



AGH

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW

Prof. dr hab. inż. Elżbieta PAMUŁA
Prodziekan ds. Nauki WIMiC

Kraków, 24 sierpnia 2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. WOJCIECHA PAJERSKIEGO
pt. "Interactions at nanoparticles-bacteria-solid biointerfaces:
from fundamentals to applications"
zrealizowanej pod kierunkiem Promotorów
prof. dr. hab. Andrzeja Kotarby
dr hab. Moniki Brzychczy-Włoch, Prof. UJ

Recenzja została opracowana na podstawie decyzji
Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego
oraz zlecenia Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki chemiczne
Prof. dr. hab. Artura Michalaka
z dnia 12 lipca 2021

Pierwsze założenia dotyczące nanotechnologii zostały zdefiniowane przez Richarda Feynmana w latach 60-tych ubiegłego wieku, jednak to dopiero w ostatnich dwóch dekadach można mówić o istotnym postępie w tej dziedzinie. Wymierne osiągnięcia nanotechnologii możliwe są dzięki opracowaniu nowych technik wytwarzania materiałów w skali nanometrycznej a także dzięki opracowaniu nowej generacji urządzeń i technik badawczych, które są w stanie opisywać świat w tzw. „skali nano”. Bardzo ciekawym kierunkiem badawczym i aplikacyjnym jest wykorzystanie nanotechnologii w kontakcie z systemami biologicznymi i jej praktyczne zastosowanie w medycynie lub biotechnologii. Wymaga to jednak opisanie i zrozumienie zjawisk, jakie zachodzą na granicy faz nanomateriał/środowisko biologiczne.



wimic

Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów i Kompozytów
al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, tel. +48 12 617 44 48, fax. +48 12 617 33 71
e-mail: epamula@agh.edu.pl, www.ceramika.agh.edu.pl
Regon: 000001577, NIP: 675 000 19 23

Pan mgr Wojciech Pajerski w swojej pracy doktorskiej podjął się opisanie zjawisk na granicach faz nanoczątki-bakterie a także bakterie-zmodyfikowane powierzchnie materiałów. Badania swoje zaprojektował w taki sposób, aby lepiej poznać naturę tych oddziaływań i znaleźć korelację pomiędzy parametrami elektrycznymi takimi jak potencjał zeta i praca wyjścia a oddziaływaniem nanocząstek z bakteriami a także bakterii z powierzchnią materiałów. Oprócz zagadnień typowo naukowych, które pozwoliłyby na lepsze zrozumienie, przewidywanie i sterowanie właściwościami badanych układów, doktorant skupił się na aspektach użytecznych skierowanych na otrzymanie katalizatorów oraz materiałów o właściwościach antybakteryjnych. Podjęta tematyka ma istotne znaczenie w kontekście wytwarzania nowej generacji katalizatorów oraz przeciwdziałania zakażeniom i/lub leczenia infekcji pojawiających się u pacjentów po implantacji wyrobów medycznych, takich jak np. endoprotezy stawu biodrowego. Dlatego uważam, że wybór tematyki rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej trafny, aktualny i w pełni uzasadniony.

Praca doktorska pana mgr. Wojciecha Pajerskiego to cykl jednotematyczny czterech artykułów, przy czym trzy z nich zostały już opublikowane w recenzowanych, prestiżowych czasopismach anglojęzycznych (*Journal of Nanoparticle Research, Materials Science and Engineering C, Applied Surface Science*), a czwarty jest obecnie na etapie recenzji w czasopiśmie *Surfaces and Interfaces*; wszystkie czasopisma są umieszczone na liście *Journal Citation Report* i mają wysoki współczynnik „impact factor”. Tematem przewodnim tych prac są badania doktoranta nad oddziaływaniem nanocząstek z systemami biologicznymi, tj. bakteriami i systemów biologicznych z nanocząsteczkami metali, tlenków metali i/lub powierzchnią ciał stałych.

Tytuł cyklu prac, będących podstawą dysertacji doktorskiej *"Interactions at nanoparticles-bacteria-solid biointerfaces: from fundamentals to applications"* został właściwie sformułowany.

Wszystkie artykuły zostały wydane w latach 2019-2021; w trzech pracach doktorant jest pierwszym autorem, a dodatkowo w dwóch autorem korespondencyjnym. Zgodnie z oświadczeniami doktoranta i wszystkich współautorów powyższych prac, udział doktoranta obejmował przeprowadzenie większości prac eksperymentalnych w tym syntezę i charakteryzację nanocząstek, modyfikację powierzchni ciał stałych, analizę danych, interpretację wyników i ich opis teoretyczny a przede wszystkim przygotowanie manuskryptów do publikacji. Udział mgr. Wojciecha Pajerskiego w powyższych siedmiu pracach był więc dominujący.

