AGH
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej
KATEDRA INŻYNIERII POWIERZCHNI I ANALIZ MATERIAŁÓW

Dr hab. inż. Sławomir KĄC, prof. AGH
Kierownik Katedry

Kraków, dnia 26 października 2023 r.

Sz. P. Prof. dr hab. inż. Agata Dudek
Dziekan Wydziału Inżynierii Produkcji i Technologii Materiałowych
Politechnika Częstochowska
Al. Armii Krajowej 19, 42-201 Częstochowa

RECENZJA

rozprawy doktorskiej p. mgr Marcina Pruby
pt. Wytwarzanie oraz charakterystyka nanocząstek tlenków żelaza w aspekcie zastosowań w hipertermii magnetycznej
Promotor: dr hab. Piotr Pawlik, prof. PCz
Promotor pomocniczy: dr hab. Łukasz Laskowski, prof. IFJ PAN

1. Podstawa wykonania recenzji

Podstawą do wykonania recenzji rozprawy doktorskiej Pana mgra Marcina Pruby było pismo z dnia 17 sierpnia 2023 r. p. Prof. dr hab. inż. Agaty Dudek, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Inżynieria Materiałowa Politechniki Częstochowskiej.

2. Ogólna charakterystyka pracy

Praca doktorska p. mgra Marcina Pruby dotyczy modyfikacji procesów wytwarzania nanocząstek tlenków żelaza oraz ich charakterystyki w kontekście ich zastosowań biomedycznych. Tematyka pracy wpisuje się w dyscyplinę inżynieria materiałowa, gdyż dotyczy procesu wytwarzania oraz charakterystyki morfologii, składu fazowego i właściwości (głównie magnetycznych) nanocząstek.

Praca ma klasyczny dla prac doktorskich układ. Podzielona jest na dwie główne części. Część I, zatytułowana „Część I Stan wiedzy", obejmująca 35 stron, zawiera analizę literatury, będącą wprowadzeniem do badań własnych. Autor opisał krótko rodzaje, strukturę krystaliczną i własności magnetyczne tlenków żelaza, stosowane dotychczas metody ich otrzymywania, jak również własności nanocząstek tlenków żelaza w kontekście ich zastosowań biomedycznych. Następnie Doktorant opisał wybrane zagadnienia związane z leczeniem chorób nowotworowych, czyli zasady diagnostyki i metody leczenia nowotworów, ze szczególnym uwzględnieniem hipertermii, co jest związane z tematyką pracy doktorskiej. Część pierwszą pracy zakończono tezami i celem pracy.

Część II pracy doktorskiej, zamieszczona na 82 stronach, zatytułowana „Część II doświadczalna", zawiera wyniki badań własnych. W tej części pracy Autor zamieścił szczegółowy opis zastosowanych metod badawczych, opisał metody otrzymywania nanocząstek tlenków żelaza poprzez strącanie z mgieł soli żelaza i techniką syntezy z mgieł soli żelaza oraz zamieścił wyniki badań własnych, ich dyskusję oraz podsumowanie i wnioski końcowe.

Praca zawiera także spis literatury, zawierający 141 pozycji oraz dodatek, w którym Autor rozprawy zamieścił wyciąg z Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce, jak również opis zbudowanego układu do pomiaru temperatury i kod źródłowy oprogramowania tego układu.

Ponadto w pracy umieszczono spis rysunków (72 pozycje), spis tabel (18 pozycji) i wykaz publikacji Autora (7 pozycji). Cała praca liczy 159 stron.

3. Ocena trafności wyboru tematyki

Badania, które podjął Autor rozprawy doktorskiej wpisują się w rozwój dziedziny nauki jaką jest nanotechnologia. Zainteresowanie nanomateriałami do zastosowań biomedycznych jest wciąż duże. Świadczy o tym stale rosnąca ilość publikacji, jak również, na co wskazują dane Głównego Urzędu Statystycznego z 2021 r., ciągły rozwój przedsiębiorstw z branży biotechnologicznej (właśnie głównie w sektorze nanomateriałów) i zwiększone nakłady (zarówno z budżetu państwa, jak i inwestycje własne przedsiębiorstw) na finansowanie działalności o tej tematyce.

