



Zachodniopomorski
Uniwersytet
Technologiczny
w Szczecinie



Department of Polymer
and Biomaterials Science

Al. Piastów 45, 71-311 Szczecin, Poland

prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray

tel: (+48) 91 499 48 28

fax: (+48) 91 499 40 98

Email: mirfray@zut.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej Pana mag inż. **Macieja Łojkowskiego**

pt. „**Designing Nanovolcanoes for Nanoparticle Trapping**”

zrealizowanej pod kierunkiem promotora,
prof. dr hab. inż. Wojciecha Świąszkowskiego

w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych i w dyscyplinie inżynieria materiałowa

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Dyscypliny
Inżynieria Materiałowa Politechniki Warszawskiej z dnia 23 czerwca 2023.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska powstała w oparciu o wyniki badań opublikowane w 4 publikacjach (*Scientific Reports (2019)*, *Materials Letters (2021)*, *Langmuir (2019)* i w jednym prepryncie zdeponowanym na *Research Square (2023)*), gdzie we wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem. Praca jest podzielona na 7 rozdziałów zawartych na 217 stronach. Doktorant zawarł w pracy łącznie 31 tabel i 73 rysunki oraz 223 pozycje literaturowe. Na końcu opracowania Doktorant przedstawił podsumowanie, wnioski oraz plany badawcze na przyszłość. W pracy można znaleźć również informacje na temat dorobku naukowego Autora. Niniejsza recenzja zawiera ocenę merytoryczną i naukową pracy doktorskiej w odniesieniu do aktualności i nowości podejmowanych zagadnień badawczych, poprawności doboru metod badawczych oraz technik eksperymentalnych.

Aktualność tematu pracy

Modyfikacja warstwy wierzchniej różnych materiałów do zastosowań medycznych ma zazwyczaj na celu zmianę właściwości funkcjonalnych, takich jak hydrofilowość lub bioaktywność różnych urządzeń czy implantów. Do wytwarzania cienkich warstw stosuje się szereg różnych metod, takich jak litografia, modyfikacja plazmą czy metody roztworowe, takie jak powlekanie zanurzeniowe (*deep coating*) lub powlekanie wirowe (*spin coating*). Ta ostatnia metoda zwraca szczególną uwagę ze względu na możliwość nie tylko nakładania cienkich nanometrycznych warstw na podłożach, ale również ich strukturyzację poprzez zastosowanie np. mieszanin (blend) polimerowych. Efektem mogą być struktury o z góry zaprojektowanej topografii, takie jak wyspy lub wulkany, czyli stożkowate struktury o pustych wnętrzach. Jeśli takie wnętrza można byłoby wypełnić określonymi nanocząstkami, wówczas wytworzona warstwa charakteryzować się będzie zaprojektowaną funkcjonalnością. Z przeglądu literatury dokonanej przez Doktoranta wynika, że w technice powlekania wirowego, w której wykorzystywane są roztwory polimerów, kluczową rolę w kształtowaniu grubości i morfologii nakładanej warstwy odgrywa parametr rozpuszczalności polimeru w danym rozpuszczalniku oraz lepkość roztworu polimeru. Biorąc pod uwagę oddziaływania na granicy faz: ciecz—faza gazowa związane z efektami entropowymi, procesy zachodzące wewnątrz materiału najczęściej prowadzą do zmniejszenia napięcia powierzchniowego na granicy faz czego efektem jest utworzenie różnych struktur (gradientowych, lamelarnych, itp.) polimerów o wysokiej dyspersji mas cząsteczkowych lub polimerów termodynamicznie niemieszalnych. Tworzące się struktury, najczęściej chropowate, mogą wykazywać różną zdolność do zwilżania powierzchni cieczą: albo są całkowicie zwilżane (zwilżanie Wenzla), albo ulegają częściowemu zwilżaniu zamykając pustki powietrzem (zwilżanie Cassie-Baxtera). Ma to tym samym przełożenie na właściwości hydrofilowe lub hydrofobowe powierzchni.

