

Prof. dr hab. inż. Andrzej Zieliński
Profesor Emeritus Politechniki Gdańskiej
Zakład Technologii Biomateriałów
Instytut Technologii Maszyn i Materiałów
Wydział Inżynierii Mechanicznej i Okrętownictwa

**Opinia dotycząca rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Dzedzic
pt. „Wytwarzanie i charakterystyka trójwymiarowych konstruktów chitynowo-
chitozanowych”, wykonanej w Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,
Centrum Zaawansowanych Technologii**

1. Wstęp

Przedstawiona recenzja została sporządzona na pisemną prośbę prof. dr hab. Macieja Kubickiego, Dziekana Wydziału Chemii w Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, zawartą w piśmie z dnia 11 marca br. Wyraziłem zgodę na podjęcie się recenzji tej rozprawy doktorskiej, czując się kompetentny w obszarze badań dotyczących chitozanu, któremu poświęcona była jedna z prowadzonych przeze mnie prac doktorskich, jak i szereg publikacji z moim udziałem. Dodam, że możliwość zrecenzowania rozprawy doktorskiej napisanej w znamienitym polskim uniwersytecie, przy tym wykonanej pod opieką prof. Hermanna Erlicha, naukowca o uznanym międzynarodowym dorobku i pozycji naukowej, to dla mnie zaszczyt. Doktorantka ubiega się o stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne.

2. Charakterystyka rozprawy

Recenzowana rozprawa liczy 234 strony. Składa się z 10 rozdziałów, z których dwa pierwsze to streszczenie i abstract, zaś dwa ostatnie to charakterystyka aktywności naukowej i aneks będący zestawieniem patentów dotyczących chitozanu. Rozprawa zawiera 52 rysunki, 24 tabele i cytuje 547 pozycji literaturowych. Tak bogate piśmiennictwo jest ewenementem w rozprawach doktorskich, a nawet w monografiach habilitacyjnych.

Rozprawa powstała jako element grantu NCN w programie OPUS „Bioinspirowane materiały: chityna izolowana z gąbek morskich jako wielozadaniowy materiał strukturalny”.

Właściwą merytoryczną część rozprawy rozpoczyna obszernie wprowadzenie, w którym autorka omawia historyczne tło pojawienia się chityny i chitozanu, źródła i metody izolacji chityny, charakterystykę strukturalną chityny, skafoldy chitynowe Porifera, zastosowania chityny z gąbek, metody otrzymywania chitozanu i patentologię chityny.

Następny rozdział, czwarty w rozprawie, to sformułowanie tezy i celu pracy.

Kolejny rozdział piąty to prezentacja materiałów i metod, w tym charakterystyka gąbek użytych w badaniach doktorskich, metody izolacji chityny z dwóch gąbek, otrzymywanie wodnego roztworu zawierającego bromotyrozyny, przygotowanie kompozytów chitynowo-chitozanowych, rozpuszczanie skafoldów chitynowych gąbek, techniki charakteryzacji.

Wyniki i dyskusja stanowią rozdział szósty i obejmują podrozdziały takie jak charakterystyka trójwymiarowych skafoldów kompozytowych z chityny i chitozanu, rozpuszczanie chitynowych skafoldów z gąbki *Aplysina aerophoba*, właściwości mechaniczne chitynowych skafoldów z gąbek, chitynowa matryca oraz bromotyrozyny z gąbki *lanthella bastas*, patentologia chitozanu.

Podsumowanie i perspektywy, rozdział siódmy, są związane w formie, ale komunikatywne.

Bibliografia jest bardzo pokaźna, cytowana w sposób prawidłowy.

Całość kończy opis aktywności naukowej oraz aneks prezentujący, w formie kilkunastu tablic, patentologię chityny.

3. Ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w określonej dyscyplinie albo dyscyplinach

Oceniam bardzo wysoko rozprawę doktorską w aspekcie posiadanej i wykorzystanej wiedzy teoretycznej w dyscyplinie nauki chemiczne, co jest widoczne w części rozprawy zatytułowanej „Wprowadzenie”.

