

Dr hab. Katarzyna Hąc-Wydro, prof. UJ      Kraków, dnia 27 lutego 2023 r.  
Zakład Chemii Środowiska  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
([katarzyna.hac-wydro@uj.edu.pl](mailto:katarzyna.hac-wydro@uj.edu.pl))



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

### **Recenzja rozprawy doktorskiej**

przygotowanej przez p. mgr inż. Martynę Krajewską:  
„Biomimetic systems studied by Langmuir and Langmuir-Blodgett techniques”

Wydział Chemii

Pani mgr inż. Martyna Krajewska przygotowała swoją pracę doktorską w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej pod kierunkiem p. prof. dr hab. inż. Krystyny Prochaskiej. Promotorką pomocniczą była p. dr inż. Katarzyna Dopierała. Rozprawa doktorska była realizowana w ramach Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich „NanoBioTech” (projekt współfinansowany przez Unię Europejską), zaś same badania były współfinansowane w ramach grantu Preludium (Narodowe Centrum Nauki).

Tematyka pracy dotyczy badania właściwości monowarstw Langmuira i Langmuira–Blodgett jako układów imitujących układy biologiczne, a jej głównym celem było dokonanie ilościowej i jakościowej charakterystyki układów o potencjale terapeutycznym oraz ocena przydatności tych układów jako nowoczesnych formułacji farmaceutycznych. Niewątpliwie takie podejście do badania właściwości substancji potencjalnie leczniczych jest podejściem aktualnym, a podjęte w pracy doktorskiej badania, skupione głównie na kompleksach kwas tłuszczowy–białko, układach kwas triterpenowy–białko oraz monowarstwach dwuskładnikowych utworzonych z kwasu triterpenowego i kwasu tłuszczowego, mają charakter nowatorski.

Recenzowana praca doktorska to zbiór spójnych tematycznie 6 artykułów naukowych opublikowanych w latach 2019-2022, opatrzonych, przygotowanym w języku angielskim, wstępem literaturowym i komentarzem Autorki odnoszącym się do zaprezentowanych w publikacjach wyników (ok. 100 stron maszynopisu, 84 referencje); dokumentacja zawiera oświadczenia współautorów prac; i kopie publikacji stanowiących podstawę pracy doktorskiej.

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

[sekretar@chemia.uj.edu.pl](mailto:sekretar@chemia.uj.edu.pl)

[www.chemia.uj.edu.pl](http://www.chemia.uj.edu.pl)



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

Wszystkie artykuły naukowe stanowiące podstawę pracy doktorskiej zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych: Langmuir (2 prace); The Journal of Physical Chemistry B; Food Hydrocolloids, Journal of Molecular Liquids i Membranes. Łączny współczynnik wpływu dla tych artykułów wynosi  $IF = 32,661$ , co średnio na pracę daje (wysoką) wartość powyżej 5. W 4 (z 6 prac) p. mgr inż. M. Krajewska jest pierwszą autorką; w dwóch kolejnych – drugą autorką zaś w jednym z artykułów pełniła funkcję autorki korespondencyjnej. Autorka rozprawy oraz współautorzy publikacji określili swój udział w przygotowaniu prac, a ich oświadczenia pozwalają stwierdzić, że udział Pani mgr inż. M. Krajewskiej w realizacji badań i przygotowaniu artykułów naukowych był znaczący i z pewnością jest wystarczający jako podstawa do uzyskania stopnia naukowego doktora. Ponadto, jak wynika z przedstawionej dokumentacji Pani mgr inż. M. Krajewska jest współautorką 11 opublikowanych artykułów naukowych, które ukazały się w specjalistycznych i cenionych czasopismach naukowych (kolejne prace znajdują się w recenzji); wyniki swoich badań prezentowała w formie ustnych i posterowych wystąpień na konferencjach krajowych i międzynarodowych i kilka razy otrzymała za nie nagrody; kierowała projektem badawczym (Preludium, NCN); odbyła dwa zagraniczne staże naukowe (3 i 4 miesięczny) oraz uczestniczyła w szkołach letnich i warsztatach. W mojej opinii jest to imponujący dorobek naukowy na tym etapie działalności badawczej, który pozwala stwierdzić, że Pani mgr inż. M. Krajewska wykazuje umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań, rozpowszechniania ich wyników, realizowania projektów badawczych i podnoszenia swoich kompetencji.

