

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Olejniczak
pt. „Radioliza chitozanu i otrzymywanie membran chitozanowych”
promotor: prof. dr hab. Wojciech Kujawski**

Podstawa formalna opracowania recenzji

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi decyzja Rady Dyscypliny Nauk Chemiczne, Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przekazana pismem Pani Dziekan prof. dr hab. Iwony Łakomskiej z dnia 21.06.2023 r. w sprawie wyznaczenia recenzenta w osobie prof. dr hab. Doroty Kołodyńskiej w postępowaniu doktorskim Pani mgr Katarzyny Olejniczak na podstawie art.14 ust. 1 pkt 1, art. 14 ust. 2 pkt 2 oraz art. 20 ust. 5 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (tj. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 2 i 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669 z późn. zm.). Podstawą formalną jest także umowa o dzieło z dnia 22.06.2023 r. w sprawie wykonania recenzji przedmiotowej pracy doktorskiej. Praca doktorska jest realizowana w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne.

Przedmiot recenzji i zawartość rozprawy doktorskiej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Katarzyny Olejniczak została wykonana na Katedrze Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Tematyka rozprawy doktorskiej dotyczy badań nad otrzymywaniem membran chitozanowych i związana jest z zainteresowaniami naukowymi Pana prof. dr hab. Wojciecha Kujawskiego – promotora rozprawy doktorskiej, znanego i cenionego w kraju i za granicą specjalisty, laureata wielu nagród dotyczących membran polimerowych i ceramicznych oraz ich modyfikacji, a także prac związanych z otrzymywaniem materiałów o ściśle określonych parametrach równowagowych, separacyjnych i transportowych mogących znaleźć zastosowanie w procesach perwaporacji, separacji gazów, destylacji membranowej, nanofiltracji, ultrafiltracji, odwadnianiu rozpuszczalników organicznych, czy oczyszczaniu wody i ścieków oraz w produkcji biopaliw.

Dokonując oceny rozprawy doktorskiej jako recenzent brałam pod uwagę (i) nowatorski charakter badań i ich oryginalność, (ii) trafność wyboru problemu badawczego, (iii) metodologię wraz z doбором wykorzystanych metod i technik badawczych oraz (iv) poprawność interpretacji uzyskanych wyników z uwzględnieniem aktualnego stanu wiedzy. Przedstawiona do recenzji praca została przygotowana

w języku polskim, liczy 182 stron maszynopisu, zawiera 48 rysunków, 15 tabel, a także spis 286 merytorycznie i starannie dobranych odnośników literaturowych stanowiących kompendium wiedzy dotyczące poruszanego tematu. Tytuł przygotowanego opracowania „Radioliza chitozanu i otrzymywanie membran chitozanowych” został sformułowany poprawnie i w pełni odzwierciedla uzyskane wyniki badań.

Część pierwsza pracy obejmuje spis treści, wykaz stosowanych skrótów i symboli, wprowadzenie, część literaturową zawierającą opis właściwości i zastosowania chitozanu, radiacyjnej degradacji i sieciowania polimerów, oddziaływania promieniowania na chitozan, degradacji radiacyjnej chitozanu oraz radiacyjnego szczepienia monomerów na chitozanie. W tej części Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę poruszaną w dalszej części pracy, która jest związana z procesami membranowymi, a w szczególności perwaporacji i permeacji par.

W rozdziale 2.1. mgr Katarzyna Olejniczak podkreśla, że biodegradowalne polimery z grupy polisacharydów to materiały wytwarzane w sposób nowatorski, o specyficznych właściwościach stanowiące alternatywę dla dotychczas stosowanych trudno biodegradowalnych polimerów. Zarówno bardzo dobre właściwości sorpcyjne, jak i biodostępność, biodegradowalność, biogodność oraz nietoksyczność sprawiają, iż stwarzają one zupełnie nowe perspektywy jeśli chodzi o rozwój ich zastosowań. Szczególne miejsce w tej grupie zajmują chityna i chitozan.