W pierwszej części wprowadzenia doktorantka prezentuje charakterystyki chityny i chitozanu, zwracając uwagę na neutralny wpływ obu substancji na środowisko, ich potencjalne znaczenie dla medycyny, wreszcie na niezbyt liczne jak dotąd prace badawcze w tym obszarze, ściśle dotyczące chityny i chitozanu z gąbek. Dalej przedstawia ona historię odkrywania i poznawania chityny oraz chitozanu. Ważnym fragmentem jest zestawienie 21 technik badawczych chityny. Kolejnym fragmentem rozdziału jest omówienie zastosowań, źródeł i sposobów izolacji chityny, zwłaszcza z gąbek, w tym chemicznej i enzymatycznej ekstrakcji, demineralizacji, ale także ostatnio intensywnie rozwijanych zielonych technologii z zastosowaniem rozpuszczalników głęboko eutektycznych lub cieczy jonowych, wreszcie – obróbki elektrochemicznej. Osobny podrozdział poświęca doktorantka metodzie izolacji opracowanej przez promotora pracy prof. Hermana Erlicha.

Kolejna część dotyczy charakterystyki strukturalnej chityny, występującej w trzech odmianach polimorficznych. Następnie doktorantka omawia skafoldy chitozanowe Porifera występujące w dużych rozmiarach (makroskala, jak pisze), ale składające się z mikro- i nanowłókien chitynowych (nanoskala). Kontynuując, autorka rozprawy przedstawia zastosowania chityny pozyskiwanej z gąbek, w tym w inżynierii tkankowej jako skafoldy, w biomimetyce ekstremalnej do produkcji kompozytów chitynowo-nanokrzemionkowych, chitynowo-cyrkonowych i innych, oraz dla sorpcji uranu w wodzie z efektywnością dochodzącą do 95%.

W następnej części doktorantka omawia metody otrzymywania chitozanu poprzez deacetylację chityny. Ostatnią część tego rozdziału stanowi patentologia chityny, czyli wyszukiwanie i analiza patentów powstałych w latach 1996–2021. Spośród 268 branych tu pod uwagę patentów, 137 odnosiło się do chitozanu, przy czym ponad 50% dotyczyło konwersji chityny do chitozanu.

Wprowadzenie oparto na łącznie 270 publikacjach źródłowych. W ogromnej części są to artykuły pochodzące z ostatnich lat, najczęściej pojawiające się po roku 2010. Wyjątek stanowią tu, co zrozumiale, publikacje opisujące historię chityny, zaczerpnięte z czasopism z końca XVIII i z XIX wieku, m.in. z lat 1799, 1811, 1823, 1876. Tak bogata

literatura została bez wyjątku w moim przekonaniu dobrze dobrana. Inna sprawa, że można było w rozprawie doktorskiej, jak i zresztą w każdym innym dziele naukowym, pokusić się o większą zwięzłość, rozważając, czy takie ogromne kompendium wiedzy, zrozumiałe przy opracowaniu monografii naukowej poświęconej chitynie i chitozanowi, jest potrzebne czytelnikowi rozprawy doktorskiej. Oczekiwałbym selekcji w myśl zasady cytowania jedynie takich pozycji literaturowych, które wskazują na genezę problemu naukowego, stan wiedzy naukowej w obszarze ściśle związanym z celem pracy, wreszcie dyskusję, w tym odniesienia do podobnych badań. Nie jest to w istocie zarzut. Przeczytanie rozprawy i przestudiowanie referencji nie było dla mnie, profesora emerytowanego, dużym problemem, jednak tak gigantyczna praca nie wydaje mi się potrzebna. Maksimum skuteczności, minimum wysiłku to zasada zalecana także przy pisaniu tekstów naukowych (<https://stworzenie.net/zwiezlosc-stylu-maksimum-skuteczności-minimum-wysiłku/>).

Analizując układ rozdziału poświęconego analizie danych naukowych, stwierdzam, że zawiera on wszystkie ważne elementy dotyczące chityny i chitozanu. Jednak lepiej byłoby dla czytelnika, gdyby rozdział był zatytułowany nie „Wprowadzenie”, co nic nie mówi, ale w sposób wskazujący na jego główną treść, czyli chitynę i chitozan w różnych aspektach, a zwłaszcza jako *state-of-the-art*. Nie mam natomiast żadnych zastrzeżeń co do podziału i terminologii.

Reasumując, oceniam, że **doktorantka wykazała w sposób niepodważalny, iż posiada ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie nauk chemicznych**. Imponuje umiejętność eksploracji oraz przetwarzania źródeł informacji z wielu baz danych, a przy tym odnoszących się do różnorodnych obszarów chemii – organicznej, nieorganicznej, inżynierii chemicznej i wielu innych. Bez głębokiej wiedzy i zrozumienia nie byłoby to możliwe.

4. Ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez mgr Izabelę Dziedzic

Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej sprowadza się w moim przekonaniu do umiejętności sformułowania tezy i celu lub celów pracy, planu pracy i programu badań, wreszcie do wyboru właściwych technik badawczych i zaplanowania eksperymentów oraz ich wykonania lub partycypacji w badaniach, wreszcie do opisu wyników.

