

Dr hab. inż. Magdalena Stepeżyńska, prof. uczelni
Wydział Inżynierii Materiałowej
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
ul. Chodkiewicza 30
85-065 Bydgoszcz

Bydgoszcz, 27.12.2024 r.

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

pt. „Modification of Selected Bioactive and Mechanical Properties of
Polydimethylsiloxane for External Medical Applications”

Autorka pracy doktorskiej: mgr inż. Sara Sarraj

Promotor pracy doktorskiej: dr hab. Małgorzata Szymiczek, prof. uczelni

Dziedzina: Nauki techniczne i inżynieryjne

Dyscyplina: Inżynieria materiałowa

Podstawy opracowania recenzji:

- Pismo z dnia 22 października 2024 r. od Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Materiałowa Politechniki Śląskiej Pana prof. dra hab. inż. Adama Grajcar o wyznaczeniu na Recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora.
- Praca doktorska, autorstwa mgr inż. Sary Sarraj pt.: „Modification of Selected Bioactive and Mechanical Properties of Polydimethylsiloxane for External Medical Applications”.

Informuję, że tematyka recenzowanej pracy jest zgodna z obszarem moich zainteresowań naukowych. Oświadczam jednocześnie, że nie prowadziłam i nie prowadzę z Doktorantką żadnych wspólnych badań naukowych oraz że nie jesteśmy wspólnie autorkami jakiegokolwiek publikacji naukowej.

Biurowo Działania

wpłynęło dnia 02.01.2025
RD/11a/31 5/12025
nr 2025

1. WSTĘP

Szybki rozwój specjalistycznych zastosowań materiałów polimerowych w różnorodnych dziedzinach techniki i w obszarach życia stawia im coraz większe wymagania jakościowe. Ciągłe zmieniające się oraz coraz wyższe wymagania stawiane materiałom, które mogą być stosowane w medycynie, determinują rozwój nowych rozwiązań materiałowych, które odpowiadają złożonym wyzwaniom tworzenia biokompatybilnych, trwałych oraz funkcjonalnych materiałów do stosowania w ludzkim ciele. Materiały te często powinny wykazywać dodatkowe wynikające z ich zastosowania właściwości, np. antybakteryjne, antygrzybiczne, czy antyalergiczne.

W medycynie stosuje się szeroką gamę polimerów: termoplastycznych (np. polietylen, polipropylen, poliwęglan), termoutwardzalnych (np. żywice epoksydowe i akrylowe) oraz elastomery (np. kauczuk naturalny, silikon). Kluczową rolę w zastosowaniach medycznych, ze względu na korzystne właściwości jak trwałość, czy elastyczność, odgrywają elastomery, w tym polidimetylosiloksan (PDMS), który stosowany jest m.in. jako materiał opatrunkowy. W ostatnich latach można zauważyć zwiększone zapotrzebowanie na materiały elastomerowe, a prognozy na kolejne lata wskazują na ich dalszy popyt. Mimo to, nadal poszukuje się nowych rozwiązań materiałowych, w których wykorzystywane będą mechanizmy synergicznego oddziaływania na ich właściwości wraz z potencjalną aplikacją. W tym celu stosuje się modyfikacje materiałów polimerowych, polepszając ich właściwości lub nadając im zupełnie nowe, jak właściwości antybakteryjne.

Zakres recenzowanej pracy doktorskiej i jej tematyka obejmuje zagadnienia związane z opracowaniem elastomerowego materiału opatrunkowego, który będzie wykazywał właściwości biobójcze i jednocześnie wymagane, w zastosowaniach medycznych, właściwości fizykochemiczne.

Zastosowanym przez Doktorantkę polimerem był polidimetylosiloksan (PDMS) wykorzystywany w sektorze medycznym m.in. w implantach, plastrach, opatrunkach na rany. Natomiast zastosowanymi modyfikatorami były dodatki pochodzenia roślinnego (zioła) tj. tymianek, szalwia oraz rozmaryn. W ramach pracy Doktorantka opracowała technologię modyfikacji napelniaczy oraz wytwarzania biokompozytów na osnwie PDMS o zawartości 2,5, 5, 7,5 i 10% wag. ziół.

Zarówno zastosowana przez Doktorantkę osnowa polimerowa, jak i napelniacze pochodzenia roślinnego, to materiały, które są przedmiotem intensywnych prac badawczych prowadzonych w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie. Należy dodać, że większość prac dotyczy stosowania dodatków pochodzenia roślinnego w postaci ekstraktów lub olejków

eterycznych, natomiast bezpośrednio włączanie ziół w postaci proszku oraz badanie ich wpływu na właściwości PDMS nie były dostatecznie zbadane. Zatem Doktorantka podjęła się ważnego, zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia zadania badawczego.

Na podkreślenie zasługuje również wybór wypełniaczy/dodatków pochodzenia roślinnego wykazujących właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Obecnie wiele projektów naukowych i przemysłowych skupia się na wykorzystaniu napelniaczy pochodzenia roślinnego do produkcji biokompozytów. Intensywnie poszukuje się takich dodatków roślinnych, które będą wykazywać właściwości biobójcze, jednocześnie nie wpływając negatywnie na inne właściwości fizykochemiczne materiału.

Doktorantka w swej pracy dążyła do opracowania zaawansowanych materiałów, które spełniałyby rygorystyczne wymagania nowoczesnych zastosowań medycznych. Opracowane przez nią materiały mogą stanowić postęp w dziedzinie medycyny, zwłaszcza w zastosowaniach jako opatrunki na rany.

