Ing. Đại Long VŨ**

The thesis is well-written, it contains new and useful information and it confirms that Ing. Đại Long VŨ is a capable researcher. The thesis is devoted to interesting and significant topic of voltammetric and amperometric determination of selected inorganic and organic compounds important because of their biological activity. Therefore, both theoretical and practical significance of this research is obvious.

The thesis is well organized starting from very thoroughly prepared and comprehensive overview of the present situation in this field. Individual experimental chapters are well structured and logically arranged. Similarly, chapters devoted to results and discussions are logically and systematically arranged.

It follows from the comparison of presented newly acquired data with well-prepared and detailed literature overview that the thesis presents original results of well thought-out and interesting research. The thesis as a whole presents an original, useful, and scientifically correct contribution to the investigated topic.

All data are presented logically, transparently and lucidly and are correctly interpreted. All conclusions are correct, logical and convincing. The thesis clearly shows the author's ability to generate reliable data and to interpret them correctly.

All relevant references are included and frequently quoted in discussion of obtained results and in interpretation of measured data to support proposed conclusions and interpretations. Their number and their evaluation clearly show that the author have read most of them and obtained a good and clear picture of the present status of the field as reflected in published literature.

Especially part on the attachment process of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Staphylococcus Apidermidis* on the surface of carbon paste electrode is very interesting and worth of appreciation. Moreover, it is very well written so that it is understandable even for non-specialists.

It is a pity that at the end of the Thesis the author suddenly switched from very nice, continuous, compact and well documented approach to less reader-friendly system of Appendices which make the Thesis more difficult to read and understand.

The language is clear, correct and the thesis can be easily read and understood.

Conclusions

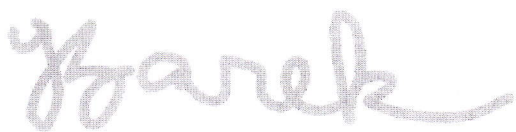
The thesis fulfills demands put on PhD thesis and I recommend to be accepted in this form and the degree awarded. This conclusion is supported by a reasonable list of papers in peer-reviewed journals.

I have just a few following comments which have no influence on my positive evaluation of the thesis.

1. p. 12 - The statement that measured signal is current intensity is not valid for all electroanalytical methods
2. p.14. The statement “the most familiar in food analysis are the cyclic voltammetric“ is not generally valid. Cyclic Voltammetry is more frequently used for physico-chemical than analytical purposes
3. p.15- potentiostat does not measure current, it keep potential at required value
4. Eq. (1) on p.16 is valid only for diffusion controlled processes
5. All variables in Eq.(5) should be explained, not only α and n_a
6. CPEs based on glassy carbon microbeads do not suffer with this disadvantage (dissolution of organic binder)
7. In table 2 on p.27 number 2 is missing
8. Structural formulae of used dyes would be helpful
9. Probably it is better to use term sulfides than sulfide
10. p.32- For which body liquid is the given concentration range valid?
11. p.34- The formulation “ were exhaustively hand mixed“ is somewhat unusual
12. p.40 – Is it really “peak potential of the oxygen oxidation“?
13. p.42- Caption for Fig.10-potential for (b) is not mentioned. Was it at open circuit?
14. p.45-Different colors are used than those mentioned in the caption
15. p.57, fig.23- Medium and sulfide concentration should be mentioned in the caption
16. p.58-fig.25- Confidential intervals should be given

17. Term "inset" should be used, not term "inlet" in connection with inserted calibration graphs
18. With any equation describing linear dependency, dimensions of all parameters should be given.
19. The caption especially in Appendix should be self-explanatory
20. Figure 30 on p.65- is probably incorrectly described and it is not clear whether the concentration is added concentration or total concentration and in any case the value in inset do not correspond to values in the figure (15 vs 150 in inset, etc.)
21. P.66, Table 7 - what is meant by peak potential shift?

In Prague, June 27, 2013



Prof. RNDr. Jiri Barek, CSc.
Dept. Anal. Chem, Faculty of Science
Charles University in Prague
Albertov 6, 128 43 Prague 2
tel: +420 221 951 224
fax: +420 224 913 538
E-mail: Barek@natur.cuni.cz

Oponentský posudek na disertační práci zpracovanou na téma

„The application of some carbon based electrodes in electroanalysis“

Autor: Ing. Dai Long VU

Školitel: Doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.

