



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

Warszawa, 20.12.2023 r.

### Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak

pt. „Nano- i mikrocząstki hydrożelowe z funkcjonalnymi filmami polielektrolitowymi jako nośniki substancji aktywnych pochodzenia naturalnego”

promotor: prof. dr hab. inż. Kazimiera Wilk

promotor pomocniczy: dr inż. Marta Tsirigotis-Maniecka

Choroby nowotworowe cechują się dużą śmiertelnością i pomimo niewątpliwych postępów w zakresie metod leczenia (m.in. terapia genowa, immunoterapia), często nadal jesteśmy bezsilni, jeśli chodzi o ich skuteczne wyleczenie. Dlatego też wszelkie działania badawcze mające na celu opracowanie nowych metod terapeutycznych, w tym efektywnych nośników leków o działaniu przeciwnowotworowym, jak również przeciwzapalnym, należą do ważnych wyzwań współczesnej nauki. Wiodące znaczenie ogrywają tutaj, obok badań z obszaru biologii molekularnej i szeroko pojętej medycyny, prace badawcze prowadzone dotyczące układów koloidalnych, skoncentrowane na opracowaniu powtarzalnych i dobrze kontrolowanych metod wytwarzania układów dyspersyjnych o ściśle wymaganych właściwościach pod względem wymagań danego zastosowania terapeutycznego. Badania takie powinny obejmować także charakterystykę fizykochemiczną i biologiczną wytworzonych układów, w celu m.in. określenia szybkości uwalniania substancji czynnych (tj. zagadnień transportu masy) oraz skuteczności ich działania w modelowych układach komórkowych. Ww. zagadnienia mieszczą się w domenie dyscypliny inżynieria chemicznej, obecnie obejmującej inżynierię chemiczną i procesową, technologię chemiczną oraz biotechnologię przemysłową. O znaczeniu metod inżynierii chemicznej w rozwiązywaniu problemów z zakresu medycyny tj. fizjologii, diagnostyki i terapii, świadczy fakt powołania do życia w 2022 r. w ramach Europejskiej Federacji Inżynierii Chemicznej (EFCE) sekcji pn. *Chemical Engineering as Applied to Medicine (Zastosowania inżynierii chemicznej w medycynie)*.

W kontekście przytoczonych wyżej faktów, należy stwierdzić, że tematyka doktoratu p. mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak została bardzo celnie wybrana i przypisana właściwej dyscyplinie naukowej

#### Ocena formalna pracy

Doktorat ma charakter monografii napisanej w języku polskim, zawierającej obszerny spis aktualnej literatury związanej z problematyką badań (244 pozycje). Zasadnicza część pracy liczy 174 strony, a na kolejnych 43 stronach zamieszczono załączniki (m.in. opis eksperymentów wstępnych



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

prowadzących do znalezienia stałych parametrów procesu wytwarzania nośników oraz wybrane dane pomiarowe w formie wykresów). Układ pracy jest klasyczny, tj. obejmujący: wprowadzenie, część teoretyczną, sformułowanie celu i zakresu pracy, opis metodyki części eksperymentalnej, dyskusję wyników (a w zasadzie prezentację wyników wraz z dyskusją), wnioski, spis literatury i załączniki. Praca zawiera więc wszystkie elementy niezbędne do zrozumienia zarówno toku postępowania Doktorantki w trakcie prowadzenia badań, jak i proponowanej przez nią interpretacji uzyskanych wyników. W odpowiedni sposób są zachowane proporcje w stosunku do objętości części teoretycznej i badawczej. Może jedynie pewną niekonsekwencją jest pojawienie się w części dotyczącej prezentacji i dyskusji wyników dość rozbudowanych wprowadzeń o charakterze przeglądu literatury (m.in. w części dotyczącej emulsyfikacji/homogenizacji wysokociśnieniowej – rozdział 5.3.1., str. 107, badań wytrzymałości cząstek – rozdział 5.4.5, str. 137, czy też badań biologicznych – rozdział 5.5, str. 141-142). Takie informacje lepiej byłoby zamieścić w części literaturowej lub, ewentualnie, przy opisie stosowanej metodyki.