Biorąc pod uwagę powyższe, przedstawiona mi do oceny praca doktorska autorstwa Pani mgr inż. Sary Sarraj w pełni wpisuje się w aktualne kierunki badań naukowych w dyscyplinie inżynieria materiałowa oraz aktualne potrzeby przemysłu przetwórstwa tworzyw polimerowych.

2. OCENA DOROBKU NAUKOWEGO DOKTORANTKI

Zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (art. 186) stopień doktora nadaje się osobie, która posiada co najmniej 1 artykuł naukowy opublikowany w czasopiśmie naukowym lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowej, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, albo rozdział w takiej monografii.

W swojej dotychczasowej pracy naukowej mgr inż. Sara Sarraj opublikowała 5 artykułów naukowych w czasopismach tj. Materials (1), Polymers (2), Instytut Chemii Przemysłowej (2). Jest Ona również Autorką zgłoszenia patentowego nr P.448935 pt. „Sposób modyfikacji polimerów krzemorganicznych, zwłaszcza polidimetylosiloksanów i opatrunek w postaci elastycznej folii”. Ponadto mgr inż. Sara Sarraj prezentowała wyniki swoich prac badawczych na kilku konferencjach naukowych. Jest również współautorką kilku artykułów

naukowych, kilkunastu wystąpień na konferencjach naukowych oraz brała udział w trzech projektach badawczych.

Dotychczasowy dorobek Doktorantki oceniam pozytywnie i stwierdzam, że spełnia on wymagania stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora.

3. OCENA FORMALNA PRACY DOKTORSKIEJ

Przekazana do oceny praca doktorska mgr inż. Sary Sarraj obejmuje łącznie 164 strony zwartego maszynopisu w formacie A4 o tradycyjnej strukturze pracy naukowej, obejmującą streszczenie (w języku polskim i angielskim), spis symboli i akronimów, wstęp, część literaturową przedstawiającą analizę aktualnego stanu wiedzy z zakresu tematyki pracy doktorskiej, wnioski wynikające z analizy literatury, tezę i cele pracy doktorskiej. Część eksperymentalna obejmuje materiały i metody badawcze. Wyniki prac badawczych i ich omówienie, podsumowanie i wnioski. Pracę kończy spis bibliografii liczący 206 pozycji, 12 pozycji odniesień do norm, spis rysunków i tabeli zawartych w pracy.

Przedstawiona do oceny praca doktorska jest poprawna pod względem formalnym. Jest to praca o charakterze analityczno-eksperymentalnym o typowym dla tego typu prac układzie. Pracę charakteryzuje przejrzysty układ oraz właściwy podział treści na rozdziały. Praca jest napisana poprawnym językiem angielskim, choć czasami zdarzają się pewne drobne niedoskonałości i nieprecyzyjne określenia. Stosowane pojęcia i terminologia nie budzą większych zastrzeżeń. Zamieszczone w tekście elementy ilustracyjne oraz tabele poprawnie prezentują dokonania i osiągnięcia Doktorantki.

4. OCENA MERYTORYCZNA PRACY DOKTORSKIEJ

4.1. Część literaturowa

Część literaturowa pracy doktorskiej składa się z 5 rozdziałów obejmujących zagadnienia związane z tematyką dysertacji i prowadzonych prac badawczych, które zakończone są wnioskami wynikającymi z tej części.

W rozdziale 1 omówione są elastomery stosowane w medycynie. Doktorantka wymienia najczęściej używane elastomery w aplikacjach zewnętrznych jak i wewnętrznych, ich otrzymywanie, właściwości oraz zastosowanie. Wśród omawianych są m.in.: lateks kauczuku naturalnego, elastomery termoplastyczne i termoutwardzalne, poliestry, poliuretany, polisiloksany. Rozdział zakończony jest słowem o polidimetylosiloksanie, dzięki czemu płynnie przechodzimy do kolejnego rozdziału.

W rozdziale 2 Doktorantka charakteryzuje polidimetylosiloksan, jego właściwości oraz zastosowanie w medycynie, skupiając się na zastosowaniach zewnętrznych w postaci opatrunków na rany. Wskazuje kluczowe właściwości, które czynią polidimetylosiloksan atrakcyjnym polimerem w zewnętrznych zastosowaniach medycznych, są to: biokompatybilność, nietoksyczność, wysoka przepuszczalność gazów, odporność na promieniowanie UV, elastyczność, niska reaktywność, w zależności od potrzeb i konkretnych zastosowań: hydrofilowość lub hydrofobowość, właściwości adhezyjne lub antyadhezyjne, elastyczność. Ponadto Doktorantka wskazuje i omawia trzy główne grupy zastosowań polidimetylosiloksanu: urządzenia niemające kontaktu z ciałem, urządzenia mające kontakt oraz urządzenia wszczepialne, przy czym konsekwentnie najbardziej skupia się na opatrunkach na rany. Szczegółowo omawia cztery nakładające się fazy, występujące w procesie gojenia ran tj. homeostazę, stan zapalny, proliferację, przebudowę. Wskazuje również przyczyny i fazy zakażeń ran, a także trzy kategorie opatrunków (pasywne, substytuty skóry, bioaktywne). Doktorantka więcej uwagi poświęca analizie opatrunków bioaktywnych i wielofunkcyjnych, które mogą zawierać środki wspomagające gojenie ran lub środki przeciwdrobnoustrojowe, które hamują proliferację komórek bakteryjnych i tworzenie biofilmu, zapobiegając zakażeniom.