Školící pracoviště: Ústav analytické chemie, Fakulta chemické technologie, Univerzita Pardubice

Předložená dizertační práce byla zpracována v anglickém jazyce a představuje souvislý text, standardně rozdělený do 8 kapitol, který je prezentovaný na 113 stranách; text je doplněn celkem 16 přílohami, které představují některé podstatné dílčí výsledky, uvedené v tabulkové, eventuálně v grafické formě. Teoretická část, pro jejíž zpracování čerpal dizertant materiály celkem z 282 literárních pramenů, je uvedena celkem na cca 30 stranách. V ní představuje autor dizertace použité elektrochemické metody, dále charakterizuje speciální uhlíkové elektrody a sledované analyty. V části metodika jsou komplexně a detailně popsány veškeré metodické postupy, které byly aplikovány v experimentální části, ve výsledkové části jsou potom komplexně prezentovány veškeré dílčí výsledky. Tato část je bohatě dokumentována, výsledky jsou zde prezentovány buď v tabulkách, případně v grafech. Za nedostatek považuji to, že bohatá výsledková část je shrnuta do velmi strohého závěru, z něhož nelze vyvodit a posoudit prioritní výsledky této zajímavé experimentální práce.

Práce je sepsána velmi solidní angličtinou, nevyskytují se v ní podstatné gramatické chyby ani překlepy. Rovněž obsahuje seznam publikací autora dizertace; z tohoto seznamu je zřejmé, že část získaných, často prioritních informací z dané oblasti již bylo prezentováno v recenzovaných zahraničních časopisech. Jedná se celkem o 7 publikací, z nichž 5 již vyšlo v časopisech, a to *Sensing in Electroanalysis*, *International Journal of Electrochemical Science*, *Journal of Biomedical Science and Engineering*, *Analytical Science* a 2 publikace byly akceptovány do časopisů *Electroanalysis* a *International Journal of Electrochemical Science*.

Práci považuji za zajímavou především z toho hlediska, že elektrochemické metody jsou v současnosti v analytické chemii spíše opomíjeny, v porovnání s metodami separačními a metodami spektrálními. Z předložené dizertační práce vyplývá, že z elektrochemických metod byly v rámci experimentů použity celkem čtyři metody ze skupiny elektrochemických metod. Proto lze kladně hodnotit také to, že autor dizertace porovnal výsledky své práce se standardní spektrální metodou, a to na reálných vzorcích. V práci mne rovněž zaujal rozsah sledovaných analytů, který zahrnuje jak biochemicky důležité sloučeniny (např. aminokyseliny a flavonoidy), tak také sulfidy. U těchto různých analytů byly aplikovány nejen různé analytické postupy, ale také rozdílné uhlíkové elektrody. Také použití

uhlíkových elektrod různého typu představuje prioritní řešení dané problematiky, stejně jako adsorpce živých buněk na povrchu pastové uhlíkové elektrody.

Na základě studia těchto v práci popsaných postupů lze konstatovat, že by bylo vhodné seznámit v brzké době s těmito postupy širší odbornou veřejnost a to zejména proto, že použité a optimalizované metody jsou jednoduché, selektivní a citlivé a umožnily doktorandovi splnit cíle dizertační práce.

K práci nemám žádné podstatné připomínky, které by snižovaly kvalitu předložené práce. Pouze bych studentovi položila tyto dotazy, které by měly být zodpovězeny při vlastní obhajobě:

1. V práci byl u metod hodnocen pouze limit detekce, LOD. Protože se vesměs jedná o stanovení, doporučila bych doplnit metrologické parametry ještě o LOQ. Jaký způsob výpočtu LOQ by bylo vhodné v tomto případě použít?
2. Pomocí Si-gel/CPE bylo dosahováno převážně u většiny stanovení nejnižšího LOD. Můžete posoudit, které další elektrody jsou pro většinu podobných experimentů optimální?
3. Předpokládám, že z této prioritní práce vznikne ještě několik publikací. Takovéto posouzení na podkladě metrologických parametrů bych doporučovala do těchto publikací zařadit, protože to umožní tomu, kdo bude chtít aplikovat tyto postupy, aby provedl správný výběr, pokud bude mít k dispozici stejnou přístrojovou techniku i příslušné uhlíkové elektrody.

Na základě komplexního posouzení mohu konstatovat, že předložená dizertační práce splňuje parametry kladené na obdobné práce na Univerzitě Pardubice, cíle byly splněny, student prokázal schopnost se orientovat v dané problematice a proto **doporučuji** tuto práci k obhajobě a autorovi dizertace udělit po úspěšné obhajobě hodnost Ph.D.

