

Szczecin, dnia 08 sierpnia 2022 r.

prof. dr hab. inż. Zbigniew Czech
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Materiałów Polimerowych
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie
ul. Pułaskiego 10, 70-332 Szczecin

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Michała Grzymajło

pt. **"Materiały kompozytowe z poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą o potencjalnym zastosowaniu do odbudowy tkanki kostnej"**

wykonanej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej

promotor: dr hab. inż. Konrad Szustakiewicz, Profesor Uczelni

1. Podstawa wykonania recenzji

Podstawa prawna: zgodna ze stanem prawnym, określonym w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t. J. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm).

Recenzja została sporządzona na prośbę Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna z dnia 6 lipca 2022 r. uchwałą nr 195/26/RDND05/2021-2024 reprezentowaną przez Przewodniczącą Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Panią prof. dr hab. inż. Grażynę Gryglewicz.

2. Przedmiot recenzji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Michała Grzymajło pt. "Materiały kompozytowe z poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą o potencjalnym zastosowaniu do odbudowy tkanki kostnej" wykonana na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej obejmuje ogółem 120 stron maszynopisu komputerowego, zawierającego 39 rycin, 23 tabel, 154 cytowanych źródeł literaturowych oraz własnego dorobku naukowego obejmującego współautorstwo 3 publikacji naukowych z listy filadelfijskiej. Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Michała Grzymajło została zrealizowana na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem dr hab. inż. Konrada Szustakiewicza, Profesora Uczelni. Dysertacja ma typowy układ dla prac naukowo-badawczych o charakterze

eksperymentalnym. Składa się z 7 rozdziałów głównych oraz 1 rozdziału uzupełniającego, obejmującego przegląd ważniejszych publikacji opisujących stan techniki w obszarze tematyki rozprawy doktorskiej. Jeżeli potraktować przedmowę, jako streszczenie w języku polskim, to zabrakło mi streszczenia w języku angielskim.

3. Ocena ogólna

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania materiałami kompozytowymi jako obszerną, interdyscyplinarną dziedziną wiedzy z zakresu ogólnych nauk medycznych, chemicznych i biologicznych, a we fragmencie współczesnej rozbudowanej medycyny potencjalną możliwością zastosowania materiałów kompozytowych na bazie poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą do odbudowy oraz regeneracji tkanki kostnej.

Recenzowana rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach multidyscyplinarnego projektu „Wielofunkcyjny materiał kompozytowy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i pro-regeneracyjnych do odbudowy tkanki kostnej,„. Tematyka pracy doktorskiej, jako jeden z etapów ww. projektu obejmowała opracowanie materiału z poli(adypinianu glicerolu) i bioszklą jako nośników dla biologicznie aktywnych peptydów. Oprócz Politechniki Wrocławskiej w konsorcjum biorą udział Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych w Warszawie (Sieć Badawcza Łukasiewicz), Uniwersytet Gdański, Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej z Gdańska oraz gdańskie firmy SensDx.

Istotny element oceny stanowi poprawność zrealizowanego celu badań, jak również użyteczny charakter pracy. Trudnością w zaprojektowaniu nowych litych oraz porowatych materiałów z dodatkiem bioszklą jest opracowanie odpowiednich materiałów kompozytowych spełniających skomplikowane wymogi fizykochemiczne, mechaniczne, reologiczne oraz biologiczne.

Opisane w pracy badania obejmują opracowanie sposobu wytwarzania składników biokompozytu, opracowanie i wytworzenie wielofunkcyjnych biomateriałów kompozytowych, określenie właściwości wytworzonych biokompozytów, optymalizacja oraz wybór i wytworzenie serii prototypowych biokompozytów. Częściowo zrealizowano także kolejny etap badań polegający na badaniu wybranych właściwości biologicznych prototypowych biokompozytów. Wytworzone próbki do badań kompozytów na zwierzętach (in vivo) będą dalej permanentnie badane po wyłonieniu w ramach przetargu odpowiedniej jednostki badawczej.

Cel pracy został jasno sformułowany, jednoznacznie została przedstawiona hipoteza badawcza, a podjęte zagadnienie jest atrakcyjne zarówno w sensie poznawczym, jak i naukowym. Szkoda, że stojący przed Doktorantem problem naukowy oraz elementy nowości naukowej nie zostały dobitnie wyszczególnione po zakończeniu przeglądu literatury zamieszczonej w rozprawie doktorskiej.

