



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

Prof. dr hab. inż. Piotr Ulański, z-ca dyrektora Instytutu



Łódź, 12 maja 2022 r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Magdaleny Rzepnej, doktorantki w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, pod tytułem „*Efekty indukowane radiacyjnie w wybranych biodegradowalnych kopolimerach estrów alifatycznych*”; promotor: dr hab. inż. Grażyna Przybytniak, prof. Instytutu, promotor pomocniczy: dr inż. Marta Walo.

Praca doktorska pani mgr inż. Magdaleny Rzepnej dotyczy reakcji i procesów towarzyszących działaniu promieniowania jonizującego na kopolimery biodegradowalnych poliestrów. Tematyka pracy jest bardzo aktualna, ze względu na konieczność ograniczenia ilości wytwarzanych przez przemysł niedegradowalnych tworzyw sztucznych i zastąpienia ich w jak największej części tworzywami ulegającymi szeroko rozumianej biodegradacji. Istotnym elementem tych działań jest opracowanie nowych, biodegradowalnych tworzyw do zastosowania w medycynie i przemyśle spożywczym. Wprawdzie badania nad takimi materiałami, głównie poliestrami, prowadzone są od wielu lat, ale występują tu nadal nie rozwiązane problemy. Po pierwsze, biodegradowalne homopolimery, takie jak poli(kwas mlekowy) czy poli(węglan trimetylenu), nie charakteryzują się idealnymi właściwościami z punktu widzenia wielu zastosowań, a możliwości optymalizacji ich właściwości bez zmiany składu chemicznego są ograniczone. Po drugie, występują trudności ze sterylizacją produktów wykonanych z takich homopolimerów. W szczególności, ich radiacyjna sterylizacja prowadzi często do nieakceptowalnego pogorszenia właściwości, albo bezpośrednio w wyniku napromienienia, albo w wyniku efektów występujących po napromienieniu, co prowadzi do ograniczenia trwałości tych produktów. Jednym z najbardziej obiecujących kierunków badań zmierzających do pokonania tych trudności jest otrzymywanie biodegradowalnych materiałów polimerowych z kopolimerów. Poprzez dobór składu i struktury takich kopolimerów można optymalizować ich właściwości, a także ograniczać lub eliminować niekorzystne skutki napromieniania, dzięki czemu takie materiały mogłyby być poddawane sterylizacji radiacyjnej.

Oczywiście, aby ten zamysł mógł zostać w praktyce zrealizowany, niezbędne jest wykonanie badań podstawowych, które umożliwią poznanie i zrozumienie efektów działania promieniowania jonizującego na biodegradowalne kopolimery poliestrów. Zrozumienie tych mechanizmów oraz roli poszczególnych komponentów w reakcji materiału na napromienienie jest niezbędne do tego, by można było racjonalnie i optymalnie projektować skład i strukturę tych kopolimerów jako składników biomateriałów lub materiałów opakowaniowych nadających się do sterylizacji radiacyjnej.

O ile chemia radiacyjna homopolimerów poliestrów jest dość dobrze poznana, o tyle prac dotyczących efektów radiacyjnych w ich polimerach jest stosunkowo niewiele. Celem ocenianej pracy doktorskiej było choćby częściowe wypełnienie tej luki, a konkretnie szczegółowe zbadanie mechanizmu i skutków oddziaływania promieniowania jonizującego na dwa rodzaje biodegradowalnych kopolimerów poliestrowych, to jest kopolimer alifatyczno-aromatyczny poli[(adypinian 1,4-butylenu)-*co*-(tereftalan 1,4-butylenu)], czyli PBAT, oraz kopolimer zbudowany z dwu estrów alifatycznych – poli(laktyd-*co*-węglan metylenu), czyli P(LA-TMC).





Tak sformułowany temat pracy jest ważny i ciekawy. Na szczególną uwagę zasługuje fakt wykorzystania w badaniach bardzo szerokiej palety nowoczesnych metod pomiarowych, co pozwoliło na dokładną i wielowątkową analizę badanych zjawisk i ich mechanizmów. W efekcie uzyskano wielostronny obraz badanych zjawisk, niewątpliwie przybliżający nas do ich zrozumienia i w konsekwencji do ich praktycznego zastosowania.

