



Wrocław, 29 sierpnia 2024 roku

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**mgr Izabeli Wojtczak**

pt.: *Mikro- nanostrukturyzowane kompozyty na bazie biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami tlenków ziem rzadkich (Ce, Tb) i nanocząstkami srebra*

Praca doktorska Pani mgr Izabeli Wojtczak została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky pod opieką promotorską dr. hab. inż. Myroslava Sprynskiego, prof. UMK.

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr I. Wojtczak wpisują się w tematykę badawczą prowadzoną przez grupę prof. M. Sprynskiego, skupioną na wykorzystaniu materiałów opartych na biokrzemionce i innych sorbentach naturalnych jako uniwersalnych i przyjaznych dla środowiska nośnikach faz aktywnych do zastosowań w sorpcji, separacji czy katalizie. Wykorzystanie materiałów pochodzenia biologicznego stanowiło od wieków w naszej cywilizacji podstawowy sposób pozyskiwania nowych materiałów, gdyż Natura jest niewyczerpanym źródłem inspiracji dla ludzi. Ponadto Natura wykorzystuje bardzo wysoki stopień organizacji strukturalnej a w przypadku materii odnawialnej daje możliwość stabilnego w czasie korzystania z zasobów. Są to z pewnością ogromne zalety materiałów pochodzenia biologicznego, z drugiej strony takie mikroorganizmy, jak np. okrzemki wykorzystane w niniejszej pracy, narzucają pewne określone formy strukturalne.

Rozprawa doktorska Pani mgr Izabeli Wojtczak została napisana w formie „hybrydowej”, która łączy w sobie styl monografii oraz przewodnika po publikacjach. Można odnieść wrażenie, że Doktorantka intensywnie poszukiwała najbardziej odpowiedniego stylu dla swojej dysertacji i ostatecznie uzyskała formę nieco eklektyczną. Dysertacja obejmuje wprowadzenie, część eksperymentalną połączoną z opisem wyników badań własnych i dyskusją, podsumowanie oraz bibliografię co stanowi łącznie 132 strony maszynopisu. Uzupełnieniem rozprawy jest spis dorobku naukowego mgr I. Wojtczak, który w skrócie omówię na końcu recenzji. Spis bibliograficzny liczy 200 pozycji literaturowych, przy czym większość cytowań znajduje się w części dotyczącej dyskusji wyników. Pewnym zaskoczeniem jest dla mnie brak klasycznej części literaturowej, w której Autorka przedstawiłaby bardziej szczegółowo aktualny stan wiedzy w tym obszarze. Jest to szczególnie dotkliwe w sytuacji, gdy z pewnością istnieje bogaty

materiał literaturowy dotyczący funkcjonalizacji materiałów biokrzemionkowych, w tym również pochodzący z zespołu macierzystego, będącego niewątpliwie liderem w tym obszarze naukowym. Doktorantka mogłaby w tym miejscu szerzej przedstawić rolę różnego typu okrzemek, ich zalety i wady w zastosowaniu do określonych i pożądaných modyfikacji chemicznych ich pancerzyków. Tu więc pojawia się pierwsze pytanie recenzenta o motywację wyboru właśnie tej grupy okrzemek *Pseudostaurosira trainorii* jako obiektu badań i modyfikacji. Czym wyróżnia się ten gatunek okrzemek spośród innych i czy rozważane były też inne gatunki?

Pewnym wypełnieniem luki po części literaturowej jest wprowadzenie, w którym Autorka omówiła rolę pierwiastków ziem rzadkich (REE) z punktu widzenia gospodarczego oraz polityki zrównoważonego rozwoju. Kolejnym aspektem poruszonym w tej części pracy jest rola nanomateriałów i nanotechnologii w różnych gałęziach gospodarki. Szczególnie istotne, z punktu widzenia Doktorantki, są nanomateriały oparte o tlenki ceru, terbu oraz nanocząstki srebra, które są obiektem licznych badań, jak również znalazły wiele zastosowań. Na takich układach Autorka skupiła swoją uwagę, co zostało wyrażone w celach pracy. Wprowadzenie jest stosunkowo krótkie, co nie jest tu wadą, gdyż w zwięzły sposób uzasadnia podjęcie tego zagadnienia badawczego, jednak naturalnie w takiej sytuacji, ma wysoki poziom ogólności.