Brno, 3. 9. 2013


prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Fakulta chemická, VUT v Brně

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Ing. Đai Long VŮ: Aplikace vybraných uhlíkových elektrod v elektroanalýze

Předložená disertační práce popisuje možnosti stanovení vybraných analytů – konkrétně sulfidů, tanninu, L-cysteinu, homocysteinu, quercetinu, emodinu a insulinu – pomocí uhlíkové pastové CPE, skelné GCE a grafitové (mikrotužkové) PGE elektrody nebo jejich modifikací. Věnuje se též adsorpci zvolených živých buněk a to *Saccharomyces cerevisiae* a *Staphylococcus epidermidis* na uhlíkové pastové elektrodě CPE, podle potřeby specificky modifikované.

V úvodu práce charakterizoval autor chronoamperometrické a voltametrické metody, které při studiu využil, zejména ve spojení s průtokovou analýzou (FIA), s voltametrií stejnosměrným proudem (DCV), s cyklickou (CV), "square-wave" (SQW), diferenční pulzní (DPV) nebo anodickou rozpouštěcí "stripping" (ASV) voltametrií. Následovala informace o použitých elektrodách – o výše zmíněné pastové (CPE) nebo skelné (GPE) uhlíkové elektrodě, mikrotužkové grafitové elektrodě (PGE), jakož i o modifikacích povrchu těchto čidel např. uhlíkovými nanotrubičkami ve tvaru multistěňů (MWCNT), "Pruskou modří", hematxylinem nebo silikagelem.

Po té poskytl autor informace související s použitými (výše zmíněnými) živými buňkami a se sledovanými analyty, včetně nezávislých metod jejich stanovení. Po krátké informaci o metodologii práce zaměřil se na přehled získaných výsledků a poznatků a na jejich diskusi.

Studium adsorpce zmíněných mikroorganismů na povrchu CPE založil na vyhledání a optimalizaci podmínek pro nepřímé voltametrické stanovení množství nahromaděných mikroorganismů pomocí měření voltametrického signálu zvoleného barviva, naadsorbovaného na neobsazený povrch elektrody. Mohl tak popsat vlivy potenciálu akumulace, doby akumulace, pH, doby kultivace mikroorganismů, kultivačního média apod. a chování obou typů mikroorganismů vzájemně porovnat.

Pro stanovení sulfidů se zaměřil na podmínky pro voltametrii na "Pruskou modří" modifikované GCE, jakož i na CPE s uhlíkovými nanotrubičkami s hematoxylinem a dále na amperometrické stanovení sulfidů metodou FIA pomocí modifikovaných CPE, v kombinaci s DCV nebo s anodickou "stripping" diferenční pulzní voltametrií ASDPV.

Analogicky tomu bylo rovněž při optimalizaci voltametrických podmínek pro stanovení L-cysteinu a emodinu. V závěru experimentální části bylo pak předmětem jeho zájmu voltametrické (ASDPV) stanovení insulinu, quercetinu a homocysteinu na PGE bez anebo po předchozí úpravě ("pre-treatment") povrchu.

Po zmíněné prezentaci výsledků následovaly pasáže věnované shrnutí a závěru, poměrně rozsáhlému seznamu citací, seznamu vlastních publikací a přílohám s dalšími tabelovanými výsledky a grafy.

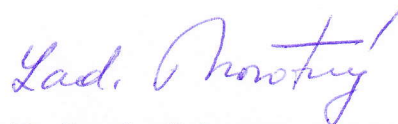
Práce je sepsána přehledně a srozumitelně. Výsledky jsou řádně diskutovány, v závěru shrnuty a doplněny přílohami. Jejich posouzení bylo navíc usnadněno i tím, že valná část poznatků byla publikována v renomovaných odborných časopisech. Rovněž formální stránka disertace je na odpovídající úrovni.

K práci mám tyto dotazy resp. poznámky, které však nezpochybňují její odbornou úroveň:

1. Porovnáme-li velikost proudového signálu sulfidu za jinak stejných podmínek měření podle str. 61, obr. 26D, (h), představující cca $14 \mu\text{A}$ při $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ sulfidu (a rychlosti scanu 50 mV.s^{-1}) a podle str. 62, obr. 27, představující cca $19 \mu\text{A}$ při $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ sulfidu (a 50 mV.s^{-1}), vzniká otázka, proč byl při 200-krát nižší koncentraci sulfidu zaznamenán vyšší signál? Souvisí to se zmínkou na str. 64 o degradaci hematoxylinu při vyšších koncentracích sulfidu, s různou velikostí použitých elektrod nebo s jinými důvody?
2. Na str. 66 se autor zmiňuje o studiu interference vybraných iontů v souvislosti se stanovením sulfidů. Jaký vliv pozoroval např. u Pb^{2+} a jak se projevila případná tvorba málo rozpustných produktů (PbS)?
3. Drobné poznámky:
 - str. 62, v obr. 27 doporučuji upravit "scan rate" na "scan rate^{1/2}".
 - Appendix 2, v textu k obrázku má pravděpodobně být místo "UPCE" správně "UCPE".