W rozdziale 3 Doktorantka omówiła wybrane rodzaje dodatków naturalnych (pochodzenia zwierzęcego i roślinnego) oraz ich zastosowanie w ochronie zdrowia oraz medycynie, ze szczegółową analizą wypełniaczy roślinnych. Doktorantka przedstawia i opisuje dodatki pochodzenia zwierzęcego: chitozan, kolagen i kwas hialuronowy. Wskazuje, że mimo iż substancje pochodzenia zwierzęcego posiadają różnorodne właściwości, które mogą zwiększyć funkcjonalność różnych zastosowań medycznych, ich stosowanie jest często ograniczone. Związane jest to z obawami etycznymi, stabilnością łańcucha dostaw, a w niektórych przypadkach ograniczeniami kulturowymi. W związku z tym badania coraz częściej koncentrują się na pozyskiwaniu substancji bioaktywnych z roślin. Następnie Doktorantka omawia związki, które wykazują pożądaną bioaktywność, w tym aktywność przeciwdrobnoustrojową i promowanie proliferacji komórek. To przede wszystkim polifenole, terpenoidy i alkaloidy, często występujące w dostępnych w handlu ekstraktach i olejkach eterycznych. Doktorantka skupia się na wybranych roślinach bogatych w te związki, badając ich bioaktywność i potencjalne zastosowania medyczne m.in.: tymolu, szalwii, rozmarynie, mięcie, melisie, kurkumie, imbirze.

W rozdziale 4 Doktorantka opisała metody badań materiałów polimerowych stosowanych w przemyśle medycznym. Wskazała najważniejszą właściwość

biokompatybilność, jaką musi spełnić materiał, aby mógł być stosowany w medycynie. Wskazała testy pozwalające określić biozgodność materiału: cytotoksyczności, hemozgodności, genotoksyczności. Doktorantka wskazała również pozostałe właściwości, jakie musi spełniać materiał, aby mógł być stosowany w medycynie. Charakterystyka właściwości mechanicznych, fizycznych i chemicznych jest kluczowa zarówno z punktu widzenia produkcji materiału, jak i pod względem warunków pracy. Doktorantka wskazała, że właściwości mechaniczne, w tym sztywność, wytrzymałość i twardość, są oceniane przy użyciu uniwersalnych maszyn testowych i durometrów. Właściwości fizyczne jak gęstość i przepuszczalność są niezwykle ważne w zastosowaniach uwalniania leków lub wymiany gazowej, natomiast właściwości chemiczne są niezbędne do oceny podatności materiału na degradację, szczególnie podczas sterylizacji, która jest kluczowym krokiem w celu zapewnienia bezpiecznego i wolnego od zanieczyszczeń zastosowania.

W rozdziale 5 kompozyty z wypełniaczami organicznymi, wykazującymi właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Doktorantka wskazała zioła i napelniacze pochodzenia roślinnego oraz ich wpływ na modyfikację bioaktywności polimerów, ze szczególnym uwzględnieniem zwiększenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Omówiła zagadnienia związane z otrzymywaniem i właściwościami materiałów modyfikowanych olejkami eterycznymi oraz ich potencjalne zastosowania w materiale opatrunkowym. Następnie Doktorantka przedstawiła materiały modyfikowane ekstraktami polifenolowymi oraz ich potencjalne zastosowanie w medycynie, wskazując na korzyści z stosowania (szybsze gojenie się ran, brak niepożądanych reakcji, biokompatybilność, cytokompatybilność). Kolejną omawianą grupą były materiały modyfikowane ziołami lub roślinami w postaci sproszkowanej. Doktorantka wskazała, że mimo iż zaobserwowano korzystne oddziaływanie dodatków w postaci sproszkowanej, to bezpośrednie włączanie ich do polimerów w zastosowaniach medycznych jest ograniczone. Głównym powodem jest brak odporności na wysokie temperatury, często występujące w procesach wytwarzania materiałów.

Część literaturową kończą wnioski podsumowujące analizę aktualnego stanu literatury. Zostały one sformułowane poprawnie i nie mam do nich żadnych zastrzeżeń. Jednym z ważniejszych, wskazujących i potwierdzających konieczność podjęcia przez Doktorantkę badań w ocenianej pracy doktorskiej, jest brak właściwości antybakteryjnych polidimetylosiloksanu, jako materiału szeroko stosowanego w zastosowaniach medycznych, zarówno wewnętrznych, jak i zewnętrznych.

Część literaturową pracy doktorskiej oceniam pozytywnie. Zaproponowane przez Doktorantkę rozdziały i treści w nich zawarte są wystarczające do poprawnego zrozumienia

podejmowanej przez Nią problematyki badawczej. Doktorantka nie ustrzegła się jednak pewnych niedociągnięć związanych z tym fragmentem pracy doktorskiej, przede wszystkim brak konsekwencji w stosowaniu nazewnictwa dotyczącego dodatków roślinnych. Raz są one dodatkami, raz napelniaaczami. Oregano jako roślina lub proszek może być jednocześnie dodatkiem i napelniaaczem, ale olejek eteryczny z oregano będzie tylko dodatkiem. Brak jest również konsekwencji w nazewnictwie opracowanego przez Doktorantkę materiału, raz jest kompozytem, raz biokompozytem. Usystematyzowania wymagałaby również terminologia związana z zagadnieniami mikrobiologicznymi (najlepiej według normy stosowanej w badaniach). Doktorantka zamiennie wskazuje na „aktywność antibakteryjną”, „aktywność przeciwdrobnoustrojową”, „poziom aktywności”, „poziom aktywności antibakteryjnej”, czy „właściwości bioaktywne” co dokładnie Doktorantka miała na myśli, czy wszystkie te terminy oznaczają to samo?

