



Gdańsk, 25.08.2023

dr hab. inż. Donata Konopacka-Łyskawa
Katedra Inżynierii Procesowej i Technologii Chemicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Latochy pt. „Procesy otrzymywania nanocząstek hydroksyapatytu o różnej morfologii do zastosowań biomedycznych” wykonanej na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej, której promotorem jest dr hab. inż. Paweł Sobieszuk, prof. uczelni, a promotorem pomocniczym dr inż. Michał Wojasiński

Podstawą przygotowania niniejszej recenzji rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Joanny Latochy jest pismo przewodnie Pana prof. dr hab. inż. Tomasza Sosnowskiego, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna w Politechnice Warszawskiej z dnia 7 lipca 2023 roku.

Pani mgr inż. Joanna Latocha w latach 2011-2017 studiowała na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, gdzie w roku 2015 uzyskała tytuł inżyniera kończąc studia inżynierskie na kierunku Biotechnologia, a w roku 2017, po ukończeniu studiów o specjalności Biotechnologia Przemysłowa, uzyskała tytuł magistra. Od 2017 roku jest Doktorantką na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej. W czasie studiów doktoranckich pracowała w trzech projektach naukowych na stanowisku badacza. Jest współautorką dziewięciu publikacji naukowych, dwudziestu dwóch wystąpień konferencyjnych oraz trzech zgłoszeń patentowych. Nie ubiegała się wcześniej o nadanie stopnia doktora.

Pani mgr inż. Joanna Latocha w swojej dysertacji przedstawiła badania nad otrzymywaniem nanocząstek hydroksyapatytu, które obejmowały określenie wpływu wybranych parametrów procesowych na charakterystykę produkowanych nanocząstek, opracowanie ciągłego procesu precypitacji nanocząstek oraz podjęła próbę zastosowania otrzymanych nanocząstek hydroksyapatytu o morfologii kulistej jako nośnika leku, a o morfologii pręcików i płytek jako składnika materiałów kompozytowych na bazie polimeru. Uważam, że podjęta w doktoracie tematyka jest aktualna i ważna, gdyż hydroksyapatyt jest substancją, która znalazła szerokie zastosowania w medycynie i stomatologii, przede wszystkim jako biomateriał do uzupełniania ubytków kostnych, do wypełniania kompozytowych rusztowań w inżynierii tkankowej, czy jako nośnik w systemach dostarczania leków. Różnorodne aplikacje cząstek hydroksyapatytu wymagają, aby używany

w nich materiał charakteryzował się ściśle zdefiniowanymi właściwościami. Przy czym najbardziej pożądaną formą do zastosowań biomedycznych są nanocząstki hydroksyapatytu, które dodatkowo poddaje się modyfikacji w celu poprawy ich właściwości fizycznych lub interakcji biologicznych.

Podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora jest spójny tematycznie cykl sześciu artykułów, opublikowanych w czasopismach naukowych: *Process and Chemical Engineering*, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *Inżynieria i Aparatura Procesowa*, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *Ceramics International* oraz *AIChE Journal*. Jedna publikacja (P1) jest artykułem przeglądowym, a pięć (P2-P6) publikacjami zawierającymi oryginalne wyniki badań. Wszystkie te artykuły są wieloautorskie, a w trzech z nich Doktorantka jest pierwszym autorem. Z dołączonych do publikacji deklaracji Doktorantki wynika, że we wszystkich pracach jej wkład był istotny zarówno podczas wykonywania eksperymentów jak i podczas przygotowywania oraz redakcji manuskryptów.

Oceniana rozprawa doktorska składa się z dwóch zasadniczych części. Pierwszą (str. 5-84) stanowi opracowanie w języku polskim, zawierające streszczenia (w języku polskim i angielskim), wykaz dorobku naukowego oraz omówienie problemu badawczego. W tej części Doktorantka przedstawiła wprowadzenie do tematyki pracy, cel pracy oraz wyniki swoich badań zawarte w publikacjach stanowiących cykl publikacji. Dodatkowo część ta zawiera nieopublikowane badania dotyczące kinetyki przemian polimorficznych fosforanu wapnia oraz badania nad możliwością wykorzystania otrzymanych nanocząstek. Ostatnie rozdziały tej części to wnioski końcowe i bibliografia zawierająca sto czternaście pozycji literaturowych. W drugiej części pracy (str. 85-151) zamieszczono sześć publikacji, wchodzących w skład cyklu wraz z opisem wkładu Doktorantki do każdego artykułu. Sposób redakcji rozprawy doktorskiej jest poprawny i estetyczny. Rozprawa napisana jest poprawnie, zauważyłam tylko kilka drobnych błędów i niedociągnięć.