Wg SciVal (Scopus) w ciągu ostatnich 10 lat liczba publikacji na świecie dotycząca badań własności magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza stosowanych w bionanotechnologii utrzymuje się na w miarę stałym poziomie kilkudziesięciu rocznie, a liczba cytowań wynosi ponad 7700.

Natomiast w przypadku badań dotyczących zjawiska hipertermii lista wydawanych publikacji rośnie z ok. 215 w 2013 r do 380 w 2022 r, przy czym całkowita liczba publikacji wydana w tym okresie wynosi 2 927, a liczba cytowań dotyczących zjawiska hipertermii wynosi w ciągu ostatnich 10 lat ponad 68 000.

Tak więc tematyka podjęta i opracowana przez Doktoranta wpisuje się w aktualne kierunki rozwoju inżynierii materiałowej i w dalszym ciągu istnieje duże zainteresowanie tą tematyką, przede wszystkim ze względu na ciągły rozwój technik badawczych czy technik obrazowania (w których można wykorzystać nanocząstki magnetytu), technik wprowadzania leków, co pozwala na potencjalne wykorzystanie uzyskanych w ramach pracy badań.

Oprócz interesujących, często unikalnych, własności nanoczastek stosowanych w biomedycynie, które pozwalają na potencjalne ich wykorzystanie w leczeniu, diagnostyce czy dostarczaniu leków, niezmiernie istotne jest, aby były one nietoksyczne i biokompatybilne. Nanocząstki ze względu na swoje niewielkie rozmiary mogą łatwo przedostać się do organizmu i różnymi drogami docierać do bardzo wrażliwych narządów. Cytotoksyczność nanocząstek zależy od różnych parametrów, takich jak rozmiar, kształt, ładunek powierzchni, skład chemiczny i modyfikacje powierzchni. Dlatego słuszne jest, że Doktorant podjął badania mające

Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej
Katedra Inżynierii Powierzchni i Analiz Materiałów
al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,
tel. +48 12 617 38 17; e-mail: Slawomir.Kac@agh.edu.pl, www.agh.edu.pl

na celu zarówno analizę struktury i własności jak i odziaływania nanocząstek na komórki zdrowe jak i nowotworowe.

Podjęcie przez Doktoranta realizacji prac badawczych w tym zakresie uważam za celowe, zarówno ze względów poznawczych, jak i aplikacyjnych.

4. Merytoryczna ocena pracy doktorskiej

W rozdziale pierwszym pt. „Nanomateriały inżynierskie" pierwszej części pracy Autor rozprawy, poprzez analizę literatury, w klarowny sposób wprowadził czytelnika w tematykę realizowanych badań. W logiczny sposób wyjaśnił założony tok przyjętych w czasie realizacji badań. W części pierwszej znalazła się krótka charakterystyka struktury krystalicznej tlenków żelaza oraz ich własności magnetycznych. Następny rozdział obejmuje krótki opis różnych sposobów wytwarzania nanocząstek magnetycznych oraz zjawisko aglomeracji nanocząstek. Ponadto, w części pierwszej pracy Doktorant opisał zagadnienia biologicznej kompatybilności nanocząstek oraz ich potencjalnej toksyczności po wprowadzeniu do organizmu i przedstawił rolę nanotechnologii we współczesnej terapii nowotworowej.

W rozdziale drugim, zatytułowanym „Choroby nowotworowe-wybrane zagadnienia" Autor rozprawy zamieścił wyciągi z rejestrów nowotworów zarówno Międzynarodowej Agencji Badań nad rakiem, jak i z Krajowego Rejestru Nowotworów. Przedstawił podstawowe zasady diagnostyki oraz ogólne zasady leczenia nowotworów. W rozdziale trzecim części pierwszej Autor rozprawy scharakteryzował hipertermię i terapię celowaną, jako metody wspomagające leczenia onkologicznego.