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią 3 prace opublikowane w *Journal of Applied Polymer Sciences* (IF<sub>2020</sub> = 3.125) w latach 2018-2021, które, mimo krótkiego czasu od ich opublikowania, były już cytowane 22 razy. Warto tu zaznaczyć, że zainteresowania naukowe Doktorantki są szersze od tematyki samej rozprawy, na co wskazuje fakt, że p. mgr Rzepna jest współautorką 7 innych publikacji.

Rozprawa została zaplanowana i napisana w sposób logiczny i dojrzały, obserwowane efekty są poddane wnikliwej analizie i interpretacji. Autorka ponad wszelką wątpliwość udowodniła, że opanowała w swojej dziedzinie nowoczesny warsztat badacza, posiadała umiejętność formułowania celów badawczych i dobierania do nich odpowiednich technik, analizy i interpretacji wyników oraz formułowania wniosków. Opanowała także umiejętność pisania prac naukowych w sposób zarazem precyzyjny i klarowny. Praca jest napisana dojrzałym, sprawnym i poprawnym językiem. Czyta się ją z przyjemnością. Praca jest też dobrze zilustrowana, a także bardzo starannie złożona, praktycznie bez błędów (może z wyjątkiem spisu literatury), co nie jest łatwe przy pisaniu tak obszernego i wielowątkowego dzieła.

Pracę otwiera obszerne i ciekawe wprowadzenie literaturowe. Jest ono bardzo dobrze napisane i zilustrowane, zawiera odniesienia do prawie dwustu pozycji literaturowych (od klasyki z roku 1934 do prac najnowszych). Uważam, że Autorka trafnie wybrała i klarownie omówiła zagadnienia, które należało w tym wprowadzeniu przedstawić. Jedyna uwaga krytyczna to fakt, że, moim zdaniem, Autorka opisując i interpretując, a zwłaszcza podsumowując w rozdziale 5 własne wyniki, zbyt rzadko odnosi się do poprzednich prac (patrz poniżej).

W rozdziale 3 sformułowano cel i zakres pracy, natomiast rozdział 4 jest poświęcony zastosowanym materiałom i technikom badawczym.

W rozdziale 4.4. Autorka opisała zastosowane techniki badawcze i metody obliczeniowe; jest ich w sumie 11. Mam pewne uwagi i pytania do kilku z nich.

1. Pewne wątpliwości budzi opis procedury pomiarów rozkładu mas cząsteczkowych przy użyciu chromatografii żelowej (HPLC-GPC) w rozdziale 4.4.4. Recenzent w pełni zdaje sobie sprawę z trudności poprawnego wyznaczenia tych rozkładów i rzeczywistych wartości średnich mas cząsteczkowych dla próbek kopolimerów, zwłaszcza takich, jakich być może jeszcze nikt tą techniką nie badał. Mimo to, pewne kwestie w zamieszczonym opisie są niejasne. Jest zrozumiałe, że optymalne warunki analizy (skład eluentu, temperatura, szybkość przepływu) dla PBAT i P(LA-TMC) mogły być różne. Nie jest jednak jasne dlaczego, jeśli Autorka dysponowała dostępem do układu chromatograficznego z potrójną detekcją, część pomiarów przeprowadziła za pomocą układu z pojedynczą detekcją, dającym mniejsze możliwości uzyskania bezwzględnych wyników. Ponadto, co budzi może nawet większe wątpliwości, celem stosowania układów z potrójną detekcją jest uniezależnienie się od kalibracji i standardów; zasadniczo taki układ daje możliwości wyznaczenia bezwzględnych wartości średnich mas cząsteczkowych dla nieznanego polimeru, dla którego nie można przeprowadzić kalibracji. Autorka jednak pisze, że również dla układu z potrójną detekcją stosowała kalibrację w oparciu o standardy polistyrenowe, co, jak sama przyznaje, nie pozwala wyznaczyć rzeczywistego rozkładu mas ani poprawnych wartości  $M_n$  i  $M_w$ . Sądzę, że wymaga to wyjaśnienia. Ponadto, moim zdaniem podejście Autorki do uzyskanych w ten sposób wyników nie jest w pełni konsekwentne. Skoro nie są to rzeczywiste wartości  $M_n$  i  $M_w$ , należałoby je konsekwentnie traktować jako względne. Ujmując rzecz precyzyjnie, trudno by było nawet obronić tezę, że uzyskane wartości są wprost proporcjonalne do rzeczywistych mas, ponieważ zależności średnic hydrodynamicznych od mas cząsteczkowych dla polimeru badanego i dla wzorca w stosowanym eluencie nie muszą mieć jednakowych wykładników. Tymczasem w opisie i legendach do Tabeli 9, Rysunków 21 i 22 oraz Tabeli 15



