



Zachodniopomorski  
Uniwersytet  
Technologiczny  
w Szczecinie



Katedra  
Inżynierii Polimerów  
i Biomateriałów

---

Al. Piastów 45, 71-311 Szczecin

**prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray**

tel: (+48) 91 499 48 28  
fax: (+48) 91 499 40 98  
Email: mirfray@zut.edu.pl

**Ocena pracy doktorskiej Pana mgr Wojciecha Pajerskiego**

**pt.: „Interactions at nanoparticles-bacteria-solids  
biointerfaces: from fundamentals to applications”**

przedstawionej do obrony przed Radą Dyscypliny Nauk Chemicznych  
Uniwersytetu Jagiellońskiego

Promotor wiodący: prof. dr hab. Andrzej Kotarba

Drugi Promotor: dr hab. Monika Brzychczy-Włoch, prof. UJ

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została opracowana w postaci przewodnika do zbioru 4 powiązanych tematycznie artykułów naukowych (1 z artykułów jest na etapie recenzji) zgodnie z art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. Przewodnik składa się z 7 rozdziałów mieszczących się sumarycznie na 60 stronach maszynopisu wraz z wykazem 148 pozycji literaturowych oraz dołączonych kopii 3 publikacji opublikowanych w czasopismach o międzynarodowej cyrkulacji, o sumarycznym *Impact factor* >10, gdzie w dwóch spośród nich, Doktorant jest pierwszym współautorem oraz jednej pracy, która została wysłana do czasopisma indeksowanego przez JCR, gdzie Doktorant jest również pierwszym współautorem. Ocena merytoryczną i naukową pracy doktorskiej pragnę przedstawić w następujących punktach.

1. Aktualność tematu
2. Elementy nowości w pracy
3. Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych
4. Uwagi dyskusyjne
5. Wnioski końcowe

## **Aktualność tematu pracy**

Rozwój nanotechnologii przyczynił się do opracowania wielu nowoczesnych materiałów o właściwościach niespotykanych dla ich odpowiedników o rozmiarach w skali mikro- lub makro, które znalazły zastosowanie w elektronice, ochronie środowiska, katalizie, farmacji, technologiach informatycznych czy w medycynie. Wykorzystanie obiektów biologicznych, takich jak bakterie czy wirusy pozwoliło znacząco rozszerzyć możliwości projektowania i stosowania obiektów o rozmiarach nanometrycznych i specyficznej funkcjonalności, dając impuls do rozwoju bionanotechnologii i nanobiotechnologii jako dwóch oddzielnych, lecz wzajemnie przenikających się obszarów nauki. Kluczową rolę w opracowaniu nowych nanomateriałów do zastosowań medycznych, a tym samym skutecznych rozwiązań przekładających się na praktykę kliniczną m.in. w rozwiązywaniu problemów z kontaminacją powierzchni implantów drobnoustrojami, odgrywają oddziaływania na granicy nanomateriał(nanocząstka)-podłoże-komórka bakteryjna. Z jednej strony są to właściwości (i) materiału tworzącego podłoże, (ii) właściwości komórek wraz z inherentnymi cechami błony komórkowej wrażliwej na bodźce chemiczne i fizyczne oraz (iii) właściwości nanomateriału/nanocząstki. Dlatego, złożone oddziaływania na granicy nanocząstki-bakterie i podłoże-bakterie są opisywane za pomocą różnych modeli uwzględniających takie parametry, jak potencjał zeta, właściwości elektronowe, hydrofilowość, chropowatość powierzchni i inne.