Tak skonstruowana część pierwsza pracy, będąca przeglądem literatury, płynnie wprowadza czytelnika do części drugiej i logicznie uzasadnia tok zaplanowanych badań eksperymentalnych. Jednocześnie analiza literatury, zaprezentowana w części pierwszej pozwoliła na postawienie aż sześciu tez oraz wyznaczenie celu poznawczego pracy oraz celów praktycznych.

Część druga rozprawy doktorskiej zawiera wyniki badań własnych Doktoranta. W rozdziale 5. przedstawiono badane materiały oraz wykorzystane w pracy metody badawcze. W celu realizacji założonych badań Doktorant wykorzystał różne techniki wytwarzania nanocząstek:

- strącanie z mgieł soli Fe(II) i Fe(III) oraz wodorotlenku;
- synteza z mgieł soli Fe(II) i Fe(III) i wodorotlenku.

Ponadto nanoproszki wytworzone w procesie współstrącania z mgieł soli Fe pokrywano otoczką krzemionkową, jak również stabilizowano oleinianem trietanolaminy. Nanoproszki magnetytu wytwarzane w procesie syntezy z mgieł soli Fe również stabilizowano oleinianem trietanolaminy.

W celu analizy morfologii, składu fazowego, własności magnetycznych, jak również analizy własności nanocząstek w kontekście ich zastosowań biologicznych czy biomedycznych Doktorant zastosował szereg uzupełniających się, zaawansowanych technik badawczych:

- transmisyjną mikroskopię elektronową;

- rentgenowską analizę fazową;
- magnetometrię wibracyjną;
- dynamiczne rozpraszanie światła;
- spektroskopię podczerwieni z transformacją Fouriera;
- pomiar temperatury cząstek w zależności od czasu w zmiennym polu magnetycznym (wykorzystując zbudowane na potrzeby pracy urządzenie);
- spektroskopię Mösbauera;
- obrazowanie zawiesin nanocząstek metodą rezonansu magnetycznego;
- ocena stopnia aktywności cytytoksycznej (testy MTS);
- analiza oddziaływania nanocząstek na komórki zdrowe oraz nowotworowe (m.in.: mikroskopia holotomograficzna).

Rozdział 6. to wyniki przeprowadzonych badań. W ramach badań, których wyniki opisano w tym rozdziale, różnymi metodami wytworzono oraz modyfikowano powierzchniowo nanocząstki magnetytu, które w dalszym etapie badań (których wyniki opisano w rozdziałach 7 i 8) poddano badaniom oddziaływania na komórki zdrowe oraz nowotworowe, co jest logicznym i kompleksowym podejście do zagadnienia.

W podrozdziale 6.1 przedstawiono proces wytwarzania nanocząstek magnetytu metodą współstrącania. Badano wpływ paramentów procesu wytwarzania nanoczastek na ich morfologię, skład fazowy oraz własności magnetyczne. Istotnym elementem w tej części rozdziału jest badanie wpływu atmosfery przechowywania nanoczastek (przechowywanie w glicerynie przez 18 miesięcy). Wykazano, że cząstki magnetytu, przetrzymywane w glicerynie, ulegają częściowo przemianie fazowej w hematyt, a co się z tym wiąże zauważalnie spada namagnesownie nasycenia zawiesin.

