

Lublin, 21.08.2023

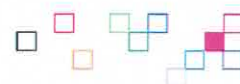
Recenzja rozprawy doktorskiej **Pani magister inżynier Joanny Latochy**  
pt. „*Procesy otrzymywania nanocząstek hydroksyapatytu o różnej morfologii do zastosowań  
biomedycznych*”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Latochy została wykonana na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Pawła Sobieszuka, prof. uczelni oraz Pana dr inż. Michała Wojasińskiego.

*Ogólna ocena rozprawy*

Praca została napisana w języku polskim i stanowi cykl sześciu spójnych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych latach 2018-2022 w pięciu czasopismach z listy JCR (*Chemical and Process Engineering, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, Industrial & Engineering Chemistry Research, Ceramics International, AIChE Journal*) oraz jednej spoza tej listy (*Inżynieria i Aparatura Chemiczna*). Sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania czasopism IF zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 16,113. W pięciu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, co wskazuje na Jej wiodący wkład w realizację badań i powstanie tych prac. Znajduje to potwierdzenie w opisie wkładu Doktorantki w powstanie każdej z publikacji. Oprócz wyników opisanych w publikacjach stanowiących główną część recenzowanej rozprawy doktorskiej załączone zostały również nieopublikowane jeszcze wybrane wyniki badań kinetyki procesu precypitacja/remodelowanie oraz badania zastosowania nanocząstek kulistych jako potencjalnego nośnika leków oraz nanocząstek w postaci płytek i pręcików jako składników kompozytów.

Hydroksyapatyt (HAp) to minerał budujący kości i zęby kręgowców, co za tym idzie jest stabilny w środowisku organizmu ludzkiego, nie wykazuje toksyczności i jest zdolny do tworzenia wiązań z tkankami ludzkimi. Ze względu na chemiczne i strukturalne podobieństwo do biologicznego apatyty jest wykorzystywany w zastępowaniu uszkodzonych tkanek twardych w medycynie i stomatologii oraz jako system dostarczania leków. Wynikające z wydłużenia długości życia, a tym samym podatności na urazy wzrastające zapotrzebowanie na HAp skutkuje poszukiwaniem nowych, wydajnych i ekonomicznie korzystnych sposobów jego otrzymywania. Dlatego zaproponowane przez



Doktorantkę badania są nie tylko aktualne naukowo, ale również atrakcyjne pod względem możliwości ich aplikacyjnego wykorzystania.

Przedstawiona do oceny dysertacja liczy 151 stron i została podzielona w sposób typowy dla prac eksperymentalnych, tj. na część literaturową i doświadczalną. Na początku Autorka zawarła spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, dorobek naukowy, spis stosowanych skrótów oraz wstęp. W moim odczuciu wstęp jest zbyt lakoniczny a informacje w nim zawarte powinny zostać przeniesione do rozdziału „tezy i cele badawcze” lub „wprowadzenie” znajdujące się na str. 33. Część literaturowa stanowi zwięzłą, aczkolwiek wystarczająco charakterystykę wybranych fosforanów wapnia z podkreśleniem budowy, właściwości, sposobów otrzymywania i zastosowań hydroksyapatytu. Kolejny rozdział opisuje postawione przez Autorkę tezy i cele badawcze. Część doświadczalną rozpoczyna spis publikacji oraz wprowadzenie, po których następuje syntetyczny opis najważniejszych wyników badań eksperymentalnych w odniesieniu do zaplanowanych zadań. Ostatnie dwa rozdziały to bibliografia oraz oryginalne teksty publikacji wchodzących w skład ocenianej rozprawy doktorskiej.