Część literaturowa rozprawy doktorskiej stanowi syntetyczne wprowadzenie, w którym Doktorantka przedstawiła ogólną charakterystykę wybranych fosforanów wapnia, ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia hydroksyapatytu jako składnika tkanki kostnej. Wskazała istotne właściwości hydroksyapatytu, które wpływają na jego biogodność oraz przedstawiła możliwości modyfikacji jego powierzchni niezbędnych do wytworzenie dobrej dyspersji, zwiększenia ich wychwytu przez komórki, czy zapewnienia dobrej adhezji podczas wytwarzania kompozytów na bazie polimerowej. Tę część kończy omówienie zastosowań hydroksyapatytu. Uważam, że część literaturowa jest dobrym wprowadzeniem teoretycznym do tematyki pracy. Moim zdaniem rozdział ten zawiera niezbędne informacje, które pozwalają czytelnikowi zrozumieć, dlaczego Doktorantka podjęła się rozwiązać problem wytwarzania hydroksyapatytu o kontrolowanych właściwościach.

W kolejnej części Doktorantka zawarła cele i tezy badawcze. Cele pracy zdefiniowała następująco: i) otrzymanie hydroksyapatytu w postaci nanocząstek o morfologii kulistej oraz hydroksyapatytu zmodyfikowanego lecytyną, metodą precypitacji w reaktorze przepływowym o geometrii Y, przy czym otrzymane produkty powinny charakteryzować się nanometrycznymi rozmiarami i wysoką czystością fazową oraz możliwe powinno być powiększenie skali zaproponowanego procesu; ii) opracowanie nowego i oryginalnego procesu precypitacji nanocząstek hydroksyapatytu o morfologii płytek i pręcików; iii) praktyczne wykorzystanie otrzymanych materiałów i wykazanie ich użyteczności do zastosowań biomedycznych. Uważam, że cele pracy jak i wynikające z tego tezy pracy są

jasno sprecyzowane. Wykazanie ich słuszności ma zarówno znaczenie poznawcze jak i istotną wartość z praktycznego punktu widzenia.

W części doświadczalnej pracy Doktorantka przedstawiła wyniki badań zawartych w załączonych publikacjach, nieopublikowane wyniki dotyczące kinetyki przemian polimorficznych fosforanu wapnia oraz nieopublikowane badania wykorzystania otrzymanych nanocząstek hydroksyapatytu w formie kulistej jako nośniki leku, a w formie pręcików i płytek jako składnika materiałów kompozytowych polimer/ceramika.

Pierwsza publikacja jest przeglądem literatury i prezentuje metody syntezy hydroksyapatytu do zastosowań biomedycznych w reaktorach ciągłych. Zestawiono w niej typy wykorzystywanych reaktorów oraz charakterystykę otrzymywanych w nich cząstek hydroksyapatytu. Uważam, że zawarta w artykule P1 dyskusja wykorzystywanych aparatów do otrzymywania cząstek hydroksyapatytu, ich skomplikowania oraz możliwości skalowania jest wartościowa i stanowi bardzo dobre potwierdzenie, że Pani mgr inż. Joanna Latocha posiada wiedzę teoretyczną z zakresu produkcji cząstek w reaktorach ciągłych.

W drugiej publikacji Doktorantka przedstawiła wyniki badań opisujących wpływ stężenia lecytyny oraz warunków starzenia na charakterystykę nanocząstek hydroksyapatytu otrzymywanych w dwóch reaktorach jednokanałowych typu Y, różniących się długością kanału wylotowego reaktora. Cząstki hydroksyapatytu otrzymane w obu reaktorach były nanocząstkami o kulistej morfologii, a zawartość lecytyny w otrzymanym materiale wzrastała wraz z wzrostem stężenia lecytyny obecnej w mieszaninie reakcyjnej. Nie zaobserwowano wpływu badanych warunków starzenia produktu na zawartość lecytyny w nanocząstkach. Wykazano, że wielkość otrzymanych cząstek zależy zarówno od stężenia lecytyny jak i warunków starzenia cząstek. Dodatkowo, podczas analizy FTIR produktów potwierdzono, że zsyntezowane nanocząstki zawierają grupy węglanowe, co jest cechą charakterystyczną dla tzw. biologicznego hydroksyapatytu. Nie zaobserwowano istotnego wpływu długości kanału wylotowego na charakterystykę otrzymanych cząstek.