Ilość wyników z przeprowadzonych prac eksperymentalnych, niezbędnych do kontynuacji dalszych badań jest na tyle wystarczająca, że pozwala zrozumieć w pełni istotę badanych zagadnień. Stosowane w pracy metody badawcze są oparte głównie na rutynowych znormalizowanych procedurach, obejmujących na przykład wyznaczanie adekwatnych ciężarów cząsteczkowych oraz polidispersyjności techniką GPC, oznaczanie temperatury zeszklenia T_g za pomocą techniki DSC, badania termogravimetryczne, badania widm FTIR/ATR syntetyzowanych polimerów oraz niezwykle istotne badania struktur otrzymanych związków wykorzystując spektroskopię 1H NMR.

Podjęcie metodyczne do przeprowadzonych w pracy badań umożliwiły Doktorantowi dogłębne określenie takich zależności, jak wpływ temperatury na przebieg sieciowania termicznego zarówno materiałów litych jak i porowatych oraz rolę sieciowania chemicznego jako alternatywnej metody w przekształceniu PGA poli(adypinianu glicerolu) w materiał o charakterze aplikacyjnym. Doktorant określił tym samym poszukiwane oraz akceptowalne technologicznie parametry wytrzymałościowe przyszłych materiałów kompozytowych na bazie poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą.

Rozprawa doktorska jest napisana i zredagowana poprawnym językiem w konwencji przyjętej dla rozpraw naukowych w naukach przyrodniczych i technicznych. Niemniej w pracy można doszukać się błędów językowych, stylistycznych i terminologicznych, wynikających w głównej mierze z przekładu na język angielski czy też używanej potocznie „gwary” technologicznej. Przytoczony tutaj aspekt nie ma żadnego wpływu na ocenę wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej.

Podjęte i wykonane z sukcesem badania właściwości fizykochemicznych i mechanicznych usieciowanych termicznie materiałów kompozytowych z poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą są swoiście wartościowe zarówno z naukowego, jak i użytkowego punktu widzenia. Wobec powyższego stwierdzam, że otrzymane przez mgr inż. Michała Grzymajło rezultaty badań poszerzają znacznie wiedzę z dziedziny materiałów kompozytowych wnosząc do niej nowe wartości poznawcze, ułatwiając i umożliwiając dalsze

badania naukowo-aplikacyjne w tej niezwykle trudnej materii materiałów kopozytowych zbudowanych z biomateriałów; z możliwością odbudowy oraz regeneracji tkanki kostnej.

4. Ocena szczegółowa

Tekst poprzedzony jest objaśnieniem skrótów oraz wykazem symboli i próbek, co bardzo ułatwia czytanie rozprawy. Układ poszczególnych rozdziałów jest poprawny. Jednak zastrzeżenia budzi ich numeracja, która zwyczajowo nie obejmuje spisu literatury i rozdział ten pozostawia się nienumerowany, podobnie jak końcowe streszczenia w języku polskim i angielskim, których niestety praca nie zawiera. Podobnie cele pracy powinny zostać przytoczone bezpośrednio po przeglądzie literatury po objaśnieniu skrótów, symboli i próbek.

W pierwszym celu pracy Doktorant planuje otrzymanie poli(adypinianu glicerolu) o strukturze liniowej na drodze polimeryzacji enzymatycznej, a na str. 10 zamieszcza informację, że kataliza za pomocą wydzielonych enzymów, w przeciwieństwie do zachodzącej w naturze biegnie zazwyczaj w warunkach bezwodnych, w masie lub rozpuszczalniku organicznym. Powoduje to zmniejszenie szybkości reakcji i ogranicza jej selektywność. Czy może Pan podać wydajność tego typu reakcji?

Dysertacja Pana mgr inż. Michała Grzymajło została przygotowana starannie. Doktorant nie ustrzegł się jednak drobnych nieścisłości.

Wprawdzie trudno jest konstruktywnie krytykować przegląd literatury, niemniej tym na stronie 17 zamiast **światła** ultrafioletowego (8 wiersz od góry) powinno być **promieniowania** ultrafioletowego. Nazwa **światło** zarezerwowana jest dla promieniowania widzialnego.

Na str. 18 zamieszczono informację, że poliglikolid wykazuje moduł sprężystości 7 GPa, którego wartość jest bliska modułowi sprężystości kości (10-20 GPa). Czy to są bliskie wielkości? (16 wiersz od góry).

Nie podstawnik metylenowy, a grupa metylenowa (str. 18, 7 wiersz od dołu).

Str. 22, 8 wiersz od góry, prawidłowo **akrylanowej** od akrylanów, a nie od akryli. Popieram podawanie przez Doktoranta ciężarów cząsteczkowych polimerów w Da (Daltonach), a nie w g/mol lub bezjednostkowo.

