



Zachodniopomorski  
Uniwersytet  
Technologiczny  
w Szczecinie



Katedra  
Inżynierii Polimerów  
i Biomateriałów

---

Al. Piastów 45, 71-311 Szczecin

**prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray**

tel: (+48) 91 499 48 28

fax: (+48) 91 499 40 98

Email: mirfray@zut.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej Pani **mgr inż. Judyty Dulnik**

pt.: **„Biodegradowalne dwuskładnikowe materiały polimerowe formowane metodą elektroprzędzenia – wpływ rozpuszczalnika, sieciowania i funkcjonalizacji na wybrane właściwości i odpowiedź komórkową”**

zrealizowanej pod kierunkiem promotora:  
prof. dr hab. inż. Pawła Łukasza Sajkiewicza  
oraz promotora pomocniczego:  
dr hab. inż. Doroty Kołbuk-Konieczny

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Podstawowych Problemów Techniki PAN w Warszawie z dnia 13 listopada 2025 r.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska ma formę przewodnika do zbioru pięciu opublikowanych w latach 2015-2022 i powiązanych ze sobą tematycznie artykułów naukowych, w których Doktorantka zawarła najistotniejsze wyniki z przeprowadzonych prac badawczych. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę wchodziły w zakres dwóch projektów badawczych OPUS, finansowych przez Narodowe Centrum Nauki w latach 2014-2017 oraz 2017-2022, a także projektu Preludium, którego Doktorantka była kierownikiem (2016-2019). Przewodnik składa się z jedenastu rozdziałów dotyczących wprowadzenia w tematykę pracy (rozdział 1 i 2), celu pracy i hipotez badawczych (rozdział 3 i 4), opisu zastosowanych materiałów i metod badawczych (rozdział 5 i 6), syntetycznego opisu badań przedstawionych w poszczególnych publikacjach (rozdział 7) oraz podsumowania i wniosków (rozdział 8). Pracę wieńczy rozdział przedstawiający elementy wkładu oryginalnego (rozdział 9) oraz spis literatury (rozdział 10). Finalnie, na rozdział 11 składają się kopie pięciu publikacji

oraz oświadczenia Doktorantki o wkładzie w każdą publikację naukową, poświadczone przez promotora i wszystkich współautorów.

W niniejszej recenzji przedstawiono ocenę merytoryczną i naukową problemu, który Doktorantka postanowiła rozwiązać oraz ocenę umiejętności formułowania problemów badawczych, stawiania hipotez, dobierania i stosowania właściwej metodologii oraz analizowania wyników prowadzonych badań.

### **Problematyka badawcza i aktualność tematu pracy**

Elektroprzędzenie stanowi jedną z ważniejszych metod wytwarzania włóknistych i porowatych struktur polimerowych naśladujących macierz zewnątrzkomórkową, które są chętnie wykorzystywane jako podłoża (rusztowania) w inżynierii tkankowej. Choć metoda jest prosta i nie wymaga bardzo specjalistycznej aparatury, to sam proces elektroprzędzenia jest często ograniczony dostępnością tanich i nietoksycznych rozpuszczalników, które można wykorzystać do przygotowania roztworów polimerowych. Staje się to szczególnie dużym wyzwaniem, gdy wykorzystywane są polimery naturalne, w tym białka, z natury bardzo wrażliwe na różne związki organiczne. Choć rozwiązaniem problemu rozpuszczalności polimerów jest wykorzystanie rozpuszczalników fluorowanych, to ich wysoka toksyczność, tak dla operatora jak i dla komórek, znacząco ogranicza stosowalność metody elektroprzędzenia do zastosowań w inżynierii tkankowej. Dlatego też, znalezienie nietoksycznego rozpuszczalnika (lub układu rozpuszczalników), który pozwoliłby uzyskać nietoksyczne i funkcjonalne podłoża nanowłókniste z polimerów syntetycznych i naturalnych, stanowiło punkt wyjścia w realizacji zaplanowanych badań. Jako bazowy polimer Doktorantka wybrała poli( $\epsilon$ -kapolakton)(PCL), który został wykorzystany do wytwarzania mieszanin dwuskładnikowych typu: PCL/kolagen i PCL/żelatyna.