i Rysunku 54 brak jest wzmianki, że pokazane tam wartości są wartościami względnymi czy przybliżonymi. Zasadniczo, wyliczanie na ich podstawie wartości wydajności radiacyjnych i podawanie ich wartości liczbowych w mikromolach na dżul (np. na Rys. 54) jest, moim zdaniem, pewnego rodzaju nadinterpretacją.

2. Mam pewne wątpliwości co do formalnej poprawności równań (17)-(20) w rozdziale 4.4.5. Oczekiwanym mianem wydajności radiacyjnej wodoru,  $G(H_2)$ , powinien być mol na dżul. Jednak po podstawieniu do wzoru (17) wszystkich wielkości, z mianami wskazanymi przez Autorkę pod tymi równaniami, otrzymujemy mol na dżul i decymetr sześcienny. Z kolei oczekiwane miano objętości wydzielonego wodoru w równaniu (18) to mikrolitr na gram. Jednak jeśli wydajność radiacyjną wodoru podstawimy (zgodnie z wynikiem z równania (17)) w molach na dżul i decymetr sześcienny, w wyniku nie otrzymujemy spodziewanego miana. Przypuszczam, że obliczenia wykonano poprawnie, a przyczyną wspomnianych tu niezgodności jest zapewne niekonsekwencja w zapisie równań lub jednostek na str. 75.
3. Zwilżalność powierzchni można oznaczać różnymi metodami, np. metodą osadzonej (siedzącej) kropli. W rozdziale 4.4.10. nie podano dlaczego Autorka wybrała do swoich badań metodę płytkową Wilhelmy'ego.
4. Wydaje mi się niezbędne wyjaśnienie, na ile przydatne do osiągnięcia zamierzonych celów pracy okazały się, zdaniem Autorki, pomiary przeprowadzone metodą TGA. Deklarowanym celem tych pomiarów było zbadanie stabilności termicznej próbek. Wydaje mi się to dyskusyjne, ponieważ te kopolimery ani wyroby z nich wykonane nie są przeznaczone do przechowywania lub użytkowania w tak wysokich temperaturach, o jakich jest tu mowa (ok. 300 - 450 °C).

W rozdziale 5 przedstawiono wyniki pracy i przeprowadzono dyskusję nad tymi wynikami.

W oparciu o treść tego rozdziału i następujących po nim wniosków, najważniejsze osiągnięcia tej pracy można by streścić następująco:

1. Ustalenie mechanizmu radiolizy ważnych z poznawczego i praktycznego punktu widzenia biodegradowalnych kopolimerów poliestrowych – PBAT i P(LA-TMC) – w stanie stałym poprzez określenie rodnikowych produktów przejściowych w oparciu o bardzo staranną i systematyczną analizę widm EPR oraz wyniki uzyskane z zastosowaniem szerokiej palety bardzo zaawansowanych metod badawczych. Moim zdaniem, to jest w tej pracy najcenniejsze, jest istotną nowością naukową i niewątpliwie będzie często cytowane w przyszłości.
2. Ustalenie wpływu poszczególnych rodzajów merów na mechanizm radiolizy kopolimerów.
3. Wskazanie, że wpływ zawartości składników na obserwowane efekty radiacyjne może mieć charakter nieaddytywny.
4. Określenie wpływu napromieniania na istotne właściwości fizykochemiczne i użytkowe badanych kopolimerów
5. Przebadanie zmian zachodzących w analizowanych materiałach w długim czasie po napromienieniu
6. Sformułowanie wskazówek dotyczących możliwości radiacyjnej sterylizacji wyrobów z badanych kopolimerów, w tym zwłaszcza produktów do zastosowań medycznych