4.2. Część eksperymentalna

Doktorantka na podstawie badań wstępnych i obszernego przeglądu literatury opracowała tezę pracy doktorskiej oraz jej cele. Zaproponowana przez Nią teza „*wprowadzenie specjalnie przygotowanych wypełniaczy organicznych, pochodzących z wybranych części bioaktywnych ziół, do polidimetylosiloksanu znacznie zwiększa jego aktywność przeciwbakteryjną, przy jednoczesnym zachowaniu niezbędnych właściwości funkcjonalnych do zewnętrznych zastosowań medycznych, takich jak opatrunki, właściwości mechanicznych i fizykochemicznych, zapewniając jednocześnie długoterminową funkcjonalność i niezawodność w kontekście medycznym*” sformułowana jest w sposób poprawny, a jej treść odpowiada zakresowi tematycznemu pracy doktorskiej i podejmowanym pracom badawczym.

Doktorantka wskazuje, że praca doktorska wymagała opracowania technologii produkcji biokompozytów, ze szczególnym uwzględnieniem właściwego przygotowania wypełniaczy. Zakres prac obejmował: przygotowanie i scharakteryzowanie wypełniaczy ziółowych, a następnie po wybrze trzech najbardziej obiecujących, przygotowanie biokompozytów; ocenę właściwości fizykochemicznych i mechanicznych biokompozytów; przyspieszone testy degradacji w symulowanym środowisku ludzkiego ciała; ocenę aktywności przeciwbakteryjnej i cytotoksyczności biokompozytów; walidację wyników, biorąc pod uwagę potencjalne zastosowania medyczne. Zaproponowane przez Doktorantkę metody badawcze, które wykorzystala w toku prowadzonych prac zostały dobrane odpowiednio do zakresu tematycznego pracy doktorskiej i rozwiązywanego problemu badawczego.

Doktorantka do prac badawczych wybrała, na podstawie analizy literatury, trzy zioła jako wypełniacze: tymianek (Turcja), szalwię (Polska) i rozmaryn (Maroko). Wszystkie wybrane pochodziły z liści ziół, łącznie z ogonkami. Natomiast jako matrycę zastosowała medyczny polidimetylosiloksan, posiadający certyfikat bezpieczeństwa dla skóry. Doktorantka dokładnie przedstawiła procedurę przygotowania przez Nią wypełniaczy oraz ekstraktów, a także ich charakterystykę morfologiczną. Zbadła również wielkość cząstek i rozkład ziaren dodatków metodą dyfrakcji laserowej, gęstość przy użyciu piknometru gazowego, określiła całkowitą zawartość fenoli testem Folin-Ciocalteu, a także zbadła skład fitochemiczny dodatków. W rozdziale 5.1.4. Doktorantka przedstawiła algorytm opisujący metodę modyfikacji biokompozytów w celu osiągnięcia założonych przez Nią kryteriów: przesiewanie wypełniacza; przesiewanie i zwilżanie alkoholem; przesiewanie, zwilżanie alkoholem i poddawanie działaniu pary wodnej. Po każdej iteracji otrzymane materiały Doktorantka poddała badaniom.

W rozdziale 5.2., Doktorantka przedstawiła zastosowane metody badawcze wytworzonych biokompozytów. Badania te obejmowały kolejno: gęstość biokompozytów, zwilżalność, absorpcję *in vitro*, sprężystość (elastyczność) odbicia, twardość, odporność na ścieranie, wytrzymałość na rozciąganie, testy przyspieszonej degradacji, spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera, różnicową kalorymetrię skaningową, badania mikroskopowe przy użyciu mikroskopów stereoskopowego oraz skaningowego mikroskopu elektronowego, ocenę antybakteryjną biokompozytów oraz żywotności komórek (cytotoksyczność biokompozytów). Wszystkie badania Doktorantka wykonała zgodnie z podanymi przez Nią normami.

W rozdziale 6 Doktorantka omówiła wyniki przeprowadzonych badań podanymi w rozdziale 5.2 metodami badawczymi. Omawiając wyniki badania gęstości biokompozytów, Doktorantka wskazała, że dodatek wypełniaczy nieznacznie zwiększał gęstość materiału. Wzrost gęstości był proporcjonalny do zawartości wypełniacza i wahał się od 1 do 3%. Wpływ wypełniaczy na gęstość gotowych biokompozytów jest bardzo istotna z punktu widzenia jego dalszych zastosowań i produkcji. Wskazane przez Doktorantkę zastosowania biokompozytu jako materiału na opatrunki ran, powinny być odpowiednio przepuszczalne, ponieważ odpowiednie zaopatrzenie rany w tlen sprzyja szybszemu jej gojeniu. Natomiast zbyt duża gęstość wpłynęłaby negatywnie na przepuszczalność gazów, w tym tlenu, którego wymiana jest niezbędna do metabolizmu komórek i naprawy tkanek.

Podczas analizy właściwości mechanicznych Doktorantka wskazała, że wprowadzenie ziół powoduje obniżenie wartości naprężenia przy zerwaniu w porównaniu z próbkami

referencyjnymi, jednak w przypadku zastosowań w opatrunkach na rany, biokompozyty z modyfikowanym tymiankiem lub szalwią, oraz wypełniaczami na bazie ekstraktu spełniają wymagane wartości. Wskazała również, że pomimo włączenia wypełniaczy, wartości odkształcenia przy zerwaniu są porównywalne, a nawet przewyższają te podawane w literaturze. Niemniej jednak przeprowadzona analiza statystyczna jednoznacznie wskazuje na znaczący wpływ rodzaju i zawartości wypełniacza na wartość naprężenia przy zerwaniu i odkształcenia przy zerwaniu.

Analiza pomiarów twardości biokompozytów nie jest jednoznaczna i nie można stwierdzić wyraźnej korelacji pomiędzy zawartością lub rodzajem napelnacza a zmierzoną wartością. Na rys. 5.11 Doktorantka przedstawiła zdjęcia wytworzonych biokompozytów, na których widać ich niejednorodne części, skupiska pojedynczych oraz aglomeraty dodatków. W wyniku nierównomiernego rozmieszczenia się wypełniaczy, a także w konsekwencji ich sedimentacji, analiza niektórych wyników badań i wskazanie określonych korelacji jest niemożliwa lub obarczona błędem. Większe cząstki dodatków występujących w badanym biokompozycie, przyczyniają się do zwiększenia sztywności materiału. Jednak Doktorantka wskazuje, że z punktu widzenia zastosowań opatrunków na rany, otrzymane wyniki spełniają wymagania, jakie są im stawiane. Wskazuje, że w takich zastosowaniach lepsza jest wyższa twardość, gdyż zapobiega to przyleganiu opatrunku do rany, tym samym przyspieszając proces gojenia.

Bardzo ważną właściwością zbadaną i opisaną przez Doktorantkę jest hydrofobowość materiałów. Jest to właściwość kluczowa dla materiałów narażonych na patogeny, ponieważ zmniejsza prawdopodobieństwo kolonizacji drobnoustrojów. Włączenie wybranych wypełniaczy do PDMS nie wpłynęło znacząco na wzrost wartości kątów zwilżania wodą (wzrost do 4% dla próbek modyfikowanych szalwią). Dodatek wypełniaczy nie zmieniło charakteru PDMS z hydrofobowego na hydrofilowy. Jest to bardzo ważne w przypadku przyszłych zastosowań opracowanego biokompozytu.

Kolejna analiza dotyczyła wpływu dodatków na właściwości antybakteryjne. Ponieważ Doktorantka wskazywała tę właściwość jako jedyną z głównych celów dysertacji należy poświęcić więcej uwagi tej analizie. Według normy ISO 22196 „Pomiar aktywności antybakteryjnej na tworzywach sztucznych i innych powierzchniach nieporowatych”, właściwości antybakteryjne (oznaczane w międzynarodowej nomenklaturze symbolem R) poszczególnych materiałów badanych określa się w odniesieniu do próby kontrolnej niezawierającej substancji potencjalnie bakteriobójczej. Zatem zgodnie z normą ISO 22196 uznaje się, że dany czynnik można uznać za bakteriobójczy, jeżeli redukuje komórki bakterii

zdolnych do wzrostu jest o co najmniej 2 rzędy wielkości mniejsza niż na próbkach kontrolnych. Doktorantka jednak zamiast do normy analizując wyniki odwołuje się do pozycji literaturowych i wskazuje, że współczynnik $R=2$ wskazuje w szczególności na właściwości bakteriostatyczne, $R\geq 3$ wskazuje na właściwości bakteriobójcze, a R powyżej 5 za „prawdziwie” bakteriobójcze. Taka analiza, według odniesienia do normy, jest błędna i może wprowadzać w błąd czytelnika.

Pierwsza analiza właściwości antybakteryjnych dotyczy biokompozytów z zawartością 10% tymolu lub szalwii. Współczynnik redukcji dla *S. aureus* wyniósł 4, a dla *E. coli* 0. Taką rozbieżność w wynikach Doktorantka tłumaczy morfologią bakterii Gram-ujemnych, które posiadają dodatkową warstwę zewnętrzną pełniącą funkcję bariery, utrudniając tym samym przenikanie substancji bioaktywnych. Budowa poszczególnych szczepów bakterii ma wpływ na jego podatność na działanie czynników biobójczych, dlatego jest to prawidłowe wyjaśnienie. Następnie Doktorantka określiła jakościową ocenę aktywności przeciwbakteryjnej pozostałych materiałów metodą krazkowo-dyfuzyjną. W przypadku kompozytów na bazie ziół w proszku przetestowano wszystkie zawartości wypełniaczy, natomiast w przypadku kompozytów na bazie ekstraktów zbadano tylko maksymalną zawartość wypełniaczy, podobnie jak w przypadku niemodyfikowanych próbek na bazie ziół.

Doktorantka wskazała, że strefa zahamowania jest widoczna tylko w przypadku materiałów na bazie ziół i dotyczy tylko szczepu *S. aureus*. W przypadku szczepu *E. coli* nie zaobserwowano aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Biokompozyty z ekstraktami, również wykazały brak strefy zahamowania dla obu szczepów bakterii, mimo że ten sam test dla samych ekstraktów, wykazał aktywność przeciwdrobnoustrojową zarówno dla *S. aureusa*, jak i *E. coli*. Tym samym sugeruje to, że zawartość wypełniacza w matrycy jest zbyt niska. Następnie Doktorantka przeprowadziła badania ilościowe w celu określenia stopnia redukcji szczepów bakterii, jednak wzięła pod uwagę wyłącznie kompozyty na bazie modyfikowanych ziół oraz aktywność w stosunku do szczepu *S. aureus*. We wszystkich próbkach (poza referencyjną) współczynnik $R>2$, co wskazuje na właściwości biobójcze badanych biokompozytów.