Chitozan jest kationowym aminopolisacharydem, jedną z najważniejszych pochodnych chityny. Jest polimerem o unikalnej strukturze, wynikającej z obecności grup aminowych, acetamidowych i hydroksylowych, o dużej elastyczności łańcucha. Ilość w/w grup funkcyjnych wpływa nie tylko na jego reaktywność, ale także na biodegradowalność i rozpuszczalność. Posiada także zdolność tworzenia różnorodnych struktur morfologicznych takich jak filmy, mikrokulki, włókna, hydrożele, membrany i nanocząstki. Dlatego wśród jego powszechnych zastosowań wymienić należy medycynę (odbudowa kości, otrzymywanie sztucznej skóry, zmniejszanie obrzęków limfatycznych, regulowanie pH tkanek, oczyszczanie organizmu z toksyn, wzmacnianie właściwości przeciwzapalnych i przeciwbólowych), farmację (produkcja tabletek chitozanowych, nośnik leków), stomatologię (dodatek do hydroksyapatytu), przemysł kosmetyczny (regulator lepkości, środek zagęszczający, zmiękczający, stabilizator oraz środek kontrolujący uwalnianie substancji aktywnych), spożywczy (zagęszczacz i stabilizator produktów spożywczych, dodatek do tzw. „żywności funkcjonalnej”), włókienniczy (czynnik wiążący pigment), papierniczy (dodatek do papieru poprawiający wytrzymałość, wodotrwałość i drukowność papieru), rolnictwo (procesy kontrolowanego w czasie uwalniania nawozów). Ze względu na obecność grup funkcyjnych może być również stosowany w ochronie środowiska do usuwania barwników i jonów metali ciężkich z wód i ścieków.

Rozdział 2.2. to omówienie radiacyjnej degradacji polimerów zawierających IV-rzędowe atomy węgla w łańcuchu głównym, których ciepło polimeryzacji w procesie tworzenia wynosi mniej niż 83,7 kJ/mol. W wyniku działania promieniowania jonizującego dochodzi do zerwania wiązań chemicznych w łańcuchu głównym makrocząsteczki, zmniejszenia średniej masy cząsteczkowej

polimeru i zwykle pogorszenia właściwości użytkowych. Mechanizm jest wolnorodnikowy. Dla polimerów zawierający w swojej budowie co najmniej jeden atom wodoru przypadający na każdy atom węgla w łańcuchu głównym i ciepłe polimeryzacji powyżej 83,7 kJ/mol zachodzi sieciowanie. Zależy ono szeregu czynników, np. krystaliczności badanego materiału, obecność tlenu w atmosferze napromieniania, jak i w masie polimeru, temperatury, dawki promieniowania, fazy w jakiej polimer występuje itp. W przypadku chitozanu, jak wskazuje Autorka w rozdziale 2.3, pod wpływem działania promieniowania jonizującego zachodzi jonizacja oraz wzbudzenie. Rodniki pierwotne i atomy wodoru odgrywają rolę prekursorów reakcji wtórnych, które prowadzą do utworzenia trwałych produktów końcowych. Dla roztworów wodnych chitozanu główną rolę w tym procesie pełnią rodniki wodorotlenowe. Nie bez znaczenia jest też proces zaniku grup aminowych. Degradacja chitozanu jest głównym procesem zachodzącym podczas napromieniania polimeru. W mojej ocenie bardzo ciekawy jest podrozdział 2.3.2. poświęconej zagadnieniu radiacyjnej modyfikacji chitozanu za pomocą różnego rodzaju monomerów. Z uwagi, że brak jest w literaturze tego typu opracowań, zachęcam Doktorantkę do opublikowania zebranego materiału, ewentualnie po uzupełnieniu i rozszerzeniu, w formie artykułu przeglądowego.

Rozdział 2.4 rozprawy doktorskiej został poświęcony procesom membranowym, które należą do dużej grupy technik rozdzielania składników mieszanin ciekłych i gazowych. W procesie perwaporacji, roztwór zasilający jest mieszaniną cieczy, natomiast składniki permeatu są odparowywane do próżni lub neutralnego gazu nośnego. Perwaporacja opiera się na selektywnej sorpcji i różnicach w szybkości dyfuzji, a nie na równowadze ciecz-para. Dlatego ten proces skutecznie stosuje się do separacji azeotropów oraz cieczy o zbliżającym się punkcie wrzenia.

Część druga rozprawy doktorskiej obejmuje rozdziały omawiające cel pracy (Rozdział 3), część eksperymentalną (Rozdział 4) z opisem: właściwości fizykochemicznych chitozanu, sposobu przygotowania i napromieniania próbek, oznaczania masy cząsteczkowej (metodą wiskozymetryczną i chromatografii żelowej) i rozpuszczalności chitozanu. Przedstawione są tu zastosowane metody badawcze (spektroskopia FT-IR, ¹H NMR, UV-Vis, dyfrakcja rentgenowska termogravimetria), metodyka oznaczania stężenia grup aminowych, produktów gazowych procesu radiolizy, otrzymywania membran chitozanowych i badanie ich właściwości fizykochemicznych oraz opis odwadniania alkoholi metodą perwaporacji. W rozdziale 5 zawarto wyniki badań wraz z dyskusją. Kolejne rozdziały to podsumowanie i wnioski (Rozdział 6), spis tabel i rysunków (Rozdział 7), bibliografia (Rozdział 8), a także streszczenie (w języku polskim i angielskim) i zebrany dorobek naukowy.