Doktorantka, na podstawie dokonanego przeglądu literatury, postawiła sobie za cel znalezienie układu nietoksycznych rozpuszczalników, które mogłyby stanowić alternatywę dla toksycznych alkoholi fluorowanych oraz zbadanie ich wpływu na morfologię, strukturę dwuskładnikowych nanowłókien polimerowych oraz odpowiedź komórkową. Doktorantka wytypowała kwas octowy lodowaty i kwas mrówkowy, jako składniki roztworów o różnych udziałach poszczególnych rozpuszczalników do wytwarzania polimerowych mat nanowłóknistych z układów alifatyczny poliester/białko. Zaplanowała i wykonała również badania dotyczące wymywania polimeru naturalnego z dwuskładnikowych nanowłókien oraz badania skuteczności zastosowanych metod sieciowania biopolimeru na morfologię włókien. Interesującym wątkiem badawczym było przeprowadzenie badań porównawczych nad metodą wytwarzania włókien dwuskładnikowych: poprzez wprowadzanie biopolimeru i jego sieciowanie we włóknach dwuskładnikowych albo przyłączanie biopolimeru do aktywowanej wcześniej powierzchni włókien poliestrowych.

### **Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych**

Kluczowym elementem prac badawczych zrealizowanych przez Doktorantkę było opracowanie metody wytwarzania nanowłóknistych i dwuskładnikowych mat

polimerowych metodą elektroprzędzenia z wykorzystaniem mniej toksycznych i tańszych rozpuszczalników w porównaniu do toksycznych fluorowanych alkoholi. Proces wytwarzania nanowłókien został przeprowadzony w kontrolowanych warunkach temperatury i wilgotności wnętrza komory urządzenia, co pozwoliło na zapewnienie powtarzalności procesu otrzymywania materiałów. Zastosowanie nowych rozpuszczalników w procesie elektroprzędzenia dwuskładnikowych układów polimerowych typu PCL/żelatyna lub PCL/kolagen wymagało dokonania szczegółowej charakterystyki zarówno roztworów polimerowych jak i otrzymanych materiałów, w tym oceny struktury i morfologii włókien. Doktorantka przeprowadziła badania przewodności elektrycznej rozpuszczalników i ich mieszanin oraz lepkości roztworów polimerowych za pomocą wiskozymetru rotacyjnego w układzie stożek/płytki. Morfologię wytworzonych włókien i mat nanowłóknistych Doktorantka oceniała zarówno za pomocą mikroskopii optycznej jak i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Budowę chemiczną włókien zbadała metodą spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR), natomiast strukturę krystaliczną i stopień krystaliczności określiła z wykorzystaniem skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) oraz szerokokątowego rozpraszania promieni rentgenowskich (WAXS). Biorąc pod uwagę ograniczoną mieszalność stosowanych układów polimerów naturalnych (hydrofilowych) z syntetycznym i hydrofobowym PCL, istotnym zagadnieniem badawczym, którym zajęła się Doktorantka była stabilizacja struktury biopolimerów poprzez zastosowanie różnych związków sieciujących, takich jak genipina, chlorowodorek 1-etylo-3-(3dimetyloaminopropyl)karbodiimidu (EDC) z dodatkiem N-hydroksysukcynimidu (NHS), eter diglicydylowy 1,4-butanodiolu (BDDGE) oraz transglutaminaza. Oprócz stabilizacji biopolimerów w strukturze dwuskładnikowych włókien poprzez sieciowanie, Doktorantka zastosowała alternatywne metody wiązania (immobilizacji) biopolimerów do włókien poliestrowych poprzez aktywację ich powierzchni. Efektywność tego procesu została określona poprzez ilościowe oznaczenie zawartości związanego białka za pomocą testu z wykorzystaniem kwasu bityczoninowego (BCA), zaś masy cząsteczkowe włókien poliestrowych po aminolizie, hydrolizie zasadowej oraz aktywacji plazmą niskotemperaturową zostały oznaczone metodą chromatografii żelowej (GPC). Kluczowymi badaniami z punktu widzenia możliwości wykorzystania wytworzonych dwuskładnikowych mat polimerowych w inżynierii tkankowej były badania funkcjonalności, w tym badania właściwości mechanicznych w testach jednoosiowego rozciągania, zwilżalności powierzchni metodą osadzonej kropli oraz badania komórkowe, które Doktorantka przeprowadziła z wykorzystaniem linii mysich fibroblastów L929 oraz ludzkich fibroblastów.

Podsumowując stwierdzam, że zastosowane przez Doktorantkę techniki eksperymentalne i metody badawcze zostały dobrane w sposób trafny i adekwatny do celu i zakresu przeprowadzonych prac badawczych.

