



Politechnika Łódźka

Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska

Łódź, 21.03.2023

Prof. dr hab. inż. Hanna Kierzkowska-Pawlak
Katedra Inżynierii Molekularnej
ul. Wólczańska 213
93-005 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Karola Ulatowskiego

pt. „**Otrzymywanie i właściwości nanodispersji gazów w cieczach**”

Promotor: dr hab. inż. Paweł Sobieszuk, prof. uczelni

Podstawa oceny

Podstawę formalną sporządzenia niniejszej recenzji stanowi pismo prof. dr hab. inż. Tomasza Sosnowskiego, Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna z dnia 13 lutego 2023 r. oraz uchwała RNDICH.2-1.2023 Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Warszawskiej z dnia 7 lutego 2023 r. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej, w Zakładzie Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej, pod kierunkiem dr hab. inż. Pawła Sobieszuka, prof. uczelni.

Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Przedmiotem recenzowanej rozprawy doktorskiej autorstwa Pana mgr inż. Karola Ulatowskiego są badania eksperymentalne dotyczące wytwarzania stabilnych dyspersji nanopęcherzyków gazów w cieczach, określenia właściwości fizykochemicznych otrzymanych układów oraz ich wpływu na mikroorganizmy i komórki zwierzęce w wybranych praktycznych zastosowaniach.

Tematyka poruszana w niniejszej rozprawie jest aktualna i w pełni uzasadniona, a zagadnienia związane z wytwarzaniem nanopęcherzyków są szczególnie interesujące ze względu na ich rosnącą rolę w intensyfikacji wielu procesów fizycznych, chemicznych i biologicznych oraz terapiach medycznych. Pęcherzyki gazu w cieczy, wraz ze zmniejszaniem się ich rozmiaru do skali nanometrycznej, wykazują zaskakujące zachowania i właściwości, których nie można zaobserwować w większej skali. Mimo dużego postępu naukowego w tym obszarze oraz rozwoju metod optycznych i spektroskopowych w badaniach nanoobjektów, nadal brakuje pełnego

zrozumienia mechanizmów zjawisk na granicy faz odpowiedzialnych za wysoką stabilność nanopęcherzyków, niekiedy sprzeczną z teoretycznymi przewidywaniami w oparciu o dotychczasową wiedzę. Współcześnie rozwijane są nowe, coraz bardziej zaawansowane metody kontrolowanego wytwarzania nanopęcherzyków, jak na przykład wykorzystujące zjawisko kawitacji optycznej generowanej za pomocą promieniowania lasera femtosekundowego w mikrochirurgicznych zabiegach korekcji wad wzroku. Złożoność mechanizmów zjawisk na granicy faz powoduje, że wpływ parametrów procesowych na wydajność wytwarzania stabilnych nanodispersji i rozkład wielkości nanopęcherzyków wciąż jest daleki od pełnego zrozumienia, co stanowi istotne wyzwanie badawcze w tym obszarze.

Rozprawa doktorska mgr inż. Karola Ulatowskiego liczy 197 stron, wraz z rysunkami, tabelami, spisem literatury i załącznikami w postaci cyklu publikacji z tematyki rozprawy, w większości anglojęzycznych. W zasadniczej części pracy napisanej w języku polskim, Autor formuje cel i zakres badań, przedstawia przegląd literatury dotyczący przedmiotu rozprawy omawiając zagadnienia teorii stabilności nanopęcherzyków, metod ich wytwarzania oraz zastosowań nanodispersji gazów. Przedstawia syntetyczny opis wykonanych badań, który jest jednocześnie przewodnikiem do szczegółowych wyników zamieszczonych w dziesięciu artykułach wchodzących w skład załączonego cyklu publikacji. Treści artykułów są powiązane tematycznie i w większości Doktorant pełnił wiodącą rolę. W pracy zamieszczono również wykaz dorobku naukowego Doktoranta: publikacje w czasopismach z listy JCR (9), publikacje w czasopismach recenzowanych (3), rozdziały w monografii (3) oraz udziały w konferencjach naukowych (20).

Opis aktualnego stanu wiedzy zamieszczony w części teoretycznej zawiera charakterystykę nanopęcherzyków, ze szczególnym uwzględnieniem pęcherzyków objętościowych. Autor omawia różne modele stabilności nanopęcherzyków dyskutowane w literaturze, wskazując na ograniczenia stosowanych podejść. Z przeglądu wynika, że problemy związane z przewidywaniem stabilności nanodispersji, rozumianej jako utrzymanie stałej średniej średnicy pęcherzyków lub gęstości rozkładu wielkości pęcherzyków w całej próbce, nie zostały do tej pory rozwiązane. Część teoretyczna rozprawy zawiera również opis najczęściej stosowanych technik wytwarzania nanopęcherzyków gazu, takich jak hydrodynamiczne, ultradźwiękowe, elektrochemiczne oraz metody oparte na mieszaniu cieczy o różnej rozpuszczalności gazu. Omawiane techniki zostały bardziej szczegółowo opisane i zilustrowane w artykule przeglądowym współautorstwa Doktoranta. Ciekawie opisano obszary zastosowań nanodispersji gazów wskazując na aplikacje w procesach flotacji zanieczyszczeń, oczyszczaniu powierzchni ciał stałych, intensyfikacji wnikania masy w układach gaz-ciecz w procesach utleniania szkodliwych substancji, a także w zastosowaniach biotechnologicznych i rolniczych. Doktorant słusznie zwrócił uwagę na wzrastające wykorzystanie niezwykłych właściwości nanopęcherzyków również w medycynie. Bibliografia składa się z 158 pozycji literaturowych, z których większość została opublikowana w ciągu ostatnich 10 lat. Dzięki temu zastosowane źródła są aktualne i odzwierciedlają najnowsze osiągnięcia w dziedzinie badań

nad nanodyspersjami gazu w cieczy. Uważam, że dobór tematyczny cytowanych prac jest w pełni zasadny i adekwatny do poruszanego problemu badawczego, a odwołania do literatury wykonane są w sposób poprawny. Podsumowując, przegląd aktualnego stanu badań dokonany w rozprawie doktorskiej jest wyczerpujący i świadczy o dużej wiedzy autora z zakresu technik wytwarzania, właściwości i zastosowań nanodyspersji gazu w cieczy. Stanowi on podstawę do poprawnego sformułowania celu i zakresu pracy.

Praca ma dobrą konstrukcję, jest dobrze zaplanowana i jasno napisana. Zawiera wiele informacji o charakterze przeglądowym, które pozwalają czytelnikowi na uzyskanie pełnego obrazu problematyki nanodyspersji gazów w cieczach. Autor przedstawia także wymagane informacje niezbędne do analizy części doświadczalnej opisanej szerzej w załączonych publikacjach.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska miała na celu określenie warunków procesowych zapewniających wytworzenie nanopęcherzyków gazów w cieczach oraz właściwości fizykochemicznych powstałych dyspersji, oraz obejmowała badania interakcji dyspersji nanopęcherzyków gazów z materią żywą. Cel pracy realizowano w czterech logicznie zaplanowanych etapach. Najpierw badano warunki wytworzenia stabilnych dyspersji nanopęcherzyków gazów (N_2 , O_2) w cieczach za pomocą metod hydrodynamicznych testując różne typy membran oraz układ elektrolityczny z membraną nafionową i elektrodami platynowymi. Przeprowadzono także wstępne badania wytwarzania pęcherzyków w mediach hodowlanych i płynach biologicznych. Następnie określano wpływ nanopęcherzyków azotu na parametry fizykochemiczne, takie jak napięcie powierzchniowe, lepkość oraz zwilżalność powierzchni szkła otrzymanych dyspersji w czystej wodzie oraz mieszaninie z etanolem i gliceryną. W kolejnym etapie przeanalizowano wpływ dyspersji nanopęcherzyków gazu na szybkość wzrostu biomasy drożdży oraz szybkość proliferacji i aktywność metaboliczną hodowli komórek zwierzęcych. Te badania wymagały opracowania skutecznych metod sterylizacji nanodyspersji przy zachowaniu ich stabilności. Prace ukierunkowane na powiększanie skali procesu w przypadku hodowli wglębnych z wykorzystaniem nanodyspersji prowadzono na trzech typach hodowli: okresowe, sekwencyjne oraz półokresowe. Bardzo ciekawe wyniki uzyskano analizując wpływ nanopęcherzyków (N_2 i O_2) na morfologię i żywotność komórek zwierzęcych. W ostatnim etapie zbadano potencjał wykorzystania dyspersji nanopęcherzyków w terapiach inhalacyjnych.

