dr hab. inż. Ewa Stodolak-Zych, prof. AGH
Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica w Krakowie
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów i Kompozytów

Kraków dn. 12.03.2025

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Anny Bednarowicz

pt. Badania nad wykorzystaniem innowacyjnych estrowych pochodnych chityny do otrzymywania materiałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie

rozprawa doktorska realizowana w Instytucie Włókiennictwa na Wydziale Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów Politechniki Łódzkiej
pod kierunkiem
dr hab. inż. Grzegorz Szparaga
promotor
dr inż. Ewelina Pabiańczyk – Wlazło
promotor pomocniczy

na zlecenie Rady ds. Stopni Naukowych w dyscyplinach Inżynieria Mechaniczna i Inżynieria Materiałowa Politechniki Łódzkiej z dnia 13 grudnia (pismo z dnia 16 grudnia 2024).

Wstęp

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została oceniona według następujących kryteriów:

1. Oryginalność problemu naukowego oraz prawidłowość jego zdefiniowania
2. Ocena poprawności celów i hipotez badawczych oraz stopnia ich weryfikacji
3. Ocena poprawność interpretacji wyników badań i wnioskowania
4. Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

1. Oryginalność problemu naukowego oraz prawidłowość jego zdefiniowania

Chityna jest trzecim – po celulozie i skrobi – naturalnym polisacharydem wykorzystywanym na skalę przemysłową. Ze względu na dostępność surowca (skorupiaki, grzyby), budowę chemiczną łańcucha polisacharydowego tj. mnogość i różnorodność grup funkcyjnych, jest polimerem, który łatwo ulega modyfikacjom chemicznym (deacetylacji, hydrolizie, oksydacji, sulfonowaniu, kompleksowaniu metali czy acylowaniu lub sieciowaniu). Każda z tych reakcji przyczynia się do praktycznych aplikacji chityny od medycyny (opatrunki, nici chirurgiczne, implanty, nośniki leków, biosensory), po rolnictwo (min. biostymulatory wzrostu roślin), przemysł spożywczy (np. zagęstniki, degradowalne opakowania na żywność, dodatki konserwujące), kosmetyczny (np. substancja nawilżająca, bakteriostatyczne) i ochronę środowiska (filtry, warstwy do oczyszczanie ścieków). Najbardziej rozpoznawalną formą chityny jest chitozan (CS), który dzięki swoim właściwościom tj.; biodegradowalność,

biozgodność i aktywność mikrobiologiczna (a w niektórych wypadkach antybakteryjność) był i jest szeroko eksplorowany przez inżynierię biomateriałów i biomedycynę. Inne pochodne chityny, takie jak glukozamina (GA), karboksychitozan (CMC), chitozan N-alkilowany (CSN), dibutyrlochityna (DBC) czy butyrylochityna (BC), są mniej popularne, choć często wykazują lepsze właściwości niż sama chityna czy chitozan. Jednak trudności związane z ich oczyszczaniem, niską wydajnością syntezy oraz wyższymi kosztami produkcji sprawiają, że ich praktyczne zastosowanie jest ograniczone. Dodatkową barierą jest forma finalnego produktu – w kontekście naturalnych polisacharydów, takich jak celuloza, włókna wydają się najbardziej intuicyjną formą. Tymczasem pochodne chityny często występują jako hydrożele, zwłaszcza w przypadku form otrzymywanych przy udziale bakterii.