### **Analiza wyników przeprowadzonych badań i elementy nowości w pracy**

Wyniki badań zrealizowanych w ramach pracy doktorskiej zostały opublikowane w pięciu publikacjach, które ukazały się w następujących czasopismach: *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* (2015), *Polymer Degradation*

*and Stability* (2016), *European Polymer Journal* (2018), *Materials* (2021) oraz *Journal of Functional Biomaterials* (2022). Do wszystkich publikacji zostały dołączone oświadczenia współautorów, z których wynika dominujący wkład Doktorantki w przeprowadzone i opublikowane prace badawcze. W czterech spośród pięciu publikacji, Doktorantka jest pierwszą współautorką.

Badania opublikowane w czasopiśmie „*International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*” (2015) dotyczyły zastosowania po raz pierwszy mieszaniny kwasu octowego lodowatego i kwasu mrówkowego do wytwarzania włókien z PCL/żelatyny metodą elektroprzędzenia. Zbadano udziały poszczególnych kwasów i ich wpływ na przewodnictwo i lepkość roztworów. Dobrano również parametry procesu elektroprzędzenia, takie jak odległość igły od kolektora, prędkość przepływu roztworu, temperaturę i wilgotność powietrza w komorze urządzenia. Przeprowadzone badania wykazały, że jakość uformowanych włókien PCL/żelatyna, pomimo emulsyjnego charakteru otrzymanych roztworów polimerowych, nie odbiega znacząco pod względem morfologii od tych formowanych z roztworów polimerowych, do sporządzenia których zastosowano 1,1,1,3,3,3-heksafluoro-2-propanol (HIFP). Ważnym wnioskiem, jaki Doktorantka wysnuła z przeprowadzonych badań było stwierdzenie, że stopień krystaliczności włókien polimerowych formowanych z mieszanki kwasów octowego i mrówkowego był większy w porównaniu do włókien z HIFP, ze względu na wolniejsze odparowywanie tych rozpuszczalników podczas formowania włókien.

Zaprezentowane w pracy nowatorskie podejście do wykorzystania nowego, alternatywnego układu rozpuszczalników spotkało się pozytywnym oddźwiękiem środowiska naukowego, o czym świadczy 65 cytowań tej pracy.

Kolejnym wątkiem badawczym, którego podjęła się Doktorantka, było zbadanie wpływu środowiska symulującego warunki fizjologiczne na właściwości elektroprzędzonych włókien, a zwłaszcza na wymywanie żelatyny, co stanowiło przedmiot rozważań opublikowanych w czasopiśmie „*Polymer Degradation and Stability*” (2016). Do tych badań Doktorantka wybrała żelatynę lub kolagen jako dodatki wykorzystane w procesie elektroprzędzenia dwuskładnikowych włókien z PCL. Badania wymywania biopolimerów pod wpływem soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) wykazały, że większa zawartość biopolimeru wpływa na jego szybsze wymywanie, co jest skutkiem słabszego związania z matrycą PCL. Zaobserwowane największe ubytki masy w ciągu pierwszych 24 godzin były efektem wypłukiwania się cząsteczek biopolimerów z powierzchni włókien. Przeprowadzone badania morfologii włókien ujawniły również wpływ emulsyjnego charakteru roztworów na topografię powierzchni ukazującą wyraźne bruzdy wzdłuż osi włókien (tworzenie swoistej struktury pasmowej) przy wysokim (30%) udziale żelatyny. Wypłukiwanie słabo związanej żelatyny lub kolagenu odsłaniało hydrofobową powierzchnię włókien PCL. Wymywanie cząsteczek białkowych biopolimerów wpływało również na zmiany właściwości mechanicznych po 90 dniach inkubacji w PBS, o czym świadczy zmniejszenie się wartości modułu Younga oraz naprężenia przy zerwaniu. O doniosłości opublikowanych wyników badań świadczy ponad 100 cytowań tej pracy.

Nowej wiedzy dostarczyły również badania dotyczące wpływu zastosowanych nowych rozpuszczalników w procesie elektroprzędzenia włókien PCL/żelatyna i PCL/kolagen na odpowiedź komórkową *in vitro*. Wyniki tych badań zostały opublikowane