#### *Ocena merytoryczna pracy*

Głównym celem podjętych przez Doktorantkę badań było opracowanie procesów syntezy nanocząstek hydroksyapatytu z możliwością projektowania ich morfologii pod kątem praktycznego wykorzystania. Cel ten został realizowany według trzech celów szczegółowych:

1. Pierwszym z nich było opracowanie ciągłego procesu wytrącania nanocząstek hydroksyapatytu bez modyfikacji powierzchni oraz zmodyfikowanych lecytyną, a następnie powiększenie skali procesu w reaktorach typu BOX otrzymanych w druku 3D.
2. Kolejny cel badawczy zakładał opracowanie nowego procesu precypitacji/remodelowania hydroksyapatytu pozwalającego otrzymać nanocząstki w kształcie płytek i pręcików. Dodatkowym celem było określenie przejściowych form fosforanów wapnia tworzących się podczas powstawania HAp oraz wyznaczenie kinetyki remodelowania.
3. Ostatnim celem było praktyczne wykazanie użyteczności wykorzystanie otrzymanych materiałów o różnej morfologii (cząstek kulistych, pręcików, płytek) i ich wykorzystania do zastosowań biomedycznych.

Charakterystyka otrzymanych cząstek obejmowała określenie czystości fazowej za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD, ang. *X-Ray Diffraction*), identyfikację charakterystycznych grup funkcyjnych przy użyciu spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR, ang. *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*), zobrazowanie morfologii oraz określenie

rozmiaru cząstek wykorzystując obrazowanie skaningowym mikroskopem elektronowym z emisją polową (FE-SEM, ang. *Field Emission Scanning Electron Microscopy*) oraz cyfrową analizę obrazu, określenie rozkładów rozmiarów agregatów cząstek za pomocą dwóch technik – dynamicznego rozpraszania światła (DLS, ang. *Dynamic Light Scattering*) oraz śledzenia ruchu nanocząstek (NTA ang. *Nanoparticle Tracking Analysis*). Doktorantka wyznaczyła również potencjał dzeta nanocząstek w roztworze elektrolitu, a zawartość lecytyny określiła przy użyciu metody Chemicznego Zapotrzebowania Tlenu (ChZT, ang. *Chemical Oxygen Demand, COD*). Kinetykę procesu remodelowania oparto na pomiarze stężenia jonów wapnia w fazie ciekłej otaczającej remodelowane nanocząstki z użyciem elektrody jonoselektywnej perfectION™ (METTLER TOLEDO).

Z przeprowadzonych przez Doktorantkę badań wynika, że synteza w reaktorze Y jest prostym, jednoetapowym procesem zapewniającym powtarzalność w otrzymywaniu kulistych cząstek hydroksyapatytu o rozmiarach w skali nano. Natomiast reaktor typu BOX pozwala na powiększenie skali syntezy kulistych nanocząstek HAp i wzrost produktywności do 150 g/godz. bez pogorszenia właściwości fizykochemicznych cząstek. Milireaktory o zadanych i zdefiniowanych wymiarach kanałów zostały otrzymane techniką druku 3D. Ponadto, zmieniając temperaturę w procesie wytrącania i starzenia osadu możliwe jest uzyskanie nanocząstek o morfologii płytek lub pręcików. Autorka wykazała, że przeprowadzony proces precypitacji/remodelowania można podzielić na 3 etapy, przy czym pierwszy etap opisuje równanie kinetyczne 0 rzędu, zaś II i III etap można opisać równaniem 1 rzędu. Dodatkowo, połączenie pomiarów stężeń jonów wapnia oraz danych z analizy proszków podczas syntezy hydroksyapatytu można wykorzystać do badania jakości i projektowania produktu bez konieczności analizy krystalograficznej.

Do analizy ilościowej lecytyny związanej z hydroksyapatytem z sukcesem zastosowano metodę Chemicznego Zapotrzebowania Tlenu(ChZT), którą można rozszerzyć na inne dodatki organiczne.