Doktorantka sformułowała przed rozpoczęciem badań cel pracy, a ściśle mówiąc, nawet dwa. Pierwszy z nich głosi, że celem pracy jest zgłębienie wiedzy na temat unikalnych, trójwymiarowych skafoldów chitynowych z gąbek, które służą jako naturalnie ustrukturyzowane matryce o istotnym znaczeniu zarówno w naturze, jak i w bioinspirowanej nauce o materiałach. Następnie doktorantka pisze, iż głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest zbadanie naturalnie prefabrykowanych, trójwymiarowych skafoldów chitynowych z gąbek z rzędu *Verongiida* jako unikalnych, odnawialnych matryc biologicznych oraz określenie możliwości ich modyfikacji chemicznej w kierunku otrzymywania biomimetycznych materiałów. Co do pierwszego celu uważam, że zgłębienie wiedzy w naukach inżynierijno-technicznych stanowić powinno podstawę do sformułowania celu badań, nie zaś cel sam w sobie. Co do drugiego celu, uważam go za trafnie sformułowany, z jednym wyjątkiem: doktorantka pisze, iż celem rozprawy jest zbadanie, tymczasem badanie jest jedynie sposobem do

charakterystyki procesów, mechanizmów, zmiennych i ich wzajemnych zależności. Mimo to aprobuję cel podjęcia pracy opisanej w rozprawie doktorskiej, jak też nie mam uwag co do siedmiu etapów, w jakich realizowane były badania.

Poprawna jest teza pracy głosząca, iż naturalnie prefabrykowane, trójwymiarowe skafoldy chitynowe pochodzące z gąbek z rzędu *Verongiida* mogą być efektywnie izolowane oraz modyfikowane chemicznie bez utraty swojej unikalnej struktury, co umożliwi opracowanie biomateriałów o szczególnych własnościach mechanicznych i chemicznych, opartych na źródłach naturalnych, ściśle w tym przypadku, na zasobach morskich.

Plan badań jako obiekt przyjęt dwa rodzaje gąbek: *Aplysina aerophoba* i *lanthella basta*. Pierwszy etap to izolacja chityny z obu rodzajów gąbek. Izolacja sprowadzała się do przemienego oddziaływania kwasem octowym i zasadą sodową, z pewnymi różnicami w szczegółach procedury, przy czym istotnym szczegółem było zastosowanie ultradźwiękowego wspomaganie w trakcie ekspozycji. Drugie zadanie to otrzymywanie wodnego ekstraktu zawierającego bromotyrozyny przez moczenie w wodzie, odfiltrowanie osadu i suszenie. Zadanie trzecie to przygotowywanie kompozytów chitynowo-chitozanowych. Prowadzone było ono metodą deacetylacji w roztworach wodorotlenku sodu o różnych stężeniach i przez różny czas, co pozwoliło na dobranie warunków optymalnych do otrzymania szkieletu złożonego z obu substancji, o wysokiej stabilności. Kolejny etap preparatyki to rozpuszczanie skafoldów chitynowych gąbek, które następowało kolejno przez działanie kwasu octowego, roztworu wodorotlenku litu i dializę w wodzie destylowanej, także przy wspomaganie ultradźwiękowym.

Podrozdział 5.6 omawia techniki charakteryzacji. Doktorantka stosowała techniki: ATR-FTIR, mikroskopię cyfrową, SEM z EDX, XRD, mikroskopię fluorescencyjną, metody barwienia (izotiocyanianem fluoresceiny, próba jodowa, barwienie czerwienią brylantową, barwienie Calcofluor White), wyznaczanie potencjału zeta, monotoniczny test ściskania, badania nanoindentacji, oszacowanie stopnia deacetylacji z zastosowaniem metody FTIR, badania mikrobiologiczne w dziewięciu środkach antyseptycznych.