Moim zdaniem, zagadnieniami, które mogłyby wymagać poszerzenia, uzupełnienia czy wyjaśnienia podczas obrony pracy, są przede wszystkim następujące kwestie.

1. Właściwości kopolimerów, w tym ich podatność na reakcje inicjowane promieniowaniem, mogą zależeć nie tylko od ilościowego udziału poszczególnych merów, ale także od układu tychże merów. W szczególności, można oczekiwać, że efekty te będą różne dla kopolimerów statystycznych, naprzemiennych, blokowych czy gradientowych. Rozumiem, że Autorka skoncentrowała się na badaniu kopolimerów o określonej budowie, to jest kopolimerów statystycznych. Szkoda jednak, że nie uzasadniła swojego wyboru (zwłaszcza dlaczego



statystyczne, a nie blokowe) i nie podjęła dyskusji na temat możliwego wpływu struktury kopolimerów na ich radiolizę (mimo że w literaturze można znaleźć informacje na ten temat, w tym również dla P(LA-TMC)). Jest to zagadnienie tym bardziej ciekawe, że w dziedzinie biomateriałów polimerowych obserwuje się znaczny wzrost zainteresowania kopolimerami blokowymi i gradientowymi.

2. Czytając wprowadzenie (zwłaszcza rozdział 2.5.), ale i rozdziały, w których dyskutowane są wyniki, mam wrażenie, że Autorka przedstawia możliwe reakcje generowanych radiacyjnie rodników jako pewną antynomię między degradacją a sieciowaniem, wzbogaconą dodatkowo reakcjami z tlenem, o ile reakcja przebiegała z jego dostępem. Oczywiście można tak na to patrzeć, ale jest to jednak pewne uproszczenie. Mam wrażenie, że Autorka pominęła w ogóle (z wyjątkiem jednej wzmianki dotyczącej zmiany liczby i charakteru wiązań podwójnych na str. 36) fakt, że reakcja dwu rodników może prowadzić zarówno do sieciowania, jak i do dysproporcjonowania. Nie sądzę, by należało lekceważyć tę ostatnią reakcję, skoro w niektórych polimerach alifatycznych zawierających tlen jako heteroatom stosunek wydajności dysproporcjonowania do sieciowania może wynosić nawet 9:1. O ile udział tej reakcji, ze względu na budowę chemiczną merów, może być pomijalnie mały w przypadku PLA (i jego merów w kopolimerach), o tyle trudno jest chyba *a priori* wykluczyć dysproporcjonowanie rodników zlokalizowanych w merach PTMC i obu rodzajach merów w kopolimerze PBAT. Sądzę, że ta kwestia wymaga wyjaśnienia. Przyjęcie przez Autorkę założenia o braku (czy pomijalnie małej wydajności) dysproporcjonowania prowadzi w dalszej części pracy do pewnych uproszczeń interpretacyjnych, m.in. wiązania wydzielania wodoru z występowaniem procesu sieciowania (str. 79).
3. Badania dotyczące radiolizy polimerów, zarówno w stanie stałym jak i w roztworach, dogodnie jest prowadzić albo w warunkach beztlenowych (co w przypadku stałych polimerów może wymagać odpompowania obecnych w próbce gazów pod próżnią), albo ze swobodnym dostępem tlenu (np. rozdrobiona próbka napromieniana umiarkowaną mocą dawki w otwartym naczyniu). Można wówczas łatwo odróżnić procesy zachodzące bez udziału tlenu od procesów z jego udziałem. Autorka zastosowała rozwiązanie niejako pośrednie; próbki były napromieniane w zamkniętych naczyniach, z których nie usuwano tlenu przed napromienieniem. Wskutek tego, zwłaszcza przy wyższych dawkach, pewne efekty napromienienia nie miały charakteru liniowego ze względu na wyczerpywanie się tlenu. Czy przyjęcie takiej procedury napromieniania miało jakieś szczególne uzasadnienie?
4. Jest zrozumiałe, że precyzyjna analiza struktur rodników generowanych w napromienianych polimerach badanych w tej pracy wymagała stosowania napromieniania w warunkach kriogenicznych (a zapewne schodząc do temperatur niższych od 77 K można by obserwować jeszcze inne, bardziej „pierwotne” rodniki, których w 77 K nie dało się wychwycić, o czym Autorka wspomina w pracy). Stopniowe ogrzewanie próbek pozwoliło zbadać trwałość struktur rodnikowych i ich wzajemne przemiany. Szkoda jednak, że w pracy nie omówiono potencjalnego wpływu temperatury napromieniania na mechanizm radiolizy. W skrócie: w jakim stopniu mechanizm radiolizy próbek zamrożonych (i dopiero później stopniowo doprowadzanych do temperatury pokojowej) może różnić się od mechanizmu radiolizy takiej samej próbki napromienionej w temperaturze pokojowej?
5. Szkoda, że w podsumowaniu wyników dla kopolimeru P(LA-TMC) (str. 164-166) nie zamieszczono porównania i dyskusji otrzymanych wyników z wynikami z poprzednich prac na ten temat, mimo że Autorka wspominała o tych wcześniejszych pracach we wprowadzeniu literaturowym.