Utylitarność pochodnych chityny sprawia, że znajdują one szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach. Jeśli kluczową funkcją ma być zdolność sorpcyjna, np. do usuwania toksyn czy metali ciężkich, najlepszą formą będą tkaniny lub włókniny stosowane w filtrach separacyjnych. Włókna chitynowe sprawdzają się również jako materiały szewne oraz tekstylia – odzież sportowa, medyczna czy biodegradowalna. Nanowłókna na bazie chitozanu i jego pochodnych najczęściej wykorzystywane są jako nośniki leków, warstwy opatrunkowe oraz inteligentne biosensory, np. uwalniające glukozę w zależności od pH. Z kolei biopakowania na żywność najczęściej mają postać folii, która dzięki właściwościom antybakteryjnym wydłuża trwałość produktów. Najprostszą formą polisacharydowych pochodnych chityny i chitozanu jest proszek, który po dodaniu do zawiesin może pełnić funkcję nośnika substancji aktywnych lub ulegać żelowaniu, tworząc struktury hydrożelowe. Te ostatnie wykorzystywane są w szerokim zakresie: od biodruku 3D po dodatki wiskoelastyczne wykorzystywane we wstrzykiwalnych materiałach implantacyjnych po dodatki do suplementów czy kosmetyków. Ze względu na swoją wszechstronność, forma chitozanu i jego pochodnych znajduje szerokie zastosowanie – zarówno jako dodatek do formulacji, jak i składnik nanokompozytów czy zawiesin, w tym również stosowanych w włókiennictwie.

Warto nadmienić że rynek chitozanu, chityny i ich pochodnych stale rośnie. Wzrost świadomości ekologicznej oraz globalny nacisk na zrównoważony rozwój stanowią kluczowe czynniki napędzające rynek chityny, chitozanu i ich pochodnych. W miarę jak przemysł, jak i konsumenci stają się coraz bardziej świadomi swojego wpływu na środowisko, rośnie zapotrzebowanie na biodegradowalne i ekologiczne materiały. Tu zarówno chityna jak i chitozan, pozyskiwany z naturalnych źródeł, doskonale spełniają te wymagania. Ich biodegradowalność oraz nietoksyczność sprawiają, że stanowi atrakcyjną alternatywę dla syntetycznych polimerów i chemikaliów wykorzystywanych w różnych branżach przemysłowych co potwierdza raport UNiDatos z 2024 roku, który oszacował wartość rynku chitozanu na 11,3 miliarda dolarów, z prognozowanym rocznym wzrostem na poziomie około 13,2% do 2032 roku. **Podjęta w pracy tematyka ma charakter przyszłościowy i aplikacyjny, koncentrując się na syntezie nowej pochodnej chityny – butyrylo-bursztynochityny – oraz ocenie jej potencjału aplikacyjnego. To ambitne założenie stwarza Autorce korzystne możliwości badawcze, co istotne, jest ważne i potrzebne biorąc pod uwagę stan wiedzy jak i potrzeby rynkowe; biomedyczne, środowiskowe, przemysłowe nastawione na kierunek kosmetyczny, spożywczy i szeroko rozumianą zieloną biotechnologię.** Niestety nie zostały one w pełni wykorzystane. Część teoretyczna, mimo oparcia na licznej i dobrze dobranej literaturze, pozostaje zwięzła i niewystarczająco

ujęta w kontekście naukowym. Brakuje w niej spójności i klarowności przekazu, który uwzględniałby, dlaczego chityna, chitozan i ich pochodne są nadal postrzegane jako materiały przyszłości (mimo że ich historia sięga ponad 200 lat). Przedstawienie właściwości chityny i jej modyfikacji ma charakter encyklopedyczny. Tytuły podrozdziałów przypominają bardziej hasztagi niż naukowe podtytuły pracy naukowej, liczne skróty myślowe (str. 14 np. *polisacharydy (...) pełnią funkcję magazynów energii*, co nie jest prawdą; str. 24 (...) *Chityna w naturze występuje w postaci wielowarstwowych polisacharydowych struktur, z których każda złożona jest z równolegle ułożonych łańcuchów chityny* czy to znaczy, że chityna jest złożona z łańcuchów chityny (?) czy; że pojedyncza warstwa zbudowana jest z łańcuchów ułożonych wg rys 7? Str. 35 (...) *Przeprowadzono również próby produkcji pochodnej na skalę przemysłową* – jakiej pochodnej skoro to nowy akapit z odwołaniem do nowej pozycji literaturowej, czy pozyskanej tą samą metodą co opisana w poprzedni akapicie?). Zdania wielokrotnie złożone, powodują rozproszenie wątku i znacząco utrudniają przekaz (np.: str. 17 *Materia, składająca się z czterech nałożonych na siebie warstw i złożona z chityny związanej z białkami, jest wytwarzana przez monowarstwę komórek naskórka, które wydzielają również niewielkie ilości lipidów i karotenoidów*). W tej części pracy znajdują się również liczne powtórzenia i co do sensu merytorycznego i co do fizycznego powtórzenia tekstu (np. str 27 podrozdział *Antybakteryjność* – cały pierwszy akapit). Zdarzają się też równoległe odniesienia do rysunków - pozostałe po części roboczej (np. str 28, Rys 8 i rysunek DD). Szkoda ze Autorka pracy nie przygotowała własnych rysunków i wzorów półstrukturalnych; te zamieszczone w pracy często są złej rozdzielczości i wykorzystują różne systemy stosowane do przedstawiania wzorów strukturalnych związków organicznych (ze szczególnym uwzględnieniem łańcuchów polisacharydowych które raz mają postać struktury krzesełkowej, raz pierścieniowej).