W przedstawionej rozprawie przygotowane przez Autorkę wprowadzenie do tematyki pracy zostało podzielone na 5 głównych rozdziałów. Pierwszy z nich to przegląd literaturowy dotyczący możliwości zastosowania techniki monowarstw Langmuira do badania właściwości substancji naturalnych. Omówiono w nim m.in. znaczenie granic międzyfazowych, podstawy teoretyczne techniki monowarstw Langmuira i Langmuira-Blodgett, w tym układy dwuskładnikowe, a także podstawowe sposoby badania właściwości monowarstw. Sporo uwagi poświęcono monowarstwom Langmuira jako układom biomimetycznym; przede wszystkim stosowanym do modelowania błon biologicznych, ale także warstwy powierzchniowej surfaktantu płucnego, filmu lżowego czy skóry. Ten rozdział rozprawy stanowi bardzo rzetelne opracowanie literaturowe, a jego lekturę

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

dotychczas dodatkowo ułatwiają przygotowane przez autorkę grafiki. Oczywiście w tym miejscu można zadać sobie pytanie jakie jeszcze zagadnienia powinien ten rozdział zawierać. Być może omówienie innych metod badania monowarstw zwłaszcza tych stosowanych przez Autorkę, (np. PM-IRRAS). Jednak w mojej opinii zarówno dobór treści jak i sposób ich zaprezentowania jest satysfakcjonujący, a cały ten rozdział stanowi spójną, logiczną całość wprowadzającą czytelnika do dalszych części rozprawy.

Cel pracy został poprawnie sformułowany i dobrze skonstruowany tzn. zawiera informację dot. motywacji do podjęcia badań oraz ogólny ich zamysł, a w dalszej części szczegółowe cele badawcze i sposoby ich realizacji. Należy zauważyć, że eksperymenty zostały starannie zaplanowane i konsekwentnie zrealizowane, co pozwoliło Autorce osiągnąć zamierzone cele. Kolejne rozdziały rozprawy (2-4) odnoszą się już wprost do wyników przedstawionych w artykułach naukowych. I tak w Rozdziale 2 odnoszącym się do publikacji 1–4 opisano czynniki determinujące powstawanie, na granicy faz woda-powietrze, kompleksów typu HAMLET utworzonych z kwasu oleinowego z  $\alpha$ -laktoalbuminą oraz kwasu linolowego z  $\alpha$ -laktoalbuminą, i określono wpływ temperatury, pH, upakowania monowarstw, stężenia białka i obecności jonów wapnia na właściwości tych kompleksów. W Rozdziale 3 odnoszącym się do publikacji 5 omówiono oddziaływanie monowarstwy kwasu oleanolowego, jako substancji czynnej o potencjale terapeutycznym, z albuminą surowicy ludzkiej, traktowanej jako potencjalny nośnik w preparatach farmaceutycznych, zmniejszający toksyczność leków i kontrolujący ich działanie. Badania te prowadzono pod kątem projektowania ulepszonych systemów dostarczania leków. Rozdział 4 odnoszący się do publikacji 6 dotyczy właściwości fizykochemicznych dwuskładnikowych monowarstw utworzonych z kwasu oleinowego i kwasu oleanolowego badanych w celu rozwiązania problemu ograniczonej rozpuszczalności triterpenoidów, jako aktywnych substancji farmaceutycznych w nowoczesnych systemach dostarczania leków opartych na nanotechnologii.

W dalszej części opracowania Autorka podsumowała najważniejsze osiągnięcia i główne konkluzje sformułowane na podstawie przeprowadzonych eksperymentów. Niewątpliwie znaczącym osiągnięciem jest wykazanie, że eksperyment polegający na wymianie subfazy umożliwia nie tylko wprowadzenie do układu dodatkowej substancji, lecz również zmianę części warunków eksperymentalnych (temperatura, pH), co znacząco rozszerza możliwości prowadzenia badań z zastosowaniem techniki

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



monowarstw Langmuira, a dodatkowo, że uzyskiwane tą metodą wyniki mogą być użyteczne również w projektowaniu nowych formuł podawania leków. Ponadto:

1. Sformułowano ogólne zasady powstawania kompleksów typu HAMLET z nienasyconych kwasów tłuszczowych z  $\alpha$ -laktoalbuminą. Wykazano, że: i) wzrost temperatury w badanym zakresie intensyfikuje penetrację białka do monowarstwy; ii) w środowisku kwaśnym imitującym warunki w ludzkim żołądku oddziaływania pomiędzy kwasem tłuszczowym i  $\alpha$ -LA są hydrofobowe i dodatkowo są wzmacniane przez wiązania wodorowe, zaś w środowisku obojętnym oddziaływania te mają charakter oddziaływań elektrostatycznych; iii) upakowanie monowarstwy jest głównym czynnikiem warunkującym zdolność białka do wbudowywania się do monowarstwy; iv) penetracja białka do monowarstwy wzrasta wraz z jego stężeniem, ale jedynie do pewnej granicznej wartości stężenia; v) już niskie stężenia jonów wapnia zmniejsza względną powierzchnię na cząsteczkę w monowarstwie kwas tłuszczowy- $\alpha$ -LA, a efekt ten jest spowodowany refoldingiem białka.

2. Wykazano, że mimo podobnych właściwości monowarstw tworzonych przez różne długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, zdolność wiązania białka ściśle zależy od struktury kwasu, a każdy z powstających na granicy faz kompleksów typu HAMLET ma charakterystyczne właściwości.