Praca jest zredagowana starannie i napisana poprawnie pod względem językowym, choć niekiedy obarczona pewnym żargonem. W mojej subiektywnej ocenie pewne wątpliwości budzi sformułowanie „cząstki enkapsulowane” jakąś substancją (np. ekstraktem z żurawiny). Tzn. o ile z punktu widzenia faktu, że prowadzony jest proces prowadzący do enkapsulacji substancji  $x$  wewnątrz cząstek, określenie takie można uznać za opisujące ten proces (tj. substancja  $x$  jest enkapsulowana w cząstkach, a więc cząstki zostały niejako zaenkapsulowane substancją  $x$ ), to jednak omawiając już cząstki jako takie (np. charakteryzując ich właściwości), należałoby raczej mówić o cząstkach enkapsulujących substancję  $x$ , ewentualnie o cząstkach zawierających zaenkapsulowaną substancję  $x$ . Innymi słowy, to substancja  $x$  jest enkapsulowana w cząstkach a nie cząstki są enkapsulowane substancją  $x$  (no chyba, że substancja ta utworzy tylko zewnętrzną powłokę cząstek). Oczywiście użyte przez Doktorantkę skrótove sformułowanie pozwala bez problemu śledzić sens wypowiedzi, jednak nie jest oczywiste.

Niezbyt fortunne jest także określenie „właściwości wiskoelastyczne” (kalka z jęz. angielskiego: *viscoelastic properties*), podczas, gdy w języku polskim dobrze i zrozumiale funkcjonuje termin „właściwości lepkością”.

Czytając pracę zauważyłem też kilka innych błędów redakcyjnych, choć nie mają one większego znaczenia dla czytelności pracy. Np. równania matematyczne powinny zostać ponumerowane. Można się również domyślać, że czas liofilizacji „3/4 dni” oznacza od 3 do 4 dni a nie 0,75 dnia (str. 60; w ogóle bardziej konsekwentnie można było w tym akapicie podać czas trwania wszystkich procesów wyrażony jedynie w godzinach zamiast w dniach lub godzinach). Sformułowanie „stabilność koloidalna nanocząstek powyżej  $\pm 30\text{mV}$ ” (str. 84) jest nieprecyzyjnym skrótem myślowym – należałoby raczej napisać „stabilność nanocząstek charakteryzowana przez wartość bezwzględną potencjału  $\zeta$  większą niż 30 mV”. Na str. 129-130 pojawia się zdanie „Badane układy miały kształt sferyczny bądź zbliżony do elipsy”, które jest podwójnie błędne. Po pierwsze mówimy tu o cząstkach a nie układach, po drugie elipsa jest figurą płaską, więc z pewnością trójwymiarowe cząstki nie przyjmują tego kształtu. Nie mam też pewności, czy w pełni uprawnione jest zamienne stosowanie



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

terminów „proliferacja”, „przeżywalność”, „żywołność”, „namnażanie” przy omawianiu wyników testu SRB (oznaczenie całkowitej zawartość białka w komórkach) - str. 146. Zauważono też błędne odwołania na str. 120 do rys. 7.11 (powinno być 7.14) i 7.12 (powinno być 7.15).

### Ocena merytoryczna

W części teoretycznej Doktorantka postanowiła przedstawić w oparciu o najświeższe dane literaturowe najważniejsze informacje z zakresu mikro – i nanonośników hydrożelowych wraz z podstawowymi metodami ich wytwarzania i funkcjonalizacji. Omówione także zostały składniki lecznicze pochodzenia naturalnego, które były wykorzystywane w dalszych badaniach opisanych w doktoracie. Osobne podrozdziały tej części poświęcono kwestiom technologicznym wytwarzania cząstek i enkapsulacji w ich wnętrzu lub substancji aktywnych oraz wybranym zagadnieniom planowania eksperymentu (*design of experiment* - DoE).