Uznaję na podstawie tego rozdziału za perfekcyjne zaplanowanie toku badań, przebiegu eksperymentów i dobór technik. **Nie mam żadnych wątpliwości co do pełnej samodzielności doktorantki w prowadzeniu badań naukowych.**

Mam jednak następujące uwagi odnoszące się do samej redakcji rozdziału:

1. Dla bardziej wyrazistego obrazu lepiej byłoby, gdyby doktorantka podzieliła rozdział nieco inaczej: (5.1) Charakterystyka substratów, (5.2) Badania mikroskopowe, (5.3) Badania spektroskopowe, (5.4) Badania chemiczne, (5.5) Badania mikrobiologiczne, (5.6) Badania mechaniczne.
2. Rodzajów gąbek jest wiele, więc moje pierwsze merytoryczne pytanie: dlaczego doktorantka wybrała właśnie gąbki z rzędu *Verongiida* i dlaczego te dwie (nie np. *Aplysina fistularis* czy *Aplysina cavernicola*), bo takiego uzasadnienia nie dostrzegam w rozprawie? Tę pierwszą gąbkę znajduję w artykule poświęconym badaniom nanoindentacji.
3. Dlaczego nie stosowano wspomaganie ultradźwiękowego dla drugiej z gąbek? Czy to tylko przeoczenie w opisie? Jaką rolę przypisuje doktorantka w tym przypadku ultradźwiękom?
4. Dlaczego roztwór zawierający bromotyrozyny otrzymywano jedynie z gąbki *lanthella basta*?

5. Tytuł podrozdziału 5.5. to rozpuszczanie skafoldów chitynowych gąbek, jednak w opisie jest mowa jedynie o gąbce *Aplysina aerophoba*. Istotnie prowadzono tę procedurę tylko dla tej jednej formy, a jeśli tak, to dlaczego?
6. W wielu przypadkach nie jest jasne czy stosowane procedury są oryginalnym rozwiązaniem w tej pracy, czy też nie zamieszczono odpowiednich odnośników do wcześniejszych artykułów:
 - Czy izolacja chityny w przypadku gąbki *Aplysina aerophoba* prowadzona była zgodnie z procedurą opisaną w [I. Dziedzic, K. Dydek, J. Trzciniński, A. Boczkowska, A. Voronkina, T. Jesionowski, H. Ehrlich "Creation of 3D Chitin/Chitosan Composite Scaffold from Naturally Pre-Structured Verongioid Sponge Skeleton" *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* 8, 2024, 100587] ?
 - Czy zastosowana procedura otrzymywania wodnego ekstraktu zawierającego bromotyrozyny jest oryginalna, czy zaczerpnięta z wcześniejszych badań własnych lub innych naukowców (brak odnośnika literaturowego)?
 - Czy zastosowana procedura przygotowania kompozytów chitynowo-chitozanowych jest oryginalna, czy zaczerpnięta z wcześniejszych badań własnych lub innych naukowców (brak odnośnika literaturowego)?
 - Czy zastosowana procedura rozpuszczania skafoldów chitynowych gąbek jest oryginalna, czy zaczerpnięta z wcześniejszych badań własnych [I. Dziedzic, A. Voronkina, M. Pajewska-Szmyt, M. Kotula, A. Kubiak, H. Meissner, T. Duminis, H. Ehrlich "The Loss of Structural Integrity of 3D Chitin Scaffolds from *Aplysina Aerophoba* Marine Demosponge after Treatment with LiOH" *Marine Drugs* 21:6, 2023, 334] lub innych naukowców (brak odnośnika literaturowego)? W szczególności, skąd pomysł zastosowania wodorotlenku litu?

5. Ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne

Przedstawiona rozprawa doktorska może być oceniana jako oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, biorąc pod uwagę postawioną tezę, wyniki badań, ich dyskusję i wnioski końcowe. Przypomnę, że teza postawiona przez doktorantkę głosi, iż naturalnie prefabrykowane, trójwymiarowe skafoldy chitynowe pochodzące z gąbek z rzędu *Verongiida* są efektywnie izolowane oraz modyfikowane chemicznie bez utraty swojej unikalnej struktury. Już takie stwierdzenie mogę uznać za oryginalne, w dotychczasowej literaturze brak jest niemal doniesień o możliwości zastosowania matryc chitynowych z gąbek do produkcji chitozanu. Powodem jest fakt, iż nielogiczne byłoby degradowanie chityny o unikalnej, prefabrykowanej strukturze w formie skafoldów w celu uzyskania sproszkowanego chitozanu, jak ma to miejsce w przypadku surowców z grzybów lub skorupiaków. Oryginalność pracy doktorantki to wykazanie możliwości uzyskania warstw chitozanu na powierzchni mechanicznie wytrzymałych włókien chitynowych pochodzących z gąbek, w taki sposób, aby architektura trójwymiarowego szkieletu chitynowego została zachowana. Innymi słowy, celem pracy było stworzenie strukturalnej matrycy kompozytowej chityna/chitozan, która przypominałaby rozmiarem i kształtem pierwotny szkielet chitynowy hodowanej morskiej gąbki. Istotną innowacją podejścia

prezentowanego w tej pracy jest wytworzenie trójwymiarowych skafoldów, które wykorzystują oba biopolimery, chitynę i chitozan.