Jak w każdej dobrej i obszernej pracy naukowej, tak i w tej rozprawie można znaleźć drobne niedopowiedzenia oraz usterki. Obowiązek recenzenta nakazuje mi o nich wspomnieć.

1. Na str. 5-6 w tabeli zawierającej spis symboli polimerów występuje kilka drobnych usterek, m.in. „glycolide acid” (zamiast glycolic acid; wydaje mi się również, że poprawnym polskim odpowiednikiem tej nazwy jest kwas glikolowy, a nie „kwas poliglikolidowy”), „polybutylene



- sucinate”, „polybutylene terephthalate” (brak nawiasów obejmujących nazwy monomerów), „glikol polipropylenowy” (zamiast poli(glikol propylenowy)).
2. Definicja wielkości oznaczanej w pracy jako  $G_x$  (str. 7, 37, równania (15) i (16)) wymaga uściślenia. Sądzę, że Autorka rozumiała przez  $G_x$  wydajność radiacyjną sieciowania międzycząsteczkowego.
  3. Jeśli parametry  $\Delta H_m$  i  $\Delta H_{mo}$  występujące w równaniu (14) i w tabeli na str. 7 wyrażane są w dżulach na gram, to, ściśle biorąc, nie powinny być nazywane entalpią, a entalpią właściwą.
  4. Niektóre stwierdzenia w pracy mogą sprawiać wrażenie pewnej niekonsekwencji. Przykładowo we Wprowadzeniu czytamy, że efekty radiacyjne w kopolimerach estrów alifatycznych nie wzbudzały dotychczas szerszego zainteresowania, podczas gdy w rozdziale 2.1. napisano, że zmiany inicjowane promieniowaniem w alifatycznych poliestrach oraz ich kopolimerach są od wielu lat przedmiotem badań.
  5. Trudno mi zgodzić się z generalnym poglądem wyrażonym kilkakrotnie w tekście pracy (m.in. na str. 11), że hydrofilowość powierzchni biomateriału jest zaletą w zastosowaniach biomedycznych. Zależy, o jakich zastosowaniach mówimy. Jeśli np. na powierzchni polimeru mają w założeniu osadzać się warstwy fibroblastów, doświadczenie pokazuje, że udaje się to lepiej na powierzchniach stosunkowo hydrofobowych.
  6. Na Rys. 5 pokazano przykładowe zależności średniej masy cząsteczkowej od dawki dla różnych wartości  $G_s$  i  $G_x$ . Rozumiem, że jest to przykład wzięty z literatury, a podpis brzmi „przykładowe”, a nie „typowe”. Niemniej chciałbym zwrócić uwagę na to, że krzywa niebieska (dla  $G_x \gg G_s$ ) z wyraźnym plateau nie pokazuje typowego przebiegu takiej zależności. W typowym przypadku polimeru o wysokim  $G_x$  i pomijalnym  $G_s$  krzywa rośnie wykładniczo aż do takiej dawki, przy której powstaje żel. Wynika to zresztą z równań (15) i (16) po podstawieniu  $G_s = 0$ . Punkt przegięcia lub/i plateau może pojawić się wtedy, gdy w trakcie napromieniania zmienia się mechanizm lub charakter dominującej reakcji.