3. Potwierdzono, że wiązanie  $\alpha$ -laktoalbuminy do monowarstwy kwasu tłuszczowego zachodzi w kilku etapach o zróżnicowanej kinetyce

4. Wykazano, że w badanych warunkach, wiązanie cząsteczek kwasu oleanolowego z ludzką albuminą surowicy jest nieodwracalne i prowadzi do utworzenia termodynamicznie stabilnej struktury dwuwarstwowej

5. W odniesieniu do dwuskładnikowych monowarstw utworzonych z kwasu oleinowego i kwasu oleanolowego wykazano, że ograniczona mieszalność składników wynika z usuwania kwasu oleinowego z granicy faz, co prowadzi do separacji fazowej.

Podsumowaniem tej części rozprawy jest rozdział 5, w którym Autorka przedstawiła obszary zastosowań monowarstw Langmuira oraz możliwości wykorzystania uzyskiwanych w tego rodzaju eksperymentach wyników.

Wszystkie artykuły naukowe przedstawione jako podstawa do uzyskania stopnia naukowego doktora zostały już opublikowane, a zatem rzetelnie zrecenzowane przez specjalistów w dziedzinie. Ja jedynie mogę stwierdzić, że wszystkie te prace charakteryzują się wysokim poziomem naukowym, zawierają wartościowe naukowo i interesujące wyniki badań; nie

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



mam zastrzeżeń do sposobu wykonania eksperymentów ani ich interpretacji. Właściwości monowarstw badane były w różnych warunkach eksperymentalnych oraz z wykorzystaniem szerokiego wachlarza technik badawczych (mikroskopia kąta Brewstera (BAM), potencjał powierzchniowy (SPOT), reologia dylatacyjna i ścinania, PM-IRRAS, oraz w odniesieniu do układów Langmuira–Blodgett i Langmuira-Scheafera badania: zwilżalności, swobodnej energii powierzchniowej (SFE), topografii za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM)). Nie sposób nie docenić ogromu pracy włożonego w przeprowadzenie tych eksperymentów i zgromadzenie tak wielu wyników, a wnikliwie przeprowadzona ich analiza i interpretacja potwierdzają również wiedzę Autorki.

Po lekturze rozprawy doktorskiej, w tym dołączonych publikacji, nasuwają mi się następujące pytania i uwagi:

1. W jaki sposób ustalano takie warunki eksperymentalne jak: szybkość kompresji monowarstwy oraz czas oczekiwania na odparowanie chloroformu po naniesieniu roztworu. Informacje te podano jedynie w części publikacji, i tak np. w pracy nr 2 czas oczekiwania po nakropieniu wynosił 5 min., zaś w pracy nr 3 - 15 min.
2. Na jakiej podstawie dobrano stężenia białka w przeprowadzonych eksperymentach?
3. Ciekawe dla mnie są eksperymenty polegające na wymianie subfazy (z zastosowaniem pompy perystaltycznej) przedstawione np. w publikacji 2. Jak dokładnie przebiega taki eksperyment i na co trzeba zwrócić uwagę wykonując takie badania?
4. Przedstawiony cykl publikacyjny zamyka pewien etap badań. W jakim kierunku można byłoby poprowadzić kolejne badania, kierując się wynikami zaprezentowanymi w niniejszej rozprawie?
5. Rozprawa została przygotowana w sposób bardzo estetyczny, napisana jest poprawnym językiem, zawiera grafiki/rysunki, które były niezmiernie pomocne podczas analizy tekstu. Do pracy nie dołączono natomiast Materiałów Dodatkowych (Supporting Information) do artykułów naukowych. Sytuacja ta nie utrudniała zapoznania się z materiałami (były łatwo dostępne), ale w mojej opinii dla porządku formalnego powinny one zostać dołączone do rozprawy, bo stanowią integralną część publikacji.
6. Na stronach 16 i 17 rozprawy Autorka wymienia stosowane w badaniach techniki eksperymentalne podając ich pełną nazwę i, w nawiasie, skrót. W tym miejscu nie podano jednak nazwy techniki PM-IRRAS.



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

7. W spisie literatury pojawiają się niekonsekwencje w sposobie cytowania, np. ref. 7; 20; 21; 31; 37; 42; 56...

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości naukowej pracy, która stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym oraz zawiera oczekiwane elementy nowości naukowej, które znajdują odzwierciedlenie w wynikach badań zawartych w pracach składających się na rozprawę doktorską. Rozprawa potwierdza także ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia przez Nią pracy naukowej. **Stwierdzam zatem, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z (Dz. U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr inż. Martyny Krajewskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora.**

Ponadto, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy pracy, bardzo szeroki zakres wykonanych badań, ich wartość poznawczą, wnikliwie przeprowadzoną analizę i interpretację uzyskanych wyników, a także dorobek naukowy Autorki pracy **wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej o wyróżnienie rozprawy doktorskiej przygotowanej przez Panią mgr inż. Martynę Krajewską.**

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl