



POLITECHNIKA WARSZAWSKA

WYDZIAŁ CHEMICZNY



**Prof. dr hab. inż. Kamil Wojciechowski**

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel/fax.: 22-234-5106, E-mail: kamil.wojciechowski@pw.edu.pl

---

Warszawa 2023-03-03

Recenzja  
rozprawy doktorskiej mgr inż. Martyny Krajewskiej

**"Biomimetic systems studied by Langmuir and Langmuir-Blodgett techniques"**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska *"Biomimetic systems studied by Langmuir and Langmuir-Blodgett techniques"* autorstwa mgr inż. Martyny Krajewskiej zrealizowana została pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Krystyny Prochaski (promotor) oraz dr inż. Katarzyny Dopierały (promotor pomocniczy) na Wydziale Chemicznym Politechniki Poznańskiej w ramach projektu Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”. Tematyka badań wpisuje się w aktualne nurty badawcze związane z tworzeniem cienkich funkcjonalnych warstw, w szczególności ukierunkowane na zastosowania biosensorowe i farmaceutyczne.

Rozprawa stanowi cykl 6 publikacji, opublikowanych w latach 2019-2022, opatrzonych tzw. przewodnikiem. Warto tu zauważyć, że w dorobku Kandydatki znajduje się łącznie aż 11 artykułów recenzowanych oraz 3 wysłane do recenzji, a także 22 wystąpienia konferencyjne. Za prezentację wyników badań Kandydatka została nagrodzona m.in. *Award for the best poster presentation from Langmuir, ACS Publications* podczas konferencji *European Colloid and Interface Society 2022* w Grecji. Część badań w ramach doktoratu finansowana była z kierowanego przez Kandydatkę projektu „NCN Preludium 20” oraz w ramach 4-miesięcznego stażu Fundacji Kościuszkowskiej na Uniwersytecie Stanford w USA.

Wszystkie publikacje stanowiące recenzowane dzieło dotyczą tematyki monowarstw Langmuira, Langmuira-Blodgett i Langmuira-Schaefera w układach jedno- i dwuskładnikowych. Głównym celem rozprawy było jakościowe i ilościowe scharakteryzowanie wybranych układów biomimetycznych o potencjalnych zastosowaniach farmaceutycznych. Oprócz celu głównego Autorka wskazała również szereg celów szczegółowych, stanowiących przedmiot badań opisanych w poszczególnych częściach rozprawy, oraz hipotezę badawczą, wg której monowarstwy substancji o potencjalnym działaniu terapeutycznym mogą pomóc w projektowaniu nowych form leków. O ile cele szczegółowe zostały zdefiniowane i osiągnięte w pełni, hipoteza wydaje mi się być zdefiniowana

zbyt ogólnikowo (przydatność monowarstw do takich celów jest ogólnie znana). Dobór metod badawczych jest adekwatny do postawionego celu i obejmuje m.in. izotermę kompresji, wizualizację z wykorzystaniem mikroskopii kąta Brewstera, pomiary potencjału powierzchniowego, reologii powierzchniowej, czy za pomocą spektroskopii PM-IRRAS, a także pomiary kąta zwilżania i wizualizację za pomocą AFM (w przypadku próbek przniesionych na powierzchnię ciała stałego).