Str. 31, 11 i 12 wiersz od dołu, prawidłowe wzory tlenków metali to: TiO_2 oraz Fe_2O_3

Ta sama str. 31, 6 i 7 wiersz od dołu, chodzi rzeczywiście o % wag. ? W pracy bardzo często zamiast % wag. podawane są zwykle %.

Str. 85, 10 wiersz od dołu powinno być materiału zamiast meteriału

Str. 99, rys. 35 powinien być przedstawiony: Odkształcenie (%) oś OY, jako funkcja naprężenia ściskającego [Mpa] na osi OX.

Za bardzo dobrą stroną rozprawy doktorskiej uważam podawanie nazwisk osób z innych Uczelni oraz Instytutów Naukowych, które wykonały istotne dla przebiegu pracy syntezy oraz modyfikacje.

Zastosowano w pracy trzy interesujące metody oczyszczania poli(adypinianu glicerolu) PGA. Oprócz rozpuszczania zanieczyszczeń i wytrącania polimeru, zastosowano dializowanie substancji małowcząsteczkowych oraz dializowanie w aparacie Soxhleta. Na początku zastosowano sieciowanie termiczne, którego „przebieg chemiczny” nie został zilustrowany w pracy. Czy mógłbym poprosić Doktoranta o uzupełnienie tej luki w trakcie obrony pracy doktorskiej? Muszę przyznać, że warunki procesu sieciowania termicznego, to jest 3h w 180°C to istne wyzwanie dla sieciowanego biopolimeru.

Między innymi, ze względu na trudności z odprowadzaniem gazowych produktów ubocznych reakcji sieciowania termicznego oraz podatność PGA na degradację termiczną zdecydowano się na sieciowanie chemiczne (rozdział 4.6.). Do tego celu wykorzystano dużą zawartość grup hydroksylowych w PGA. Jako związek sieciujący zastosowano ██████████, przy czym zilustrowany tutaj schemat sieciowania dotyczy sieciowania zewnętrznego pomiędzy poszczególnymi łańcuchami polimerowymi (sieciowanie intermolekularne). Należy jednak pamiętać, że możliwe jest również sieciowanie intramolekularne wewnątrz jednego łańcucha polimerowego. Jest to sieciowanie niepożądane, ponieważ nie podwyższa kohezji sieciowanego polimeru. Sieciowanie chemiczne PGA pozwala na otrzymanie materiału biopolimerowego o znaczeniu aplikacyjnym. Również tutaj wymieniono nazwiska osób, które przeprowadziły ww. reakcje sieciowania. Przeprowadzono również sieciowanie chemiczne materiałów porowatych, która jest już bardziej złożoną reakcją.

Opisano metodykę formowania kształtek do badań biologicznych, sieciując wszystkie kształtki 21 dni w 40°C. Z technologicznego punktu widzenia trzy tygodnie sieciowania kształtek to stosunkowo długi okres. Czy widzi Pan realną możliwość skrócenia tego czasu, a jeżeli tak, to w jaki sposób?

Szczególnie interesujące dla tego typu materiałów polimerowych z potencjalnym zastosowaniem, jako budulec do odbudowy tkanki kostnej była ocena ich cytotoksyczności. Okazało się, że badane w pracy biomateriały polimerowe uznawane są za niecytotoksyczne również względem komórek kostnych/osteoblastów.

Zasadniczą część pracy zamyka rozdział 5. Wyniki i dyskusja, w którym mgr inż. Michał Grzymajło formułuje uogólnione trafne obserwacje w postaci ciekawych wniosków. Punkt ten zawiera odniesienia do praktycznego zastosowania materiałów kompozytowych na bazie poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą, co postrzegam jako cenne i wskazujące na dobrą znajomość przez Doktoranta aspektów praktycznego zastosowania wyżej wymienionych kompozytów polimerowych.

Doktorant wyznaczył optymalną temperaturę syntezy PGA oraz przedstawił wpływ temperatury reakcji syntezy PGA na ciężar cząsteczkowy polimeru oraz jego polidispersyjność. Rys. 6 jest wg mnie nieco niefortunny. Wbrew pozorom, nie wynika z niego jednoznacznie, że wzrost temperatury syntezy powoduje wzrost ciężarów cząsteczkowych PGA. Wg kryterium, że polimery tego typu są amorficzne oraz, że charakteryzują się temperaturą zeszklenia poniżej -30°C , powinny wykazywać właściwości samoprzylepne.