Tak przyjęty i zrealizowany zakres badań stanowi kompletny cykl wyjaśniający problemy postawione w tezach rozprawy. Badania na układach ze ścinaniem nanopęcherzyków z powierzchni membran pozwoliły na określenie wpływu szybkości ścinania na początkową wielkość powstających nanopęcherzyków. Interesującym odkryciem jest fakt, że w zależności od rodzaju gazu procesowego, nanopęcherzyki podczas przechowywania zmieniają swój rozmiar do innej stabilnej wartości, wynoszącej około 200 nm dla nanodyspersji tlenu i około 400 nm dla

nanodyspersji azotu. Doktorant wykazał, że stosując ciecze o różnej lepkości i napięciu powierzchniowym, możliwa jest kontrola wielkości powstających pęcherzyków oraz minimalne naprężenia ścinające potrzebne do wygenerowania stabilnej dyspersji nanopęcherzyków zależą od właściwości fizykochemicznych cieczy.

W przypadku układów wykorzystujących elektrolizę soli dowiedziono, że gęstość prądu na powierzchni elektrody ma znikomy wpływ na średnicę powstających nanopęcherzyków gazów, a kluczowym parametrem jest stężenie soli, które wpływa na kinetykę procesu i wielkość nanopęcherzyków.

Do ważnych wyników uzyskanych w części aplikacyjnej rozprawy uważam wykazanie, że:

- nanodyspersja tlenu zwiększa maksymalną szybkość wzrostu drożdży w stosunku do klasycznego napowietrzania, a ciągłe dostarczanie dyspersji nanopęcherzyków wraz z pożywką jeszcze bardziej intensyfikuje ten proces w stosunku do hodowli okresowej.
- nanopęcherzyki tlenu i azotu wpływają korzystnie na szybkość proliferacji komórek fibroblastów mysich L929, jednak zmniejszają ich aktywność metaboliczną.
- wykorzystanie nanodyspersji tlenu i azotu w hodowlach biologicznych ludzkich komórek białaczki HL-60 wpływa niekorzystnie na szybkość proliferacji oraz obniża aktywność metaboliczną.

Za istotne osiągnięcie Doktoranta uznaję udowodnienie, że nanodyspersja gazów może być skutecznym nośnikiem leków podawanych poprzez nebulizację. Uzyskano wyższe stężenie tlenu w aerozolu wygenerowanym z nanodyspersji, a nebulizatory z siateczką metalową o wysokiej hydrofilowości pozwoliły na utrzymanie rozkładu wielkości pęcherzyków.

Po dokładnej analizie pracy stwierdzam, że Doktorant z powodzeniem zrealizował wyznaczone cele swojej pracy badawczej, a także wykazał się umiejętnością planowania i przeprowadzania badań przy użyciu wielu różnych technik pomiarowych. Uzyskane wyniki badawcze stanowią ważny wkład w rozwój nowoczesnych technologii wykorzystujących nanopęcherzyki w biotechnologii przemysłowej i inżynierii biomedycznej. Praca doktorska została napisana ciekawie i poprawnie, a publikacje, które stanowiły podstawę rozprawy, są opublikowane w recenzowanych i renomowanych czasopismach o dobrej punktacji. Doktorant udowodnił, że możliwa jest kontrola wielkości wytwarzanych nanopęcherzyków poprzez zmianę parametrów procesowych lub właściwości fizykochemicznych cieczy (teza 1) oraz obecność nanopęcherzyków wywiera znaczący wpływ na materię żywą (teza 2).

W trakcie czytania rozprawy nasuwają się pewne pytania i uwagi mające na celu głębszą dyskusję zagadnień będących przedmiotem badań, które przedstawiam poniżej:

1. Na stronach 43-44 (oraz w publikacji 4) przedstawiono ciekawe rozważania podejmujące próbę wyjaśnienia mechanizmu stabilności pęcherzyków tlenu w wodzie. Na podstawie szacunkowych obliczeń, Doktorant wykazuje, że pęcherzyki o określonym rozmiarze mogą utrzymać się w wodzie dejonizowanej poprzez stabilizację jonami OH^- pochodzącymi

z autodysocjacji wody. Jaka byłaby propozycja Doktoranta, aby zweryfikować zaproponowane podejście doświadczalnie?