Chcąc wykazać prawdziwość tej tezy, doktorantka wykonała szereg badań, które same w sobie stanowią sposoby wykazania zasadności założeń pracy. Pozwolę sobie w tym miejscu pokazać, jak kolejno badania doktorantki zmierzały do tego celu.

W podrozdziale 6.1 opisana została identyfikacja warstwy chitozanowej na powierzchni chityny, co nie było łatwym zadaniem. Została ona uzyskana dzięki barwieniu przy pomocy barwnika jodowego oraz barwnika Cibacron Brilliant Red (CBR). Dodatkowo, badania te pomogły w ustaleniu stężenia roztworu wodorotlenku sodu optymalnego dla uzyskania stabilnego konstruktów chityna-chitozan, co potwierdzono przez badania FTIR. Ponadto test z zastosowaniem izotiocyanianu fluoresceiny wykazał istnienie konfiguracji strukturalnej, w której chitozan tworzy warstwę zewnętrzną wokół rdzenia z włókna chitynowego wskutek częściowej deacetylacji. Z przyjemnością odnotowuję, że mimo znanej niestabilności chitozanu w środowiskach kwaśnych technika laserowej elektroforezy Dopplera została tu z powodzeniem zastosowana do monitorowania potencjału zeta powierzchni gąbek, co potwierdziło ich skuteczną modyfikację.

Następny fragment tego podrozdziału poświęcony jest badaniom właściwości powierzchni dekorowanych miedzią. Najciekawsze spostrzeżenia to znacznie słabsze osadzanie się miedzi na chitynie, jak też możliwość zastosowania tak dekorowanych kompozytów jako katalizatorów, przy praktycznym braku wpływu osadzania nanoCu na właściwości mechaniczne w próbie nanoindentacji.

Podrozdział 6.2 omawia wyniki obserwacji rozpuszczania chitynowych skafoldów z gąbki *Aplysina aerophoba*. Podczas rozpuszczania w wodorotlenku litu skafoldów chitynowych zawierających bromotyrozinę, mikrowłókna chityny ulegały transformacji w materiał amorficzny, przypuszczalnie wskutek reakcji zasady z bromem. Ta reakcja prowadzi więc do zniszczenia trójwymiarowych konstrukcji chitynowych, ale wskazuje również na możliwość uzyskania chitynowych materiałów o nanowłóknistej strukturze przypominającej folię.

Podrozdział 6.3 przedstawia wyniki badań wyznaczenia odkształceń, nanotwardości i modułu sprężystości Younga techniką nanoindentacji przy naprężeniach ściskających dla próbek w stanie mokrym oraz suchym. W obu badaniach oceniano przy tym pozbawione komórek skafoldy chitynowe zawierające i niezawierające bromotyrozyny, bardzo szczegółowo omawiając obie zmienne wpływające na moduł sprężystości. Wyniki nie są istotnie różne, co ważne dla zastosowań w medycynie. Za najciekawsze dla mnie spostrzeżenie uznaję, iż właściwości mechaniczne zaobserwowane w warunkach wilgotnych wskazują na brak natychmiastowego przenoszenia obciążeń mechanicznych, jednak ich odwodnione odpowiedniki są pod tym względem porównywalne ze skórą ludzką i kością gąbczastą.

Podrozdział 6.4 omawia wyniki badań właściwości antybakteryjnych skafoldów chitynowych z gąbki *I. basta* z osadzonymi różnymi środkami antyseptycznymi. Matryca chitynowa nieprzerwanie uwalniała środki antyseptyczne przez co najmniej 72 godziny, wykazując istotne działanie przeciwko gronkowcowi złocistemu. Obserwowano powstawanie stref zahamowania wzrostu wokół kolonii drobnoustrojów w ciągu tych trzech dni. Antyseptyki o niskich wartościach minimalnego stężenia hamującego są hydrofobowe, mają płaską strukturę i silnie adsorbują się do matrycy, wykazując większe i długotrwałe działanie przeciwdrobnoustrojowe.

Ostatni podrozdział 6.5 omawia patentologię chitozanu. Doktorantka wykonała ogromną pracę analizując 3650 rodzin patentów. Większość z nich została sklasyfikowana w kategoriach materiałoznawstwa, chemii/biochemii oraz biotechnologii i zastosowań farmaceutycznych, podczas gdy znacznie mniej odnosiło się do żywności, kosmetyków, rolnictwa, biomedycyny i ochrony środowiska. Najczęstszymi tematami zgłoszeń patentowych były produkcja/zastosowania chemiczne, zastosowania biomedyczne chitozanu, zastosowania pochodnych polisacharydów do celów medycznych, stomatologicznych, farmaceutycznych lub toaletowych, zastosowania chitozanu jako materiału filtracyjnego lub chromatograficznego, zastosowania w kosmetykach.