Istotnym według mnie osiągnięciem jest wykazanie możliwości praktycznego wykorzystania otrzymanych cząstek, które Autorka uzależniła, zresztą słusznie, od morfologii cząstek HAp. W przeprowadzonych badaniach nad zastosowaniem cząstek wykorzystano nanocząstki kuliste jako nośnik leków oraz cząstki w kształcie pręcików i płytek jako składnik materiałów kompozytowych. Cząstki kuliste zmodyfikowane lecytyną i alendronianem sodu poddano ocenie ich toksyczności oraz zbadano zdolność komórek do wychwytu cząstek. Przeprowadzone badania potwierdziły, że obecność lecytyny w kulistych nHAp-LE korzystanie wpływa na wychwyty cząstek przez komórki linii MG63 i Caco-2 i znacząco go zwiększa w porównaniu do wychwyty komórkowego cząstek niemodyfikowanych. Wykorzystując dodatek alendronianu sodu do syntezy nanocząstek

proceeds to the obtaining of amorphous particles with a Ca/P ratio lower than 1.67 and larger size compared to pure crystalline nanoparticles of hydroxyapatite

and allows their use as drug delivery systems for osteoporosis.

Meanwhile, the modification of HAp with stearic acid influences the integration of materials in polymer/ceramic composites and also influences the mechanical properties of composites. It was shown that already 10% addition of modified stearic acid nanoparticles in the form of rods improves the mechanical properties of composites obtained by 3D printing of polylactone /HAp compared to pure polymer.

Presented in the doctoral dissertation the research was carefully planned, forming a logical whole. The doctorant not only developed an economic and simple method of obtaining nanoparticles of hydroxyapatite of different morphology, but also demonstrated the applicability of obtained materials freely moving on the border of disciplines of chemistry and chemical engineering, as well as biological medicine. Set by the doctorant goals were fully realized, contributing significantly to the development of the discipline represented by her. On the mentioned diligence and purposefulness of planned research has an unquestionable influence done before starting the research thorough review of literature on the subject, the result of which is a review work designated as P1. It confirms that the doctorant is well oriented in the current state of knowledge regarding the studied phenomena. I will allow myself to question the purposefulness of counting her to the cycle of publications. According to art. 187 point 2 of the Act of July 20, 2018. Law on Higher Education and Science, „the subject of the doctoral dissertation is original solution of a scientific problem, original solution in the field of application of the results of own scientific research in the economic or social or original artistic achievement”. The review work is therefore necessary, but a review of the current, existing state of knowledge.

During reading of the dissertation and attached publications I had some questions and doubts, which do not influence my unequivocal positive assessment, but result from the reviewer's obligation. I expect the doctorant to refer to them in the public defense:

- according to the data presented in Table 4 (p. 49) powders obtained after 20 and 24 hours are pure hydroxyapatite. Can the doctorant refer to the diffractograms of powders corresponding to these syntheses and presented in Fig. 9 (p. 48) and explain the reasons for the differences in their course in the range of angles 27-40 degrees?