2. W dyskusji na temat wpływu pęcherzyków na właściwości fizykochemiczne wodnego roztworu etanolu, skupiono się na badaniu nanodispersji azotu. Nie podano jednak błędów pomiarowych poszczególnych wielkości, co utrudnia ocenę, czy obserwowane różnice między roztworem z nanodispersją, a roztworem odniesienia mieszczą się w granicach błędu. Jak wyjaśnić nietypowy charakter zależności kąta zwilżania na szkle dla roztworów z nanodispersją i bez od stężenia etanolu? Czym uzasadniony był wybór układu azot - wodny roztwór etanolu?
3. Na str. 48, Doktorant omawia problem przewidywania średnicy Sautera wytwarzanych pęcherzyków za pomocą metody hydrodynamicznej w wybranym układzie pomiarowym. Pojawia się pytanie, czy równanie (6) (średnica d_{32} jako funkcja liczby Reynoldsa (Re) i liczby kapilarnej (Ca)), byłoby prawdziwe również dla innych membran? Jaka jest użyteczność zaproponowanej korelacji? Jak zaproponowane równanie wpisuje się w zależności podawane w literaturze dla analogicznych przypadków?
4. Jak Doktorant ocenia możliwość wytwarzania nanopęcherzyków tlenu bezpośrednio w zbiorniku hodowlanym, w celu zwiększenia wydajności hodowli okresowych? Czy takie rozwiązanie zostało sprawdzone w przypadku hodowli drożdży?
5. W badaniach porównujących wpływ obecności nanopęcherzyków, wytwarzanych bezpośrednio w medium na wzrost i aktywność metaboliczną dwóch linii komórek zwierzęcych, Autor wyjaśnia, że różnice w otrzymanych zależnościach mogą wynikać z różnych sposobów wzrostu komórek. Nasuwa się zatem pytanie, czy sugerowane flotowanie komórek HL60 do powierzchni w wyniku kontaktu z nanopęcherzykami i inhibicja kontaktowa zostały potwierdzone eksperymentalnie?

Pozostałe uwagi:

- a) Niektóre rysunki zamieszczone w rozprawie są nieczytelne w jej wersji drukowanej
- b) Na str. 50-51 tekstu rozprawy występuje nieścisłość przy omawianiu wpływu gęstości prądu na średnicę d_{32} : przedstawione zależności (7-8) wskazują na zmniejszanie się średnicy pęcherzyków wodoru i tlenu wraz ze wzrostem gęstości prądu (słaba zależność), natomiast Doktorant pisze „*Gęstość prądu nie wpływa też na średnicę Sautera pęcherzyków wodoru, jednak obserwujemy wpływ zarówno stężenia soli jak i czasu elektrolizy*”.

Chciałabym podkreślić, że powyższe pytania oraz uwagi, poczynione z obowiązku recenzenta, w żadnym stopniu nie kwestionują wysokiej wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy. Uzupełniając tę ocenę, warto zwrócić uwagę na całokształt dorobku naukowego mgr inż. Karola Ulatowskiego, który jest imponujący biorąc pod uwagę wczesny etap rozwoju naukowego. Doktorant jest współautorem 9 publikacji z listy JCR o sumarycznym IF wynoszącym 25,999 i punktacji MEiN 1038 pkt. Doktorant prezentował wyniki swoich badań na licznych konferencjach

krajowych i międzynarodowych, co świadczy o jego zaangażowaniu i wysokiej jakości pracy naukowej.

Wniosek końcowy

Przedstawiony cel rozprawy doktorskiej - generacja stabilnych nanodyspersji gazów w cieczach oraz ocena ich wpływu na mikroorganizmy i komórki zwierzęce w wybranych praktycznych zastosowaniach, został moim zdaniem w pełni osiągnięty. Autor wykazał się umiejętnościami samodzielnego prowadzenia badań naukowych, krytycznej interpretacji wyników oraz stosowania wielu technik eksperymentalnych z zakresu badań nanodyspersji, jak również inżynierii bioprocessowej. Przedstawione pytania nie umniejszają mojej pozytywnej i wysokiej oceny rozprawy doktorskiej.

Recenzowana rozprawa „Otrzymywanie i właściwości nanodyspersji gazów w cieczach” spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie mgr inż. Karola Ulatowskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego. Biorąc pod uwagę szeroki zakres przeprowadzonych badań oraz wysoki poziom merytoryczny recenzowanej pracy, udokumentowany licznymi artykułami w recenzowanych czasopismach z wykazu MEiN, oraz doceniając podjęcie aktualnej tematyki o dużym potencjale aplikacyjnym składam wniosek o jej wyróżnienie.

Hanna Kierzkowska-Pawlak