Opracowanie i interpretację wyników uważam za stojące na bardzo wysokim poziomie naukowym. Uznaję więc, że doktorantka bez żadnych wątpliwości przedstawiła na podstawie własnych wyników oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jakim jest wytworzenie kompozytów chitynowo-chitozanowych w drodze deacetylacji skafoldów chitynowych pochodzących z gąbek *A. aerophoba* oraz *I. basta*. O jakości rozwiązania świadczą zachowanie przez wytworzone matryce rozmiaru i morfologii pierwotnego szkieletu gąbki, przekształcenie górnych warstw chityny w warstwy chitozanu o wielkości mikrometrycznej, wysoka wytrzymałość mechaniczna i aktywność chemiczna otrzymanych przestrzennych struktur.

Mam pewne uwagi co do klarowności opisu:

1. Na stronie „Obrazy SEM oferują porównawczą wizualizację włókien chitynowych *A. aerophoba* oraz *I. basta* i ich produktu otrzymanego w wyniku deacetylacji w 38% roztworze NaOH przez 60 minut w temperaturze 95° C. Przy mniejszych powiększeniach włókna chitynowe wykazują typowy gładki i jednolity wygląd, co wskazuje na ich naturalny, niezmodyfikowany stan. Natomiast włókna chitynowo-chitozanowe charakteryzują się wyraźnie poszarpaną i nieregularną teksturą powierzchni, co uwydatnia zmiany wywołane procesem deacetylacji. Po bliższym przyjrzeniu się w większych powiększeniach włókna chitynowe ujawniają charakterystyczną, pomarszczoną powierzchnię, cechą często obserwowaną w poprzednich badaniach. ... Z kolei powierzchnie kompozytów chitynowo-chitozanowych wydają się znacznie gładziej w większych powiększeniach”. Występuje w tym opisie sprzeczność: włókna chitynowe wydają się gładkie przy małych i poszarpane przy dużych powiększeniach, co bywa normalną obserwacją, natomiast nie wydaje mi się logiczne, aby powierzchnia nieregularna przy małych powiększeniach wydawała się gładziej przy dużych. Poza tym, co takiego „poszarpana” powierzchnia, bo w polskiej terminologii inżynierii materiałowej brzmi to obco, może – powierzchnia nierówna, szorstka, ostra, ząbkowana lub połamana, co lepiej oddaje wygląd powierzchni?
2. Str. 84: drobny błąd, doktorantka pisze „Zastosowanie dwóch lateksowych cząstek wskaźnika o pH 9, 2 i 7 pozwoliło na dogłębne zbadanie surowców i materiałów...”. Chodzi oczywiście o pH 9, 2 i 7.
3. Na str. 85-86 doktorantka pisze o sposobach stabilizacji chitozanu, a bezpośrednio po ich omówieniu przechodzi do osadzania nanomiedzi na skafoldach kompozytowych. Czy osadzanie miedzi traktuje doktorantka jako sposób stabilizacji, a jeżeli tak, to jaki uzyskała na to dowód? Jeżeli te dwa fragmenty nie mają ze sobą związku, to po co pisać o sposobach stabilizacji, skoro ich nie badano?