Od strony edycyjnej praca przygotowana jest starannie, liczne rysunki i schematy ilustrujące opisy w tekście ułatwiają lekturę zarówno przewodnika, jak i publikacji. Wybrane wątki badawcze opisane szczegółowo w pracach stanowiących rozprawę, zostały omówione w przewodniku podzielonym na 5 rozdziałów, z których rozdziały 1 i 5 przedstawiają stan literatury, a 2 - 4 – badania własne. Rozdziały opisujące podstawy teoretyczne i metodologię badań (rozdział 1) oraz najnowsze kierunki badań z wykorzystaniem monowarstw (rozdział 5) stanowią dobre wprowadzenie ułatwiające zrozumienie badań własnych Autorki oraz umiejscowienia ich na tle obecnego stanu nauki i kierunków badań. Wskazuje to na dobre przygotowanie teoretyczne mgr inż. Martynty Krajewskiej do prowadzonych przez Nią badań eksperymentalnych. Na szczególne podkreślenie zasługuje tutaj rozdział 5, w którym wychodząc od wieszczącego renesans monowarstw Langmuira artykułu McCullough'a i Regen'a z roku 2004, Autorka pokazuje jak duży postęp dokonał się w tej dziedzinie w ostatnich 20 latach. Tym samym udowadnia, że głoszony przez niektórych zwolenników warstw samoorganizujących się (*Self-Assembling Monolayers*) zmierzch metod opartych na monowarstwach Langmuira nie nadchodzi, a te ostatnie nadal mogą nadal konkurować z innymi metodami tworzenia cienkich warstw, w szczególności do celów badawczych.

Zgodne oświadczenia zarówno Kandydatki, jak i współautorów artykułów stanowiących rozprawę, wskazują że znacząca część prac eksperymentalnych i analizy wyników została wykonana przez Autorkę rozprawy. Z pewnością nie było to zadanie łatwe, zważywszy na dużą liczbę stosowanych metod badawczych. Jednak na podstawie wspomnianych oświadczeń można również śmiało wysnuć wniosek, że Autorka nie była jedynie wykonawcą badań, ale w dużej mierze również twórcą koncepcji (w 4 spośród 6 prac stanowiących rozprawę). Potwierdza to dodatkowo dojrzała konstrukcja przewodnika, gdzie poszczególne wątki badawcze pojawiające się w różnych publikacjach zostały pogrupowane i omówione w sposób pozwalający czytelnikowi na całościowe spojrzenie na każdy z wątków.

Znaczna część prac została opublikowana w cenionych czasopismach o dużej renomie w środowisku naukowym, np. *Langmuir*, *The Journal of Physical Chemistry B*, *Food Hydrocolloids*, co wskazuje, że prace te wnoszą istotne elementy nowości naukowej. Autorka wykazała w nich, że monowarstwy Langmuira mogą być cennym narzędziem w badaniach biomimetycznych. Zastosowanie układów dwuskładnikowych (białko-kwas tłuszczowy, białko-kwas triterpenowy, kwas tłuszczowy-kwas triterpenowy) pozwoliło na pogłębioną analizę oddziaływań między poszczególnymi składnikami. Z powodów niewyjaśnionych w przewodniku, na różnych etapach

badania stosowano jednak różne białka i różne kwasy tłuszczowe. Zaletą takiego podejścia jest oczywiście możliwość opisanie większej liczby układów. Moim zdaniem jednak jeszcze bardziej wartościowe wnioski można by wysnuć stosując takie same składniki w poszczególnych układach. Wobec znanego w literaturze, ale także uwidocznionego w pracach Kandydatki, znacznego wpływu szczegółów budowy chemicznej biocząsteczek, porównywanie ich oddziaływań pomiędzy poszczególnymi parami (np. kwas oleinowy- $\alpha$ -laktoalbumina vs kwas oleanolowy-albumina surowicy ludzkiej) jest trudne. Prawdopodobnie z tego powodu rozprawa została podzielona – moim zdaniem nieco sztucznie – na trzy wątki, z których trudniej jest wysnuć wnioski ogólne. Być może taki był od początku zamysł Autorki, jeśli tak to chętnie podejmę dyskusję na ten temat podczas publicznej obrony.