Wymienione uwagi maja charakter porządkujący ale konieczny i zmuszona jestem je wymienić, zaznaczając że utrudniają odbiór pracy, umniejszając jej istotność i wartość naukową ale nie wpływają one w żaden sposób na jakość merytoryczną dalszej części opracowania.

2. Ocena poprawności celów i hipotez badawczych oraz stopnia ich weryfikacji

Postawiony problem badawczy rozprawy został ujęty przez Doktorantkę w następującej hipotezie badawczej, która brzmi: *wprowadzenie do makrocząsteczki chityny grup butyrylowych i bursztynowych doprowadzi do wytworzenia nowej pochodnej chityny; butyrylo-bursztynochityny, rozpuszczalnej w często stosowanych w przetwórstwie polimerów rozpuszczalnikach, która umożliwi otrzymanie materiałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie.* W mojej ocenie jest to poprawnie sformułowane założenie badawcze, choć nie precyzuje jasno celu modyfikacji, który na etapie posiadania pełnych wyników powinien być już jednoznacznie określony. Biorąc pod uwagę całość pracy oraz brak podstawowych badań biozgodności, trudno ograniczyć potencjalne zastosowanie nowej pochodnej wyłącznie do obszaru medycyny. Tym samym umyka istotna sukcesu pochodnych chityny - ich utylitarność a przez to mnogość zastosowań. Jest to tym bardziej istotne, że Doktorantka bada zarówno proszek otrzymanej pochodnej butyrylo-bursztynochityny, jak i folie, jak i próbuje wytworzyć z otrzymanego materiału włókna (dwoma metodami).

Praca badawcza zasadniczo składa się z dwóch części: pierwszej poświęconym doborowi warunków otrzymywania butyrylo-bursztynochityny opierając się na zastosowaniu odmiennych a kluczowych odczynników reakcji: kwasu nadchlorowego lub kwasu metanosulfonowego. Niestety brak zapisu reakcji jaka miała miejsce w trakcie syntezy utrudnia określenie roli użytych odczynników w dwóch pierwszych wariantach syntezy (z użyciem kwasu nadchlorowego lub kwasu metanosulfonowego). W trzecim z wariantów p. Doktorantka zaznaczyła wyraźnie rolę kwasu metanosulfonowego, który był katalizatorem reakcji. Druga część opracowania koncentruje się nad weryfikacją właściwości uzyskanego związku: butyrylo-bursztynochityny, który badany jest raz w formie proszku, innym razem w formie folii lub włókien wytwarzanych odmiennymi metodami (na mokro i przez elektroprzędzenie) lub wypłukiwanie soli (usuwanie porogenu).

Pani Doktorantka postawiła przede mną ambitne zadanie; śledzenie i łączenie danych, co do których brak jest opisu wskazującego konieczność podjętych badań, użytych środków czy zabiegów. Pozwolę sobie wypunktować najważniejsze:

(1) na str. 43. przy opisie przygotowania prekursora – chityny podano, że była ona mielona w młynku kulowym: w jakim środowisku, czy po mieleniu sprawdzano np. temp. topnienia potwierdzając brak degradacji – jeśli mielenie odbywało się bez medium?

(2) na str. 44. przedstawiano rysunek, który wymaga komentarza: ponieważ wydaje się błędny. Jest to tym bardziej zaskakujące, że przedstawia układ otrzymany przez p. Doktorantkę w ramach pracy. Proszę o wyjaśnienie różnic między pierścieniem piranozowym a pierścieniem aromatycznym oraz o odniesienie się do możliwości syntezy chityny z heterocyklicznych związków aromatycznych. Dodatkowo proszę o określenie ładunków cząstkowych pierwiastków budujących pierścień przedstawiony na rysunku 16.

(3) str. 46 jaki był rozkład wielkości ziaren porogenu (soli) wykorzystanego do uzyskania porowatości w finalnych materiałach i dlaczego proces odparowywania prowadzono w warunkach podwyższonej wilgotności?

(4) W metodyce badawczej opisano podstawy fizyczne niezmodyfikowanych metod pomiarowych, co nie wnosi wartości do pracy i jedynie ją wydłuża (np. opis podstaw mikroskopii SEM, analizy termograwimetrycznej TGA itp.). Tam zaś gdzie potrzeba jest podanie informacji istotnej – brakuje jej np. podrozdział badania mikrobiologiczne – co stanowiło kontrole dla badanych folii w eksperymentach?

(5) Dlaczego do badań zastosowano różnicową analizę termiczną (DTA) a nie klasyczną termograwimetrę (TG) która wnosi istotne informacje co do struktury łańcucha pozwalając określić np. utratę wody, rozkład termiczny, utlenianie czy degradację materiału. Proszę o komentarz

Zaproponowany przez p. mgr inż. Annę Bednarowicz zestaw badań służący przedstawieniu właściwości otrzymanego związku: butyrylo-bursztynochityny jest kompletny i potrzebny. Wykorzystanie do badań reologii, spktroskopii reznonsu jądrowego (H NMR) jak i spektroskopii w podczerwieni (FTIR-ATR), analizy termicznej czy mikrostrukturalnej (SEM) pozwala charakterstyke chemiczno-materiałową i wskazanie potencjału aplikacyjnego uzyskanej pochodnej chityny oraz możliwość jej wykorzystania w kierunku form włóknistych (mikro i submikro), porowatych (np. gąbek, sorbentów) czy silnie uwodnionych hydrożeli (sorbcja). Podsumowując: sprawne posługiwanie się metodami

inżynierii materiałowej stawia p. mgr inż. Annę Bednarowicz jako sprawnego planistę badań, pokazując celowość ich doboru co prowadzi Ją do uzyskania koniecznych informacji na temat nowego materiału: kopolimeru butyrylo-bursztynochityny (BSC).

3. **Ocena poprawność interpretacji wyników badań i wnioskowania**

Recenzowana rozprawa doktorska liczy 120 stron i obejmuje pięć rozdziałów, zachowując klasyczny układ: część wstęp stanowiący w rzeczywistości część teoretyczną, cel i hipotezę pracy, materiały i metody oraz wyniki badań – będące w rzeczywistości ich przedstawieniem i próbą analizy uzyskanych wyników. Praca doktorska kończy się podsumowaniem i zestawieniem bibliografii, w której Autorka powołuje się na 191 pozycji literaturowych. Po lekturze rozdziału *Wyniki badań* nasuwa się kilka kwestii, które wymagają dodatkowego wyjaśnienia, uzupełnienia lub komentarza;