Cel rozprawy oraz ocena stopnia jego osiągnięcia

Analiza części literaturowej pracy utwierdza mnie w przekonaniu, że Doktorantka nie tylko posiada umiejętność sprawnej analizy różnego typu doniesień literaturowych i potrafi przygotować kompleksowe opracowanie w zakresie tematyki objętej rozprawą doktorską, co oczywiście stanowi niezbędny etap do właściwego sformułowania hipotezy badawczej, ale i sformułować cel prowadzonych

badania, którym było określenie wpływu promieniowania gamma na chitozan. Co prawda jasno sformułowana hipoteza badawcza zapewne pozwoliłaby Jej na szersze sformułowanie celów badawczych rozprawy, ale i jej brak, nie przeszkodził w realizacji zawartych w celu pracy tezy poprzez:

- (1) Poddanie komercyjnego chitozanu (przed lub po usieciowaniu) działaniu promieniowania gamma,
- (2) Zbadanie podstawowych właściwości fizykochemicznych chitozanu przed i po poddaniu działaniu różnych dawek promieniowania gamma poprzez opis zmian takich właściwości jak: masa cząsteczkowa oraz udział jej poszczególnych frakcji, rozpuszczalność w wodzie, stabilność termiczna, struktura krystalograficzna,
- (3) Zbadanie zmian w ilości określonych grup funkcyjnych chitozanu wyjściowego na skutek działania promieniowania gamma z wykorzystaniem metod spektroskopii FTIR, NMR oraz UV-Vis,
- (4) Oznaczenie wybranych produktów gazowych powstałych w wyniku radiolizy chitozanu,
- (5) Zastosowanie membran przed i po procesie sieciowania alkoholem glutarowym do odwadniania alkoholi, również z uwzględnieniem działania promieniowania gamma w atmosferze powietrza oraz modyfikacji N-winylopirolidonem, a następnie określenie zmian w strukturze i właściwościach otrzymanych membran;
- (6) Zbadanie zdolności wybranych membran do pęcznienia w roztworach o różnej wartości pH, w alkoholach oraz mieszaninach alkohol/woda oraz możliwości ich wykorzystania w procesie rozdziału mieszanin alkohol/woda metodą perwaporacji.

Biorąc pod uwagę zakres prac eksperymentalnych należy stwierdzić, że praca doktorska zawiera szereg interesujących i ważnych wyników zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i praktycznego, a założone cele zostały w pełni osiągnięte. Bardzo dobre teoretyczne przygotowanie mgr Katarzyny Olejniczak do prowadzenia badań naukowych zdobyte we współpracy z różnymi zespołami badawczymi i dobre uzasadnienie celowości podjętych badań eksperymentalnych koreluje także z przyjętą interpretacją uzyskanych wyników.

Do najważniejszych wniosków do jakich prowadzą uzyskane wyniki zaliczyć można fakt, że (i) w wyniku działania promieniowania gamma, zaobserwowano spadek masy cząsteczkowej chitozanu, co wskazuje na proces degradacji, (ii) wzrost dawki promieniowania powoduje stopniowy zanik frakcji o większej masie cząsteczkowej i wzrost udziału frakcji o mniejszych masach cząsteczkowych, (iii) analiza struktury cząsteczek chitozanu za pomocą spektroskopii FT-IR oraz ^1H NMR wykazała, że nowe grupy funkcyjne tworzą się w cząsteczkach chitozanu w wyniku działania promieniowania, a ilość większości z tych grup funkcyjnych wzrasta wraz ze wzrostem dawki promieniowania; (iv) napromienienie chitozanu wpływa na jego stabilność termiczną (temperatury początku procesu termicznego rozkładu i maksymalnego ubytku masy polisacharydu ulegają obniżeniu wraz ze wzrostem dawki promieniowania) i wartości te świadczą o wpływie masy cząsteczkowej polisacharydu na jego stabilność termiczną; (v) membrany otrzymane z napromienionego chitozanu okazały się nietrwałe

i uległy rozpuszczeniu w wodzie, podobnie jak membrany usieciowane aldehydem glutarowym – zatem zmiany warunków napromieniania lub procesu sieciowania mogą być konieczne, aby uzyskać trwałe membrany o pożądanych właściwościach.

