

Katowice / 21-12-2020

Katedra i Zakład
Biofarmacji

Wydział
Farmaceutyczny

z Oddziałem
Medycyny
Laboratoryjnej

41-200, Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

Kierownik
Katedry
prof.dr hab.n.farm

Janusz Kasperczyk
tel.: (+ 48 32) 3641249

SEKRETARIAT

tel.: (+ 48 32) 364 12 67



HR EXCELLENCE IN RESEA

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Kamili Lewickiej zatytułowanej
„Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów i mieszanin polimerowych oraz
ocena ich przydatności dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w
agrochemii”

Pani mgr inż. Kamila Lewicka ukończyła studia inżynierskie na kierunku Ochrona Środowiska oraz studia magisterskie na kierunku Biotechnologia na Uniwersytecie Jana Długosza w Częstochowie. Rozprawa doktorska mgr inż. Kamili Lewickiej pt. **„Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów i mieszanin polimerowych oraz ocena ich przydatności dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii”** została wykonana w Katedrze Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie pod kierunkiem dr hab. Piotra Dobrzyńskiego prof. UJD oraz dr Piotra Rychtera prof. UJD. Rozprawa dotyczy badań nad możliwością otrzymywania biodegradowalnych polimerowych postaci środków ochrony roślin o kontrolowanym uwalnianiu wybranych pestycydów. W zasadzie rozprawę doktorską rozpoczyna krótki rozdział „Wprowadzenie”, w którym autorka przedstawiła problem, który postawiono przed nią do rozwiązania – opracowanie postaci herbicydów o przedłużonej i równomiernej w czasie aktywności substancji chwastobójczych przy jednoczesnym zmniejszeniu ich toksyczności. Rozprawa liczy 225 stron i składa się z 8 głównych rozdziałów, w tym obszerny, jasno napisany 84 stronicowy przegląd literatury związany z tematyką pracy, na 4 stronach przedstawiony cel i zakres pracy, 12 stronicowy rozdział opisujący stosowane materiały i wykorzystane techniki instrumentalne oraz metody analityczne oraz 82 stronicowy rozdział zawierający uzyskane wyniki badań oraz ich dyskusję. Rozprawę kończą zwięźle przedstawione wnioski. Do rozprawy dołączono obszerną bibliografię -281 pozycji, która obejmuje wykaz oryginalnych prac naukowych i przeglądowych w przeważającej większości anglojęzycznych opisujących wyniki najnowszych badań wiążących się z tematyką rozprawy. Do rozprawy dołączono

str. 1

Wpłynęło 11.01.2021 

również bardzo przydatne wykazy rysunków, schematów i tabel, stosowanych w pracy skrótów i symboli, 2 stronicowe dobrze zredagowane streszczenie pracy w języku polskim i angielskim oraz dorobek naukowy doktorantki.

We wstępie literaturowym autorka rozprawy wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące zanieczyszczeń środowiska agrochemikaliami. Przedstawia co to są pestycydy i herbicydy i jakie herbicydy zaproponowała do swoich badań – metazochlor i pendimetalinę. Przedstawia wzory strukturalne w/w herbicydów. Niestety wzór strukturalny metazochloru na str.31 jest nieprawidłowy. Następnie opisuje metody otrzymywania i własności biodegradowalnych polimerów i mieszanin (blend) polimerowych, które mogą mieć zastosowanie w otrzymywaniu systemów kontrolowanego uwalniania herbicydów i które zostały użyte w pracach doświadczalnych. Dokładnie charakteryzuje poliestry alifatyczne, a z tej grupy homopolimer polilaktyd i jego kopolimery z glikolidem, z politlenkiem etylenu i ϵ -kapolaktonem. Opisuje możliwe różne formy mikrostruktury łańcuchów polilaktydowych. W tym miejscu zamieszcza rysunek 1.2.1.2, na którym ataktyczny PDLLA powstający w wyniku polikondensacji L-kwasu mlekowego i D kwasu mlekowego jest identyczny z polimerem powstającym w reakcji ROP z mieszaniny racemicznej L,L laktydu i D,D –laktydu. Nie jest to prawidłowe. W reakcji polimeryzacji z otwarciem pierścienia laktydowego (ROP) z mieszaniny racemicznej D,D i L,L laktydu w wyniku addycji parami asymetrycznych atomów węgla tworzą się struktura łańcucha tzw. „w przewadze izotaktyczna” („predominantly isotactic”). Dzieje się tak gdy w procesie formowania łańcucha nie występuje reakcja transestryfikacji. Dopiero 100% transestryfikacja może doprowadzić do polimeru ataktycznego, w którym jednostki – reszty kwasu mlekowego o konfiguracjach D i L są rozmieszczone bezładnie w łańcuchu. Tym samym produkt polikondensacji racemicznej mieszaniny kwasu mlekowego ma inną strukturę i własności w porównaniu do produktu polimeryzacji ROP mieszaniny racemicznej laktydu. Niestety w literaturze ciągle można spotkać wiele błędów w opisie mikrostruktury poliestrów alifatycznych i pechowo doktorantka natrafiła na taką pracę. W opisie mechanizmu insercyjno-koordynacyjnego polimeryzacji laktydu wobec oktenianu cyny pojawia się stwierdzenie, że proces polimeryzacji jedynie w małym stopniu wpływa na racemizację otrzymanego produktu. Czy to ma oznaczać, że podczas polimeryzacji zachodzi w małym stopniu proces transestryfikacji? W opisie kopolimerów laktydu z glikolidem autorka podaje, że PLGA jest często akronimem dla kwasu poli-D,L-mlekowego-ko-glikolowego. Taka nazwa sugeruje, że mamy do czynienia z kwasem, a jest to poliester. Ponadto PLGA jest zwyczajowo stosowany do opisu nie tylko kopolimerów D,L laktydu z glikolidem ale również L,L laktydu z glikolidem. Drążąc problemy nazewnictwa jeżeli dla mieszaniny polilaktydu z polikapolaktonem doktorantka używa PLA/PCL to dla