  7. Na str. 42 omawiana jest kwestia wpływu rodzaju promieniowania (strumień elektronów, promieniowanie gamma) na wydajność radiacyjną tworzenia rodników. Można mieć wątpliwości co do tego, czy faktycznie mamy tu do czynienia z istotną różnicą pierwotnej wydajności generowania rodników pod wpływem promieniowania, czy też szybką rekombinacją części z nich w warunkach wysokiej mocy dawki, co uniemożliwia praktyczne zmierzenie ich pełnej pierwotnej wydajności.
  8. Synteza badanych kopolimerów i kopolimerów była prowadzona z zastosowaniem inicjatorów zawierających metale, takie jak cyna, cynk czy cyrkon. Czy końcowe produkty były badane na zawartość tych metali? W jakim stopniu ich zawartość może wpływać na obserwowane reakcje?
  9. Szkoda, że Autorka nie wyjaśniła w tekście co to znaczy, że stosowany przez Nią dozymetr kalorymetryczny „posiada spójność pomiarową” z NPL (str. 68).
  10. Mechanizm przedstawiony na Schemacie 21 powinien zapewne mieć swój kationowy odpowiednik, tym bardziej, że to kationorodnik jest pierwotnym (a anionorodnik wtórnym) produktem jonizacji.
  11. W rozdziale 5.2.1. wskazano, że obiegające od ogólnej tendencji wyniki  $G(H_2)$  i  $G(-O_2)$  obserwowane dla próbek P(LA70-TMC30) są konsekwencją odmiennej fizycznej postaci próbki. Taka interpretacja wydaje się słuszna; powstaje jednak pytanie, na ile ta odmienna fizyczna postać próbki mogła mieć wpływ na inne wyniki (uzyskane innymi metodami).
  12. O ile cała praca, jak już podkreślałem, jest bardzo starannie sformatowana, nieco słabiej pod tym względem wypada spis literatury (brak dat dostępu do odnośników internetowych, nie w pełni konsekwentne sformatowanie odnośników – stosowanie pochyłej czcionki w tytułach prac, stosowanie skrótów nazw czasopism, podawanie miejsca wydania przy odnośnikach do książek, zamiana numerów stron z numerem artykułu, pojedyncze literówki, etc.)

Chciałabym podkreślić, że wymienione wyżej uwagi mają drugorzędne znaczenie i w żadnej mierze nie wpływają na moją bardzo pozytywną ocenę tej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska pani mgr inż. Magdaleny Rzepnej jest aktualna, bardzo ciekawa i wartościowa, stoi na wysokim poziomie i zawiera istotne elementy nowości naukowej. Doktorantka wykazała się dogłębną znajomością przedmiotu, umiejętnością właściwego planowania badań z wykorzystaniem bogatej palety metod doświadczalnych, twórczej ale jednocześnie krytycznej interpretacji i oceny wyników oraz biegłością w pisaniu prac naukowych.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia formalne wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej o dopuszczenie pani mgr inż. Magdaleny Rzepnej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