Ponadto podczas analizy powyższych wyników Doktorantka wskazała, że przeprowadzona modyfikacja wypełniaczy zmniejsza aktywność antybakteryjną biokompozytów ze względu na zmieniony skład fitochemiczny ziół. Sugeruje to, że wyeliminowane związki tłuszczowe i terpeny posiadają znaczące właściwości antybakteryjne. Natomiast wdrożone modyfikacje zapewniły lepsze właściwości mechaniczne i ułatwiły pomyślne usieciowanie materiałów na bazie rozmarynu. Jest to często spotykany problem, gdzie zazwyczaj modyfikacje napelniaczy lub biokompozytów skutkują polepszeniem jednych

z jednoczesnym pogorszeniem innych właściwości materiałów. Niemniej jednak zmodyfikowane materiały na bazie ziół osiągnęły współczynnik redukcji wymagany dla właściwości antybakteryjnych.

Kolejna część dotyczyła oceny biokompozytów, w której Doktorantka dokonała analizy wielokryterialnej po pierwszej fazie swoich prac. Ocene oparła na analizie uzyskanych wyników badań: gęstości, naprężenia przy zerwaniu, odkształcenia przy zerwaniu, twardości, kąta zwilżania wodą i aktywności przeciwbakteryjnej, które wskazała jako istotne dla materiałów przeznaczonych do stosowania jako opatrunki na rany. Taka analiza wielokryterialna pozwoliła Doktorantce wyłonić najbardziej obiecującą grupę materiałów, które poddała dalszym badaniom. Były to biokompozyty na bazie modyfikowanych ziół, które wykazały zarówno zadowalającą aktywność przeciwbakteryjną, jak i odpowiednie właściwości mechaniczne.

Następnie zgodnie z planem Doktorantka przeprowadziła badania absorpcji *in vitro*, w których wykazała, że wszystkie testowane biokompozyty charakteryzowały się wyższą absorpcją w porównaniu z próbkami referencyjnymi. Wraz z czasem inkubacji wrastał poziom absorpcji dla wszystkich materiałów. Materiały na bazie szalwii i tymianku wykazały najwyższe wskaźniki absorpcji wśród biokompozytów, co wytłumaczone zostało naturą wprowadzonych ziół. Badania absorpcji materiałów z przeznaczeniem na opatrunki mają istotne znaczenie dla procesów i prawidłowego przebiegu gojenia się ran.

Kolejne opisane przez Doktorantkę wyniki dotyczyły badań odporności na odbicie. Wskazała, że wzrost zawartości wypełniacza na bazie szalwii i rozmarynu prowadzi do zmniejszenia sprężystości odbicia, natomiast biokompozyty na bazie tymianku wykazują jego wzrost. Zjawisko to wytłumaczyła naturalną sztywnością ziół, co doprowadziło do zwiększonej sztywności biokompozytu i w konsekwencji zmniejszonej jego zdolności powrotu do pierwotnego kształtu. Niestety biorąc pod uwagę potencjalne zastosowanie biokompozytów wskazane przez Doktorantkę, trwałość opatrunków jest jedną z kluczowych właściwości, wpływających na procesy gojenia się ran. Obserwowany spadek odporności na odbicie biokompozytu na bazie rozmarynu może ograniczać jego potencjalne zastosowanie jako opatrunków na rany.

Podobne rezultaty Doktorantka otrzymała badając odporność na ścieranie biokompozytów. Jedną z przyczyn spadku ścieralności wskazuje na występowanie skupisk aglomeratów, które w trakcie tarcia odrywają się „kawałkami”, w szczególności w biokompozytach zawierających wyższą zawartość wypełniacza. Należy nadmienić, że

Doktorantka wskazała (powołując się na normę ISO 4649) iż w zastosowaniach jako opatrunki krótkoterminowe uzyskane wyniki nie stanowią podstawy do wykluczenia materiału.

Doktorantka przeprowadziła również badania FTIR oraz DSC, a ich analizę przedstawiła poprawnie. Podobnie jak w przypadku badania degradacji biokompozytów, w których wykazała, że inkubacja w sztucznej plazmie wpływa na degradację materiału. Wyniki badań mechanicznych biokompozytów po procesie degradacji również przedstawiła prawidłowo.

Doktorantka kompleksowo przedstawiła analizę mikroskopową badanych biokompozytów. Zbadała pęknięcia, integrację wypełniacza z matrycą, oceniła zmiany strukturalne pod wpływem naprężenia rozciągającego.

Praca kończy się drugą analizą oceny biokompozytów. Podobnie jak podczas pierwszej analizy, Doktorantka przeprowadziła analizę wielokryterialną, aby wybrać biokompozyty do fazy końcowej, która obejmuje ocenę żywotności komórek. Podobnie jak w przypadku pierwszej analizy, ocena opierała się na istotności wymagań dotyczących materiałów opatrunkowych. Ostatecznie Doktorantka wybrała do analizy dwa biokompozyty na bazie tymianku i szalwii, jako materiały o największym potencjale zastosowań.

Część badawczą Doktorantka kończy podsumowaniem i dziewięcioma poprawnie wysnutymi wnioskami.