Celem pracy mgr I. Wojtczak było otrzymanie i charakterystyka 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów „nowej generacji” na bazie matrycy biokrzemionkowej pozyskanej z okrzemek *Pseudostaurosira trainorii* hodowanych w laboratorium. W rozdziale *Hipotezy badawcze i cel rozprawy* mgr I. Wojtczak wyróżniła trzy obszary, które były przedmiotem programu badawczego Doktorantki. W pierwszej części Doktorantka opracowywała innowacyjną metodę syntezy nanokompozytu (Ce-DBioSiO<sub>2</sub>), która oparta była na metabolicznym domieszkowaniu komórek okrzemek jonami ceru na etapie ich hodowli. W tej części Autorka podjęła się optymalizacji procesu metabolicznego wprowadzania ceru w strukturę biokrzemionki, zwracając uwagę na pH roztworu hodowli oraz stosunku pierwiastków (Si/Ce) w stosowanej pożywce. To zadanie miało charakter bardziej fundamentalny niż aplikacyjny, w celu poznania i optymalizacji metody funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej syntetycznymi nanocząstkami. Drugim celem badań było zaprojektowanie i synteza nowych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów na bazie biokrzemionki okrzemkowej sfunkcjonalizowanej nanocząstkami mieszanego tlenku ceru i terbu oraz tlenków terbu. W tym przypadku oczekiwano uzyskania materiałów o określonych właściwościach luminescencyjnych, wysokiej termostabilności i hydrofobowości.

Trzecia część rozprawy poświęcona jest projektowaniu i syntezie nowych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów biokrzemionki okrzemkowej z nanocząstkami srebra, chlorku srebra i tlenku ceru (IV). Dla otrzymanych kompozytów zbadano ich aktywność antybakteryjną wobec szczepów Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* oraz Gram-ujemnych *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. W mojej opinii cele badawcze pracy doktorskiej są

spójne i dają klarowny obraz problemu naukowego oraz przyjętego planu badawczego ujętego w niniejszej rozprawie. Tak sformułowane cele badawcze zostały rozwinięte w podrozdziale 4 rozprawy *Część eksperymentalna – Wyniki badań i dyskusja*. Tutaj krok po kroku Doktorantka przeprowadza czytelnika przez kolejne kroki syntezy i charakterystyki otrzymywanych materiałów kompozytowych.

Przedstawione podejście syntetyczne w pierwszej części rozprawy oparte jest na nowatorskiej metodzie metabolicznego domieszkowania biomasy pozyskanej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* przy użyciu jonów metali. W metodzie tej czynniki dotujące wprowadzane są do układu w formie pożywki w czasie wzrostu alg. W swoim założeniu metoda ta wykorzystuje procesy biologiczne (metaboliczne) organizmów jednokomórkowych, co powinno doprowadzić do równomiernej dystrybucji pierwiastka wprowadzanego w pancerzykach okrzemek. Inkorporacja ceru została bardziej dokładnie zbadana i zoptymalizowana pod kątem odczynu środowiska oraz zmiany stosunku molowego Ce:Si w stosowanych pożywkach w czasie wzrostu biomasy. W tym aspekcie starannie zaplanowane eksperymenty pozwoliły na znalezienie optymalnych warunków wzrostu alg, które pozwalają na osiągnięcie najwyższego stopnia inkorporacji ceru. Należy podkreślić, że optymalizacja syntezy poskutkowała osiągnięciem inkorporacji ceru na poziomie 10% wagowych. Kolejnym krokiem była staranna charakterystyka składu i morfologii otrzymanych kompozytów biokrzemionkowych. W tym celu Doktorantka posłużyła się szeregiem metod analitycznych (mikroskopia elektronowa skaningowa i transmisyjna z analizą składu pierwiastkowego, dyfraktometria proszkowa, spektroskopia w podczerwieni oraz UV-Vis czy analiza termogravimetryczna), które pozwoliły na wyczerpujący opis budowy oraz wyciągnięcie wniosków dotyczących skuteczności zastosowanej metody syntetycznej. W przypadku analizy mikroskopowej TEM uzyskano potwierdzenie utworzenia nanocząstek CeO<sub>2</sub> na powierzchni frustuli okrzemkowych w postaci wysepek. Pewien niedosyt w ocenie recenzenta pozostawia zawartość ceru w próbkach, która została uzyskana na podstawie analizy spektralnej EDS. Analiza EDS daje zazwyczaj informację o składzie powierzchniowym materiału, natomiast w mniejszym stopniu o składzie wnętrza badanej fazy. W tym miejscu warto polecić komplementarną metodę analityczną w postaci ICP-OES, która pozwoliłaby na uzyskanie średniego składu próbki kompozytu. Czy takie próby zostały podjęte przez Doktorantkę?