kopolimerów laktydu z kaprolaktonem na str.52 takiego samego akronimu nie można już stosować. W dalszych podrozdziałach wstępu literaturowego opisano kopolimery szczepione na polisacharydach i biodegradowalne mieszaniny polimerowe zawierające polisacharydy. W odrębnym podrozdziale wstępu literaturowego przedstawiono zagadnienia związane z degradacją polimerów, w którym opisano rodzaje mechanizmów degradacji i jak przebiega degradacja w środowisku wodnym materiałów polimerowych na bazie laktydu i jego kopolimerów. Część teoretyczną rozprawy kończy rozdział opisujący zastosowanie polimerów degradowalnych w rolnictwie.

Przegląd literatury jest obszerny i zawiera wszystkie niezbędne informacje do analizy rezultatów badań uzyskanych przez doktorantkę, nie zawiera treści niepotrzebnych lub odległych od prowadzonych w ramach pracy doświadczeń i prac badawczych. Przygotowanie wstępu literaturowego na pewno nie było łatwe i wymagało przeglądu olbrzymiej ilości artykułów naukowych.

Cel pracy został sformułowany jasno i zwięźle. Oprócz wyjaśnienia celu formowania polimerowych nośników herbicydów, w tym rozdziale rozprawy doktorantka umieściła podrozdział - zakres pracy, w którym doktorantka przedstawiła plan prac doświadczalnych i metod badawczych do osiągnięcia zaplanowanego celu. Trzeba zaznaczyć, że zakres planowanych prac jest bardzo obszerny i ambitny.

W części doświadczalnej przedstawiono dokładnie stosowane w pracach badawczych materiały, ich pochodzenie, stosowane techniki instrumentalne i metody analityczne, procedury degradacji polimerowych nośników herbicydów w wodzie, glebie i osadzie czynnym, ocenę aktywności chwastobójczej w glebie i toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych metodami biologicznymi. Ponadto opisano metody analizy nośników herbicydów w postaci mikrosfer i folii. Ta część pracy pokazuje ogrom prac doświadczalnych, które wykonała doktorantka.

Wyniki badań i ich dyskusję zawarto w jednym rozdziale IV, i taka forma przedstawienia rezultatów badań jest najbardziej przyjazna czytelnikowi. Jedna uwaga - podrozdział 4.1, w którym opisano dokładne procedury syntezy materiałów polimerowych, formowanie mieszanin i mikrosfer mógł się znaleźć w części eksperymentalnej pracy. W podrozdziale 4.2 autorka opisuje właściwości i przebieg syntezy kopolimeru laktydu z glikolidem i terpolimerów PLGA z politlenkiem etylenu. Strukturę otrzymanych terpolimerów potwierdza widmami C-13 i H-1 NMR. Niestety część sygnałów od sekwencji kopolimerycznych w zakresie protonów grupy metylenowej sekwencji glikolidylowej jest nie opisana, a w widmie H-1, powinna być zaznaczona grupa metylenowa jednostek glikolidylowych przy ok. 4.85 ppm, a nie metinowa. Autorka również stwierdza, że średnie długości bloków