W podrozdziale 6.2, który realizowano we współpracy z Narodowym Centrum Promieniowania Synchrotronowego SOLARIS Uniwersytetu Jagiellńskiego w Krakowie oraz Instytutem Problemów Jądrowych Państwowego Uniwersytetu Białoruskiego w Mińsku, wytworzone nanocząstki magnetytu zostały stabilizowane oleinianem trietanolaminy, a następnie poprzez proces wirowania zostały rozseparowane na dwie, różniące się masą i wielkością cząstek frakcje: „Fe_3O_4-top" (cząstki drobniejsze) i „Fe_3O_4-bottom" (cząstki większe). W podrozdziale tym Autor przedstawił również wyniki badań otrzymanych nanocząstek, tj. badania morfologii cząstek za pomocą TEM, badania hydrodynamicznego rozkładu nanocząstek poszczególnych frakcji, pomiary stałych sieciowych z wykorzystaniem dyfrakcji rentgenowskiej oraz badania własności magnetycznych i obrazowanie nanocząstek techniką rezonansu magnetycznego. Istotnym rezultatem uzyskanym w tej części pracy jest fakt, że zaobserwowano liniową zmianę czasu relaksacji w zależności od stężenia nanocząstek, co pozwala na ich potencjalne wykorzystanie jako czynnik kontrastujący w obrazowaniu techniką magnetycznego rezonansu jądrowego.

W podrozdziale 6.3 Doktorant opisał wyniki eksperymentów mających na celu wytworzenie nanoczastek magnetytu techniką syntezy z mgieł soli zawierających jony Fe oraz

wodorotlenku. Stosując różne parametry procesu syntezy otrzymano dwa rodzaje zawiesin nanocząstek, różniące się wielkością cząstek oraz rozkładem ich wielkości. Następnie otrzymane nanocząstki magnetytu stabilizowano oleinianem trietanolaminy oraz poddano analizie morfologii za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Analizowano wielkość otrzymanych nanocząstek oraz rozkład ich wielkości jak również skłonność do aglomeracji. Analogicznie jak w przypadku podrozdziału 6.2. na uzyskanych nanocząstkach przeprowadzono badania hydrodynamicznego rozkładu nanoczastek poszczególnych frakcji, pomiary stałych sieciowych z wykorzystaniem dyfrakcji rentgenowskiej oraz badania własności magnetycznych i obrazowanie nanocząstek techniką rezonansu magnetycznego.
Wykonano również pomiary szybkości nagrzewania wybranych zawiesin nanocząstek, co jest istotne w kontekście zastosowania ich w hipertermii. Badania te wykonano we współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym w Lublinie.

Rozdział 7. zawiera opis testów pozwalających na badanie interakcji nanocząstek z komórkami zdrowymi oraz nowotworowymi, tj. badania cytotoksyczności, stosowane dla materiałów, które mogą mieć potencjalne zastosowanie medyczne (testy MTS) oraz badania rozmieszczenia i wpływu nanocząstek na komórki organizmów żywych (mikroskopia holotomograficzna).

W rozdziale 8. pracy Autor przedstawił wyniki badań nanocząstek magnetytu na liniach komórkowych. Badano wpływ wytworzonych nanocząstek na linie komórkowe glejaka oraz prawidłowe komórki jajnika chomika chińskiego. Do badań oddziaływania nanocząstek na komórki rakowe glejaka LN229 wykorzystano nanocząstki wytworzone w procesie współstrącania (oznaczenie „próbka I") oraz nanoczastki wytworzone metodą syntezy z mgieł (oznaczenie „2AeroNPs), bez stabilizacji oleinianem trietanolaminy. Wyniki badań wskazują, że dla wybranych stężeń, dla obydwu rodzajów nanocząstek, obserwuje się spadek żywotności komórek glejaka LN229. Jednak znaczącą śmiertelność komórek rakowych, uwzględniając błąd statystyczny, obserwuje się jedynie dla największych stężeń nanocząstek.
Do badań oddziaływania nanoczastek na komórki rakowe glejaka (U118MG) oraz komórki zdrowe jajnika chomika chińskiego (CHO-K1) wykorzystano dwie frakcje (różniące się masą i stopniem rozdrobnienia) nanocząstkek magnetytu wytworzone metodą syntezy z mgieł (oznaczone jako: „2AeroNPs-top" i „2Aero-NPs-bottom"). Cykl badań opisanych w tym rozdziale miał na celu ustalić maksymalne stężenie nanocząstek, które nie byłoby toksyczne dla komórek. Obserwacje, za pomocą mikroskopii holotomograficznej, komórek prawidłowych CHO-K1 wykazały, że po wprowadzeniu obydwy rodzajów nanocząstek do tych komórek, nie obserwowano żadnych zmian patologicznych, nawet po 24 h oddziaływania cząstek na komórki. Badania te dotyczyły jednak tylko zawiesin o najmniejszym stężeniu (20 ug/ml).