Oprócz załączonych czterech artykułów, zredagowanych w języku angielskim, streszczenia w języku polskimi i angielskim, oświadczeń wszystkich współautorów, listy pozostałych osiągnięć doktoranta (artykuły, patent, zgłoszenie patentowe, udział w konferencjach), dysertacja zawiera wprowadzenie w języku angielskim (obejmujące 55 stron), stanowiące niejako przewodnik po badaniach prowadzonych w ramach pracy doktorskiej. Autor omawia w nim też podstawy literaturowe dotyczące nanotechnologii, podejście eksperymentalne, cel pracy, uzyskane wyniki z przedłożonych publikacji oraz prezentuje wnioski końcowe.

Wprowadzenie zostało bardzo dobrze zredagowane i świadczy o tym, że doktorant porusza się ze swobodą w tematyce obejmującej nanotechnologię, chemię granic rozdziału, chemię koloidów a także biotechnologię i mikrobiologię. We wprowadzeniu doktorant prezentuje to, co rozumie pod pojęciami „bionanotechnologia” i „nanobiotechnologia” a także przedstawia najważniejsze trendy badawcze dotyczące wykorzystania komórek bakteryjnych do wytwarzania materiałów funkcjonalnych. Chciałabym też poprosić – już w czasie obrony publicznej doktoratu – o porównanie terminów „nanobiotechnologia”, „biomedycyna” i „nanomedycyna”, gdyż ten

ostatni często w literaturze jest rozumiany jako zastosowanie nanotechnologii w medycynie do wytwarzania nanonośników leków, nanomateriałów dla terapii i diagnostyki medycznej, biosensorów, czy cząstek poprawiających bioobrazowanie. Czy według doktoranta wszystkie terminy są tożsame i czy można je stosować wymiennie? W tym miejscu mam jeszcze tylko jedną uwagę dotyczącą użycia terminu „biofabrics”: domyślam się, że autor miał na myśli „biofabrication” – czyli wykorzystanie bakterii jako „fabryk” nanocząstek, a nie chodziło mu o pojęcie „biotkanin”, bo tak raczej należy przetłumaczyć termin „biofabrics”.

We wprowadzeniu autor zamieścił też podrozdział dotyczący wykorzystania nanotechnologii w rozwoju nowych strategii antybakteryjnych. Uważam, że jest to bardzo dobrze przygotowana część pracy, która zarówno przedstawia nowe metody projektowania materiałów w skali nanometrycznej o właściwościach antybakteryjnych jak i pokrótce opisuje możliwe oddziaływania na granicy rozdziału materiał/komórki bakteryjne.

Następnie doktorant przedstawił cel rozprawy doktorskiej, z którego jasno wynika, że skupił się w niej na trzech obszarach: oddziaływaniach nanocząstki-bakterie, oddziaływaniach bakterie-powierzchnie ciał stałych i praktyczne wykorzystanie osiągnięć swojej pracy.

W dalszej części opisane zostały elementy metodologiczne: badane nanocząstki, stosowane bakterie oraz stałe podłoża, metoda modyfikacji powierzchni plazmą tlenową, oraz szereg technik badawczych: mikroskopowych, spektroskopowych i charakteryzujących powierzchnię, w tym jej właściwości elektronowe. Za szczególnie udane uważam zestawienie tabelaryczne obrazów i najważniejszych parametrów charakteryzujących stosowane nanocząstki, bakterie i stałe substraty zamieszczone w tabelach 3.1, 3.2 i 3.3. Zestawienie to bardzo ułatwia pracę czytelnikowi i pokazuje, że autor dobrze przemyślał metodologiczny aspekt prowadzonych badań. Na szczególne podkreślenie zasługują osiągnięcia dotyczące metodologii przygotowania próbek do badań za

pomocą mikroskopii elektronowej, które umożliwiły uzyskanie wyników, które bezsprzecznie dowodzą, jakie jest umiejscowienie nanocząstek na ścianach komórek bakteryjnych.

Podkreślić także należy, że doktorant właściwie przeanalizował uzyskane przez niego wyników badań, które zostały opisane w rozdziale 4: Wyniki i Dyskusja.