Kolejna publikacja zawiera wyniki badań nad wykorzystaniem oznaczania parametru ChZT (chemicznego zapotrzebowania tlenu) do analizy zawartości lecytyny w roztworach wodnych oraz lecytyny związanej w hydroksyapatycie. Badania tego parametru zostały wykonane zgodnie z normą PN-ISO 6060, 2006. Otrzymane wyniki potwierdziły możliwość zastosowania parametru ChZT do oceny stężenia lecytyny w produktach w postaci proszków hydroksyapatytu, w mieszaninach poreakcyjnych oraz w przesączu.

Czwarta publikacja zawiera wyniki badań produkcji nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w przepływowym reaktorze jednokanałowym typu Y oraz w reaktorze wielokanałowym o geometrii Y, tzw. reaktorze typu BOX. Należy w tym miejscu podkreślić, że konstrukcja tego reaktora jest obiektem zgłoszenia patentowego, którego Doktorantka jest współautorką. W publikacji P4 wykazano, że zastosowanie reaktora typu BOX pozwala na zwiększenie wydajności produkcji nanocząstek hydroksyapatytu dziesięciokrotnie w porównaniu do milireaktora jednokanałowego, a zmiana skali produkcji nie wpływa na charakterystykę otrzymywanych cząstek. Również w tej publikacji, wyprodukowane nanocząstki hydroksyapatytu były hydroksyapatytem węglanowym.

W piątej publikacji Doktorantka podjęła próbę określenia wpływu temperatury i pH mieszaniny reakcyjnej na charakterystykę strącanych nanocząstek hydroksyapatytu w obecności lecytyny. Te badania zostały przeprowadzone w reaktorze okresowym. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że precypitacja jednorodnych cząstek

hydroksyapatytu o kulistej morfologii możliwa jest, gdy pH mieszaniny reakcyjnej wynosi 10, a temperatura w badanym zakresie nie wpływa istotnie na charakterystykę nanocząstek. Cząstki hydroksyapatytu zawierały grupy węglanowe.

Szósta publikacja przedstawia badania nad możliwością kontroli morfologii cząstek hydroksyapatytu przez czas dozowania roztworu amoniaku, używanego jako regulator wartości pH mieszaniny reakcyjnej, temperaturę oraz dodatek lecytyny. W publikacji tej, Doktorantka prowadziła precypitację hydroksyapatytu w reaktorze okresowym. Badania były wykonane w dwóch temperaturach dla roztworów bez i z dodatkiem lecytyny. Otrzymane wyniki świadczą o istotnym wpływie temperatury na morfologię otrzymanych cząstek hydroksyapatytu w zastosowanych warunkach reakcji. Dodatkowo wydłużenie czasu dozowania wody amoniakalnej do 72 h w wyższej temperaturze powodowało, że otrzymano cząstki hydroksyapatytu o bardziej wydłużonym kształcie w porównaniu do syntezy prowadzonej w czasie 24 h. Takiej zależności nie obserwowano w niższej temperaturze prowadzenia procesu. Analiza składu cząstek potwierdziła obecność grup węglanowych.

Dodatkowe wyniki zawarte w rozprawie doktorskiej obejmują badania kinetyki procesu precypitacji i rekrytalizacji hydroksyapatytu prowadzonego w warunkach opisanych w publikacji P6. Na podstawie zmian stężenia jonów wapniowych w czasie prowadzenia reakcji, Doktorantka podzieliła proces precypitacji na etapy, dla których określiła wartości stałych szybkości precypitacji. Analizując otrzymane w czasie reakcji cząstki, określiła powstające formy fosforanów wapnia. Wykazała, że kinetykę precypitacji można powiązać z formą powstających fosforanów wapniowych.

W kolejnym podrozdziale, Kandydatka przedstawiła możliwość wykorzystania cząstek hydroksyapatytu jako nośnika alendronianu sodu, który jest stosowany do leczenia osteoporozy. W badaniach tych wykazano, że dodatek alendronianu podczas syntezy nanocząstek hydroksyapatytu powoduje zmniejszenie wielkości cząstek, ale nie wpływa na ich morfologię. Poza tym stwierdzono, że stężenie substancji czynnej w otrzymanym produkcie nie zależy od jej stężenia w mieszaninie reakcyjnej, ale jest wyższe, gdy precypitacja jest prowadzona w obecności lecytyny. Dodatkowo wykonano badania działania otrzymanych preparatów na linie komórkowe MG63 i Caco-2 i stwierdzono, że nanocząstki hydroksyapatytu zawierające lecytinę są lepiej wchłaniane przez badane komórki. Również Doktorantka wykonała badania, w których wykorzystwała zsyntezowane cząstki w postaci płytek i pręcików (wg metody opisanej w publikacji P6) do wytworzenia materiałów kompozytowych polimer/ceramika. Aby zwiększyć powinowactwo cząstek hydroksyapatytu do polikaprolaktonu, polimeru użytego do produkcji kompozytu, powierzchnię cząstek zmodyfikowano przez dodatek stearynianu sodu. Obecność surfaktantu spowodowała, że możliwe było uzyskanie materiału kompozytowego polimer/ceramika o wyższej zawartości hydroksyapatytu. Stwierdzono, że morfologia cząstek nieorganicznych wpływa na wytrzymałość otrzymanych kompozytów i korzystniejsze jest użycie hydroksyapatytu o morfologii pręcików.