W rozdziale 9. Przedstawiono wyniki badań mających na celu ocenę możliwości zastosowania nanocząstek magnetytu w leczeniu oparzeń. Wykorzystano dwie frakcje (o różnej masie i stopniu rozdrobnienia (Fe_3O_4-top i Fe_3O_4-bottom) nanocząstek, pokrytych oleinianem trietanolaminy. Cząstki te, w potencjalnym praktycznym zastosowaniu, miałyby być dodawane

do opatrunków i miałyby wspomagać proliferację fibroblastów, czyli komórek tkanki łącznej. Badania były prowadzone we współpracy z Centrum Leczenia Oparzeń w Siemianowicach Śląskich, na żywych, ludzkich fibroblastach, które poddano badaniom proliferacji, żywotności, apoptozy oraz stresu oksydacyjnego.

Badania wykazały, że nanocząstki oznaczone jako Fe_3O_4-bottom wykazywały największą zdolność do stymulacji proliferacji komórek, co może prowadzić do szybszego i całkowitego zamknięcia się trudno gojących się ran. Ponadto dodanie nanocząstek do komórek nie powodowało utraty sterylności komórek oraz stresu oksydacyjnego i uszkadzania tkanek. Uzyskane wyniki wskazują więc na znaczny potencjał aplikacyjny wytworzonych nanocząstek w leczeniu ran, jednak jak wskazuje Autor, konieczne są jeszcze dalsze badania w tym kierunku.

Innowacyjnym osiągnięciem pracy było wykonanie badań wpływu nanocząstek magnetytu uzyskanych różnymi metodami na nowotworowe linie komórkowe oraz zachowania się nanocząstek w badaniu ludzkich linii komórkowych fibroblastów. Znajomość wpływu nanocząstek na komórki zdrowe i komórki rakowe, ma istotne znaczenie również w aspekcie ich zastosowania w hipertermii magnetycznej. Uzyskana wiedza o interakcjach między nanocząstkami o różnych właściwościach fizykochemicznych (rozmiar, powłoka, aglomeracja), wytworzonych różnymi technikami, pozwala na ocenę ich cytotoksyczności i określenie ich możliwości aplikacyjnych w hipertermii magnetycznej oraz obrazowaniu rezonansem magnetycznym.

Rezultaty badań zawarte w rozprawie doktorskiej świadczą o szerokiej wiedzy Doktoranta w zakresie zagadnień inżynierii materiałowej. Badania są spójne i wzajemnie się uzupełniają.

Analiza przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej, jak również dorobku naukowego wskazuje, że Doktorant opanował zaawansowane techniki badawcze. Posiada umiejętność planowania eksperymentów oraz wnikliwej analizy wyników badań i jest dobrze przygotowany do prowadzenia badań naukowych.

5. Uwagi o charakterze krytycznym i dyskusyjnym

Pomimo wysokiego poziomu recenzowanej pracy, można w niej znaleźć pewne uchybienia i zagadnienia dyskusyjne.

1. W pracy można znaleźć błędy literowe, interpunkcyjne oraz gramatyczne, co delikatnie utrudnia czytanie pracy. W kilku przypadkach można znaleźć błędy stylistyczne, a dokładniej niepoprawny szyk wyrazów w zdaniach (zapewne wynikające z tłumaczenia z j. angielskiego), np. w rozdziale 1.1.2., na str. 21 jest napisane: „Sferyczne nanostruktury typu...". W języku polskim powinno brzmieć „Nanostruktury sferyczne typu ...".
2. Ważniejsze skróty literowe zostały wymienione na początku pracy. To dobra praktyka, ale przy jednym ze skrótów napisano rozwinięcie w j. angielskim, natomiast przy innych już nie. Podobnie w przypadku skrótów używanych w dalszej części pracy. Przy jednych jest podana

pełna nazwa w j. angielskim, (bądź w j. polskim, jeżeli to skrót od nazwy polskiej), w innych przypadkach nie. Należałoby ujednolicić sposób opisu skrótów.

