

Dr hab. Alicja Utrata-Wesołek
Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr. inż. Damiana Mickiewicza
pt. „Sferoidalne mikrocząstki o rdzeniu polistyrenowym i powłoce wzbogaconej w poliglicydol:
otrzymywanie, funkcjonalizacja, właściwości, samoorganizacja”**

Informacje ogólne

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska pana mgr. inż. Damiana Mickiewicza pt. „Sferoidalne mikrocząstki o rdzeniu polistyrenowym i powłoce wzbogaconej w poliglicydol: otrzymywanie, funkcjonalizacja, właściwości, samoorganizacja” została wykonana w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk (CBMiM PAN) pod kierunkiem dr hab. Teresy Basińskiej. Doktorant skupił się w pracy nad opracowaniem metod wytwarzania uporządkowanych układów dwu- i trójwymiarowych z mikrocząstek o sferoidalnym kształcie, opisaniem procesu porządkowania się sferoid oraz zbadaniem właściwości powstałych układów. Do swoich badań wykorzystał cząstki sferoidalne o budowie rdzeń-powłoka z hydrofobowym rdzeniem polistyrenowym (PS) i powłoką wzbogaconą w hydrofilowy poliglicydol (PS/PGI). Zasadniczą uwagę w swoich badaniach Doktorant skupił nad określeniem wpływu warunków środowiska oraz kształtu mikrosferoid na zdolność do ich samoorganizacji w układy mono- i wielowarstwowe. Autor podjął również prace związane z funkcjonalizacją mikrosfer i mikrosferoid, w celu wprowadzenia na ich powierzchnię ładunku ujemnego lub dodatniego, oraz ich charakterystyką i zastosowaniem w badaniach kinetyki adsorpcji cząstek na podłożu stałym.

Omówienie układu pracy

Rozprawa doktorska pana mgr. inż. Damiana Mickiewicza jest pracą obszerną liczącą 189 stron i ma klasyczną formę. Zawiera ona Streszczenie pracy, dwupółstronicowy Wstęp, Część literaturową (46 stron) na podstawie, której Doktorant nakreślił i przedstawił Cel pracy, Wyniki badań własnych (110 stron) i Podsumowanie. Dalej znajdują się informacje dotyczące dorobku naukowego Doktoranta. Rozprawę zamyka Bibliografia, w której zacytowano 132 pozycje literaturowe. Rozprawa doktorska została opatrzona również Wykazem skrótów, zamieszczonym bezpośrednio po Spisie treści, mającym ułatwić czytelnikowi jej studiowanie. Wyniki badań są z reguły udokumentowane i przedstawione w postaci tabel, schematów, wykresów i zdjęć w większości wypadków prawidłowo opisanych.

Istotność podjętego tematu

Tematyka podjętych przez pana mgr. inż. Damiana Mickiewicza prac związana jest ze zbadaniem procesu samoorganizacji mikrocząstek polimerowych z anizotropią kształtu do układów mono- i wielowarstwowych. Obszar prowadzonych przez Doktoranta prac jest interesujący i wpisuje się w światowe nurty badań nad kryształami koloidalnymi zbudowanymi zarówno ze sferycznych jak i sferoidalnych cząstek, zwłaszcza polimerowych. Kryształy koloidalne, czyli uporządkowane układy przestrzenne cząstek koloidalnych, o rozmieszczeniu cząstek analogicznie jak w standardowych kryształach, znalazły szereg praktycznych zastosowań, np. w optoelektronice, przechowywaniu danych czy systemach pozyskiwania energii słonecznej, a także w biomedycynie jako elementy sensorów. Szczególny nacisk w badaniach kładziony jest na opracowanie metod wytwarzania układów polimerowych cząstek koloidalnych, by możliwe było kontrolowanie ich upakowania na powierzchniach. Należy zauważyć, że szczegółowe poznanie wpływu warunków wytwarzania tych układów, możliwość wykorzystania cząstek o kształcie innym niż sferyczny oraz cząstek o kontrolowanych właściwościach powierzchniowych jest bardzo istotne, bo decyduje o właściwościach kryształów koloidalnych i ich potencjalnych zastosowaniach. Wykonane przez Doktoranta prace badawcze stanowią kontynuację badań, prowadzonych od wielu lat z wielkim powodzeniem w Zespole Koloidów CBMiM PAN, nad powstawaniem mikrosfer i mikrosferoid polimerowych, ich właściwościami i możliwością wykorzystania do celów biomedycznych. Wybór przez Doktoranta tematyki badawczej jest zatem trafny i ważny, a otrzymane wyniki wnoszą wkład w te badania zarówno z poznawczego punktu widzenia jak i potencjalnych zastosowań.