Szczególnym rodzajem struktur wytwarzanych na powierzchni, którymi zainteresował się Doktorant są nanowulkany, czyli struktury stożkowe o ściętych i pustych wewnątrz stożkach. W literaturze istnieje niezbyt wiele informacji na temat ich wytwarzania, a najbardziej znanymi metodami są metody litograficzne, w tym litografia koloidalna, epitaksja z wiązki molekularnej lub chemiczne osadzanie z fazy gazowej. Doktorant stwierdził, że w literaturze nie ma informacji na temat wytwarzania takich zaawansowanych struktur metodami roztworowymi. Skonkludował, że największy potencjał w sprostaniu wymaganiom związanym z wytwarzaniem struktur nanowulkanicznych mają mieszaniny polimerów o identycznej budowie chemicznej ale o różnych masach cząsteczkowych, takie jak polistyren (PS) lub mieszaniny polimerów niemieszalnych termodynamicznie, takie jak poli(metakrylan metylu)/polistyren (PMMA/PS).

W oparciu o przeprowadzoną analizę stanu wiedzy, Doktorant zaplanował i wykonał badania, których głównym celem było zastosowanie metody powlekania wirowego do opracowania cienkich warstw polimerowych o topografii przypominającej stożki wulkanów, które będą wypełnione nanocząstkami hydroksyapatytu, aby nadać

takim warstwom określoną biofunkcjonalność. Autor zajął się badaniami rozpuszczalności mieszanin homopolimerów polistyrenu różniących się znacząco masami cząsteczkowymi, dokonując szczegółowej analizy oddziaływań polarnych, dyspersyjnych i wodorowych między rozpuszczalnikiem a substancją rozpuszczoną. Kolejnym celem było dokonanie analiz profilu nanowulkanów i określenie związku między profilem a zwilżalnością powierzchni próbki. Finalnie, Doktorant przeprowadził badania wychwytywania hydroksyapatytu w kraterach nanowulkanów oraz zbadał cytokompatybilność tak wytworzonych warstw. Podejmowane w pracy zagadnienia są nowatorskie, a tematyka niezwykle aktualna.

Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych

Kluczowym elementem prac badawczych zrealizowanych przez Doktoranta było wykorzystanie techniki powlekania wirowego w celu wytworzenia na podłożach krzemowych (SiO_x) cienkich warstw polimerowych o topografii nanowulkanów, w kraterach których można byłoby osadzić hydroksyapatyt. Na podstawie przeprowadzonego przeglądu literaturowego, Doktorant wytypował najpierw układ termodynamicznie mieszalny, czyli dwa rodzaje polistyrenu różniące się znacząco masami cząsteczkowymi (20 kDa i 200 kDa) oraz układ termodynamicznie niemieszalny, czyli poli(metakrylan metylu)/polistyren (PMMA/PS), które powinny tworzyć nanowulkany podczas odparowywania rozpuszczalnika. W celu wykazania różnic w rozpuszczalności między polistyrenem o niskiej i wysokiej masie cząsteczkowej i zademonstrowania separacji fazowej między tymi składnikami oraz udowodnienia migracji jednej fazy w kierunku granicy faz, Doktorant zastosował szereg nowoczesnych metod takich jak spektroskopię w podczerwieni, chromatografię żelową (wykluczania) (GPC), mikroskopię sił atomowych (AFM), pomiar kąta zwilżania oraz napięcia powierzchniowego metodą osadzonej kropli, laserową reflektometrię stroboskopową, różnicową kalorymetrię skaningową (DSC), oznaczanie lepkości metodą Brookfielda. Szczegółowe analizy eksperymentalne dotyczące wytwarzania cienkich warstw polimerowych o topografii wulkanów, zostały dodatkowo poszerzone o rentgenowską spektroskopię fotoelektronów (XPS) oraz skaningową mikroskopię elektronową (SEM) z krio-komorą. Warto podkreślić, że Doktorant starannie dopracował metodologię wytwarzania cienkich warstw z wykorzystaniem niemieszalnych termodynamicznie układów PMMA/PS, gdzie dodatkowo zastosował dwa rodzaje polistyrenu różniące się znacząco masami cząsteczkowymi i następnie poddawał je selektywnemu trawieniu i wygrzewaniu modulując tym samym wysokość stożków lub wytwarzając cienkie warstwy w komorze o kontrolowanej wilgotności. Dopełnieniem badań było przeprowadzenie testów biogodności komórkowej w stosunku do linii mysich fibroblastów L929 oraz linii komórkowej kostniakomiesaka MG-63.

