



Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. "Adsorpcja białek na smektycznych glinokrzemianach"
autorstwa Pana mgr inż. Krzysztofa Kolmana

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pt. "Adsorpcja białek na smektycznych glinokrzemianach" wykonana została przez Pana mgr inż. Krzysztofa Kolmana w Zakładzie Inżynierii i Technologii Polimerów, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Jacka Pięłowskiego i dr. inż. Adama Kiersnowskiego jako promotora pomocniczego.

Stosowane w medycynie różnorodne naturalne lub syntetyczne materiały, niebędące lekami, których zadaniem jest uzupełnienie lub zastąpienie tkanek narządu albo jego części, charakteryzujące się takimi własnościami jak: biogodność, biofunkcjonalność, bakteriostatyczność, oraz posiadaniem odpowiednich właściwości mechanicznych i elektromagnetycznych w zależności od zastosowania, nazywamy biomateriałami. Biomateriały stosuje się również do produkcji osłon leków, których zadaniem jest stopniowe uwalnianie leku poprzez swoją biodegradowalność. Do materiałów tych zalicza się wybrane: polimery, ceramiki, związki węgla, metale i ich związki, kompozyty, materiały zmodyfikowane itd.

Smektyty należące do grupy glinokrzemianów poddane modyfikacjom mogą spełniać wymagania stawiane biomateriałom a przez to być stosowane, jak słusznie zauważa autor rozprawy, w medycynie, przemyśle spożywczym, czy kosmetycznym.

Dlatego też mgr inż. Krzysztof Kolman postawił sobie zadanie przeprowadzenia badań wpływu zmian pH na modyfikację smektycznych glinokrzemianów poprzez badanie adsorpcji białek. Przeprowadzono ocenę



zmian struktury cząstek smektytów jakie zaszły pod wpływem adsorpcji białek oraz badania adhezji wybranych białek do powierzchni smektytów.

W celu potwierdzenia otrzymanych wyników eksperymentalnych jak i lepszej wizualizacji, autor rozprawy przeprowadził symulacje komputerowe adsorpcji białek.

Recenzowana rozprawa zawiera się na 107 stronach, posiada wprowadzenie, 4 rozdziały merytoryczne, podsumowanie i wnioski oraz bibliografię zawierającą 190 pozycji. Tekst ilustrowany jest kolorowymi rysunkami, wykresami oraz tabelami.

Autor rozprawy zamieścił też przydatny dla czytelnika wykazu skrótów, symboli, spis rysunków, tabel oraz dodatkowo zamieścił wykaz publikacji i prezentacji konferencyjnych stanowiących jego dorobek naukowy. Rozprawa zawiera również streszczenie w języku polskim jak i angielskim.

Po krótkim wprowadzeniu, pierwszy rozdział rozprawy – *Cele pracy* – zawiera bardzo zwięzły opis celu pracy oraz jej założeń. W tym rozdziale zabrakło mi postawienia tezy tej rozprawy, którą można by sformułować jako: **użycie wybranych białek do modyfikacji smektycznych glinokrzemianów pozwala na otrzymanie biomateriału**. Jednakże tak postawiona teza wymagała by przeprowadzenia badań z zakresu biouzgodności czy biodegradowalności czy toksyczności czego nie zaplanowano w tej pracy. Przy postawionym celu i założeniach niniejsza rozprawa ogranicza się do badań z zakresu badań podstawowych co w niczym nie umniejsza jej znaczenia.

Drugi rozdział – *Przegląd literatury* – poświęcony jest dość starannemu opisowi budowy i właściwości smektytów i białek, ich modyfikacji oraz zastosowań. Osobny podrozdział poświęcony jest adsorpcji białek na powierzchni ciał stałych będący doskonałym wstępem do opisu adsorpcji białek na smektytach oraz opisu zastosowań układów białko – smektyt. Rozdział ten zawiera wiele istotnych informacji, bez których czytelnik nie mógłby zagłębić się w istotę zagadnienia i części eksperymentalnej. Jest on również dowodem na dbałość autora o dokonanie rzetelnego przygotowania się teoretycznego z zakresu interdyscyplinarnych badań obejmujących nie tylko dobrze znane



autorowi zagadnienia inżynierii i technologii materiałów ale również zagadnienia z zakresu biologii.