W rozdziale 4.1 Kandydat do stopnia doktora skupił się na wykazaniu, że to ładunek powierzchniowy nanocząstek i bakterii wpływa w największym stopniu na ich oddziaływania. Opisał też, że w przeciwieństwie do nanocząstek złota, nanocząstki srebra ulegają tzw. adsorpcji reaktywnej, czyli rozpadają się z wydzielaniem jonów srebra Ag^+ . Badania doktoranta stanowią więc pośredni dowód, że jony Ag^+ generują wolne rodniki, które są w stanie unicestwiać komórki bakteryjne. Czy zdaniem autora byłoby możliwe bezpośrednie potwierdzenie tworzenia się wolnych rodników w badanych przez niego systemach, a jeśli tak to, jakie metody badawcze można byłoby zastosować w przyszłości?

W rozdziale 4.2 autor bezsprzecznie wykazał, że oddziaływania elektrostatyczne determinują procesy adhezji bakterii do stałych powierzchni i – w przypadku powierzchni grafenu bez modyfikacji i po jego modyfikacji plazmą tlenową – powiązał je z wartością pracy wyjścia. Tu muszę przyznać, że jest to oryginalne podejście rozwijane w zespole, w którym autor prowadził badania do doktoratu. Dotąd w literaturze skupiano się zwykle na takich parametrach jak budowa chemiczna powierzchni, obecność tlenowych grup funkcyjnych, energia powierzchniowa czy stosunek składowej polarnej do dyspersyjnej, pomijając właściwości elektronowe materiału. W przypadku powierzchni nieprzewodzących takich jak tlenek tytanu autor stwierdził, że na powinowactwo bakterii do powierzchni z jednej strony wpływa nanotopografia powierzchni a z drugiej jej potencjał zeta rozpatrywany w odniesieniu do punktu izoelektrycznego bakterii.

W rozdziale 4.3 przedstawiono opis teoretyczny oddziaływań nanocząstki-bakteria i bakterie-powierzchnie ciał stałych

z wykorzystaniem teorii DLVO, która pozwoliła na bardziej dogłębne zinterpretowanie uzyskanych wyników.

W rozdziale 4.4 doktorant opisał możliwość praktycznego zastosowania wyników prowadzonych badań do wytwarzania katalizatorów i konstruowania powierzchni o właściwościach przeciwdziałających zasiedlaniu ich przez bakterie. Na podkreślenie zasługuje jego podejście dotyczące nowego sposobu wytwarzania katalizatorów charakteryzujących się równomiernym rozkładem nanocząstek metali na powierzchni, poprzez kontrolowane zasiedlenie powierzchni niepatogennymi bakteriami, adsorpcję nanocząstek na ścianach komórkowych bakterii oraz usunięcie bakterii za pomocą plazmy tlenowej. Sposób przedstawiony przez doktoranta został zastrzeżony w patencie i opublikowany w artykule wydanym w *Applied Surface Science*, stanowiącym część składową tej dysertacji. W zakresie projektowania powierzchni o właściwościach antybakteryjnych wykazano, że nanocząstki złota naniesione na powierzchnię grafenu poprawiają adhezję bakterii, zaś nanocząstki srebra ją ograniczają i wykazują działanie bakteriobójcze.

W rozdziale 5, stanowiącym podsumowanie przeprowadzonych przez doktoranta badań zestawione zostały najważniejsze osiągnięcia doktoranta. Bardzo podoba mi się rysunek 5.1, na którym zilustrowano ogólną strategię przyjętą w pracy i w czterech artykułach będących jej podstawą, a ponadto przedstawiono przykładowe obrazy, metody eksperymentalne i badawcze.

W rozdziale 6 – już skrótowo – zestawiono najważniejsze wnioski i osiągnięcia pracy. Świadczy to niezbicie o dojrzałości badawczej i umiejętności syntetycznego ujęcia tematyki doktoratu przez kandydata do stopnia naukowego doktora.

Nie mam uwag krytycznych do pracy doktorskiej pana mgr. Wojciecha Pajerskiego. Twierdzę, że została ona zredagowana bardzo staranie zarówno pod względem językowym jak i edytorskim. Przytoczone pytania i uwagi stanowią zaproszenie do dyskusji naukowej i nie mają wpływu na moją wysoką ocenę recenzowanej pracy.

W pierwszym artykule „Attachment efficiency of gold nanoparticles by Gram-positive and Gram-negative bacterial strains governed by Surface charges (J Nanopart Res 2019;21:186) wykazano, że nanocząstki złota nie przenikają przez ściany bakterii ale są na nich immobilizowane w tym większym stopniu im bakterie wykazują mniejszy potencjał zeta.

W drugim artykule „Bacterial attachment to oxygen-functionalized graphene surfaces (Mat Sci Eng 2020;113:110972) autor wykazał istnienie korelacji pomiędzy takimi parametrami jak praca wyjścia, obecność tlenowych grup funkcyjnych, energia powierzchniowa materiałów grafenowych a adhezją bakterii. Stwierdził też, że obniżenie pracy wyjścia materiałów może być jednym ze sposobów projektowania materiałów antybakteryjnych.