Na rys. 10 przedstawiono strukturę usieciowanego (termicznie czy chemicznie?) PGA oraz rolę, jaką odgrywają w procesie sieciowania grupy hydroksylowe. Opisano szczegółowo optymalizację procesu oczyszczania PGA, oraz zbadanie skuteczności oczyszczania produktów metodami spektroskopii ^1H NMR oraz chromatografii żelowej. Najwyższy ciężar cząsteczkowy PGA otrzymano w wyniku syntezy prowadzonej w 24 h. Krótsze oraz dłuższe czasy syntezy prowadziły do zmniejszenia ciężaru cząsteczkowego PGA. Analiza TGA dowiodła znacznie mniejszej stabilności termicznej wydzielonych zanieczyszczeń w porównaniu z oczyszczonym produktem.

Jak już wcześniej wspominałem, w przypadku sieciowania chemicznego osiągnięto bardziej obiecujące wyniki, jak w przypadku sieciowania termicznego. Sieciowanie termiczne, szczególnie w wysokich temperaturach rzędu $180\text{-}200^{\circ}\text{C}$ w czasie 4-5 h prowadzi do nadmiernego usieciowania biopolimerów, któremu towarzyszy degradacja termiczna, prowadząca między innymi do powstawania nierozpuszczalnych frakcji oraz do ciemnienia badanych materiałów. Wykluczono również wpływ tlenu atmosferycznego na przebieg reakcji sieciowania termicznego PGA.

Interesujące wyniki otrzymano również obserwując reakcje sieciowania PGA za pomocą różnych stężeń █████ przy zastosowaniu techniki DSC.

Jednym z ostatnich etapów pracy doktorskiej było wytworzenie oraz badanie kompozytów PGA-Bioszklą zawierających 20 % wag. oraz 40-80 % wag. bioszklą, analizując mikrofotografie SEM. Pomijając opisane w pracy problemy ze skurczem oraz z nieodpowiednią wytrzymałością próbek uzyskano dobrą jakość kompozytu na bazie próbki uzyskanej z 30 %

roztworu PGA. Dozowanie bioszklą z zawiesiny wykorzystano przy próbach wytwarzania „biorusztowań“ poprzez sieciowanie chemiczne.

Najciekawsze wnioski recenzowanej rozprawy doktorskiej to synteza poli(adypinianu glicerolu) (PGA) o możliwie największym ciężarze cząsteczkowym oraz liniowej strukturze potwierdzonej badaniami FTIR oraz ^1H NMR optymalizując przy tym temperaturę (40°C) oraz czas trwania syntezy (24 h). Usuwanie zanieczyszczeń przeprowadzono również w 40°C , unikając wyższych temperatur sieciowania PGA. Z zastosowanych metod oczyszczania wybrano dializę w układzie aceton-aceton. Stosując technikę DSC zbadano sieciowanie termiczne dochodząc jednocześnie do wniosku, że lepsze będzie zastosowanie w tym układzie sieciowania chemicznego. Sieciowanie chemiczne przeprowadzono, stosując [REDACTED]. Niska temperatura reakcji sieciowania chemicznego wynosząca 40°C umożliwia domieszkowanie materiałów niestabilnych termicznie, ale aktywnych biologicznie, np. peptydami. Usieciowany PGA za pomocą [REDACTED] nie wykazuje cytotoksyczności. W ostatnim etapie pracy przeprowadzono badania układów PGA-bioszklą, optymalizację ich wytwarzania oraz charakterystykę otrzymanych kompozytów. Pomimo wielu problemów z małą zwilżalnością bioszklą roztworem PGA, udało się dozowanie napelnacza w formie zawiesiny w polimerze rozpuszczonym w 1,4-dioksanie. W trakcie badań wytrzymałościowych na ściskanie zaobserwowano powrót badanych kompozytów do pierwotnego kształtu po redukcji obciążenia. Materiały tego typu mogą znaleźć zastosowanie w stomatologii przy rekonstrukcji tkanki kostnej.

Mimo uwag krytycznych wyrażam opinię, że założony cel t.j. możliwość aplikacji polimerowych materiałów kompozytowych z poli(adypinianu glicerolu) oraz bioszklą do odbudowy tkanki kostnej został osiągnięty.

5. Podsumowanie oceny

Rozprawę doktorską Pana mgr inż. Michała Grzymajło oceniam pozytywnie i stwierdzam, że wnosi nową wiedzę do dziedziny nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna.

Doktorant wykazał się bez wątpienia umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych, korzystania z nowoczesnych narzędzi badawczych i dowiódł, że posiada adekwatną wiedzę teoretyczną oraz praktyczną w prezentowanej dyscyplinie naukowej.

Stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska odpowiada wszystkim warunkom stawianym rozprawom doktorskim określonym w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie Pana mgr inż. Michała Grzymajło do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Lucek', is written on the page.