W oryginalnej części badawczej, Doktorantka postawiła sobie za zadanie wytworzenie, a następnie scharakteryzowanie pod względem fizykochemicznym i biologicznie-czynnym, nano- i mikrocząstek hydrożelowych z zaenkapsulowanymi kilkoma substancjami o właściwościach potencjalnie biobójczych w stosunku do komórek nowotworowych (rak pęcherza moczowego) lub bakterii, a także poddanych modyfikacjom powierzchni w wyniku adsorpcji polielektrolitów. Choć w pracy nie pojawia się jasno sformułowana teza rozprawy doktorskiej, to można przyjąć, że jest nią udowodnienie, że cząstki o ww. właściwościach, charakteryzujące się ponadto ściśle zdefiniowanymi cechami fizycznymi (rozmiarem, ograniczoną polidispersyjnością, wymaganą pojemnością w stosunku do substancji aktywnej, stabilnością oraz szybkością uwalniania tej substancji), mogą być efektywnie wytworzone za pomocą kilku zaproponowanych w pracy metod, przy zachowaniu odpowiednich warunków procesu ich wytwarzania, których dobór ułatwiło zastosowanie metodyki DoE.

Zakres wykonanych badań doświadczalnych jest bardzo szeroki i obejmuje:

1. metodykę otrzymywania cząstek hydrożelowych o średnicach z zakresu mikro- i nanometrycznego, dzięki zastosowaniu kilku metod: (a) emulsyfikacji (emulgowania) pod zwykłym ciśnieniem lub ekstruzji z żelowaniem jonowym (b) emulsyfikacji wysokociśnieniowej, (c) ekstruzji z żelowaniem jonowym;
2. syntezę polielektrolitów o funkcji przeciwbakteryjnej (czwartorzędowe sole amoniowe hydrogobowo zmodyfikowanego poli(kwasu akrylowego) – ozn. w pracy jako: a, b, c, d) wraz z ich analizą techniką NMR;
3. pokrywanie cząstek hydrożelowych filmami polielektrolitowymi techniką LbL (warstwa po warstwie);
4. oznaczenie właściwości uzyskanych struktur pod względem rozkładu wielkości cząstek, kształtu i stanu powierzchni (DLS, mikroskopia elektronowa, konfokalna i sił atomowych), stabilności koloidalnej (pomiar potencjału zeta, badania właściwości układów po określonym czasie przechowywania);



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

5. badanie kinetyki adsorpcji warstw polielektrolitowych oraz ich właściwości mechanicznych (reologicznych – analiza w układzie modelowym z użyciem mikrowagi kwarcowej z kontrolą dyssypacji energii oraz elipsometrii spektroskopowej);
6. potwierdzenie składu nośników po enkapsulacji i funkcjonalizacji powierzchni (analiza UV/VIS i FTIR);
7. badania szybkości uwalniania enkapsulowanych substancji aktywnych w funkcji pokrycia powierzchniowego nośników (spektrofotometria UV/VIS);
8. badania biologiczne *in vitro* w stosunku do wybranych substancji pochodzenia naturalnego o właściwościach przeciwnowotworowych (kurkumina, resweratrol i galusan epigallokatechiny) oraz bakteriobójczych (ekstrakt z żurawiny) – aktywność mitochondrialna komórek metodą MTT, przeżywalność komórek metodą SRB.