3. W rozdziale 2. na str. 28 podano nie do końca poprawne tłumaczenie z j. łacińskiego pojęcia nowotwór. Napisano: „...pojęcie „nowotwór" (łac. neoplasma – twór, wytwór, kształt)...", a powinno być: „...pojęcie „nowotwór" (łac. *neoplasma*, neo- od gr.: *nowy*, i plasma z gr.: *twór, wytwór, kształt*)...".
4. Na str. 15. napisano, że „Żelazo tworzy tlenki FeO, Fe_2O_3 i Fe_3O_4 dość powszechnie występujące w przyrodzie." Nie zgodzę się z tym do końca, ponieważ wustyt jako minerał występuje w przyrodzie rzadko.
5. Na str. 16. przy opisie struktur krystalicznych tlenków żelaza Autor pisze: „Struktura γ-Fe_2O_3 jest sześcienna, jony O^{2-} tworzą...". Zgodnie z obowiązującą w literaturze nomenklaturą powinno się używać określenia struktura regularna, a nie sześcienna, a dokładniej, że struktura krystaliczna posiada układ regularny (regularny prymitywny, regularny ściennie centrowany, lub regularny przestrzennie centrowany). Podobnie w tabeli 1 na str. 17 Autor używa określeń struktura krystalograficzna „regularna sześcienna", a powinno się używać określenia „regularna" oraz określenia „powierzchniowo centrowana", a powinno się używać określenia „ściennie centrowana".
6. Na stronie 16 napisano: „W przemyśle wykorzystywany jest do produkcji metalowych wyrobów (w procesie obróbki i skrawania), jak i..." – to zdanie jest bardzo niejasne.
7. Na str. 16 Autor pisze: „W przyrodzie występuje *(mowa o tlenku α-Fe_2O_3)* jako ruda o nazwie hematyt, ma strukturę trygonalną i jest klasyfikowany do antyferromagnetyków...". Natomiast na stronie 17 w Tabeli 1, jest napisane, że hematyt ma strukturę regularną, a przy określeniu własności magnetycznych jest napisane: *„α-paramagnetyczna;* γ-ferromagnetyczna).
8. W kilku przypadkach Autor stosuje skróty myślowe, które mogą czytelnikowi sprawiać trudność w odbiorze, np. na str. 38, 39, w jednym z akapitów Doktorant pisze o stosowaniu w hipertermii całego ciała komór cieplnych i koców termicznych, żeby pobudzić system odpornościowy. W następnym akapicie pisze natomiast o równaniach Maxwella dotyczących pola magnetycznego używanego przy leczeniu hipertermią. Należałoby tutaj, przechodząc do nowego zagadnienia (do nowej myśli) napisać jedno czy dwa zdania wprowadzające, które znacząco ułatwiłoby śledzenie toku rozumowania Autora.
9. W pracy doktorskiej Autor postawił aż sześć tez. Zdaniem recenzenta, można byłoby ograniczyć tę ilość, rezygnując np. z tez 1 i 4. Określenia takie, że zarówno sposób wytwarzania nanocząstek, jak i dobór parametrów procesu wpływa na morfologię i własności cząstek są raczej oczywiste, chyba, że tezy te byłyby bardziej rozwinięte i sprecyzowane.
10. Na stronie 56 przy wzorze (16) nie podano opisu używanych symboli. Pomimo, że równanie jest raczej znane, to dla porządku powinny one być pod wzorem zamieszczone.

Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej
Katedra Inżynierii Powierzchni i Analiz Materiałów
al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,
tel. +48 12 617 38 17; e-mail: Slawomir.Kac@agh.edu.pl, www.agh.edu.pl

11. Na str. 60 i 62, Autor pisze, że wykonano badania mikrostruktury cząstek za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Proponowałbym raczej określenie, że badano morfologię cząstek, a nie mikrostruktury. Cząstki są widoczne w relatywnie niewielkim powiększeniu, obserwujemy jedynie ich kształt. Można przyjąć, że na potrzeby prowadzonych w pracy badań to wystarczy, jednak, żeby mówić o analizie mikrostruktury należałoby obserwować budowę wewnętrzną tych cząstek, to czy składają się z ziaren o różnej orientacji krystalograficznej, czy są monokrystaliczne, czy posiadają powłoki (w przypadku nanocząstek powlekanych) itp.
12. Na str. 76 podane są rozkłady wielkości nanocząstek uzyskane na podstawie badań transmisyjnej mikroskopii elektronowej, natomiast na str. 79 podane są rozmiary nanokrystalitów uzyskane na podstawie badań dyfrakcji rentgenowskiej i jest napisane, że wartości te są zbieżne. Czy w obydwu przypadkach wyniki dotyczą tych samych obiektów (krystalitów, czy cząstek)?
13. Na str. 82 na rys. 6.18 nie jest jasne, które wyniki dotyczą której frakcji (Fe_3O_4-top i Fe_3O_4-bottom. Nie jest to opisane w tekście ani w podpisie rysunku.
14. Na str. 106, pokazano wpływ koncentracji nanocząstek na przeżywalność komórek nowotworowych glejaka LN229. Najbardziej obiecujące wyniki otrzymano dla maksymalnych ze stosowanych stężeń nanocząstek. Nie podano jednak wyraźnie (np. na podstawie danych literaturowych), czy taki poziom śmiertelności komórek jest wystarczający w leczeniu nowotworów. Nie podano jaki poziom, z punktu widzenia zastosowania medycznego jest satysfakcjonujący.
15. Podobnie w rozdziale 8.2. badano wpływ stężenia nanocząstek na żywotność komórek nowotworowych oraz komórek zdrowych. Pokazano wartościowe wyniki badań, jednak i w tym przypadku nie podano czy osiągnięty w badaniach poziom przeżywalności komórek (w tym przypadku zdrowych) jest bezpieczny dla pacjenta (oczywiście przy uwzględnieniu, że nanocząstki są wprowadzane lokalnie, głównie do komórek nowotworowych). Szczególnie, że największą śmiertelność komórek rakowych (a więc i skuteczność leczenia) uzyskuje się właśnie przy największych stężeniach nanocząstek, przy których przeżywalność komórek zdrowych jest niska. W tym przypadku również przydatny byłby komentarz.
16. W podpisie rysunku 6.33 pozostało (chyba) robocze oznaczenie „Rys. XXx."
17. W badaniach zależności czasu relaksacji od stężenia nanocząstek przy obrazowaniu rezonansem magnetycznym, dla różnych nanocząstek (rozdział 6.2 i rozdział 6.3) stosowano znacząco różny zakres koncentracji. W rozdziale 6.2 koncentracja zmieniała się od 0,04 mg/ml do 0,22 mg/ml, natomiast w rozdziale 6.3 koncentracja ta zmieniała się w przedziale od 2,5 mg/ml do 28 mg/ml. Z kolei badania przeżywalności komórek prowadzono dla stężeń zdecydowanie mniejszych, bo rzędu μg/ml. Co było powodem zastosowania tak różnych stężeń i czy ma to wpływ na otrzymane wyniki?

18. Pozycje literaturowe są zacytowane w kilku przypadkach niepoprawnie. Brakuje numerów stron oraz numerów woluminów. Przy kilkunastu ostatnich pozycjach brakuje dat wydania publikacji. Należałoby również ujednolicić kolejność podawanych w bibliografii danych.

Powyższe uwagi oraz komentarze nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanej pracy, a wiele z nich ma charakter dyskusyjny.