Předložená doktorská dizertační práce přináší nové poznatky. Svým provedením a zpracováním dokumentuje schopnosti autora vědecky pracovat a získané výsledky v kontextu s literaturou náležitě prezentovat. Doporučuji ji proto k obhajobě, na základě níž by mohl být Ing. Đai Long VŮ udělen titul PhD.

V Praze dne 13.8.2013



Doc. Dr. Ing. Ladislav Novotný, DrSc.
oponent

Oponentský posudek doktorské disertační práce

Ing. Đai Long VŮ: Aplikace vybraných uhlíkových elektrod v elektroanalýze

Předložená disertační práce popisuje možnosti stanovení vybraných analytů – konkrétně sulfidů, tanninu, L-cysteinu, homocysteinu, quercetinu, emodinu a insulinu – pomocí uhlíkové pastové CPE, skelné GCE a grafitové (mikrotužkové) PGE elektrody nebo jejich modifikací. Věnuje se též adsorpci zvolených živých buněk a to *Saccharomyces cerevisiae* *Staphylococcus epidermidis* na uhlíkové pastové elektrodě CPE, podle potřeby specificky modifikované.

V úvodu práce charakterizoval autor chronoamperometrické a voltametrické metody, které při studiu využil, zejména ve spojení s průtokovou analýzou (FIA), s voltametrií stejnosměrným proudem (DCV), s cyklickou (CV), "square-wave" (SQW), diferenční pulzní (DPV) nebo anodickou rozpouštěcí "stripping" (ASV) voltametrií. Následovala informace o použitých elektrodách – o výše zmíněné pastové (CPE) nebo skelné (GPE) uhlíkové elektrodě, mikrotužkové grafitové elektrodě (PGE), jakož i o modifikacích povrchu těchto čidel např. uhlíkovými nanotrubičkami ve tvaru multistěňů (MWCNT), "Pruskou modří", hemataxylinem nebo silikagelem.

Po té poskytl autor informace související s použitými (výše zmíněnými) živými buňkami a se sledovanými analyty, včetně nezávislých metod jejich stanovení. Po krátké informaci o metodologii práce zaměřil se na přehled získaných výsledků a poznatků a na jejich diskusi.

Studium adsorpce zmíněných mikroorganismů na povrchu CPE založil na vyhledání a optimalizaci podmínek pro nepřímé voltametrické stanovení množství nahromaděných mikroorganismů pomocí měření voltametrického signálu zvoleného barviva, naadsorbovaného na neobsazený povrch elektrody. Mohl tak popsat vlivy potenciálu akumulace, doby akumulace, pH, doby kultivace mikroorganismů, kultivačního média apod. a chování obou typů mikroorganismů vzájemně porovnat.

Pro stanovení sulfidů se zaměřil na podmínky pro voltametrii na "Pruskou modří" modifikované GCE, jakož i na CPE s uhlíkovými nanotrubičkami s hematoxylinem a dále na amperometrické stanovení sulfidů metodou FIA pomocí modifikovaných CPE, v kombinaci s DCV nebo s anodickou "stripping" diferenční pulzní voltametrií ASDPV.

Analogicky tomu bylo rovněž při optimalizaci voltametrických podmínek pro stanovení L-cysteinu a emodinu. V závěru experimentální části bylo pak předmětem jeho zájmu voltametrické (ASDPV) stanovení insulinu, quercetinu a homocysteinu na PGE bez anebo po předchozí úpravě ("pre-treatment") povrchu.

Po zmíněné prezentaci výsledků následovaly pasáže věnované shrnutí a závěru, poměrně rozsáhlému seznamu citací, seznamu vlastních publikací a přílohám s dalšími tabelovanými výsledky a grafy.

Práce je sepsána přehledně a srozumitelně. Výsledky jsou řádně diskutovány, v závěru shrnuty a doplněny přílohami. Jejich posouzení bylo navíc usnadněno i tím, že valná část poznatků byla publikována v renomovaných odborných časopisech. Rovněž formální stránka disertace je na odpovídající úrovni.