glikolidylowych wahały się od 1,4 do 1,9 a laktydylowych od 8,0 do 10,0 i wskazują wyraźnie na segmentową strukturę tej części łańcucha. Same podanie średnich długości bloków jedynie sugeruje powstanie segmentowej mikrostruktury. Do oceny segmentowości łańcucha można wykorzystać różnice we współczynnikach randomizacji dla łańcucha zrandomizowanego $R=1$, a wartością obliczoną dla badanego kopolimeru. W przypadku, gdy rozkład sekwencji komonomerycznych jest bezładny, długość bloków zależy wyłącznie od składu kopolimeru, dla $l(LL)=1+x$ dla $l(GG)=1 + 1/x$ gdzie $x=[GG]/[LL]$. Dla znanego składu 15.85 % mol. wyliczona średnia długość bloków $l(LL)$ wynosi 6,67 a dla $l(GG)$ 1,18 co potwierdza częściowo segmentową strukturę PLGA w terpolimerze .

W tym podrozdziale opisana jest również szczegółowa analiza procesu degradacji terpolimerów w wodzie, w glebie i osadzie czynnym oraz uwalnianie herbicydów z terpolimerów. Na krzywych uwalniania herbicydów we wszystkich 4 rodzajach polimerowych postaci herbicydu kumulacyjna krzywa uwalniania rozpoczyna się od punktu (0,0) –zerowego czasu i zerowej ilości uwalnianego herbicydu. Czy rzeczywiście nie obserwuje się początkowego wyrzutu herbicydu tzw. „burst effect”? W tekście rozprawy doktorantka opisuje przecież efekt „wypłukiwania”. Kiedy przeprowadzono pierwszy pomiar po wprowadzeniu próbek do medium degradacyjnego? W części eksperymentalnej podano, że w połowie 1 miesiąca, a na wykresach pierwsze punkty pomiarowe są po 0,5 tygodnia dla metazochloru i 1 tygodnia dla pendimetaliny. Do wyznaczenia początkowego wyrzutu herbicydu można było założyć pomiar np. po pierwszym dniu. Że mamy do czynienia z początkowym wyrzutem herbicydu wyraźnie jest to widoczne na wykresach uwalniania pendimetaliny –stromy przebieg krzywej od punktu 0,0 do pierwszego punktu pomiarowego. Często zjawisko początkowego wyrzutu leku czy herbicydu jest korzystne o ile nie jest on zbyt duży.

W podrozdziale 4.3 opisano opracowanie innego polimerowego nośnika herbicydów z wykorzystaniem blendy oligosacharydów i wcześniej opisanych degradowalnych terpolimerów. Taka procedura oprócz obniżenia kosztów wytwarzania matrycy powinna pozwolić na lepszą optymalizację kontrolowanego systemu uwalniania i regulację czasem i ilością uwalnianego herbicydu. Zmieszanie oligosacharydu z terpolimerem wymagało wstępnej modyfikacji oligosacharydu poprzez szczepienie z kaprolaktonem. Z oligosacharydów do badań wybrano dekstrynę i maltodekstrynę. Istotnie osiągnięto zamierzony efekt. Szczegółowo udowodniono przebieg reakcji szczepienia dekstryn z ϵ -kaprolaktonem. Z blend modyfikowanej dekstryny polikaprolaktonem i terpolimerów wykonano biodegradowalne systemy uwalniania herbicydów i przeprowadzono wszystkie analizy postaci herbicydów, degradacji systemu i uwalniania herbicydów podobnie jak w przypadku poprzednio opisanych terpolimerów. Zmiany składu mieszanin podczas degradacji przeprowadzonej w glebie oszacowano przy pomocy spektroskopii H-1

NMR. Jednak mam uwagę co do sposobu całkowania wybranych sygnałów na prezentowanych widmach H-1. Wybrane sygnały do analizy powinny być znormalizowane do 1 i tym samym zwiększylibyśmy dokładność analiz i uniknęlibyśmy sytuacji, że niektóre widoczne sygnały mają wartość zero. (Rys. 4.3.2.1, rys.4.3.2. Nasuwa się również pytanie, czy w wyniku chłonności wody na początku eksperymentu (rys.4.3.2.4) nie obserwowano wzrostu masy próbek. Również w przypadku krzywych uwalniania herbicydów z tych systemów, podobnie jak w przypadku systemów opartych na terpolimerach, wszystkie krzywe uwalniania rozpoczynają się od punktu (0,0) i nie określono początkowego wyrzutu herbicydu.