6. Najważniejsze osiągnięcia pracy

Ważnymi osiągnięciami w pracy, które są istotnym wkładem w rozwój dyscypliny inżynieria materiałowa jest:

1. Opracowanie nowej (choć w praktyce jest rozwinięciem metody współstrącania) metody wytwarzania nanocząstek magnetytu, w szczególności, że metoda ta jest relatywnie tania, wydajna i pozwalająca na wytwarzanie nanocząstek nawet w warunkach quaziprzemysłowych.
2. Zastosowanie nowej metody stabilizacji nanocząstek i uzyskanie zawiesin o bardzo dużej stabilności w wodzie.
3. Odseparowanie wytworzonych nanocząstek, poprzez proces wirowania, które umożliwiło wyodrębnienie dwóch frakcji o stosunkowo wąskim przedziale ich wielkości. Co jest niezmiernie istotne przy obrazowaniu techniką rezonansu magnetycznego.
4. Wykazanie, że stabilizacja nanocząstek oraz ich rozdzielenie na frakcje różniące się wielkością i posiadające węższy rozkład wielkości pozwala na zwiększenie efektywności wykorzystania nanocząstek magnetytu w obrazowaniu i leczeniu onkologicznym.
5. Wykazanie, na podstawie badań własności magnetycznych (pomiary widm Mösbauera, pętli histerezy magnetycznej), że frakcja nanocząstek magnetytu po stabilizacji oleinianem trietanolaminy, mających mały rozmiar cząsteczek oraz słabą skołonność do aglomeracji mogą znaleźć zastosowanie jako kontrast w obrazowaniu rezonanem magnetycznym. Natomiast frakcja nanocząstek o relatywnie dużych rozmiarach oraz skłonności do aglomeracji w dyspersji wodnej mogą być wykorzystane w leczeniu nowotworów metodą hipertermii magnetycznej.
6. Przeprowadzenie analizy wpływu nanocząstek na komórki zdrowe oraz komórki nowotworowe, która pozwoliła oszacować wpływ na bezpieczeństwo stosowania wytworzonych nanocząstek w medycynie (zarówno w przypadku leczenia onkologicznego, jak i w przypadku diagnostyki), wpływ na przeżywalność komórek, jak również wykazanie dużego potencjału jakie mają nanoczastki magnetytu w leczeniu ran oparzeniowych.

Na uwagę zasługuje duża ilość eksperymentów wykonanych w ramach realizacji pracy doktorskiej, jak również to, że badania realizowano we współpracy z kilkoma ośrodkami badawczymi w Polsce i za granicą. Ponadto, część wyników badań została opublikowana w

recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, co pozwala stwierdzić, że zostały zweryfikowane w międzynarodowym środowisku naukowym.

7. Wniosek końcowy

Recenzowaną pracę doktorską oceniam jednoznacznie pozytywnie. Autor zrealizował poprawnie zaplanowany cykl badań, rozwiązując ciekawy problem badawczy o potencjale aplikacyjnym oraz udowodnił postawione tezy. Doktorant wykazał się znajomością podstaw teoretycznych dotyczących zagadnień poruszanych w pracy oraz solidnym warsztatem badawczym.

Na podstawie analizy rozprawy doktorskiej p. mgra Marcina Pruby pt.: „Wytwarzanie oraz charakterystyka nanocząstek tlenków żelaza w aspekcie zastosowań w hipertermii magnetycznej" stwierdzam, że zawiera ona wartościowe i oryginalne wyniki badań i stanowi twórczy wkład w rozwój dyscypliny inżynieria materiałowa.

Ponadto stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz ustawie z dn. 3 lipca 2018 „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" (Dz. U. 2018, poz. 1669).

Niniejszym wnioskuję do Rady Dyscypliny Inżynieria Materiałowa Politechniki Częstochowskiej o dopuszczenie rozprawy do publicznej obrony oraz o dopuszczenie p. mgra Marcina Pruby do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora nauk technicznych w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie Inżynieria Materiałowa.

Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej
Katedra Inżynierii Powierzchni i Analiz Materiałów
al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,
tel. +48 12 617 38 17; e-mail: Slawomir.Kac@agh.edu.pl, www.agh.edu.pl