EXAMINER'S REVIEW OF PhD-DISSERTATION THESIS

Mr. Dai Long VU: The Application of Some Carbon Based Electrodes in Electro analysis

The submitted dissertation PhD-Thesis describes a possible determination of analytes – sulphides, tannin, L-cysteine, homocysteine, quercetin, emodin and insulin – using carbon paste CPE, glassy carbon GCE and pencil graphite PGE electrodes or their modifications. Among others, it deals with adsorption of selected types of living cells (microorganisms – *Saccharomyces cerevisiae* and *Staphylococcus epidermidis*) at CPE, specifically modified as needed.

In the introduction the author characterized chrono-amperometric and voltammetric methods, used in his study, especially in conjunction with flow injection analysis (FIA) with direct current voltammetry (DCV), cyclic (CV) "square-wave" (SQW), differential pulse (DPV) or anodic "stripping" (ASV) voltammetry, followed by a technical information on the electrodes – like the above mentioned carbon paste (CPE) or glassy carbon (GCE) electrode, pencil graphite electrode (PGE) as well as their surface modifications of these sensors, e.g., by multi-walled carbon nanotubes (MWCNT), "Prussian blue", hematoxylin or silica-gel.

Then the author provided information regarding the use of living cells (mentioned above) and with monitored analytes, including independent methods for their determination. After a brief information on the methodology of his work, he focused on the overview of the obtained results and findings and their discussion.

He based his study of adsorption of these mentioned microorganisms on the surface of CPE, on finding and optimizing the conditions for indirect voltammetric determination of the levels of accumulated microorganisms by measuring the voltammetric signal of the selected dye, adsorbed on the unoccupied electrode surface. He was thus able to describe the effects of the potential and the period of accumulation, pH, time of cultivation of microorganisms, cultivation medium, etc., and the behavior of both types of microorganisms compared to each other.

For the determination of sulphides, he focused on the conditions for voltammetry of the "Prussian Blue" modified GCE, as well as the CPE with carbon nanotubes with hematoxylin and also on the amperometric determination of sulphides FIA method using modified CPE in combination with DCV or anodic "stripping" differential pulse voltammetry ASDPV.

Analogously, it was likewise in the optimization of voltammetric conditions for determination of L-cysteine and emodin. At the end of the experimental part of the study, the subject of his interest was the voltammetric (ASDPV) determination of insulin, homocysteine and quercetin on PGE without and/or upon prior treatment ("pre-treatment") of the surface.

After the mentioned presentation of results, followed passages devoted to summary and conclusion and a fairly extensive list of citations, a list of own publications and attachments with other tabulated results and graphs.


The thesis is written clearly and understandably. Results are properly discussed and in the conclusion summarized and supplemented with attachments.. Their assessment was also facilitated by the fact that most of the findings have been published in reputable journals. Also, the formal structure of the dissertation is on an appropriate level.

Minor questions or comments (not undermining the professional level):

1. Comparing the current (voltammetric) signals I_v of sulphides under the identical conditions except concentrations – see p. 61, Fig. 26D,(h), I_v corresponding cca $14\mu\text{A}$ at $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ sulphides (scan rate 50mV.s^{-1}) and conf. with p. 62, Fig. 27, I_v corresponding cca $19\mu\text{A}$ at $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ sulphides (50mV.s^{-1}) – a question arises, why was there, by 200-times lower concentration of sulphides a higher voltammetric peak I_v recorded? Is it due to degradation of hematoxylin at higher contents of sulphides (see p. 64), or different size of the used electrodes, or some other reasons?
2. On p. 66, the study of respective interferences of selected ions, with the respect to voltammetry of sulphides was discussed. What effect was observed in this respect , e.g., in the case of Pb^{2+} ? Did the formation of slightly soluble products (like PbS) play any role?
3. Minor recommendations:
 - p. 62, in Fig. 27, substitute “scan rate” to “scan rate^{1/2}”
 - Appendix 2, legends for figure: substitute “UPCE” to “UCPE”

The reviewed PhD-Thesis brings new findings. Its professional level and well-arranged form proves the author's scientific abilities as well as his facility to present adequately obtained results. This is why I recommend acknowledging the mentioned PhD-thesis as the basis for final decision on awarding the PhD-degree to Mr. Dai Long VU.

Prague, August 13th, 2013


Assoc. Prof. Dr. Eng. Ladislav Novotný, DSc.
reviewer