Przeprowadzone przez Doktorantkę prace w części badawczej oceniam pozytywnie. Największym brakiem tej części pracy doktorskiej jest brak rozdziału „badania rozpoznawcze”, na podstawie których Doktorantka wybrałaby do badań zasadniczych zioła, spełniające wymagane kryteria. W toku oceny części badawczej pracy doktorskiej nasuwa się również kilka wątpliwości/uwag/pytań dotyczących merytorycznego aspektu pracy:

1. Doktorantka zamiennie stosuje wyrażenia, że „praca dotyczyła opracowania materiału wykazującego aktywność antybakteryjną” oraz „praca dotyczyła opracowania materiału o własnościach bioaktywnych”. Czy wyrażenia te mogą być stosowane zamiennie? Co one dokładnie oznaczają? Proszę o wyjaśnienie.
2. Str. 45 Doktorantka pisze o „modyfikacji bioaktywności polimerów” poprzez zastosowanie ziół. Proszę o wytłumaczenie.
3. Doktorantka pisze, że przygotowanie biokompozytów nastąpiło po wyborze trzech najbardziej obiecujących ziół. Przy czym zioła te zostały wybrane na podstawie analizy literatury. Czy prowadzono badania wstępne, na podstawie których wybrano zioła najbardziej obiecujące? Proszę o wyjaśnienie.

4. Na str. 61-62 Doktorantka opisuje, że podzieliła zioła na trzy grupy: materiał niemodyfikowany, modyfikowany oraz ekstrakty. Następnie pisze o „drugim zestawie ziół”, który został przesiany przy użyciu sita. A następnie pisze o zwilżaniu etanolem i suszeniu rozmarynu i szalwii. Jest to bardzo niezrozumiałe. A co z tymiankiem? Czy „drugi zestaw ziół” jest równoznaczny z „drugą grupą materiałów”? Proszę o wyjaśnienie.
5. Str. 62 czy ekstrakcja wrzącą wodą nie spowodowała negatywnych skutków – polifenole są wrażliwe na gorącą wodę. Proszę o wyjaśnienie.
6. Dlaczego tylko rozmaryn był poddany działaniu pary wodnej przez dwie godziny? Czy Doktorantka prowadziła badania wstępne bez tego etapu?
7. Str. 67 pierwszy akapit po tabeli 5.4, zdanie „sugeruje to, że proponowana modyfikacja skutecznie ułatwiła ekstrakcję związków fenolowych”. Proszę wyjaśnić o jaką modyfikację chodziło.
8. Na Fig.5.4 ekstrakty z ziół wyglądają jak „papki”, a na Fig.5.11 widać pojedyncze wtrącenia, aglomeraty ziół. Dlaczego nie zastosowano ekstraktów wodnych lub olejnych? Proszę o wyjaśnienie.
9. Dlaczego przy kącie zwilżania wodą wynoszącym do 110° hamują lub ograniczają adhezję i tworzenie biofilmu szczepu *S. aureus*, a powyżej 110° sprzyjają proliferacji *E. coli*. Proszę to wyjaśnić.
10. Str. 73, proces utwardzania, następnie kondycjonowanie termiczne w $80 \pm 2^\circ\text{C}$. Temperatura suszenia powyżej 80°C powoduje, że wydajność polifenoli maleje. Do jakich temperatur są wytrzymałe zastosowane w pracy zioła? Proszę wytłumaczyć.
11. Badania absorpcji – jak odsączany był nadmiar płynu, w momencie ważenia próbek?
12. Pkt. 6.5., tab.6.1-6.2 Doktorantka nie podała ile wynosiła liczba żywych komórek bakterii odzyskanych z próbek kontrolnych po 24 h (kontrola przeżycia w czasie) oznaczone przez Nia jako U_i we wzorze 6.4, str. 84. Jest to bardzo ważny parametr, wskazujący, czy wartość współczynnika redukcji wynika tylko i wyłącznie z działania środka biobójczego (zioł), czy może wynika z naturalnej śmiertelności bakterii lub też z powodu chropowatości powierzchni i tym samym mniejszego odzysku bakterii. Czy jest Pani w stanie podać te dane? Proszę wyjaśnić w jaki sposób został obliczony współczynnik redukcji R?
13. Doktorantka wskazuje, że wyniki oceny aktywności przeciwbakteryjnej (tab.6.1) biokopozytów z dodatkiem 10% niemodyfikowanych ziół wpłynęły na opracowanie

algorytmu pokazanego na rys.5.1. Proszę wyjaśnić, w jaki sposób wyniki te wpłynęły na opracowanie algorytmu.