Zaprezentowane badania poszerzają wiedzę na temat potencjalnych zastosowań chitozanu w różnych dziedzinach, takich jak przemysł farmaceutyczny czy membranowe procesy rozdziału. Reasumując, uważam, że cel pracy został zrealizowany i znalazł potwierdzenie w oryginalnych wynikach, które stanowią wkład do aktualnego stanu wiedzy z zakresu chemii chitozanu i metod otrzymywania membran chitozanowych. Doktorantce należy pogratulować trafność wyboru problemu badawczego, który w oparciu o przyjętą metodologię wraz z doborem wykorzystanych metod i technik badawczych i poprawnością interpretacji uzyskanych wyników na szansę na szersze wykorzystanie.

Ocena merytoryczna rozprawy

Część literaturowa to przede wszystkim zwięzłe i precyzyjne opracowanie dotyczące zagadnień związanych z chemią chitozanu. W części doświadczalnej pracy mgr Katarzyna Olejniczak zajmuje się nie tylko preparatyką, badaniami właściwości fizykochemicznych, ale także, co jest godne podkreślenia, praktycznym wykorzystaniem otrzymanych membran. Do przeprowadzenia badań oraz charakterystyki badanych układów Doktorantka zastosowała niezbędne metody i techniki badawcze, w tym szereg wcześniej wymienionych (wiskozymetria, chromatografia żelowa, termogravimetria, dyfrakcja rentgenowska, spektroskopia FT-IR, ¹H NMR, UV-Vis, metoda miareczkowania potencjometrycznego oraz chromatografia gazowa). Przyjęty zakres i metodyka badań nie budzi zastrzeżeń. Chociaż nadal aktualne pozostaje pytanie czy uzyskane wyniki badań można bezpośrednio odnieść do chitozanu o niższych i wyższych masach cząsteczkowych lub w przypadku użycia innego/innych czynników sieciujących? Moim zdaniem szczególnie istotny wydaje się tu chitozan o niskiej masie, gdyż przyczynia się, np. do hamowania produkcji białek z grupy metaloproteinaz odgrywających ważną rolę w procesach gojenia się ran, zapaleniu stawów, czy zmian nowotworowych. Biorąc pod uwagę analizę tej części pracy najważniejszymi osiągnięciami Doktorantki, które w mojej opinii zasługują na wyróżnienie są:

- (1) Dokładne określenia wartości parametrów lepkościowo średniej masy cząsteczkowej chitozanu wyjściowego oraz stopnia jego deacetylacji,
- (2) Określenie wpływu dawki promieniowania gamma na degradację chitozanu, ze stopniowym zanikiem frakcji o większych masach cząsteczkowych przy jednoczesnym większym udziale frakcji o mniejszych masach cząsteczkowych.
- (3) Wskazanie, że proces radiolizy chitozanu prowadził do wydzielenia amoniaku i wodoru cząsteczkowego. Amoniak powstawał głównie w wyniku zerwania wiązania między atomem węgla C(2)-GlcN i atomem azotu. Z kolei amoniak oraz wodór wydzielający się podczas radiolizy były zaangażowane w proces tworzenia wiązań poprzecznych między cząsteczkami chitozanu.

- (4) Wykazanie, że membrany CHI- γ -GA miały większą zdolność do perwaporacji mieszanin alkohol/woda w porównaniu z membranami CHI i CHI-GA.
- (5) Zweryfikowanie wpływu efektów sieciowania membran chitozanowych (CHI-GA i CHI- γ -GA) na wytrzymałość mechaniczną i odporność termiczną, co ma przełożenie na procesy odwadniania alkoholi. Wzrost przepuszczalności składników separowanej mieszaniny następuje w kierunku od 2-PrOH/H₂O → EtOH/H₂O → do MeOH/H₂O.

Zaprezentowane w rozprawie rezultaty wnoszą wkład poznawczy w zakresie chemii chitozanu. Biorąc pod uwagę ważność zarysowanego problemu można pokusić się o stwierdzenie, że obszar badawczy przedłożonej rozprawy doktorskiej ma charakter interdyscyplinarny i skupia się na poszukiwaniu nowych ścieżek badawczych w zakresie modyfikacji i wykorzystania membran chitozanowych. Dlatego rozprawę Doktorantki uważam za interesującą. Jej tematyka jest istotna z punktu widzenia praktycznych zastosowań. Wyniki wraz z przedstawioną interpretacją, opracowanymi oraz zakrojoną perspektywą aplikacyjną są cenne z punktu widzenia dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych, w tym dyscypliny nauki chemiczne.