(1) proszę odnieść się do zapisu podawanego w komentarzu do badan spektroskopii w podczerwieni, w której drganie w zakresie liczby falowej 1720-1730 cm^{-1} przypisywane jest grupie karbonylowej. Czy znaczy zapis C=O i zapis =C-O, czy jest zabiegiem celowym wynikającym z możliwej tautomerycznej równowagi keto-enolowej? Jeśli tak proszę o rozpisanie tej równowagi i przypisanie jej do produktu reakcji. Jednocześnie jeśli takie zjawisko miało tu miejsce konieczne jest podanie źródła literaturowego gdyż ten zakres zwykle odpowiada drganiom rozciągającym grupy karbonylowej. Taki opis zamiennego nazewnictwa pasma przypisywanego w grupie =C– O występuje np. na rys 20, 26, 27. Dlaczego wiązanie C-O-C analizowane jest w zakresie daktyloskopowym skoro widoczne jest wcześniej 1000-1300 cm^{-1}? W jakich przypadkach można identyfikować związek chemiczny na podstawie zakresu daktyloskopowego w widmie IR? Dlaczego w analizie kopolimeru w postaci proszku zastosowano technikę ATR zamiast transmisyjnej? Jakie są główne zalety spektroskopii w trybie transmisyjnym w porównaniu do trybu refleksyjnego? W jakich sytuacjach metoda refleksyjna (ATR) jest bardziej użyteczna i dlaczego?

(2) na str. 75 widnieje takie zapis: (...) *Obecność grup alkilowych pochodzących z bezwodnika kwasu masłowego i bursztynowego została potwierdzona przez pojawienie się nowych pasm w zakresie 3000-2800 cm^{-1}.* Podstawnik alkilowy zbudowany jest z grup $-CH_2-$ i $-CH_3$ czy można uznać pasma pochodzące od ww. grup za analityczne skoro występują w chitynie? Proszę o komentarz

(3) Autorka pracy pisząc o możliwych trudnościach uzyskania satysfakcjonującego podstawienia w BSC pisze str. 71 (...) *Dodatkowo bezwodnik kwasu bursztynowego ma strukturę czteroczłonowego pierścienia w wyniku czego generowane jest napięcie pierścieniowe, które sprawia, że wiązania stają się bardziej podatne na rozerwanie w trakcie prowadzenia reakcji chemicznych. Natomiast bezwodnik kwasu masłowego, nie posiada takiego napięcia co powoduje jego niższą reaktywność.* Zdanie to niestety mija się z prawdą: bezwodnik bursztynowy jest przykładem cyklicznego układu laktonowego z pierścieniem pięcioczłonowym; stąd proszę podać wzór półstrulturalny kopolimeru BSC z przyłączonymi podstawnikami wskazującymi potencjalne stłoczenie steryczne.

(4) Autorka pracy analizuje ubytki masy na podstawie DTA (str.77-79) jednak ani w metodyce ani w opisie nie znalazłam danych nt. próbki/materiału odniesienia. Czy przeprowadzono analizę DTA dla wyjściowej chityny? Jeśli tak, dlaczego wyniki te nie zostały uwzględnione w tabeli 12? Dodatkowo, tabela zmian temperatury w zależności od rodzaju podstawienia nie budzi zastrzeżeń, jednak analiza ubytków masy na podstawie DTA wymaga ostrożności. Dlaczego wybrano DTA do analizy ubytków masy, skoro ta technika jest głównie stosowana do wyznaczania temperatury przemian fazowych, reakcji chemicznych oraz rozkładu egzotermicznego i endotermicznego, a nie do pomiaru ubytków masy?

(5) na jakiej podstawie literaturowej lub doświadczenia własnego pada stwierdzenie str. 81 (...) *Materiały o większej hydrofilowości - próbki 3 i 4 sprzyjają lepszej interakcji materiału polimerowego z tkankami (materiały opatrunkowe, rusztowania tkankowe czy implanty), zmniejsza ryzyko wystąpienia reakcji zapalnych*

(6) p. Doktorantka podaje ze DMSO jest rozpuszczalnikiem 'stosunkowo bezpiecznym' proszę o uzupełnienie informacji na temat bezpieczeństwa DMSO i możliwości jego stosowania w kontekście organizmu ludzkiego

(7) w kontekście badań mechanicznych rodzi się pytanie czy p. Doktorantka wykonywała testy poręczności włókien, albo próbowała wykonać wskazywane mokre formowanie włóknin (tzw. *wet-laid*) – celem wykazania przydatności syntezy BSC możliwości przygotowania użytkowej formy materiału