Doktorant w sposób umijętny dobrał techniki badawcze, co wskazuje na fakt bardzo dobrego poruszania się w temacie rozprawy. Warto podkreślić również fakt zaimplementowania równań i obliczeń w celu prawidłowej interpretacji obserwowanych zmian.

Podsumowując, należy stwierdzić, że zastosowane techniki eksperymentalne i metody badawcze zostały dobrane w sposób trafny i jednocześnie odzwierciedlają bardzo bogaty, eksperymentatorski charakter pracy doktorskiej Pana Macieja Łojkowskiego.

Elementy nowości w pracy

Doktorant zajął się w swoich badaniach wykorzystaniem techniki powlekania wirowego w celu wytworzenia na podłożach krzemowych (SiO_x) cienkich warstw polimerowych o topografii nanowulkanów, w kraterach których można byłoby osadzić hydroksyapatyt. Wprowadzenie nanocząstek ceramicznych w puste przestrzenie miało posłużyć poprawie adhezji komórek do powierzchni o tak zróżnicowanej topografii. Doktorant wykazał, że znacząca różnica mas cząsteczkowych polistyrenu jest wystarczającym czynnikiem decydującym o mikroseparacji faz podczas powlekania wirowego, dodatkowo wspomaganym obecnością pary wodnej. Ponadto, wyznaczył eksperymentalnie parametry rozpuszczalności Hansena w zależności od masy cząsteczkowej polistyrenu i wykazał, że separacja faz zależy od rodzaju rozpuszczalnika, a rozpuszczalniki o wyższej zawartości wiązań wodorowych, takie jak 1,4-dioksan, keton metylowo-etylowy i pirydyna sprzyjają temu zjawisku. Doktorant zbadał również zwilżalność powierzchni o topografii nanowulkanów, opracowując opis fenomenologiczny nachylenia zboczy nanowulkanów oraz związek między tym parametrem a zwilżalnością. Wykazał, że zwilżalność powierzchni pokrytych nanowulkanami jest większa niż wynikałoby to z prawa Cassiego-Baxtera. Co więcej, nanowulkany mogą magazynować powietrze, gdy są zanurzone w wodzie. Nowością w recenzowanej pracy jest również zaprojektowanie optymalnego kształtu nanowulkanów w celu uwięzienia w nich nanocząstek. Optymalizacja kształtu opierała się na selektywnym trawieniu polistyrenu o zróżnicowanej masie cząsteczkowej, który tworzył wyspy i wykorzystaniu pary wodnej w tym procesie. Migracja składników o niższej energii powierzchniowej w kierunku powierzchni wysp zmieniała ich kształt, a wyspy służyły jako formy dla nanowulkanów. Doktorant zoptymalizował profil nanowulkanu pod kątem jak najdłuższego przechowywania pęcherzyków powietrza i wychwytywania nanocząstek hydroksyapatytu pod wpływem próżni. Doktorant wykazał również, że linie komórkowe L929 i MG-63 słabo namnażały się na nanowulkanach pozbawionych hydroksyapatytu, a gdy powłoki były wypełnione hydroksyapatytem wykazywały dobrą biogodność komórkową. Nowatorski charakter przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników potwierdzają trzy prace opublikowane w czasopismach: *Scientific Reports* (2019), *Materials Letters* (2021), *Langmuir* (2019) i w jednym prepryncie zdeponowanym na *Research Square* (2023).

Uwagi dyskusyjne

Praca dotyczy wytwarzania cienkich warstw o topografii nanowulkanów metodą powlekania wirowego. Doktorant zajął się dogłębną analizą wpływu zwilżalności powierzchni na topografię powierzchni i geometrię nanowulkanów. Wskazał na możliwość wytworzenia takich struktur i opracował sposób aspiracji nanocząstek hydroksyapatytu do wnętrza kraterów takich nanowulkanów. Powierzchnie o takiej

topografii (z wypełnionymi kraterami) wykazywały doskonałe właściwości biologiczne w testach *in vitro*. Dyskusja uzyskanych wyników badań jest dobrze zredagowana, a wnioski są sformułowane w sposób poprawny i dobrze odzwierciedlający nowatorski charakter zrealizowanego programu badawczego.