4. Str. 87-90. Doktorantka opisuje wyniki badań kompozytów z osadzoną nanomiedzią. Jednakże brak opisu tej metodyki w podrozdziale 5.6. Wprawdzie pewne szczegóły znalazły się w tej części rozprawy, ale nie znajdują nic na temat składu roztworu, temperatury ekspozycji, sposobu redukcji fruktozą. Proszę o uzupełnienie.
5. Str. 89: wyrażenie „metalizacji fazą miedzi” nie wydaje się poprawne, po prostu osadzania miedzi pierwiastkowej.
6. Str. 93: „Jednak w trakcie procedury zaobserwowano, że ilość uzyskanych skafoldów była mniejsza niż oczekiwano”. Komentarz: proszę o wyjaśnienie, co to znaczy liczba skafoldów (bo zapewne nie ilość), czego i na jakiej podstawie oczekiwano.
7. Str. 102: „Wodorotlenek litu reagował z bromem bromotyrozyny dając bromek litu, który ostatecznie rozpuszczał skafold”. Komentarz: proszę o wyjaśnienie, co doktorantka rozumie pod pojęciem rozpuszczania skafoldu.
8. Podrozdział 6.4. Czy do badań używano skafoldu kompozytowego, czy skafoldu chitynowego?
9. Podrozdział 6.5. Proszę o wyjaśnienie sprzeczności: otóż na str. 127 doktorantka pisze m.in. „najpopularniejszymi tematami zgłoszeń patentowych były produkcja/zastosowania chemiczne ... zastosowania biomedyczne do celów medycznych, stomatologicznych, farmaceutycznych lub toaletowych ... w przeszczepianiu protez ... w kosmetykach ... w medycznych materiałach opatrunkowych”. Tymczasem na str. 143-144 „Większość z nich została sklasyfikowana w kategoriach materiałoznawstwa, chemii/biochemii oraz biotechnologii i zastosowań farmaceutycznych, podczas gdy znacznie mniej odnosiło się do żywności, kosmetyków, rolnictwa, biomedycyny i ochrony środowiska”. Proszę o wyjaśnienie, czy zdaniem doktorantki zastosowania chitosanu do celów medycznych (biomedycyny) są znaczące, czy ograniczone.

5. Wniosek w sprawie przyjęcia rozprawy doktorskiej

Stwierdzam, że przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską mgr Izabeli Dziedzic zatytułowaną „Wytwarzanie i charakterystyka trójwymiarowych konstrukcji chitynowo-chitozanowych” cechuje niepodważalna podbudowa teoretyczna w zakresie nauk chemicznych, sformułowanie właściwej tezy rozprawy, zaplanowanie i samodzielne wykonanie znaczącej liczby badań, twórcza interpretacja wyników stanowiąca o oryginalności rozwiązania rozważanego problemu naukowego. Moje uwagi do poszczególnych rozdziałów nie mają przy tym charakteru merytorycznego, a wynikają z chęci usunięcia niejasności lub braków opisu, których przy tak ogromnej i trudnej rozprawie uniknąć nie sposób. Konkludując, wyrażam opinię, że recenzowana rozprawa spełnia wymagania ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (z późn. zm.) i wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

6. Wniosek w sprawie wyróżnienia rozprawy doktorskiej

Uznając niezaprzeczalną oryginalność pracy, godny uznania poziom naukowy, staranne przygotowanie i szeroki zakres badań, aktualność tematyki, proekologiczne znaczenie, wreszcie przewidywaną istotność osiągnięcia dla różnych zastosowań medycznych, ale także dotychczasowe osiągnięcia mgr Izabeli Dziedzic, wnioskuję o wyróżnienie jej rozprawy doktorskiej. Poniżej moje merytoryczne uzasadnienie wniosku.

Oryginalność pracy wynika z faktu, iż sformułowany przez doktorantkę problem naukowy ma w sobie cechy nowości w skali światowej. W szczególności po raz pierwszy opisano otrzymanie trójwymiarowych materiałów kompozytowych chitynowo-chitozanowych w wyniku procesu deacetylacji skafoldów chitynowych pochodzących z gąbek *A. aerophoba* oraz *I. basta*. Proces przebiegał przy optymalnym stężeniu zasady sodowej NaOH, 38%, wyznaczonym przez doktorantkę, jak też przez optymalny czas. Wynikiem były skafoldy o pierwotnej strukturze gąbek, w których rdzeń stanowiła chityna, zaś zewnętrzną warstwę – chitozan. Doceniam nie tylko preparatykę skafoldów, ale także potwierdzenie ich budowy przez różnorodne techniki badawcze. Dodatkowo przebadana ona właściwości chitynowej matrycy z gąbki *I. basta* jako nośnika dla środków antyseptycznych, wykazując, że skuteczność przeciwdrobnoustrojowa matrycy chitynowych zależy od złożonych oddziaływań zależnych od struktury przestrzennej skafoldu i jego lokalnego składu, jak też rodzaju i stężenia zastosowanych antyseptyków; w szczególności ważna jest zdolność adsorpcyjna i stopień pęcznienia nośnika. Ponadto po raz pierwszy wykazano możliwość rozpuszczenia chitynowego skafoldu z gąbki *A. aerophoba* w 1% roztworze wodorotlenku litu. Proces ten prowadzi do przekształcenia trójwymiarowej struktury w amorficzną postać bez zmiany właściwości chemicznych α -chityny oraz bez jej konwersji do chitozanu. Doktorantka wniosła tu niewątpliwy wkład w opis tego złożonego i niejednoznacznego procesu w formie analizy kinetyki rozpuszczania zależnej od stężenia LiOH i temperatury reakcji oraz charakterystyki strukturalnej chityny izolowanej w tych warunkach z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej, a także określiła właściwości mechaniczne metodą nanoindentacji. W odniesieniu do tych ostatnich badań nowymi wartościami są moduł sprężystości oraz twardość czystych skafoldów chitynowych oraz szkieletów chitynowych zawierających bromotyrozyny dla gatunków gąbek *A. fistularis*, *Dendrilla sp.*, *A. archeri*, *A. aerophoba* oraz *I. basta*. Wykazała doktorantka w szczególności, iż usunięcie bromotyrozyn prowadzi do obniżenia modułu sprężystości, przy jednoczesnym zachowaniu twardości materiału na zbliżonym poziomie.