Z uwagi na rolę recenzenta, zmuszona jestem zwrócić uwagę na błędy edytorskie i językowe, które znacząco obniżają wartość pracy, sugerując jej pośpieszne przygotowanie. Szkoda, ponieważ uzyskane wyniki są interesujące, a materiały na bazie chityny wciąż stanowią poszukiwane i komercjalizowane rozwiązania. W pracy znajdują się liczne kolokwializmy (np. str. 77. *ubytek masy badanych próbek jest niewielki, str. 90 (...) duża nieregularność, (..) nierównomierność grubości, (...) zgrubienia i pocienienia włókna*) jest, żargonowe wyrażenia np. *delikatne przesunięcie*, str. 62, liczne powtórzenia znane już z metodyki np. równanie 1 i równanie 7 str. 65 i str. 49 ale także np. powtórzone informacje dotyczące badań lepkości (str. 83). Wiele do życzenia pozostawia opis tabeli i rysunków, będący często zbyt ogólnikowy (nieakceptowalna w pracach naukowych forma hasłowa) np. tabela 8 str. 65, tabela 10 str. 70, tabela 11 str. 71 brakuje w nim informacji, które jasno określałyby, jakie dane zostały przedstawione. Z kolei na zdjęciach mikroskopowych obrazujących włókna otrzymane metodą elektroprzędzenia brakuje skali (str. 99-192, rys 41-44). Na zdjęciach przedstawiających gąbki rys 48 str. 111 oraz tabele 20-22, str. 112-114 - skala co prawda występuje ale jest zupełnie nieczytelna, podobnie jak skala na widmach spektroskopowych (rys 20 str. 59, rys 22-23 str. 62, rys 26-27 str. 68-69).

4. Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

Oceniając umiejętność samodzielnego prowadzenia badań i poprawność analizowanych wniosków stwierdzam, że p. mgr inż. Anna Bednarowicz jest sprawnym laboratoryjnie naukowcem, umiejętnie dobierającym zestaw badań pod kątem postawionych celów, czego dowidzi recenzowana praca jak i pozostały dorobek Doktorantki (11 prac z czego 6 to publikacje) notowany w bazach Scopus i WoS. Podejmowana tematyka badawcza jest aktualna

i wartościowa o czym świadczą wartości wskaźników bibliometrycznych (liczba cytowań wynosi 58 na dzień 12.03.2025 a indeks h jest na poziomie 4). Należy podkreślić, że p. Doktorantka uzyskała te osiągnięcia dzięki pracy lub współpracy w zespole badawczym, co stanowi wartość samą w sobie i często stanowi kluczowy element dalszego rozwoju kariery naukowej młodego pracownika. Wskazane w recenzji nieścisłości w analizie wyników jak i interpretacji nie wpływają na pozytywny odbiór pracy, a całokształt dorobku stawia panią mgr inż. Annę Bednarowicz w roli aktywnego członek zespołu badawczego.

5. Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Anny Bednarowicz stanowi oryginalna pracę naukowo-badawczą wpisującą się w nurt badań służących opracowaniu nowego materiału na bazie chityny – kopolimeru butyrylo-bursztynochityny o wieloaspektowym zastosowaniu. Pani Doktorantka poprawnie zdefiniowała problem badawczy i zastosowała różnorodne podejścia łączące wiedzę z chemii organicznej, inżynierii materiałowej oraz technologii formowania włókien. W celu monitorowania postępów w rozwiązaniu problemu naukowego wykorzystała dostępne metody badawcze, wykazując się zarówno umiejętnością ich stosowania, jak i próbą analizy uzyskanych wyników.

Tym samym stwierdzam, że przedmiotem rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Bednarowicz jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego co pozwala stwierdzić, że spełnia ona kryteria stawiane kandydatom w ustawie z dn. 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie rozprawy Pani mgr inż. Anny Bednarowicz do publicznej obrony.