Komentarza wymaga również uzyskany profil zaniku jonów ceru w modelowej próbce, który został przedstawiony na rysunku 2D. O ile spadek stężeń azotu i krzemu jest stopniowy (w przybliżeniu liniowy) w okresie wzrostu mikroalg (12 dni), to w przypadku stężenia jonów ceru zaobserwowano duży spadek stężenia (ponad 50%) już po 2 dniu hodowli. Jaki jest tu mechanizm ubytku jonów ceru? Czy następuje utworzenie nierozpuszczalnych form ceru, czy możliwa jest tak duża konsumpcja tych jonów przez mikroalgi w czasie ich wzrostu?

Z kolei obecność silnych refleksów na dyfraktogramach proszkowych przedstawionych na rysunku 5A w zakresie kątów  $10-20^\circ$  nie została jednoznacznie wyjaśniona przez Doktorantkę. Oczywiście jest to zadanie trudne w przypadku pracy z próbkami pochodzenia biologicznego, jednak głębsza analiza tego wątku wydaje się tu ważnym zagadnieniem.

W drugiej części rozprawy mgr I. Wojtczak podjęła się modyfikacji biokrzemionki okrzemkowej nanocząstkami mieszanych tlenków ceru i terbu. W tym przypadku metoda syntetyczna oparta była na modyfikacji biokrzemionki w wyniku impregnacji w roztworach zawierających jony metali z odpowiednio dobranymi stężeniami. Wykorzystana metoda okazała się skuteczna w utworzeniu nanocząstek mieszanych tlenków na powierzchni frustuli. Struktura i morfologia otrzymanych kompozytów została zbadana przy użyciu szeregu metod analitycznych wspomnianych wcześniej. Przedstawione wyniki badań jednoznacznie potwierdzają właściwy dobór metody syntetycznej w celu osiągnięcia założonego celu. Otrzymane kompozyty zachowały kształt wyjściowych okrzemek a nanocząstki wytworzone zostały na powierzchni pancrzyków w postaci cienkowarstwowych skupisk o wielkości nanocząstek w zakresie 5-10 nm. Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka postuluje, że tworzeniu nanocząstek na powierzchni sprzyja obecność grup silanolowych (Si-OH), natomiast grupy siloksanowe (Si-O-Si) hamują wzrost nanocząstek. Analiza fazowa przeprowadzona z wykorzystaniem dyfraktometrii proszkowej wykazała możliwość utworzenia szeregu form tlenku terbu o różnej stechiometrii i stopniach utlenienia terbu. Poszerzenie refleksów na dyfraktogramach nie pozwala, moim zdaniem, na jednoznaczne przypisanie lub wykluczenie możliwości utworzenia konkretnych faz, które mają bardzo podobne parametry strukturalne. Z pewnością jest to integralna właściwość tlenków terbu, które mogą występować w połączeniach o różnej stechiometrii z tlenem. Dla uzyskanych kompozytów zbadano również ich właściwości luminescencyjne, co było głównym celem podjętych prac. Na podstawie szeregu badań absorpcji i emisji promieniowania UV-Vis stwierdzono wystąpienie zjawiska *up-konwersji*, co jest szczególnie ciekawe w tego typu układach.