- w moim odczuciu na dyfraktogramach powinny zostać oznaczone piki charakterystyczne dla danych form krystalicznych;
- czy dodając lecytynę zmierzono rozmiar powstających liposomów? Czy ich wielkość ma związek z rozmiarem otrzymanych cząstek HAp?
- zdanie „proces syntezy rozpoczynano od rozpuszczenia lecytyny w wodzie” należałoby zastąpić „zdyspergowania lecytyny w wodzie” (str. 56);
- czy Doktorantka zastanawiała się nad określeniem stopnia hydrofobizacji HAp przez stearynian sodu poprzez np. pomiar kątów zwilżania i określeniem zależności właściwości mechanicznych kompozytów od otrzymanych wartości kątów?
- stwierdzenie na stronie 39 „Warto podkreślić, że stężenie lecytyny nie jest zależne od rodzaju użytego reaktora oraz od warunków starzenia, stąd do zbadania zawartości lecytyny w otrzymanych proszkach nHAp wybrano jedynie materiały otrzymane przy użyciu reaktora (Y150) w jednych, wybranych warunkach starzenia (wariant bez starzenia).” jest mylące. Należy podać o jakie stężenie lecytyny chodzi.
- w Tabeli 4 wystąpił błąd edytorski w określeniu składu proszku otrzymanego w temperaturze 80°C w czasie oznaczonym jako „0 h”;
- ponieważ rozprawa napisana jest w języku polskim zamiast jednostki g/h i l/g powinny zostać użyte jednostki g/godz oraz l/godz. Również oznaczenie temperatury pokojowej jako RT powinno być zastąpione polskim odpowiednikiem, a potencjał zeta jako potencjał dzeta;
- określenia „pomiaru potencjału zeta” i „zmierzono potencjał zeta” stanowią skrót myślowy, ponieważ jest to wartość niemierzalna bezpośrednio. Można go wyliczyć na podstawie pomiarów ruchliwości elektroforetycznej. Czy Doktorantka może podać jakiego równania używała do wyliczenia potencjału dzeta?
- czysta ciekawość naukowa każe mi zapytać ile wynosiło rzeczywiste stężenie jonów wapnia przedstawione na rys. 13?
- czy wyznaczając stosunek Ca/P w próbkach oznaczonych jako nHAp-A brano pod uwagę zawartość fosforu w substancji czynnej?
- z załączonych publikacji wynika, że Autorka stosowała technikę FTIR-ATR;
- stwierdzenie „badanie wydzielania alendronianu” moim zdaniem powinno zostać zastąpione „badanie uwalniania alendronianu” (str. 57),

Pragnę jeszcze raz podkreślić, że zamieszczone powyżej uwagi nie podważają wartości merytorycznej przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej, a wynikają raczej z ciekawości naukowej.

*Ocena dorobku naukowego*

Łączny dorobek naukowy Doktorantki w dniu składania wniosku obejmował 9 artykułów naukowych, w tym 7 opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie JCR. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 23,436. Według bazy Scopus h-index=4, a liczba cytowań 53 (18.08.2023). Ponadto, Pani mgr inż. Joanna Latocha jest współautorką trzech zgłoszeń patentowych. Jako badacz uczestniczyła również w realizacji czterech projektów badawczych. Inną formą upowszechniania wyników badań jest ich prezentacja na konferencjach naukowych. Doktorantka jest współautorem 20 wystąpień ustnych, z czego trzy wygłosiła osobiście, oraz współautorem trzech wstąpień posterowych prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

*Ocena końcowa*

Przygotowując rozprawę doktorską mgr inż. Joanna Latocha wykazała się znajomością warsztatu badawczego oraz określonego zasobu wiedzy z obszaru chemii i inżynierii chemicznej. Udowodniła ponadto, że opanowała umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych oraz prawidłowego interpretowania uzyskanych wyników. Oprócz bezdyskusyjnej wartości naukowej pracy chciałabym również podkreślić niezwykle staranne przygotowanie rozprawy pod względem edycyjnym, z dużą dbałością o najmniejsze detale. Pokazuje to, że Doktorantka nie tylko starannie planuje i przeprowadza eksperymenty, ale również dba o formę ich publikowania.

**Podsumowując stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Latochy spełnia wszystkie wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

*Dodatkowo, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy i aktualność podjętej tematyki badawczej oraz duży potencjał aplikacyjny potwierdzony zgłoszeniami patentowymi składam również wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy mgr inż. Joanny Latochy. Pragnę nadmienić, że zgodnie z dołączonymi do dokumentacji rekomendacjami dotyczącymi wyróżniania rozpraw doktorskich w dyscyplinie nauki inżyniera chemiczna, łączna liczba punktów za publikacje stanowiące podstawę recenzowanej rozprawy doktorskiej wynosi 620 zgodnie z obowiązującą aktualnie listą MEiN oraz 560 stosując załączony do dokumentu algorytm.*