Wobec dostrzeżenia wielu zmiennych odpowiedzialnych za przebieg procesu otrzymywania cząstek, i wynikającej z tego potencjalnie ogromnej liczby wariantów doświadczeń, jakie należałoby wykonać w celu określenia najdogodniejszych warunków prowadzących do uzyskania pożądanego produktu, Doktorantka postanowiła zastosować podejście DoE do wyłonienia kluczowych parametrów procesowych i zredukowania liczby prób doświadczalnych. Podstawy teoretyczne samej metodyki DoE zostały jednak opisane dość zdawkowo (w części teoretycznej - podrozdział 2.5, ogólnie formułujący problem oraz odsyłający czytelnika do przykładów literaturowych zastosowania DoE w wybranych zastosowaniach oraz krótki akapit w części opisującej metodykę – podrozdział 4.2). W rozdziale 5 „Dyskusja wyników” zaprezentowano szczegółowo wyniki zastosowania DoE w stosunku do wytwarzania i modyfikacji poszczególnych rodzajów nośników (podrozdziały 5.1.1-5.1.3), choć nadal w sposób niepełny wskazano szczegóły zastosowanego planu badawczego. Wydaje się, że można było już wcześniej zaznaczyć, że DoE jest w istocie dość złożonym problemem optymalizacyjnym wykorzystującym podejście matematyczne, a także to, że zastosowanie planu DoE nie zawsze wymaga przebadania wszystkich potencjalnie możliwych wariantów doświadczalnych (na marginesie: na str. 49 pada sformułowanie: *Etap ten opiera się na przeprowadzeniu eksperymentów wykorzystując macierz wszystkich możliwych kombinacji wielkości zmiennych niezależnych...* sugerujące, że jest to jedyna droga postępowania w tej metodyce). Dobrze znane jest przecież podejście nazywane „planem frakcyjnym” (ang. *factorial design*), w którym można istotnie zredukować liczbę eksperymentów, ale – co chyba jeszcze ważniejsze – określić współzależności istniejące między poszczególnymi parametrami procesu. Dodatkowo, analiza DoE powinna pozwolić w sposób ilościowy uzyskać obiektywną informację o tym, które zmienne procesowe mają znikomy wpływ na wynik procesu, aby móc je pominąć w dalszej analizie (w tym celu pomocne jest m.in. wykonanie wykresu Pareto). Być może w przypadku tematyki i zakresu doktoratu tak zaawansowane podejście nie musiało mieć zastosowania, ale podejmując problematykę metodyki DoE w zastosowaniu do optymalizacji planu badawczego, można było pokusić się choć o skrótowe omówienie również i tych jej elementów.



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

Jeśli zaś chodzi o samo zastosowanie DoE w pracy, to – omówię to jako przykład - w przypadku załadowanych mikronośników z otoczką polielektrolitową, wytwarzanych na drodze emulsyfikacji niskociśnieniowej, Doktorantka odpowiednio zdefiniowała parametry wyjściowe (inaczej: zależne), tzn. wymagania dotyczące cech produktu (choć raczej dość arbitralnie przypisała im istotność w skali 1-5) oraz parametry stałe (w tym: alginian sodu jako budulec rdzenia oraz jego konkretne stężenie, czynniki sieciujące, rodzaj i stężenia surfaktantów, temperaturę, czas sieciowania i szybkość mieszania w zastosowanym układzie eksperymentalnym), pozostawiając w roli parametrów zmiennych (niezależnych) jedynie rodzaj substancji enkapsulowanej oraz rodzaj i liczbę warstw filmów polielektrolitowych adsorbowanych na cząstkach (Tabela 5.1). W efekcie, w tym przypadku liczba przebadanych wariantów była równa 21 (wymienione w Tabelach 5.5 i 5.6), a więc objęła niemal wszystkie możliwe kombinacje ww. parametrów niezależnych, co może wskazywać, że jednak nie do końca wykorzystano tutaj pełnię możliwości, jakie w rzeczywistości daje podejście DoE. Oczywiście niewątpliwą korzyścią metodyki zaprezentowanej przed Doktorantką jest istotne ograniczenie liczby parametrów zmiennych do trzech w miejsce np. kilkunastu, które należałoby badać bez wstępnego wytypowania parametrów stałych. Sytuacja w jakimś sensie się powtarza przy metodach otrzymywania innych nośników tzn. (a) nanocząstek metodą wysokociśnieniową (jest większa liczba zmiennych niezależnych, tj. 6, i poziomów ich wartości, tj. 2-3; Tabela 5.2), (b) mikrocząstek z warstwą polielektrolitu o właściwościach przeciwbakteryjnych wytwarzanych przez emulsyfikację pod normalnym ciśnieniem (3 zmienne niezależne o kilku poziomach wartości – Tabela 5.3) oraz (c) mikrocząstek wytwarzanych metodą ekstruzji z żelowaniem jonowym (Tabela 5.4). Choć liczba eksperymentów jest widocznie mniejsza od wszystkich możliwych kombinacji parametrów niezależnych, to wynika to raczej z cichego założenia, że nie wszystkie wartości parametrów warto badać niż ze ścisłego zastosowania algorytmu optymalizacyjnego (przynajmniej tego jasno nie pokazano). Np. nie do końca wiadomo, dlaczego przebadano inne stężenia polisacharydu w przypadku ALG (0,25 i 0,5%) a inne (0,5 i 1,0%) w przypadku CHIT, tym samym stosując po dwa (różne) poziomy wartości dla każdej z substancji a nie trzy, jak wskazano w Tabeli 5.2. W przypadku eksperymentów dla nanocząstek zastosowany został także nieco inny sposób podejścia, gdyż po ich wytworzeniu i wstępnym scharakteryzowaniu, Doktorantka dokonała wyboru najlepszych nośników w celu dalszej ich modyfikacji na drodze pokrywania warstwami polielektrolitowymi. Jest to oczywiście racjonalne podejście (nie ma sensu poddawać modyfikacjom cząstek nie spełniające podstawowych wymagań np. co do rozmiaru), jednak stanowi „ręczną” ingerencję w typową strategię DoE. Podobną ingerencję w wybór docelowych wariantów doświadczalnych widać także w przypadku polielektrolitowych filmów o funkcji przeciwdrobnoustrojowej pokrywających cząstki z zaenkapsulowanymi substancjami też o takim działaniu (kurkumina lub wyciąg z żurawiny).