Treść osiągnięcia naukowego wraz z oceną pracy

We Wstępie przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej pan mgr inż. Damian Mickiewicz zwięźle przedstawił opis kryształów koloidalnych, sposób ich wytwarzania, możliwości zastosowań, prezentując jednocześnie niedoskonałości wynikające z symetrycznego ułożenia cząstek sferycznych w układach przestrzennych. Doktorant wprowadził czytelnika w temat swojej pracy doktorskiej, uzasadniając jednocześnie potrzebę prowadzenia zaproponowanych przez siebie badań.

Część literaturowa, choć nie została wprawdzie przedstawiona jako odrębny rozdział, zawiera logicznie uporządkowany opis stanu wiedzy. Autor omawia w niej zagadnienia badawcze stanowiące podstawę podjętej tematyki. Doktorant najpierw ogólnie omawia morfologię i kształt cząstek polimerowych, a następnie prezentuje różne metody prowadzące do otrzymania sferoidalnych cząstek polimerowych, w tym wykorzystaną w pracy doktorskiej metodę polegającą na rozciąganiu matrycy polimerowej. Autor przybliży również proces adsorpcji cząstek sferycznych i sferoidalnych na granicy faz z uwzględnieniem ich orientacji i wzajemnych oddziaływań, a także prezentuje techniki wykorzystywane do samoorganizacji cząstek sferoidalnych w układy dwu- i wielowymiarowe. Część

literaturową kończy rozdział skrótowo prezentujący teoretyczne podłoże metod analitycznych wykorzystanych przez Doktoranta w pracy doktorskiej do scharakteryzowania uzyskanych przez niego polimerów i cząstek polimerowych.

Według mojej opinii w części literaturowej niektóre z zagadnień powinny zostać nieco szerzej omówione. Brakuje rozdziału choć w niewielkim stopniu opisującego syntezę i właściwości poliglicydolu oraz możliwości wykorzystania go do tworzenia mikrosfer. Ten właśnie polimer Doktorant wykorzystuje w pracy jako makromonomer do syntezy mikrosfer, a następnie mikrosferoid. Hydrofilowa powłoka uzyskanych cząstek jest wzbogacona w poliglicydol, który zostaje poddany również funkcjonalizacji. Taka wzmianka w części literaturowej pozwoliłaby w jasny sposób zrozumieć uzasadnienie wyboru przez Doktoranta poliglicydolu do tworzenia funkcjonalnych, hydrofilowych mikrocząstek. Ponadto, na str. 23 Autor stwierdza, słusznie zresztą, że kopolimery blokowe można otrzymać metodami kontrolowanej polimeryzacji. I choć tych metod jest wiele, to tylko jedną z nich Doktorant wspomina (metateza z otwarciem pierścienia ROMP). Warto by było wspomnieć również o innych metodach lub skierować czytelnika do odpowiednich artykułów przeglądowych. Dodatkowo w Tabeli 1 Doktorant jako wadę uznaje fakt, że w wyniku rozciągania folii z wbudowanymi cząstkami sferycznymi powstają sferoidy o powtarzalnej wielkości i współczynniku kształtu. Czy można uzasadnić dlaczego jest to wada?