W podrozdziale 4.4 przedstawiono inną postać biodegradowalnego systemu kontrolowanego uwalniania herbicydów a mianowicie mikrosfery. Z sukcesem otrzymano mikrosfery z terpolimeru i z mieszaniny terpolimerów z modyfikowanymi oligosacharydami. Podobnie jak dla poprzednich polimerowych postaci herbicydów scharakteryzowano ich strukturę i własności. Do mikrosfer wprowadzono herbicydy i zbadano proces ich degradacji oraz uwalnianie substancji czynnych. Poprzednie uwagi o braku oceny początkowego wyrzutu herbicydów odnoszą się również do postaci mikrosfer. Jednakże uzyskane wyniki wskazują na skuteczność chwastobójczą mikrosfer z herbicydami. Dokonano również oceny toksyczności produktów degradacji nośników polimerowych w glebie i wykazano, że system wykorzystujący biodegradowalne mikrosfery jest mniej toksyczny niż formułacje tradycyjne co jest bardzo korzystne dla środowiska.

Rozprawę kończy zwięźle napisane podsumowanie całej pracy i jasno sformułowane wnioski. Doktorantka w swej pracy dowiodła, że otrzymane przez nią nowe biodegradowalne nośniki polimerowe z grupy kopoliestrów alifatycznych oraz mieszaniny z modyfikowanym kaprolaktonem oligosacharydami posiadają odpowiednie własności fizykochemiczne do formułacji postaci herbicydów w formie folii i mikrosfer. Ponadto wykazała, że charakteryzują się one odpowiednim czasem degradacji oraz profilem uwalniania herbicydu i mogą być skutecznym środkiem ochrony roślin o zmniejszonej toksyczności i przedłużonym, kontrolowanym uwalnianiu substancji czynnej.

Na podkreślenie zasługuje ilość i różnorodność wykonanych przez doktorantkę analiz i eksperymentów oraz zastosowanych technik badawczych użytych do charakterystyki zarówno otrzymywanych materiałów jak i procesu degradacji nośnika i uwalniania herbicydu. Uzyskane rezultaty badań są niezwykle cenne i niewątpliwie dalsze badania nad optymalizacją polimerowych, biodegradowalnych systemów kontrolowanego uwalniania herbicydów powinny być kontynuowane.

Podsumowując, chciałbym podkreślić, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kamili Lewickiej prezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny. Stanowi istotny wkład w badaniach nad nowymi biodegradowalnymi systemami uwalniania herbicydów. Rozprawa jest napisana jasnym i zrozumiałym językiem. Jest obszerna, ale przy tak dużej ilości wykonanych analiz i eksperymentów nie widzę możliwości jej skrócenia. Nie zawiera treści zbędnych. Zakres realizowanych badań i zastosowane metody badawcze doprowadziły do założonego celu. Zamieszczone w recenzji uwagi i zapytania nie umniejszają wartości całej pracy, jedynie mogą być pomocne przy planowaniu dalszych prac lub publikacji wyników.

Praca doktorska Pani mgr inż. Kamili Lewickiej prezentuje wysoki poziom z uwagi na rangę rozwiązanego problemu badawczego, jak i zakres przeprowadzonych badań, wyróżnia się oryginalnością zastosowanych metod i narzędzi badawczych i ma zarówno walory poznawcze jak i użytkowe. Podkreślenia wymaga również fakt zdobycia przez doktorantkę finansowania badań z Narodowego Centrum Nauki i uzyskania grantu w konkursie PRELUDIUM 13 realizowanego w latach 2018-2020. Ponadto duża część rezultatów badań uzyskanych podczas realizacji pracy doktorskiej została już opublikowana w 3 oryginalnych artykułach naukowych w czasopismach o wysokich IF 3.05, 3.05 i 4.02 i wysokiej punktacji MNISW 100, 140 i 140. W dwóch publikacjach jest pierwszym autorem.

Ponadto jej całkowity dorobek naukowy jest imponujący. Jest to współautorstwo w 14 publikacjach z listy filadelfijskiej o łącznym IF 41,313. Ponadto przedstawiła 1 referat, 6 komunikatów ustnych oraz 16 w formie posterów na konferencjach naukowych.

Praca doktorska Pani mgr inż. Kamili Lewickiej spełnia warunki regulaminu wyróżnienia rozpraw doktorskich na Wydziale Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie. Dlatego składam wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej **„Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów i mieszanin polimerowych oraz ocena ich przydatności dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii”** Pani mgr **Kamili Lewickiej.**

Na zakończenie chciałbym podkreślić, że rozprawa spełnia warunek rozwiązania oryginalnego problemu naukowego. W rozprawie doktorantka wykazała ogólną wiedzę teoretyczną w danej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Pani mgr inż. Kamila Lewicka wykazała w rozprawie doktorskiej umiejętność prowadzenia prac badawczych oraz poprawnego i przekonującego przedstawiania uzyskanych przez siebie wyników badań. Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kamili Lewickiej w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim

określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz.U. z 2017 r. poz.1789 z późn. zmianami) w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2018 r.poz.1669) i jednoznacznie, z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