Trzeci rozdział – *Część eksperymentalna* – jest poświęcony opisowi wybranych próbek smektytów, którym był naturalny monmorylonit sodowy Nanofil 116, syntetyczna fluoromika sodowa Somasif ME 100, białka jaja kurzego oraz izolowane białka jaja kurzego: lizozymu (LYS), owalbuminy (OVA), oraz owotransferyny (OVT). W opisie tym brakuje uzasadnienia użycia białka jaja kurzego. Choć niewątpliwie stanowi ono doskonałe źródło białek.

Opisano procedury przygotowania podłoży do immobilizacji cząstek smektytów, opis przeprowadzonych pomiarów i aparatury pomiarowej. Do badań autor rozprawy zastosował szereg metod rozpoczynając od badań elektroforetycznych poprzez dyfraktometrię rentgenowską, dynamiczne rozpraszanie światła, zastosowanie mikrowagi kwarcowej, spektroskopii i mikroskopii sił atomowych (AFM) po mikroskopię elektronową, kończąc na symulacjach komputerowych. Dobór metod badawczych jest jak najbardziej właściwy i świadczy o dużych umiejętnościach eksperymentalnych doktoranta.

W dość przejrzysty opis zawarty w tym rozdziale wkradło się kilka niejasności. Na str. 32 w par. 3.3.1 przedostatnie zdanie tego paragrafu zdaje się zawierać nieścisłość logiczną. Trudno jest przechowywać powierzchnię krzemu w 0.1 M roztworze HCl. Zapewne też nie jest tu mowa o grupach NH_2 lecz o fragmencie plastra monokryształu krzemu. Podobnie w par. 3.3.2 opisano przygotowanie powierzchni złota a następnie w trzecim zdaniu mówi się o oczyszczonym kryształku kwarcu. Zapewne jest to skrót myślowy, który nie powinien występować w rozprawach naukowych. Trudno też jest zaakceptować stwierdzenie zawarte w par. 3.4.3 na str. 35 iż próbki NSN suszono w próżni w temperaturze 30°C . Jeśli próbka umieszczona jest w próżni to należy podać parametry tejże i jednocześnie zdefiniować o jakiej temperaturze jest tu mowa.

Bardzo ciekawym pomysłem było przeprowadzenie symulacji komputerowych układów smektyt – białko, które niewątpliwie stanowią wartość dodaną tej rozprawy zasługując na uwagę. Czytając wyjaśnienie znaczenia promienia odcięcia (patrz str. 42, 10 - 12 linijka tekstu od góry) warto zauważyć, że promień odcięcia dotyczy nie zaniku oddziaływań elektrostatycznych a raczej należało by powiedzieć iż te oddziaływania są już (można) praktycznie zaniedbywalne.



Najistotniejszy rozdział rozprawy a zarazem najobszerniejszy to rozdział czwarty – *Dyskusja rezultatów badań* – zasługujący na uwagę. Przedstawiony w nim opis jest klarowny i świadczy o staranności w planowaniu badań. Zawarte w nim wyniki świadczą o zrozumieniu badanych zagadnień i ogromie pracy eksperymentalnej jaki został włożony przez autora.

Nie mniej jednak wg mojej opinii do rozdziału wkradły się pewne nieścisłości. Rys. 4.2 na str. 45 przedstawia analizę cyfrową zarejestrowanych elektroforegramów, gdzie na rys B zaprezentowano chyba **wartość ułamka zawartości poszczególnych białek w zależności od czasu adsorpcji** a nie **zmiany ułamka zawartości...**

Rys. 4.3 na str. 48 przedstawia krzywe XRD na których trudno jest dopatrzeć się przypisanych w tab. 4.1 na str. 49 maksimum dyfrakcyjnych: dla czasu 20 s dla kąta $2\Theta = 2.3^\circ$, dla czasu 10 s dla kąta $2\Theta = 4.7^\circ$, dla czasu 2 s dla kąta $2\Theta = 6.3^\circ$, natomiast nie jest skomentowane wyraźnie widoczne maksimum dla kąta $2\Theta = 8.8^\circ$.

Na rys. 4.12 przedstawiającym krzywe zmian częstotliwości... nie oznaczono czasu $t_2 - t_3$.

Zastrzeżenie tez budzą histogramy sił adhezji ostrza mikrobjelki do powierzchni płytek SSM przedstawione na rys. 4.15 str. 67. Nasuwają się następujące pytania: Jaki parametr zadecydował o doborze szerokości przedziałów reprezentowanych na histogramach? Dlaczego zakresy poszczególnych histogramów są różne? W jaki sposób wyznaczono średnie wartości sił adhezji? Np. dla przypadku A – przed adsorpcją białek – zaprezentowany rozkład można postrzegać jako rozkład dwuskładnikowy. Jaka wtedy była by interpretacja? Jak wyznaczono wartość średnią 3.1 nN?