Na podstawie przeglądu literatury pan mgr inż. Damian Mickiewicz ustalił, że istnieją nieliczne prace prezentujące metody samoorganizacji cząstek sferoidalnych na granicy faz, a te dostępne dotyczą układów złożonych z litych cząstek polistyrenowych czy krzemionkowych. Nie zostały więc poznane metody porządkowania polimerowych sferoid o hydrofilowej powierzchni lub posiadających określony ładunek, co rozszerzałoby możliwości ich zastosowań w biomedycynie. Wyzwanie badawcze jakie postawił sobie Doktorant polegało więc na wykorzystaniu mikrosferoid o budowie rdzeń-powłoka, gdzie rdzeń stanowi polistyren, a powłokę warstwa polistyrenu wzbogacona w poliglicydol, do zbadania możliwości ich uporządkowania. Poznanie i opisanie procesów samoorganizacji tych polimerowych mikrosferoid w układy jedno- i trójwymiarowe stanowi niewątpliwie nowatorski aspekt rozprawy doktorskiej.

Najważniejsza część pracy, dotycząca wyników prac eksperymentalnych, podzielona jest na 5 tematycznie odrębnych rozdziałów. Każdy z nich zawiera spis stosowanych materiałów, opis wykonanych analiz, protokół przeprowadzonych syntez oraz wyniki i wnioski. Taki układ, w pewnym sensie polepsza przejrzystość pracy, ale jednocześnie spowodował pojawienie się w niej kilku powtórzeń (np. opis dotyczący analizy metody chromatografii żelowej czy kąta zwilżania; rys. 91 i 93 oraz 87 i 92) lub powielających się odwołań do procedur wcześniej już opisanych (np. str. 152, 160).

Doktorant, na podstawie wyników badań wcześniej przeprowadzonych w Zespole Koloidów, otrzymał mikrosfery i mikrosferoidy PS/PGI, a rezultaty tych prac opisał odpowiednio w **rozdziale 6 i 7**.

W tym celu zsyntezował on makromonomer poliglicydolu (α -tert-butoksylo-winylobenzylpoliglicydol), który kopolimeryzował ze styrenem otrzymując serię 3 zawiesin mikrosfer o średnicy około 300-400 nm, oraz o około 17-20 %mol udziale poliglicydolu w warstwie powierzchniowej. Uzyskane mikrosfery Doktorant wykorzystał następnie do otrzymania mikrosferoid przez jednoosiowe wydłużanie mikrosfer osadzonych w folii z poli(alkoholu winylowego). Kontrolując stopień wydłużenia folii otrzymał jednorodny mikrosferoidy o kontrolowanym współczynniku kształtu wynoszącym od około 2.15 do 8.50. Autor na podstawie analizy składu chemicznego warstwy powierzchniowej mikrosferoid oraz pomiaru ich ruchliwości elektroforetycznej, ustalił, że uzyskane cząstki zawierają zaadsorbowany poli(alkohol winylowy). W dalszej części badawczej pracy doktorskiej pan mgr inż. Damian Mickiewicz zbadał proces samoorganizacji przygotowanych i scharakteryzowanych przez siebie mikrosferoid w układy monowarstwowe (**Rozdział 8**) oraz wielowarstwowe (**Rozdział 9**). Doktorant ustalił warunki, dla których stosując metodę odparowania rozpuszczalnika, mikrosferoidy tworzą jednowarstwowe układy na granicy faz ciecz-krzem-powietrze uporządkowane w domeny typu nematycznego. Zaobserwował również, że współczynnik kształtu mikrosferoid decyduje o sposobie organizacji mikrocząstek. Układy wielowarstwowe zostały uzyskane w wyniku porządkowania mikrosferoid podczas odparowanie rozpuszczalnika z osadzonej na podłożu stałym zawiesiny cząstek. Autor zauważył, że mikrosferoidy o współczynniku kształtu równym lub wyższym od 3.9 tworzą quasi-nematycznie uporządkowane wielowarstwowe układy. Mikrocząstki w tych układach są zorganizowane w określonym kierunku. Doktorant przeprowadził również badania mechaniczne uzyskanych wielowarstw mikrosferoid metoda nanoindentacji stwierdzając, że mają one większy moduł sprężystości i większą twardość niż wielowarstwy mikrosfer. W ostatniej części rozprawy doktorskiej (**Rozdział 10**) opisane zostały wyniki badań związane z funkcjonalizacją powierzchni mikrosfer i mikrosferoid oraz ich charakterystyką. W tym celu Doktorant przeprowadził szereg reakcji, w wyniku których wytypował metody umożliwiające mu wprowadzenie grup karboksylowych oraz aminowych na powierzchnię mikrosferoid, a funkcjonalizowane struktury charakteryzował pod kątem ich morfologii, składu chemicznego oraz stabilności. Następnie, zsyntezowane przez Doktoranta cząstki sferyczne i sferoidalne z powierzchniowym ładunkiem dodatnim zostały przekazane do badań adsorpcji na podłożach stałych o ładunku ujemnym, a wyniki zostały przez Doktoranta zwięźle przedstawione w pracy. Uzyskane na tym etapie pracy rezultaty mogą stanowić narzędzie do analizy oddziaływań biomolekuł z powierzchniami.