14. Proszę wyjaśnić, dlaczego nie przedstawiono wyników badań aktywności przeciwbakteryjnej dla biokompozytów na bazie ekstraktów.
15. Dlaczego w „drugiej części badań” (str.98, tab.6.2.) wzięto pod uwagę tylko zmodyfikowane kompozyty na bazie ziół? Proszę wytłumaczyć.
16. Na stronie 99 mimo, że tab.6.2. przedstawia wyniki tylko dla *S. aureusa*, Doktorantka wskazuje, że „zmodyfikowane materiały na bazie ziół osiągały minimalny logarytm redukcji wymagany dla właściwości antybakteryjnych”. Proszę wyjaśnić, czy wówczas materiał taki spełnia normę ISO 22196?
17. Podczas analizy wyników badań odporności biokompozytów na ścieranie (str.104-105), Doktorantka wskazuje, że w przypadku materiałów opatrunkowych krótkoterminowych uzyskane wartości są akceptowalne. Jednak we wnioskach wskazuje, że zachowane są niezbędne właściwości funkcjonalne w przypadku zastosowań jako opatrunki, „zapewniając jednocześnie długoterminową funkcjonalność”. Proszę wyjaśnić.
18. Drobne uwagi redakcyjne:
 - Str. 5 jest „modyfikowane pod katem własności”, powinno być „modyfikowane pod kątem własności”.
 - Str. 6 „aktywności przeciwdrobnoustrojowa”, powinno być „aktywności przeciwdrobnoustrojowej”.
 - Str. 7 jest „2,5”, powinno być 2,5. W Polsce przyjętym separatorem dziesiętnym jest znak „,” (przecinek).
 - Str. 30 (i dalej w pracy) brak spójności w nazewnictwie: związki pochodzenia naturalnego, dodatki, wypełniacze, naturalne dodatki, naturalne wypełniacze, wypełniacze roślinne. Należałoby w całej pracy stosować np. ogólnie „wypełniacze” (innych niż roślinne w pracy nie ma). Stosowanie zamiennie nazewnictwa „wypełniacze” i „dodatki” jest błędem. Np. ekstrakt (olejek) z oregano może być dodatkiem i pełnić tylko 1 funkcję, ale oregano (roślina) może być jednocześnie dodatkiem i wypełniaczem. Są to mylnie stosowane pojęcia.
 - Str. 18 Doktorantka pisze o stosowaniu PVC w „biomedycynie”. Niepoprawne zastosowanie (Biomedycyna to dziedzina medycyny, mająca zastosowanie m.in. w prewencji, diagnostyce i leczeniu chorób).

- Str. 23, drugi akapit powinien kończyć się „...” (kropką).
- Str. 35, 4 akapit, początek nawiasu jest kursywą.
- Str. 58 Fig. 5.1. Research methodology. Brak chronologii pomiędzy schematem badań a opisem ich metodologii. Ponadto Doktorantka stosuje inne nazwy badań w schemacie, w części eksperymentalnej i części wyniki. Np. na schemacie jako drugie badanie przedstawione jest „Static tensile”, natomiast w opisie metodologii, jako drugie są omawiane wyniki kąta zwilżania (czwarte na schemacie), a dopiero jako siódme wspomniane „Static tensil”, ale pod nazwą „Tensil testing”, a w wynikach już prawidłowo na drugim miejscu ale jako „Static tensile testing”. Wprowadza to niepotrzebny nieład w pracy.
- Brak spójności w nazewnictwie „kompozyty” - „biokompozyty”. Mimo, iż na str. 77 Doktorantka podaje, że ze względu na naturalne wypełniacze wytworzony materiał nazywać będzie biokompozytem.
- Str.83-84 nazwy łacińskie, nazwy szczepów bakterii zawsze piszemy kursywą.
- Str. 122 Doktorantka wskazuje, że „do kolejnej fazy wybrano dwa kompozyty na bazie ziół”, po czym analizuje i przedstawia w tabeli analizę wszystkich trzech.

4.3. Podsumowanie oceny merytorycznej

Przedstawione w recenzji uwagi, sugestie i drobne uchybienia nie obniżają wartości pracy i nie wpływają na ostateczną – pozytywną – ocenę recenzowanej pracy, która w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim i osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora w rozumieniu ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”. Wskazane w ocenie merytorycznej wątpliwości stanowią jedynie podstawę do dalszej dyskusji i wskazanie Doktorantce dalszych kierunków prac badawczych. Prowadzone przez Doktorantkę prace badawcze oraz uzyskane wyniki mają duże znaczenie naukowe, stanowiąc istotne uzupełnienie wiedzy w obszarze możliwości zastosowań ziół jako naturalnych wypełniaczy do polidimetylosiloksanu, z przeznaczeniem na opatrunki ran.

5. WNIOSKI KOŃCOWE

Zakres recenzowanej pracy doktorskiej kwalifikuje ją do dziedziny Nauk technicznych i inżynierskich oraz dyscypliny inżynieria materiałowa. Praca doktorska Pani mgr inż. Sary Sarraj odznacza się wystarczającym poziomem naukowym i analitycznym, wnosząc cenny wkład do dyscypliny inżynieria materiałowa. Oceniana praca stanowi wartościowe pod względem merytorycznym, poznawczym i aplikacyjnym osiągnięcie naukowe. Prezentowany przez Doktorantkę poziom merytoryczny, warsztat badawczy, umiejętność rozpoznawania problemów naukowych oraz biegłość w ich rozwiązywaniu świadczą o Jej dojrzałości naukowej. W oparciu o przeprowadzoną ocenę pracy doktorskiej stwierdzam tym samym, że: **Praca doktorska mgr inż. Sary Sarraj pt. „Modification of Selected Bioactive and Mechanical Properties of Polydimethylsiloxane for External Medical Applications” spełnia wymagania ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i może stanowić podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie inżynieria materiałowa. Wnoszę zatem o dopuszczenie mgr inż. Sary Sarraj do publicznej obrony pracy doktorskiej.**

Prof. M. Stepczyńska

/podpis odręczny/

*wyłączenie jawności w zakresie danych osobowych oraz ochrony prywatności osoby fizycznej na podstawie art. 5 ust. 2 ustawy z dnia 6 września 2001 r. o dostępie do informacji publicznej (tj. Dz.U. z 2016 r., poz. 1764)