Doktorant, na podstawie dokonanego przeglądu literatury wytypował do badań nanocząstki Au, Ag, Pt,  $\text{TiO}_2$  i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  jako struktury o wysokiej aktywności i potencjalnych właściwościach antybakteryjnych, stanowiących alternatywę do powszechnie stosowanych antybiotyków, wobec których bakterie wykazują z czasem lekooporność. Stosowanie struktur węglowych w postaci powłok nanoszonych na różne biomateriały było kolejną motywacją do podjęcia badań nad modyfikowanymi powierzchniowo strukturami grafenu pod kątem oddziaływań z komórkami bakterii. Co więcej, paleta materiałów badawczych została rozszerzona o kordieryt,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  i  $\text{ZrO}_2$  stosowanych jako nośniki katalityczne. Na podstawie dokonanego przeglądu literatury, Doktorant sformułował główny cel pracy jakim było dokonanie identyfikacji kluczowych deskryptorów fizyko-chemicznych, za pomocą których można opisać oddziaływania na granicy między nanocząstkami, bakteriami a stałym podłożem. Szczególnym celem było określenie roli czynników elektronowych, takich jak potencjał zeta nanocząstek i bakterii oraz praca wyjścia na granicy bakterii i podłoża stałego. Te cele, o charakterze poznawczym zostały rozszerzone o cel użytkowy, jakim było zbadanie oddziaływań nanocząstek z bakteriami pod kątem oceny działania przeciwdrobnoustrojowego tych pierwszych wskazując na aspekt aplikacyjny w nanobiotechnologii, ale również opracowanie katalizatorów przy wykorzystaniu niepatogennych bakterii i nanocząstek dla zastosowań w bionanotechnologii. Aktualność tematyki pracy, ze względu na wartości poznawcze i potencjalne wykorzystanie badanych nanomateriałów w medycynie i katalizie, jest bezdyskusyjna.

## Elementy nowości w pracy

W literaturze można znaleźć przykłady różnych związków, zwłaszcza jonów i nanocząstek Ag i Au jako alternatywę dla antybiotyków ze względu na ich aktywność przeciwdrobnoustrojową. Jednak mechanizm oddziaływań fizyko-chemicznych pomiędzy komórkami bakterii a nanocząstkami czy też stałymi podłożami jest wciąż słabo rozpoznany. Wykorzystując bakterie Gramm (+) i Gramm (-), Doktorant zaprojektował badania potencjału zeta w czasie ich wzrostu i w różnych mediach. Wykazał zależność pomiędzy zmianami i stabilizacją potencjału zeta a fazami wzrostu drobnoustrojów i ich aktywności metabolicznej. Doktorant wykazał, że istotny wpływ na potencjał zeta wywiera również siła jonowa i stężenie jonów medium. Poprzez zastosowanie nanocząstek złota i przeprowadzenie badań oddziaływania nanocząstek z błonami komórkowymi bakterii Gramm (+) i Gramm (-), Doktorant opisał ich wzajemne oddziaływania stosując teorię DLVO (Derjaguin-Landau-Vervey-Overbeek) i model geometryczny sfera-sfera. Wykazał, że w zależności od potencjału zeta bakterii, położenie maksimów energetycznych w profilu całkowitej energii oddziaływania określa promień krytyczny przestrzeni kulistej otaczającej komórkę, w której dominują siły przyciągania. Ponadto, Doktorant wykazał, że potencjał elektrokinetyczny bakterii wyznacza objętość krytyczną otaczającą komórkę, która jest prawie dwukrotnie większa dla szczepów bakterii Gramm (+) niż dla Gramm (-). Tym samym Doktorant wykazał, że promień krytyczny wyznaczony przez ładunek powierzchniowy bakterii jest kluczowym deskryptorem oddziaływań pomiędzy nanocząstkami złota a bakteriami. Gromadzenie się nanocząstek na ścianie komórkowej bakterii (bez jej penetracji) Doktorant zaobserwował nie tylko dla nanocząstek Au, ale również dla innych nanoobjektów, takich jak Pt,  $\text{TiO}_2$  czy  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Zupełnie inny charakter miały oddziaływania nanocząstek srebra z komórkami bakterii, gdyż jony  $\text{Ag}^+$  uwalniane z nanocząstek srebra na skutek utleniania powierzchni w roztworach wodnych powodowały rozpad komórek poprzez tworzenie się reaktywnych form tlenu. Co więcej, Doktorant wykazał, że bakterie Gramm (-) są w stanie zaadsorbować dwukrotnie więcej jonów srebra niż bakterie Gramm (+). Różnice te Doktorant powiązał z budową błony komórkowej, która jest dwukrotnie cieńsza dla bakterii Gramm (-) (ok. 20 nm) w porównaniu do bakterii Gramm (+) (do 80 nm). Przeprowadzone badania dostarczyły nowej wiedzy wskazując, że ładunek powierzchniowy komórek bakteryjnych jest kluczowym deskryptorem oddziaływań na granicy bakteria-nanocząstki, a potencjał zeta komórki bakteryjnej reguluje wydajność przyłączania nanocząstek do ściany komórkowej bakterii.