Analizując tab. 4.4 trudno oprzeć się wrażeniu, że pojęcie *pozorna masa zaadsorbowanych warstw białek* może być myląca.

Jak już wcześniej wspomniałem, symulacje komputerowe adsorpcji białek na smektytach, stanowią wartość dodaną do tej pracy. Przedstawiony model oraz wyniki symulacji jest bardzo przejrzysty i doskonale oddaje obraz zachodzących modyfikacji smektytu.

Rozdział piaty – *Podsumowanie i wnioski* – stanowi bardzo zwięzły opis wszystkich wyników eksperymentalnych. Trochę brakuje odniesienia się do



celów a właściwie tezy tej rozprawy. Nie mniej jednak, z punktu badań interdyscyplinarnych i badań podstawowych zaprezentowane wyniki stanowią ważny przyczynek do rozwoju badań biomateriałów.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić również uwagę na liczne błędy edytorskie, które jednak nie umniejszają wartości rozprawy a jedynie przeszkadzają w swobodnym jej czytaniu a czasem nawet zrozumieniu. I tak przykładowo:

- str. 13 – 12 linijka od góry, „y opisuje **ilość kationów**”, powinno być **liczbę**
- str. 16 – 8 linijka od dołu powinno być **używanych**,
- str. 17 – 2 linijka od dołu powinno być **główną**,
- str. 18 – 2 linijka od dołu powinno być **Ziemi** (mowa z planecie),
- str. 19 – 2 linijka od góry powinno być **białkach**,
- str. 19 – 3 linijka od góry powinno być **jest połączona**,
- str. 19 – 10 linijka od góry powinno być **aminokwasu z grupą**,
- str. 19 – 11 linijka od góry powinno być **wchodzące**,
- str. 20 – 5 linijka od góry powinno być **helisy**,
- str. 22 – 2 linijka od góry powinno być **temperaturze**,
- str. 24 – 5 linijka od góry powinno być **słabą**,
- str. 24 – 1 linijka od dołu powinno być **temperatura**,
- str. 27 – 1 linijka od dołu powinno być **leczeniu**,
- str. 28 – 2 linijka od góry powinno być **Arystotelesa**,
- str. 30 – 1 linijka od góry należało zastosować np. skrót **jedn./mg**,
- str. 31 – 1 linijka od dołu powinno być **rozpuszczenie**,
- str. 32 – 9 linijka od góry powinno być **nadtlenek**,
- str. 39 – 12 linijka od góry powinno być **kHz**,
- str. 39 – 16 linijka od góry powinno być **było**,
- str. 40 – 11 linijka od góry powinno być **Sprawdzono**,
- str. 41 – 6 linijka od góry powinno być **detektora**,



- str. 41 – 18 linijka od góry powinno być **biomakrocząsteczek**,
- str. 41 – 2 linijka od dołu powinno być **opisywane są**,
- str. 61 – 7 linijka od góry powinno być **cząstek**,
- str. 65 – 2 linijka od góry powinno być **W niniejszej pracyanalizę**,
- str. 76 – 6 linijka od dołu powinno być **małą**.

Mimo krytycznych uwag zawartych w recenzji, należy podkreślić, że rozprawę czyta się z przyjemnością albowiem autor zadbał o poprawność logiczną.

Podsumowując, stwierdzam, że wyniki z przeprowadzonych badań mają istotny wpływ na stan naszej wiedzy w zakresie badań podstawowych i interdyscyplinarnych mających na celu określenia własności smektycznych glinokrzemianów w aspekcie rozwoju biomateriałów dla potrzeb medycyny. Dlatego też, biorąc pod uwagę ogrom pracy, jaki został włożony przez Pana mgr inż. Krzysztofa Kolmana w przeprowadzenie eksperymentów jak też opracowanie otrzymanych wyników pomiarowych oraz ich interpretację, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228, z 2011 r. Nr 84, poz. 455, z 2014 r. poz. 1198.) oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora* (Dz. U. z 14.10.2014 poz. 1383) i **wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr inż. Krzysztofa Kolmana do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Prof. dr hab. Wojciech M. Kwiatek