Godny uznania jest poziom naukowy pracy. Dyskusja wyników prowadzona była w oparciu o 274 źródła literaturowe, pomijając badania w ramach patentologii. Za szczególnie interesujące uznaję takie fragmenty dyskusji, jak wpływ stężenia NaOH na stabilność struktur, interpretacja wyników badań fluorescencji, potencjalne zastosowania kompozytu o różnych grubościach warstwy chitozanu, określenie skuteczności modyfikacji powierzchniowej na podstawie zmian potencjału zeta, wpływ struktury na osadzanie się nanomiedzi, analiza wpływu rozpuszczania skafoldów w wodorotlenku litu, wnikliwy opis zależności odkształcenia, nanotwardości i modułu Younga w próbie nanoindentacji od przestrzennej budowy skafoldu, wyjaśnienie aktywności antybakteryjnej kompozytów od adhezji środków antyseptycznych na powierzchniach.

Imponujące jest staranne przygotowanie i szeroki zakres badań. To pierwsze doktorantka zawdzięcza bardzo wnikliwej analizie obecnego stanu wiedzy. To drugie jest efektem studiów literaturowych, ale i godnej podkreślenia umiejętności analizy problemu. Za szczególnie ważne uznaję zastosowanie różnych technik wybarwienia w celu odróżnienia chityny od chitozanu, zastosowanie SEM, FTIR i XRD do podobnego celu dla izolowanych i liofilizowanych skafoldów, badania właściwości mechanicznych metodą nanoindentacji po nadzwyczaj umiejętnej preparatyce próbek do tak subtelnych testów. To daleko nie wszystko.

Analiza patentowa wykazała, jak dalece aktualna jest poruszana tematyka. Doktorantka pisze sama, iż najważniejszymi zastosowaniami są te dla medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej, w tym w opatrunkach na rany i w kontrolowanym uwalnianiu leków. Ważne są także zastosowania pozamedyczne, dla systemów filtracyjnych i procesów katalizy przemysłowej. Podzielałam pogląd, iż wnikliwa analiza wskaźników jakości i komercjalizacji patentów pozwala lepiej zrozumieć globalne trendy i rosnące znaczenie materiałów chitynowych w nowoczesnych technologiach praktycznego wykorzystania trójwymiarowych skafoldów chitynowo-chitozanowych opracowanych w ramach recenzowanej pracy, wskazując zarazem na kierunki dalszych badań.

Zwróć także uwagę na ważny aspekt ekologiczny, bowiem w produkcji chitozanu ze skorupiaków zużywane są całkiem spore ilości toksycznych chemikaliów, co wymaga kosztownej ich utylizacji.

Proponując wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Dziedzic kieruję się także innymi aspektami jej działalności naukowej. Doktorantka jest współautorką 8 artykułów, w tym w czterech - autorem pierwszym. Wśród tych ostatnich znalazły się publikacje w czasopiśmie o wysokiej wartości Impact Factor, 5,4, 5,5 i 6,5 (pozycje 3, 5 i 6 wg spisu zamieszczonego w rozprawie, str. 205), w każdym przypadku znajdujące się w Q1 w odpowiednich obszarach (odpowiednio Chemisty, Polymers oraz Applied Chemistry/Polymer Science). Ponadto doktorantka przedstawiała swoje wyniki na 5 konferencjach międzynarodowych, w dwóch z nich zdobywając wyróżnienia za wystąpienie ustne lub poster. Była wreszcie kierownikiem minigrantu doktoranckiego w ramach programu „Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza” na rok 2023/2024 „Development of methods for effective metallization of isolated 3D mesoporous *Verongiid* sponges skeletons”. To wszystko świadczy o nieprzeciętnych walorach naukowych doktorantki.

Anna 2026, Gościł 21.04.2026 r.