Bogaty materiał doświadczalny pozwolił Doktorantowi również na opisanie zjawisk istotnych z punktu widzenia oddziaływań komórek bakterii z różnymi podłożami stałymi w aspekcie oddziaływań elektrostatycznych regulowanych przez ładunki powierzchniowe bakterii i materiału stałego. W oparciu o wyniki badań powierzchni struktur grafenowych modyfikowanych z wykorzystaniem niskotemperaturowej plazmy gazowej (tlenu), Doktorant wykazał, że poprzez wytworzenie na powierzchni podłoża polarnych grup tlenowych możliwe jest powstanie powierzchniowych dipoli i tym samym wytworzenie ujemnej bariery potencjału i co za tym idzie, wzrost wartości pracy wyjścia. Tym samym, kontrolowana funkcjonalizacja powierzchni biomateriałów plazmą tlenową, która zmienia zwilżalność powierzchni, swobodą energię powierzchniową i właściwości elektronodonorowe, a tym samym wpływa na wartość pracy wyjścia badanych

powierzchni biomateriałów jest prostą strategią ich ochrony przed kolonizacją drobnoustrojami. Wnioski te zostały wyciągnięte na podstawie obserwacji zachowania się bakterii w stosunku do różnych powierzchni, w tym anodowego tlenku tytanu i modyfikowanego materiału grafenowego. Doktorant wykazał, że wartość pracy wyjścia jest kluczowym deskryptorem adhezji bakterii do materiałów przewodzących.

Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorat umiejętnie zastosował teorię DLVO nie tylko do opisu oddziaływań pomiędzy nanomateriałami a bakteriami (model: sfera-sfera), lecz również dla oddziaływań bakterii z podłożami stałymi (model: sfera-płaszczyzna) i choć zastosowana teoria zawiera pewne uproszczenia i założenia, jest ona pomocna w zrozumieniu przedstawionych wyników i potwierdza, że czynnik elektronowy może być zaproponowany jako kluczowy deskryptor oddziaływań pomiędzy nanocząstkami i bakteriami oraz bakteriami i powierzchniami stałymi.

### **Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych**

Doktorant zastosował szereg nowoczesnych metod badawczych i analitycznych do scharakteryzowania struktury i właściwości badanych materiałów jak również do oceny ich wzajemnych oddziaływań. Umiejętne połączenie technik mikroskopowych, takich jak mikroskopia optyczna, laserowa, elektronowa skaningowa i transmisyjna, metod spektroskopowych (AAS, RS, XPS, EDS) oraz metod służących ocenie efektów powierzchniowych, w tym głównie do oceny potencjału zeta, kąta zwilżania, napięcia powierzchniowego czy pracy wyjścia, pozwoliło Doktorantowi scharakteryzować stosowane do badań nanocząstki, bakterie i podłoża stałe. Doktorant zastosował odpowiednie techniki preparatyki próbek, dzięki którym możliwe było szczegółowe opisanie i zwizualizowane oddziaływań pomiędzy badanymi obiektami. W celu dokonania weryfikacji założeń możliwości aplikacyjnych wytworzonych materiałów, Doktorant zaprojektował i przeprowadził testy aktywności katalitycznej i preparatyki podłoży do testów aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Podsumowując, należy stwierdzić, że zastosowane techniki eksperymentalne i metody badawcze zostały dobrane w sposób trafny i odzwierciedlający eksperymentatorski charakter pracy doktorskiej.

### **Uwagi dyskusyjne**

Praca doktorska została przedstawiona w postaci zbioru trzech opublikowanych i jednego manuskryptu oraz powiązanych tematycznie artykułów naukowych zgodnie z art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. Analiza opracowania – przewodnika po publikacjach skłania mnie do refleksji, że jest ona bardzo bogata i w pełni odzwierciedla bogactwo materiału doświadczalnego zgromadzonego w pracach naukowych, w których Doktorant jest współautorem. Postawiony w pracy cel badawczy został tak sformułowany, że w zasadzie można się w nim doszukać hipotezy badawczej, którą Doktorant udowodnił poprzez wykonanie prac eksperymentalnych i za pomocą obliczeń, stosując model zaczerpnięty z nauki o koloidach. Poszukiwania odpowiedzi na postawione pytania zostały przedstawione w kolejnych publikacjach, które ukazały się w *Journal of Nanoparticle Reserach (2019)*, *Materials Science and Engineering: C (2020)* i w *Applied Surface Science (2021)*. Kolejna praca oczekuje na recenzje w czasopiśmie *Surfaces and Interfaces*. Na uwagę zasługuje staranne

opracowanie przewodnika, z określeniem udziału Doktoranta w poszczególnych publikacjach, oraz krótkie przedmowy poprzedzające każdy rozdział, wskazujące na zawartość i znaczenie zebranych wyników. Analizę bogatego materiału eksperymentalnego ułatwia przejrzyste opracowanie rozdziału podsumowującego stosowane metody i techniki badawcze. Na uwagę zasługuje również bardzo staranna szata graficzna całego opracowania.