w „*European Polymer Journal*” (2018). Doktorantka przeprowadziła dogłębną analizę zwilżalności powierzchni włókien PCL/żelatyna i PCL/kolagen w proporcji wagowej 9:1 z użyciem mieszaniny kwasów octowego i mrówkowego oraz HIFP jako roztworu odniesienia. Wyniki pokazały, że niejednorodna (pasmowa) struktura włókien wpływa na mniejszą zwilżalność włókien. Badanie odpowiedzi komórkowej dostarczyło informacji na temat wpływu rozpuszczalnika zastosowanego do sporządzania roztworów na cytotoksyczność. Doktorantka wykazała, że obecność i rodzaj zastosowanego biopolimeru ma wpływ na morfologię komórek i strukturę cytoszkieletu. Istotnym wnioskiem płynącym z przeprowadzonych badań jest fakt, że zastosowane nowe rozpuszczalniki nie są cytotoksyczne oraz nie wpływają istotnie na aktywność metaboliczną komórek w teście pośredniego i bezpośredniego kontaktu. Porównanie odpowiedzi komórkowej w przypadku zastosowania różnych biopolimerów wykazało, że lepsze rozplaszczanie komórek i rozwinięcie cytoszkieletu zaobserwowano dla podłoży (włókien) wytworzonych z układu PCL/kolagen.

Kolejnym etapem prac przeprowadzonych przez Doktorantkę był logiczny ciąg badań nad rozwiązaniem problemu wymywania biopolimeru z dwuskładnikowych włókien, będący konsekwencją emulsyjności roztworów kwasu octowego/kwasu mrówkowego. Doktorantka postanowiła rozwiązać ten problem poprzez zastosowanie czynników sieciujących biopolimery (białka), co stanowiło przedmiot rozważań opublikowanych w czasopiśmie „*Materials*” (2021). Doktorantka zastosowała sieciowanie chemiczne z wykorzystaniem czterech związków sieciujących: genipiny, EDC/NHS, BDDGE i transglutaminazy, z których jedynie trzy pierwsze okazały się najbardziej skuteczne. Doktorantka dobrała odpowiednie rozpuszczalniki dla układów sieciujących i wykazała, że największą skutecznością sieciowania charakteryzuje się układ EDC/NHS przy jednoczesnym braku wpływu na zmiany w morfologii (deformację struktury) włókien. Wytłumaczyła również mechanizm wysokiej skuteczności działania EDC/NSH, wynikający z trwałego wbudowania się czynnika sieciującego w strukturę włókien dwuskładnikowych.

Ciekawość eksperymentatorska skłoniła Doktorantkę do przeprowadzenia badań nad innym sposobem otrzymywania włókien dwuskładnikowych jako tych, które będą odpowiednimi podłożami dla inżynierii tkankowej o pożądanej hydrofilowości i bioaktywności, a mianowicie wytworzenia włókien z kopolimeru poli(L-laktydu-co-ε-kaprolaktonu)(PLCL) i późniejszej aktywacji ich powierzchni w celu immobilizacji biopolimeru. Wyniki tych badań zostały opublikowane w czasopiśmie „*Journal of Functional Biomaterials*” (2022). Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wyjaśniła jak zastosowane metody aktywacji powierzchni włókien wpływają na efektywność immobilizacji żelatyny, jej stabilność oraz odpowiedź komórkową. Omówiony został również wpływ zastosowanych metod aktywacji na właściwości fizykochemiczne włókien. Doktorantka przeprowadziła systematyczne badania nad aktywacją powierzchni włókien, reakcją sieciowania i immobilizacją żelatyny. Przeprowadziła również badania nad oceną właściwości materiałów po funkcjonalizacji. Wykazała, że wszystkie zastosowane metody aktywacji: hydroliza zasadowa, aminoliza i aktywacja plazmą niskotemperaturową korzystnie wpływają na immobilizację żelatyny na powierzchni włókien. Przy doborze metody aktywacji istotny jest jednak jej wpływ na właściwości włókien, w tym na zmiany mas cząsteczkowych i wytrzymałość

mechaniczną, zwłaszcza w przypadku zastosowania aminolizy jak i obróbki plazmowej, które to metody ingerują w zmiany właściwości włókien w całej objętości.

Podsumowując, należy stwierdzić, że publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej stanowią cykl logicznie powiązanych ze sobą prac badawczych, w których Doktorantka przedstawiła nowe, wcześniej nie publikowane informacje oraz zrealizowała zamierzony cel pracy i udowodniła postawione hipotezy badawcze. Należy również podkreślić, że Doktorantka wykazała się dużą umiejętnością dogłębnej analizy wyników przeprowadzonych badań i prawidłowego wnioskowania.