Wydaje się zatem, że zastosowanie niektórych koncepcji planowania eksperymentu ułatwiło znacząco Doktorantce zapanowanie nad dużą liczbą zmiennych procesowych i uporządkowanie prowadzenia badań, jednak nie było to z pewnością pełne i ścisłe wykorzystanie możliwości, jakie daje metodyka DoE. W istocie nadal nie do końca wiemy, które z parametrów są decydujące, a które



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

mają mniejsze znaczenie w procesie otrzymywania poszczególnych struktur, a byłaby to interesująca informacja w kontekście stosowania np. innych substancji budulcowych, enkapsulowanych, adsorbowanych, ale także przy ewentualnym powiększaniu skali procesu. Powyższe stwierdzenia należy jednak potraktować jedynie jako szczegółowy komentarz, a nie zarzut do pracy doktorskiej, której celem nie było przecież wykazanie zastosowania różnych wariantów procedur DoE do opracowania optymalnej metody otrzymywania cząstek hydrożelowych, ale pokazanie technicznych możliwości uzyskania takich struktur oraz zaawansowane scharakteryzowanie uzyskanych układów.

Jak już podkreślono, w trakcie badań Doktorantka korzystała z wielu zaawansowanych technik pomiarowych, z których część była dostępna poza macierzystą uczelnią i wymagała współpracy, w tym z Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN w Krakowie, Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu i Uniwersytetem Wrocławskim. Niektóre z tych badań są zaawansowane metodycznie i niestandardowe (np. analizy NMR, pomiary adsorpcji i właściwości reologicznych filmów polielektrolitowych wykonywane na mikrowadze kwarcowej z pomiarem dyssypacji energii). Bardzo pozytywnie świadczy to o umiejętnościach Doktorantki organizowania i prowadzenia wymagających prac badawczych we współpracy z różnymi zespołami, a także o jej dużym zaangażowaniu w trakcie realizacji doktoratu.

Podsumowując całościowo wyniki Doktoratu, to są one bardzo wartościowe i obiecujące pod względem możliwości ich przyszłego wykorzystania terapeutycznego, choć – jak wiadomo – droga do takich aplikacji jest długotrwała i kosztowna. Nie jest możliwe krytyczne omówienie w tej recenzji, nawet w sposób syntetyczny, wyników poszczególnych badań, dlatego pragnę jedynie docenić, że dostarczają one istotnych danych na temat właściwości wytworzonych cząstek (nośników), zarówno pod względem cech fizykochemicznych, jak i ważnych dla potencjalnych aplikacji (np. stabilność, szybkość uwalniania substancji czynnej, działanie biobójcze w stosunku do komórek rakowych lub bakterii). Cele postawione przez Doktorantkę zostały w pełni osiągnięte: udało się wytworzyć zarówno mikro- jak i nanocząstki z zaenkapsulowanymi substancjami aktywnymi oraz uzyskać ich funkcjonalizację powierzchniową na drodze adsorpcji warstw polielektrolitów. Na drodze dużej liczby doświadczeń, wspartych koncepcjami metodyki DoE, ustalono zestaw parametrów procesowych, przy których uzyskuje się najkorzystniejsze układy pod względem potencjalnych zastosowań medycznych. Praca stoi na wysokim poziomie naukowym i jest wykonana w pełni poprawnie pod względem metodycznym. O nowatorstwie i wysokim poziomie wyników świadczy fakt, że stały się one przedmiotem kilku wartościowych publikacji w wysoko punktowanych czasopismach z listy JCR.

Oczywiście przy tak szerokim zakresie badań i próbie ich zwięzłego, ale i precyzyjnego opisanie w doktoracie, pojawiły się pewne niedociągnięcia, m.in.:

1. Niepoprawnie użyty jest termin „roztwór nanocząstek” (str. 64), skoro mamy tutaj do czynienia z dwufazowym układem dyspersyjnym.
2. Sposób opisu procesu suszenia rozpyłowego w części teoretycznej jest mało precyzyjny. Rozprysk prekursora chyba nie zawsze musi przebiegać w dyszy obrotowej (są znane i inne rozwiązania). Wskazane wysokie temperatury 150-300 °C dotyczą tylko powietrza wlotowego,



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

bowiem wewnątrz suszarki, na skutek odparowania kropeł i związanego z nim odbiorem ciepła od powietrza suszącego, są one już niższe – w przeciwnym przypadku zapewne wytwarzane cząstki zawsze ulegałyby degradacji. Nie wiem także, co Doktorantka miała na myśli pisząc w tym miejscu o „lepkości cząstek”.

3. Analiza wymiarowa równania Sauerbrey'a (str. 72) wskazuje, że wynik obliczenia to jednak nie masa [ng], ale masa przypadająca na jednostkę powierzchni [ng/cm<sup>2</sup>]. Przy okazji - czy parametru  $n$  nie byłoby celniej określać mianem numeru „harmonicznej” zamiast „nadtonu”.
4. Jest także błąd w jednostkach lepkości w wartościach wyliczonych z pomiarów QCM-D i zestawionych w Tabeli 5.7 (str. 103). Lepkość musi mieć wymiar [naprężenie × czas], czyli [Pa s] = [g/(m s)], a nie jak napisano [g/ms<sup>2</sup>].
5. Trudno zrozumieć sens sformułowania „lepsze właściwości lepkosprężyste” (str. 103 i 136).

W moim odczuciu zbyt często w dyskusji wyników Doktorantka (zapewne chcąc podkreślić poprawność wykonanych przez siebie badań) wskazuje na fakt, że podobne wyniki zostały już uzyskane przez innych autorów i cytując źródła literaturowe. Takie sformułowanie wniosków sugeruje, że wyniki pokazane w doktoracie są w jakimś stopniu wtórne, a chyba nie to było intencją Autorki doktoratu. Z pewnością można było to lepiej wyrazić, wskazując jedynie na fakt, że skorzystanie z cytowanych źródeł literaturowych ułatwia lub potwierdza interpretację nowych wyników badań uzyskanych w tej pracy.

Ponadto w trakcie czytania pracy nasunęło mi się kilka pytań o charakterze merytorycznym, na które chciałbym usłyszeć odpowiedzi podczas obrony.

1. W wielu przypadkach cząstki były obserwowane pod próżnią (mikroskopia SEM, TEM), co z pewnością prowadziło do ich (przynajmniej częściowego) wysuszenia. Jak interpretować dane uzyskane z takich obserwacji dotyczące np. porowatości lub stanu powierzchni mikrocząstek w stosunku do oryginalnych cząstek hydrożelowych rozproszonych w fazie wodnej?
2. Cząstki obrazowane pod mikroskopem są czasem niekuliste (np. Tabela 5.5, str. 96; Tabela 5.12, str.125), wbrew temu co napisano na str. 94 (cyt. „wszystkie syntetyzowane mikronośniki miały kształt sferyczny, jak pokazano w Tabeli 5.5.”). Co w takiej sytuacji Doktorantka rozumie przez ich średnicę?
3. Jak określano masę cząstek  $m_m$  w celu określenia pojemności ładunkowej LC wg równania podanego na str. 70?
4. Jak można wytłumaczyć fakt, że niekiedy wielkość mikrocząstek z trzema warstwami zaadsorbowanymi była mniejsza niż cząstek z dwiema warstwami (np. str. 95)?
5. Czy poziom wymaganej niskiej polidispersyjności przyjęty dla mikrocząstek jako  $PDI < 1$  ma szersze uzasadnienie poza przytoczoną publikacją nr 148. Wydaje się, że zaczerpnięta przez Doktorantkę interpretacja PDI z tej publikacji jest nieprecyzyjna, gdyż wartość  $PDI = 1$  nie jest tam wskazywana jako granica między mono- a polidispersyjnością. Np. według normy ISO 22412:2017, za już polidispersyjne uznaje się układy o  $PDI > 0,7$ , zaś wartość  $PDI = 1.0$



## Politechnika Warszawska

Prof. dr hab. inż. Tomasz Sosnowski

Kierownik Katedry Inżynierii Układów Rozproszonych (KIUR)

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

e-mail: Tomasz.Sosnowski@pw.edu.pl

- charakteryzuje układ silnie polidispersyjny. (por. także publikacja Danai i wsp., 2018; DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057).
6. Kilka kwestii dotyczących pomiaru kinetyki uwalniania substancji aktywnych (str. 73 oraz wyniki tych badań w dalszych częściach pracy):
- W jakiej ilości pobierano próbkę dializatu i zastępowano ją czystym medium dializacyjnym? Czy taka zamiana nie wpływała na wielkość siły napędowej w procesie dializy, a tym samym na uzyskiwany profil uwalniania?
  - Które płyny były mieszane (nadawa, dializat, oba?).
  - Kilka profili uwalniania na Rys. 5.3A (i podobnie na Rys. 5.7), ale szczególnie linia żółta, ma przebieg sugerujący kilka etapów procesu (etap szybki, spowolnienie i ponowne przyspieszenie). Czy Doktorantka może zasugerować jakieś wytłumaczenie takiego przebiegu profili uwalniania?
  - Czy podjęto próby skorelowania szybkości uwalniania z masą cząsteczkową substancji aktywnej?
  - Czy na szybkość uwalniania wpływa jedynie grubość warstwy polielektrolitów, czy może także jej właściwości lepkością wyznaczone metodą QCM-D?
7. Jak rozumieć sformułowanie (str. 99), że w pomiarach długoterminowej stabilności mikrocząstek „różnice wartości parametrów fizykochemicznych mieściły się w granicach błędu”. Na rys. 7.11 nie pokazano słupków błędów, które uzasadniałyby to sformułowanie, więc to chyba jedynie skrót myślowy (dokładność pomiarów i ich powtarzalność wydaje się być dość wysoka) i chodzi zapewne jedynie o to, że różnice te nie były znaczące?

Powyższe uwagi i pytania są polem do dyskusji naukowej i nie zmieniają mojej bardzo pozytywnej oceny pracy doktorskiej.

### Wniosek końcowy

Stwierdzam, że oceniana praca doktorska mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak pt. „Nano- i mikrocząstki hydrożelowe z funkcjonalnymi filmami polielektrolitowymi jako nośniki substancji aktywnych pochodzenia naturalnego” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, zaś jej Autorka wykazała się wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, spełniając tym samym wymagania stawiane przez obowiązujące przepisy osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora. Wnoszę zatem o dopuszczenie pani mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę bardzo ambitny i szeroki zakres doktoratu oraz wysoką wartość naukową uzyskanych wyników, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.