Oceniając rozprawę, mogę stwierdzić, że: (i) treść pracy odpowiada tytułowi pracy, (ii) cele pracy zostały właściwie sformułowane, (iii) recenzowana praca ma charakter zarówno poznawczy, jak i aplikacyjny. Podkreślić należy, że podstawą pracy jest sześć publikacji, z czego cztery opublikowane są w czasopiśmie o znaczącej randze, o czym świadczy ich wysoki współczynnik oddziaływania (IF). Publikacje te zawierają szczegółowy opis metodyki badań oraz wyniki eksperymentów. Analiza przedstawionych w publikacjach

wyników też jest wyczerpująca. Otrzymane przez Doktorantkę wyniki wykazały, że możliwe jest wytwarzanie w sposób ciągły nanocząstek hydroksyapatytu w reaktorach o geometrii typu Y, pozwoliły wskazać parametry procesowe, które umożliwiają syntezę cząstek hydroksyapatytu o zdefiniowanej charakterystyce oraz pokazały, że uzyskane cząstki hydroksyapatytu można wykorzystać jako nośniki leków i składniki kompozytów polimer/ceramika.

Większość prezentowanych w rozprawie doktorskiej wyników badań została wcześniej poddana ocenie, niemniej jednak lektura pracy skłoniła mnie do polemiki z Doktorantką w następujących zagadnieniach:

- 1) Z jakiego materiału były wykonane stosowane reaktory przepływowe typu Y? Czy cząstki hydroksyapatytu nie osadzały się na ich powierzchniach? Czy prowadzenie precypitacji przez dłuższy czas nie blokowałoby ich kanałów?
- 2) pH mieszaniny reakcyjnej w większości doświadczeń wynosiło 10, a pomiary potencjału zeta cząstek hydroksyapatytu wykonywano w zawiesinach o pH równym 7. Czy inna wartość pH podczas pomiarów potencjału zeta nie wpływała na ocenę stabilności produkowanych dyspersji cząstek hydroksyapatytu i tworzenie się aglomeratów?
- 3) Proszę o wyjaśnienie, dlaczego otrzymywane nanocząstki hydroksyapatytu zawierały grupy węglanowe, skoro w składzie roztworów używanych do reakcji nie było węglanów.
- 4) Przedstawione badania nie uwzględniały wpływu przesycenia na charakterystykę cząstek hydroksyapatytu. Czym Doktorantka kierowała się wybierając stężenia reagentów w swoich eksperymentach?
- 5) Mam wątpliwości, czy sformułowanie „remodelowanie” w odniesieniu do przekształcania wytrąconych pierwotnie cząstek fosforanu wapnia w produkt końcowy (hydroksyapatyt) jest poprawne. Moim zdaniem proces ten powinien być nazwany „rekrytalizacja”.
- 6) Może warto byłoby zastosować regułę Ostwalda do dyskusji kinetyki przemian polimorficznych fosforanu wapnia?

Wnioski końcowe

Podsumowując, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Latochy jest pracą oryginalną przedstawiającą możliwość wykorzystania reaktorów przepływowych o geometrii typu Y do otrzymywania nanocząstek hydroksyapatytu, wpływ wybranych parametrów procesowych na morfologię strączanych nanocząstek oraz potwierdza możliwość wykorzystania ich jako nośniki leków czy składnik kompozytów polimer/ceramika. Doktorantka wykazała, że posiada wiedzę teoretyczną oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia eksperymentów naukowych i interpretowania wyników badań. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Latochy spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2021 poz. 478 z późn. zm.), w związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr inż. Joanny Latochy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, mając na względzie wkład Doktorantki w zaprojektowanie nowego reaktora typu BOX i wykazanie jego przydatności do precypitacji nanocząstek hydroksyapatytu, wysoki poziom naukowy badań zawartych w rozprawie doktorskiej oraz imponujący dorobek naukowy Doktorantki zwracam się także do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna z wnioskiem o jej wyróżnienie.

Donata Kowalewska-Kysilewska