Podsumowując stwierdzam, że sposób przedstawienia osiągnięć w postaci zwięzłego opracowania odnoszącego się do zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych jest wyróżniający, podobnie jak wykonanie obszernego planu badawczego i opublikowanie wyników w renomowanych czasopismach, w wieloautorskich zespołach. Ważne jest, że w trzech na cztery przedstawione prace, Doktorant jest pierwszym współautorem. Staranne opracowanie obszernego materiału nie pozwoliło Doktorantowi uniknąć błędów, gdyż wartości kąta zwilżania na str. 48 zostały przedstawione w procentach a nie w stopniach. Zastosowana obróbka podłoża plazmą niskotemperaturową z wykorzystaniem tlenu pozwoliła Doktorantowi na obniżenie m.in. kąta zwilżania powierzchni i wzrost pracy wyjścia. Czy podobnych efektów należy oczekiwać przy zastosowaniu plazmy innych gazów, zwłaszcza obojętnych? Czy można uznać, że zmiany kąta zwilżania są wprost proporcjonalne do zmian pracy wyjścia, a jeśli tak, to w jakich warunkach?

Przedstawione uwagi mają charakter dyskusyjny i prosiłabym, aby Doktorant odniósł się do nich podczas publicznej obrony. Chcę podkreślić, że nie umniejszają one rangi dokonanych osiągnięć, które oceniam bardzo wysoko.

### **Wnioski końcowe**

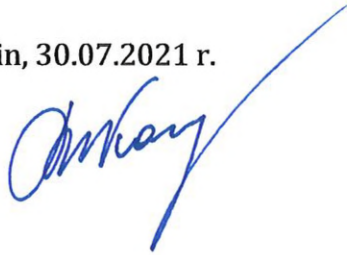
Doktorant zrealizował bardzo obszerny program badań eksperymentalnych, uzyskując interesujące wyniki o niepodważalnych znamionach nowości naukowej. Praca wnosi cenny wkład w aspekty poznawcze i utylitarne dotyczące zagadnień multidyscyplinarnych z obszaru nauk chemicznych, inżynierii materiałowej, nanotechnologii i biotechnologii, a zwłaszcza złożonych układów nanocząstek i podłoży stałych, opracowanych przez Doktoranta i charakteru oddziaływań pomiędzy tymi strukturami a bakteriami. Doktorant wykazał, że czynniki elektronowe, takie jak potencjał zeta nanocząstek i bakterii oraz praca wyjścia na granicy bakterii i podłoża stałego odgrywają kluczową rolę we wzajemnych oddziaływaniach, przekładających się na właściwości katalityczne lub bakteriostatyczne/bakteriobójcze. Wykazał również, że poprzez zastosowanie teorii DLVO możliwe jest opisanie oddziaływań pomiędzy nanomateriałami a bakteriami (model: sfera-sfera) oraz oddziaływań bakterii z podłożami stałymi (model: sfera-płaszczyzna) wskazując tym samym, że czynnik elektronowy może być zaproponowany jako kluczowy deskryptor oddziaływań pomiędzy badanymi materiałami a strukturami biologicznymi.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki, stwierdzam iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Wojciecha Pajerskiego spełnia warunki przewidziane ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (art. 192 ust. 2, Dz.U. poz. 1668, z późn. zm.) oraz art. 180 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669, z późn. zm.).

Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana mgr Wojciecha Pajerskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę sposób przedstawienia głównych tez pracy doktorskiej i wysoki poziom merytoryczny dyskusji zawartej w przewodniku oraz jakość opublikowanych prac, w których Doktorant opublikował wyniki przeprowadzonych badań (sumaryczny IF czasopism >10), wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pana mgr Wojciecha Pajerskiego.

Szczecin, 30.07.2021 r.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. Kary', with a long, sweeping flourish extending upwards and to the right.