Do najważniejszych osiągnięć przedstawionej do recenzji rozprawy zaliczam:

- 1) Zastosowanie wymiany subfazy pod monowarstwą do kontroli nie tylko jej składu, ale także temperatury. Utrzymanie temperatury innej niż otoczenia w układzie monowarstwy Langmuira jest zwykle trudne i wymaga długotrwałej stabilizacji warunków. Dlatego sterowanie temperaturą poprzez wymianę subfazy uważam za innowacyjne i praktyczne rozwiązanie.
- 2) Porównanie izoterm kompresji kwasów oleinowego i linolowego w formie zjonizowanej (pH 6.2) i niezdysocjowanej (pH 2.0), wskazujące na istotne różnice w upakowaniu cząsteczek spowodowane obecnością dodatkowego wiązania podwójnego w cząsteczce.
- 3) Charakteryzacja kompleksów typu HAMLET (nienasycony kwas tłuszczowy +  $\alpha$ -laktoalbumina) w układzie dwuwymiarowym (monowarstwa).
- 4) Wykazanie różnej natury oddziaływań między składnikami w kompleksach typu HAMLET w zależności od pH środowiska oraz udowodnienie za pomocą techniki PM-IRRAS tworzenie kompleksu kwas tłuszczowy -  $\alpha$ -laktoalbumina.
- 5) Wykazanie istotnej roli jonów Ca(II) w oddziaływaniu między  $\alpha$ -laktalbuminą a kwasem tłuszczowym.
- 6) Udowodnienie tworzenia się kompleksu pomiędzy monowarstwą kwasu oleanolowego a albuminą surowicy ludzkiej, szczególnie jego dwuwarstwowej budowy.
- 7) Określenie warunków mieszalności modelowego kwasu tłuszczowego (oleinowego) i modelowego kwasu triterpenowego (oleanolowego).
- 8) Za interesujący uważam również wątek związany z zaobserwowaniem oscylacji względnej zmiany powierzchni ( $A/A_0$ ) w monowarstwach kwasu oleanolowego (artykuł P5). Z podobnym problemem spotkali się Brezesinski i Vollhardt (ChemPhysChem 2008, 9, 1670) podczas prób zarejestrowania izotermi kompresji kwasu oleanolowego (artefakty na izotermie powyżej  $\pi \sim 8$  mN/m). Szkoda, że ani w pracy P5, ani w przewodniku (str. 81) Autorka nie podjęła się wyjaśnienia tego zachowania.

Mimo ogólnej bardzo wysokiej oceny rozprawy chciałbym również zwrócić uwagę na kilka drobnych niedociągnięć merytorycznych i edycyjnych. Oczekuję, że Autorka podczas obrony podejmie dyskusję na temat punktów 1-4 (pozostałe mają charakter uwag technicznych i nie wymagają dyskusji, chyba że Autorka się z nimi nie zgadza).

- 1) Fragment „(...) surface pressure, such as 25-35 mN/m representing the surface pressure of biological membranes [49–51] (...)” jest skrótem myślowym (niestety często powtarzanym). Błony biologiczne są dwuwarstwami samoorganizującymi się, więc pojęcie ciśnienia powierzchniowego nie stosuje się w tym przypadku.
- 2) Dlaczego jako pKa kwasu linolowego w monowarstwie przyjęto wartość z poprawką na gęste upakowanie (tzw. „surface pKa”), równe 6.6 (artykuł P1 i str. 57 w przewodniku), zaś dla kwasu oleinowego – już wartość „objętościową” (tzw. „bulk pKa”), równe 4.77 (artykuł P3 i str. 60 w przewodniku) ?
- 3) Porównując szybkość spadku  $A/A_0$  na rys. P3.2 z uwzględnieniem skali na osi Y nie widzę istotnych różnic między pH 2.0 (rys. A) i pH 6.2 (rys. B). Czy drugie zdanie w poniższym fragmencie: „The decrease in the  $A/A_0$  value is observed in time due to the desorption of the fatty acid molecules to the subphase. However, the effect of molecule loss is faster at pH 2.0.” jest na pewno prawdziwe ? Jeśli już spodziewałbym się jakichś różnic spowodowanych pH, to raczej niższej rozpuszczalności w pH 2.0, a nie odwrotnie. Proszę o komentarz.
- 4) Pośrednich wartości modułu sprężystości ( $C_s^{-1}$ ) w maksimum pików nie powinno się interpretować jako dowód na współistnienie stanu LE-LC (np. rys. P6.1). Zgodnie z umownym podziałem Davies’a i Rideal’a (na który zresztą Autorka się powołuje) taka sytuacja (współistnienie faz LE-LC) może mieć miejsce w zakresie wartości ciśnień powierzchniowych pomiędzy pikami odpowiadającymi stanowi LE (12.5-50 mN/m) i stanowi LC (100-250). Natomiast pik z maksimum w zakresie 50-100 mN/m nie odpowiada współistnieniu stanów LE-LC, jak to sugeruje poniższy fragment „According to the graph of compression modulus vs. surface pressure (Figure P5.1B), the LC state for pure OLA shifts to LE-LC or even LE state in the presence of HSA at the interface.” (str. 79).
- 5) Wbrew temu co napisano na str. 21 „the capillary action acts as a driving force in the spontaneous rise of water through the tree trunk (...), siły kapilarne nie wystarczą do transportowania wody na wysokość wielu metrów (sekwoje dorastają nawet do 100 m). Oczywiście odgrywają w transporcie wody w roślinach istotną rolę, ale muszą być wspomagane innymi mechanizmami transportu.
- 6) Warstwy adsorpcyjne zwykle nie mają ściśle określonej grubości tak jak warstwy Langmuira, dlatego zamiast „Gibbs monolayer” powinno się raczej używać określenia „Gibbs layer” (str. 23).

- 7) Trudno zgodzić się ze sformułowaniem, że grupy -OH w terpenach takich jak lupeol,  $\alpha$ - czy  $\beta$ -amyryna mają charakter hydrofobowy, a nawet z tym, że terpeny te są surfaktantami („Reduced terpenes (lupeol,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amyrin) are simple surfactants with –OH polar group as the hydrophobic moiety”) – str. 25. Moim zdaniem niepodstawione terpeny wykazują zbyt niską amfifilowość by działać jak surfaktanty (co nie przeszkadza im tworzyć monowarstw Langmuira).

Waga wyżej opisanych drobnych niedociągnięć nie umniejsza jednak mojej ogólnej bardzo wysokiej oceny przedstawionej mi do recenzji rozprawy. Prezentuje ona ogólną wiedzę teoretyczną oraz znajomość dotychczasowych dokonań i aktualnych kierunków badań w tematyce monowarstw Langmuira i ich modyfikacji związanych z przenoszeniem warstw na podłoża stałe. Opisane w pracach oryginalnych badania, a także ich omówienie w przewodniku, potwierdzają samodzielność naukową Kandydatki. Otrzymane wyniki badań dostarczyły odpowiedzi na pytania postawione w podrozdziale *Motivation and aim*, co pozwala stwierdzić, że rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, zgodnie z wymaganiami Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”. Rozprawa przedstawia dużą wartość pod względem poznawczym i wnosi elementy nowości w dziedzinie badań nad wykorzystaniem monowarstw w układach biomimetycznych. W związku z tym stwierdzam, że rozprawa doktorska "*Biomimetic systems studied by Langmuir and Langmuir-Blodgett techniques*" autorstwa mgr inż. Martyny Krajewskiej spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 Ustawy (Dz.U. 2018 poz. 1668). Wobec powyższego wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wysoki poziom rozprawy, znaczący udział Kandydatki w powstaniu cyklu 6 publikacji, wśród których znajdują się prace opublikowane w bardzo cenionych czasopismach (np. *Langmuir*, *The Journal of Physical Chemistry B*, *Food Hydrocolloids*) oraz dobrze rokującą liczbę cytowań jak na krótki okres aktywności naukowej (32 niezależne cytowania wg bazy Scopus z dn. 27.02.2023) wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.