Doktorant nie ustrzegł się jednak drobnych błędów, z których najbardziej istotny to błędny wzór na dyspersyjność mas cząsteczkowych, który prawidłowo przedstawia relację M_w/M_n a nie odwrotnie, jak to ujęto w równaniu 1.11 na str. 22.

W streszczeniu w j. polskim Doktorant używa zwrotu „mieszanka” w odniesieniu do „polymer blend”, czyli do „mieszanki” co jest terminem powszechnie przyjętym w inżynierii materiałów polimerowych.

Autor stosuje również wzór SiO_x dla określenia tlenku krzemu, podczas gdy w badaniach wykorzystuje SiO_x , czyli związek będący mieszaniną tlenków krzemu, gdzie krzem występuje na różnych stopniach utlenienia. Dlatego prawidłowym wzorem jest podawany przez producenta SiO_x .

Podsumowując stwierdzam, że nie wnoszę zasadniczych uwag do interpretacji wyników i sposobu przeprowadzenia badań, zwłaszcza, że przedstawiają one w większości opublikowane wyniki badań, które przeszły wnikliwy proces recenzencki.

Wnioski końcowe

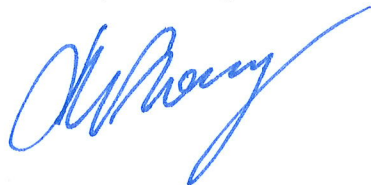
Doktorant zrealizował bardzo obszerny program badań eksperymentalnych, uzyskując interesujące wyniki o niepodważalnych znamionach nowości naukowej. Praca wnosi cenny wkład w aspekty poznawcze dotyczące zagadnień z obszaru inżynierii materiałowej, zwłaszcza wykorzystania metody powlekania wirowego powierzchni płytek krzemowych do wytwarzania cienkich powłok o topografii nanowulkanów. Doktorant wykazał, że możliwe jest zaprojektowanie optymalnego kształtu nanowulkanów w celu uwięzienia w nich nanocząstek poprzez selektywne trawienie polistyrenu o zróżnicowanej masie cząsteczkowej, który tworzył wyspy i wykorzystaniu pary wodnej w tym procesie. Doktorant wykazał również, że otrzymane materiały powłokowe z zaaspirowanymi nanocząstkami hydroksyapatytu wykazują dobre właściwości biologiczne w testach komórkowych *in vitro*.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że Kandydat do stopnia doktora jest współautorem trzech artykułów opublikowanych w indeksowanych czasopismach i w jednym manuskrypcie zdeponowanym w otwartym repozytorium w postaci preprintu, i we wszystkich czterech pracach jest pierwszym Autorem. W dorobku Doktoranta znajduje się sumarycznie 17 publikacji i jedno zgłoszenie patentowe.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki, stwierdzam iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr inż. Macieja Łojkowskiego spełnia warunki przewidziane ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789, z późn. zm.), a także przepisami Ustawy z dnia 3 lipca 108 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669, z późn. zm.).

Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana mgr inż. Macieja Łojkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony. Ponadto, biorąc pod uwagę, że (i) recenzowana praca dostarcza nowych i wartościowych

informacji na temat wykorzystania po raz pierwszy metody powlekania wirowego do wytwarzania struktur nanometrycznych o stożkowej topografii wulkanu, (ii) wskazuje na możliwości praktycznego wykorzystania pozyskanej wiedzy przy projektowaniu funkcjonalnych powłok do zastosowań medycznych lub np. powierzchni kompozytowych z nanocząstkami emitującymi światło, oraz (iii) udowadnia, że Doktorant ze swobodą wykorzystuje różne narzędzia badawcze stosowane w inżynierii materiałowej, wnosząc o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr inż. Macieja Łojkowskiego.



Szczecin, 4.09.2023