## Uwagi dyskusyjne

Doktorantka podjęła się zadania znalezienia układu nietoksycznych rozpuszczalników dla dwuskładnikowych nanowłókien polimerowych na podstawie układu PCL/żelatyna lub PCL/kolagen. Rozpuszczalniki te mogą stanowić alternatywę dla toksycznych alkoholi fluorowanych stosowanych powszechnie w elektroprzędzeniu. Doktorantka zbadała wpływ nowych rozpuszczalników na morfologię, strukturę i właściwości dwuskładnikowych nanowłókien polimerowych oraz odpowiedź komórkową. Badania zostały zaprojektowane w sposób logiczny i spójny, a dyskusja wyników przedstawiona w streszczeniu do artykułów (autoreferacie) jest wyczerpująca. Szata graficzna opracowania jest przejrzysta, a wykresy i tabele zostały przedstawione w staranny sposób.

Doktorantka nie ustrzegła się jednak drobnych błędów:

Str. 8 – w spisie symboli i skrótów Doktorantka oznacza prawidłowo poli( $\epsilon$ -kaprolakton) jako PCL, podczas gdy w pracy stosuje nazwę polikaprolakton, która jest niepoprawna (brak nawiasów określających jednostkę monomeryczną).

Str. 14 – poprawne użycie określenia to „masy cząsteczkowe”, gdyż w przypadku polimerów „masa cząsteczkowa” nie jest wartością absolutną.

Str. 28 – zdania nie zaczyna się od orzeczenia „Są publikacje...”.

Str. 30 – błędna nazwa kopolimeru poli(L-laktydu-co- $\epsilon$ -kaprolaktonu)(PLCL).

Str. 31 – wartość procentowa mocy urządzenia do wzbudzania plazmy (1%) powinna być podana w jednostkach [W] (watach).

Str. 32 – błędny numer odnośnika literaturowego Gupta *et al.* (powinno być [81]).

Str. 36 – błędna nazwa w nagłówku podrozdziału 6.6.2 – powinno być „Skaningowa kalorymetria różnicowa”.

Str. 43 – powinno być „rozkład monomodalny” zamiast „jednomodalny”.

Str. 44 – powinno być „refleksów” dyfrakcyjnych zamiast „pików”.

Podsumowując stwierdzam, że nie wnoszę zasadniczych uwag do interpretacji wyników i sposobu przeprowadzenia badań, a wskazane drobne błędy nie umniejszają wysokiej jakości prezentowanej dysertacji.

## Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Judyty Dulnik jest wartościowym opracowaniem zawierającym nowe wyniki znacząco poszerzające wiedzę w obszarze nauki o materiałach polimerowych, zwłaszcza o potencjalnym wykorzystaniu w obszarze inżynierii tkankowej. Praca wnosi cenny wkład w aspekty poznawcze dotyczące zagadnień dotyczących wytwarzania nanowłókien polimerowych techniką elektroprzędzenia z wykorzystaniem łagodnych rozpuszczalników: kwasu octowego lodowatego i kwasu mrówkowego. Doktorantka przeprowadziła dogłębną ocenę struktury i właściwości dwuskładnikowych nanowłóknistych mat z polimerów PCL/żelatyna i PCL/kolagen i wykazała, że zastosowany układ rozpuszczalników nie wpływa na toksyczność wytworzonych włókien i nie zmienia znacząco ich właściwości. Doktorantka wniosła również nową wiedzę na temat zależności pomiędzy rodzajem czynnika sieciującego składnik biopolimerowy a morfologią wytworzonych włókien oraz określiła wpływ metody aktywacji powierzchni włókien poliestrowych na skuteczność wiązania na ich powierzchni żelatyny.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że Kandydatka do stopnia doktora jest współautorką pięciu artykułów opublikowanych w indeksowanych czasopismach, będąc pierwszym Autorem w czterech z nich, a Jej dorobek naukowy jest znacznie obszerniejszy (w sumie 21 prac). Zauważalna jest również aktywność konferencyjna Doktorantki, która jest współautorką 10 doniesień konferencyjnych, choć brakuje informacji jaki był charakter prezentacji. Doktorantka jest również współautorką dwóch udzielonych patentów i jednego zgłoszenia patentowego. Warto odnotować również jeden staż zagraniczny (Portugalia) i szkolenia podnoszące kompetencje badawcze.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki, stwierdzam iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr inż. Judyty Dulnik spełnia warunki przewidziane ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (art. 187).

Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Judyty Dulnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz do publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę spójny i logiczny sposób przedstawienia wyników uzyskanych w pracy doktorskiej, wysoki poziom merytoryczny dyskusji zawartej w przewodniku oraz jakość opublikowanych prac, które ukazały się w wiodących czasopismach (sumaryczny IF czasopism=24,6), wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr inż. Judyty Dulnik.



Szczecin, 22.01.2026 r.