W części rozprawy doktorskiej dotyczącej dyskusji wyników zauważyłam kilka nieprecyzyjnych fragmentów pracy i nieścisłości, na które z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę Autora. Chciałabym także prosić o komentarz w odniesieniu do elementów dyskusyjnych.

W podrozdziale 6.3.1 dotyczącym syntezy i charakterystyki dwóch typów makromonomerów: poli(eteru etoksyetylowo-glicydylowego) oraz poliglicydolu zrozumienie przedstawionych przez

Doktoranta danych stanowi pewną trudność. Opis, rysunki i tabele są przedstawione niekonsekwentnie. Dla przykładu, Autor przedstawia wzór na obliczenie masy molowej makromonomeru poliglicydolu (wzór 25) przywołując widmo makromonomeru poli(eteru etoksyetylowo-glicydylowego). Dodatkowo bez wyjaśnienia pozostaje sposób obliczenia stopnia polimeryzacji i masy molowej makromonomeru poli(eteru etoksyetylowo-glicydylowego). Ponadto opis metodologii GPC na str. 61 sugeruje, że Doktorant wyznaczył masy molowe makromonomeru poli(eteru etoksyetylowo-glicydylowego) (gdyż jako eluent użyto chlorku metylenu), chociaż nagłówek dotyczy poliglicydolu. Nie jest także jasne, na jakiej podstawie, stosując metodę kalibracji czy metodę absolutną, oznaczono masy molowe. Wreszcie, wątpliwości wzbudza sposób wyznaczenia teoretycznego stopnia polimeryzacji dla poli(eteru etoksyetylowo-glicydylowego) (str.67) w świetle wartości mas molowych przedstawionych w Tabeli 3. Czy Doktorant może wyjaśnić skąd wynika prawie dwukrotna rozbieżność między DP teoretycznym, a DP obliczonym na podstawie widm NMR i otrzymanym z GPC?

W części dotyczącej syntezy i charakterystyki mikrosfer i mikrosferoid wątpliwość wzbudza wysuwanie wniosku o braku degradacji łańcuchów polimerowych podczas wydłużania mikrosfer w oparciu o przedstawione wyniki uzyskane z techniki GPC (rozdział 7.3.1). Doktorant słusznie wprawdzie zauważa, że na wartości uzyskanych mas molowych wpływ może mieć obecność PVA na mikrosferoidach (której ilość może zależeć od współczynnika kształtu) czy selektywna rozpuszczalność próbek kopolimerów w DCM, to jednak dyskusja jest niewystarczająca i nie uwzględnia innych aspektów. Rozwinięcie dyskusji i wyjaśnienie swoich obserwacji w tym temacie byłoby ciekawym uzupełnieniem odpowiedzi na recenzję.

W odniesieniu do tej części pracy nasunęło mi się dodatkowo kilka pytań. Czym można wytłumaczyć różnice w potencjale zeta dla poszczególnych mikrosfer, szczególnie dla roztworów o wyższym stężeniu soli (rys. 35)? Czy Doktorant próbował może ustalić czy PVA jest zaadsorbowany na całej powierzchni mikrosferoid? Jak Doktorant ocenia możliwość wykorzystania techniki DLS do pomiarów rozmiarów cząstek sferoidalnych, szczególnie o wysokim współczynnikiem kształtu (Autor nie komentuje wyników z Tabeli 10)?

W części dotyczącej samoorganizacji mikrosferoid i ich funkcjonalizacji w rozdziale 8.2.1. nie wystarczająco zostało wyjaśnione na czym polega „niepowodzenie” przeprowadzenia eksperymentu osadzania cząstek w danych warunkach (próbki IIa-c i IIIa-c). Dodatkowego komentarza wymaga również sposób interpretacji wyników XPS warstwy powierzchniowej mikrosferoid po modyfikacji (Tabela 23). Dlaczego porównując skład warstwy powierzchniowej po modyfikacji odnosi się Pan do mikrosfer (PS/PGI3m (PVA)), a nie do mikrosferoid przed modyfikacją? Jak można wytłumaczyć obecność tlenu i węgla pochodzącego z ugrupowań C-O-C w warstwie powierzchniowej mikrosfer PS/PGI3m(PVA) skoro dla cząstek PS/PGI2 (Tabela 13) nie obserwowano tych sygnałów uzasadniając

to pokryciem mikrosfer przez PVA? Dlaczego na widmie szczegółowym PS/PGI_{3,5,18}COOH, analizując linię spektralną O i C, nie zaobserwowano ugrupowania pochodzącego od grupy karboksylowej?

W rozprawie doktorskiej natknęłam się również na drobne błędy:

- Nazwa „*polieter etoksyetylowy α -tert-butoksylo-w-winylobenzylopoliglicydol*” (str. 67, 69, 71) jest niewłaściwa. Czy Doktorant może zaproponować nazwę dla makromonomeru poliglicydolu z chronioną grupą hydroksylową?
- Tabela 2 – liczba moli makromonomeru poliglicydolu użytego do otrzymania mikrosfer PS/PGI1m jest błędnie obliczona. Ponadto Autor twierdzi (str. 72), że do syntezy mikrosfer zastosował 1 z dwóch otrzymanych przez siebie makromonomerów poliglicydolu, jednak co innego wynika z tabeli 2. Proszę o wyjaśnienie tej rozbieżności.
- W tabeli 13 pominięto dane dotyczące składu warstwy powierzchniowej „*mikrosfer wyizolowanych z folii PVA*”, trudno jest więc śledzić dyskusję Doktoranta. Brakuje też wyjaśnienia jak uzyskano te mikrosfery.
- Autor dość często wymiennie stosuje pojęcia „*mikrosfera*” i „*mikrosferoid*”, w efekcie komplikując zrozumienie tekstu.
- Autor w całej rozprawie używa określenia „*cząstki sferyczne/sferoidalne o budowie jądro-powłoka*”, choć w tytule rozprawy opisuje je jako rdzeń-powłoka.

Z obowiązku recenzenta, na koniec mojej oceny, odniosę się również do edycyjnej strony rozprawy. Język rozprawy pod względem merytorycznym jest dobry. Przy redagowaniu pracy Autor nie uniknął błędów stylistycznych (skomplikowane konstrukcje zdaniowe), interpunkcyjnych (nadmiar lub brak znaków) i edytorskich (np. błędy w symbolach próbek, błędy numeracji w spisie treści, literówki). Pojawiają się również nieprecyzyjne sformułowania czy też żargonowe określenia. Sprawia to, że miejscami pracę czyta się trudno. Przykłady powyższych niedociągnięć przytaczam poniżej:

- W wykazie skrótów brakuje symboli użytych dla opisu makromonomerów, mikrosfer oraz mikrosferoidów wraz z ich precyzyjnym objaśnieniem. Zaproponowane przez Autora symbole dla tych różnych układów są bardzo podobne, dodatkowo Autor dość często popełnia błędy literowe w tych oznaczeniach (np. tabela str. 86, zdjęcie SEM str. 83, rys. 31), co stanowi utrudnienie w analizie przedstawionych danych.
- Skrót myślowy: „*sposób uruchomienia cząstek zależy od polimeru cząstek*” (str.10,11); „*(...) na całej powierzchni kropli ciała stałego zajmowanej przez kroplę*” str. 36; „*zrywanie łańcuchów polimerowych*” (str.89)
- Słownictwo: „*oligomery poliglicydolu*” czy oligomery glicydolu (str. 65), „*glicydol zabezpiecza się...*” - zabezpiecza się grupę hydroksylową glicydolu (str.66)
- W Bibliografii podwojona pozycja literatura 1 i 62 oraz 100 i 124
- Wzór o numerze 13 i 21 to te same wzory. Wzór 28 powinien uwzględniać fakt, że stopień wydłużenia folii Doktorant podaje w %.
- Autor dość często powiela tekst (str. 121, str. 155, str. 124 i 126)

Podsumowanie

Wartość merytoryczną pracy doktorskiej oceniam dobrze. Uwagi, które zawarłam w recenzji mają charakter dyskusyjny, nie podważają wartości naukowej pracy i mam przekonanie, że zostaną wyjaśnione podczas obrony pracy doktorskiej.

Badania Doktoranta pozwoliły na opracowanie metod samoorganizacji mikrosferoid PS/PGI o funkcyjnej, hydrofilowej powłoce w układy jedno- i wielowarstwowe, w których mikrosferoidy układają się w uporządkowane domeny typu nematycznego. Interesującym rozszerzeniem tematyki pracy są również badania dotyczące funkcjonalizacji powierzchni otrzymanych mikrosferoid oraz zaproponowanie ich wykorzystania do badania procesów adsorpcji/desorpcji na podłożach stałych, co może być przydatne w modelowaniu oddziaływań substancji biologicznie aktywnych np. białek z powierzchniami. Wyniki uzyskane w pracy zostały opublikowane z 4 artykułach, co oznacza, że przeszły wnikliwy proces recenzji i zdobyły uznanie środowiska naukowego. Dodatkowo mgr inż. Damian Mickiewicz jest współautorem 2 prac przeglądowych związanych z tematyką pracy doktorskiej oraz 17 wystąpień konferencyjnych, w tym 8 na których prezentował osobiście wyniki związane z tematyką pracy. Z przedstawionych informacji wynika również, że część jego badań prowadzona były w ramach grantu badawczego finansowanego ze środków NCN. Na tej podstawie można stwierdzić, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa stanowi wartościowe osiągnięcie naukowe, zawierające istotne elementy nowości naukowej.

W swoich badaniach Doktorant wykazał się ogólną wiedzą teoretyczną i praktyczną, która umożliwiła mu zrealizowanie celów badawczych. Uzyskane przez Doktoranta wyniki przyczyniają się do poszerzenia wiedzy na temat możliwości uzyskania zorganizowanych sferoidalnych układów polimerowych o strukturze kryształów koloidalnych.

Osiągnięte rezultaty pozwalają stwierdzić, że Doktorant w trakcie realizacji pracy doktorskiej nabył doświadczenie umożliwiające mu inicjowanie w przyszłości samodzielnej tematyki badawczej. Dodatkowo z wykazu dorobku naukowego wynika również, że aktywność Autora związana z rozpowszechnianiem wiedzy chemicznej, w postaci wystąpień ustnych, opracowań książkowych, publikacji w czasopismach edukacyjnych i serwisach internetowych czy udział w warsztatach i pokazach chemicznych, jest znacząca i warta podkreślenia.

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe wnioski stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca mgr. inż. Damiana Mickiewicza spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki w odniesieniu do rozpraw doktorskich (art. 13 ust. 2 i 4 z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie pana mgr. inż. Damiana Mickiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kinga Ultrata-Wasojek