Ostatnim celem badawczym postawionym przez Doktorantkę było domieszkowanie biokrzemionki okrzemkowej złożonymi nanocząstkami Ag/AgCl/CeO<sub>2</sub> w celu otrzymania kompozytów o właściwościach antybakteryjnych. W tym przypadku również została wykorzystana metoda impregnacyjna, która zakończyła się pełnym sukcesem. Bardzo ciekawym wynikiem jest w tym przypadku profil budowy otrzymanych nanocząstek na powierzchni, który wykazuje strukturę warstwową, przy czym dolną warstwę są nanocząstki AgCl, kolejną nanocząstki Ag a najbardziej powierzchniową nanocząstki tlenku ceru (IV). Przeprowadzone badania aktywności przeciwbakteryjnej wykazały aktywność otrzymanych kompozytów wobec szczepów Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* oraz Gram-ujemnych *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. W tym miejscu należy zwrócić uwagę, że sam nośnik w postaci biokrzemionki okrzemkowej posiada istotne właściwości antybakteryjne wobec dwóch z przebadanych

szczepów, z kolei kompozyty zawierające srebro wykazują aktywność we wszystkich trzech przypadkach, przy czym stwierdzono, że ilość wprowadzonego srebra nie wpływa na mechanizm działania przeciwdrobnoustrojowego. Z pewnością ten kierunek wymaga dalszych badań w celu lepszego poznania mechanizmów aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

W tym miejscu Recenzent chciałby podsumować dorobek publikacyjny związany z rozprawą doktorską. Na etapie złożenia pracy dostępna była jedna opublikowana praca oznaczona jako *P3* (*Journal of Cluster Science*, **2023**, <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02492-x>), natomiast pozostałe badania miały status prac nieopublikowanych. W trakcie sporządzania recenzji status pozostałych prac uległ zmianie i z informacji uzyskanych przez recenzenta wynika, że praca *P1* została już opublikowana (*Materials* **2024**, <https://doi.org/10.3390/ma17102390>). Z kolei trzecia praca, oznaczona jako *P2*, została złożona do recenzji w czasopiśmie *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Oznacza to, że wszystkie badania przedstawione w rozprawie uzyskają w niedalekiej przyszłości status danych opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Bez wątplenia wkład autorski mgr I. Wojtczak w przedstawione publikacje jest dominujący i stanowi mocny fundament przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Od strony technicznej rozprawa jest napisana poprawnie i nie sprawia czytającemu problemów w analizie przedstawionych treści. Oprawa graficzna tekstu wykonana jest starannie i czytelnie. W pracy zauważyć można pewne błędy w stosowanym języku naukowym, na przykład „widma rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej”, które powtarzane są wielokrotnie. Ze względu na niemożność wprowadzania korekt do złożonych prac doktorskich, wyliczanie błędów językowych czy nomenklaturowych nie ma większego sensu, dlatego ten aspekt recenzent zyczliwie pozostawi bez komentarza.

Całkowity dorobek naukowy mgr Izabeli Wojtczak jest bardzo dobry i składa się z 13 artykułów opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Należy z uznaniem podkreślić, że Doktorantka brała udział w 6 konferencjach naukowych, na których przedstawiła referaty ustne 4 razy. Ponadto mgr I. Wojtczak włączała się w prace badawcze w ramach projektów naukowych w charakterze wykonawcy (np. w projekcie *Preludium*) czy w projektach typu *Grant Młodych* dla uczestników studiów doktoranckich na UMK w Toruniu.

Podsumowując, w świetle powyższych faktów stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca mgr Izabeli Wojtczak spełnia wymagania stawiane kandydatom, określone w obowiązujących przepisach. W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Izabeli Wojtczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,

Wojciech Bury