W trzecim artykule „Innovative method for the preparation of catalytic surfaces: The application of microorganisms for the deposition of nanoparticles on the supports” (Appl Surf Sci 2021;553:149573) doktorant wykazał, że niepatogenne bakterie mogą być efektywnymi nośnikami nanocząstek platyny, złota, tlenków żelaza czy tlenku tytanu i umożliwiają ich homogeniczne deponowanie na powierzchniach substratów katalizatorów. Udowodnił też, że możliwe jest zastosowanie plazmy tlenowej do usuwania komórek baterii z powierzchni uzyskanych katalizatorów, a proces ten wydaje się być tak samo skuteczny jak kalcynacja.

Ostatni, czwarty artykuł „Opposite effect of functionalization with gold and silver nanoparticles on bacterial attachment to graphenic surfaces”, będący na etapie recenzji w czasopiśmie *Surfaces and Interfaces*, dotyczy osadzania nanocząstek złota i srebra na podłożu grafenowym metodą sonochemiczną. Doktorant wykazał w nim, że nanocząstki złota poprawiają adhezję komórek bakteryjnych, zaś nanocząstki srebra wyraźnie ją obniżają, wykazując jednocześnie efekt antybakteryjny. Opisany efekt powiązał z oddziaływaniami elektrostatycznymi i wartością pracy wyjścia.

Chciałabym podkreślić, że dysertacja doktorska pana mgr. Wojciecha Pajerskiego stanowiąca cykl jednotematyczny czterech artykułów pt. *"Interactions at nanoparticles-bacteria-solid biointerfaces: from fundamentals to applications"* w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w dyscyplinie nauki chemiczne w myśl obowiązującej Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz.85 z późn. zm). Na wymienione niewielkie niedociągnięcia, głównie natury edytorskiej, zwróciłam uwagę z obowiązku recenzentki, aby doktorant nie powielał ich w przyszłości w kolejnych swoich pracach. Uwagi te w żaden sposób nie umniejszają mojej wysokiej oceny merytorycznej recenzowanej pracy.

Na podkreślenie zasługuje też, że oprócz czterech prac będących podstawą dysertacji doktorskiej kandydat do stopnia doktora jest współautorem pięciu innych artykułów a także patentu i zgłoszenia patentowego. Ponadto zaprezentował wyniki swoich badań na 12 konferencjach, z których większość miała charakter międzynarodowy.

Badania doktoranta były finansowane z projektu NCN OPUS i realizowane w ramach prestiżowych studiów doktoranckich InterDocMed. Nie ulega żadnej wątpliwości, że zarówno zakres prowadzonych badań i osiągnięte wymierne efekty świadczą, że pan mgr Wojciech Pajerski wykazuje się wyróżniającą aktywnością naukową i może pochwalić się bardzo dobrym dorobkiem, jak na ten etap rozwoju naukowego. Z całą pewnością można stwierdzić, że doktorant jest już doświadczonym i bardzo wartościowym młodym badaczem.

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska, tak ze względu na wartości naukowe, znaczenie poznawcze oraz wysoki poziom warsztatu naukowego, spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w myśl obowiązujących przepisów i w związku z tym

wnoszę o jej przyjęcie oraz dopuszczenie pana mgr. Wojciecha Pajerskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Praca pana mgr. Wojciecha Pajerskiego: 1) jest bardzo bogata metodycznie, 2) stanowi przyczynek do poszerzenia wiedzy na temat oddziaływań na granicach faz nanocząstki-systemy biologiczne a także systemy biologiczne-powierzchnie ciał stałych, uwzględniający właściwości elektronowe powierzchni; 3) dostarcza nowych i wartościowych informacji na temat projektowania nowoczesnych materiałów sprzyjających lub przeciwdziałających adhezji komórek bakteryjnych; 4) wskazuje, że pozyskana wiedza może być zastosowana praktycznie np. przy projektowaniu katalizatorów; 5) jest cyklem czterech publikacji, z których trzy przeszły wnikliwy proces recenzji w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania, a czwarta jest na etapie recenzowania, a ponadto, 6) doktorant ze swobodą wykorzystuje różnorodne narzędzia badawcze stosowane nie tylko w naukach chemicznych, ale również w naukach fizycznych, inżynierii materiałowej, mikrobiologii. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że praca doktorska pana mgr. Wojciecha Pajerskiego w pełni zasługuje na wyróżnienie.

E. Paweł