W tym miejscu chciałabym również zwrócić uwagę na osiągnięcia mgr Katarzyny Olejniczak. Jest Ona współautorką 14 prac z bazy Journal Citation Reports (JCR). Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF w roku opublikowania prac wynosi 47,983, a liczba cytowań bez autocytowań 144. Aktywnie uczestniczyła także w krajowych i międzynarodowych konferencjach, na których prezentowała 21 wystąpień ustnych i posterowych. Ma też już znaczące doświadczenie w pozyskiwaniu środków na badania aktywnie uczestnicząc w realizacji programów „Stypendia dla doktorantów 2008/2009 – ZPORR”, Stypendium Marszałka Województwa Kujawsko-Pomorskiego „Krok w przyszłość – stypendia dla doktorantów III edycja” (2010), grantów Wydziału Chemii UMK (WCh-40/2011), grantu młodych naukowców „Omus” (2013, 2014 i 2016), czy projektów finansowanych przez Zjednoczony Instytutu Badań Jądrowych w Dubnej (2013-2022).

Uwagi o charakterze dyskusyjnym

Praca doktorska przedstawiona do recenzji odpowiada przyjętym standardom. Jak w każdym tekście czytelnik może znaleźć pewne usterki, uproszczenia, czy skróty myślowe. Chciałbym zaznaczyć, że pojawiają się one sporadycznie i w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej.

Z obowiązku recenzenta przytaczam poniżej te, które pomogą w przyszłości Doktorantce posługiwać się bardziej precyzyjnym językiem chemicznym. Warto, np. zwrócić uwagę, by wszystkie nazwy łacińskie pisać kursywą. W pracach naukowych należy unikać żargonu i nazw zwyczajowych (nadsiarczan potasu, nadsiarczan amonu, ekstynkcja - termin często używany zamiennie z terminem „absorpcja”, zwłaszcza w starszych podręcznikach pochodzących z lat 60-70-tych XX w. - obecnie wg. Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej nie jest zalecany, wyrażenie „właściwości

adsorpcyjne" jest zdecydowanie bardziej właściwy niż „własności adsorpcyjne”, stopnie utlenienia w nazwach piszemy bezpośrednio za nią) itp.

Oprócz wcześniej zadanego pytania, prosiłabym Panią mgr Katarzynę Olejniczak, by zastanowiła się nad następującymi zagadnieniami/pytaniami, które nasunęły mi się w trakcie analizy rozprawy doktorskiej:

1. Jak wynika z danych literaturowych zawartość kwasu/kwasów w przygotowywanych roztworach chitozanowych uniemożliwia ich bezpośrednie wykorzystanie w zastosowaniach medycznych bądź kosmetycznych (ze względu na drażniące działanie kwasów i spadek biokompatybilności) oraz zmusza wytwórcę do prowadzenia dodatkowych procesów mających na celu ich usunięcie. Zwykle dzieje się to poprzez przemywanie za pomocą wodnych bądź etanolowych roztworów, a następnie powtórne suszenie. Czy opracowane membrany mogłyby być pomocne w tego typu procesach?
2. Wykazano, że podczas procesu radiolizy następuje zmniejszenie masy cząsteczkowej chitozanu. Czy zmiany w strukturze cząsteczek chitozanu modyfikowanego po napromienieniu dotyczą również grup funkcyjnych i czy skutkują pojawieniem się innych, nowych? Jeśli tak, to jak wpływa to na właściwości membran?
3. Czy zastanawiała się Pani nad realizacją badań na szerszą skalę, np. we współpracy z przemysłem, czy firmami znanymi z opracowywania nowatorskich materiałów chitozanowych?

Wniosek końcowy

Biorąc powyższe pod uwagę oraz fakt, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, zgodnie z art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.) z uwzględnieniem, że przewód doktorski toczy się w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne stawiam wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny o przyjęcie pracy i dopuszczenie mgr Katarzyny Olejniczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wobec bogatego zakresu prezentowanych w doktoracie badań – w tym wielokierunkowej i krytycznej analizy uzyskanych wyników fizykochemicznych oraz oryginalności tematu rozprawy, a także kompetencji naukowo-badawczych Doktorantki wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne, Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie doktoratu Pani mgr Katarzyny Olejniczak.

Lublin, 05.08.2023 r.

