



---

Zakład Biomateriałów i Technologii  
Mikrobiologicznych  
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. Iwony Kwiecień**

**pt.: „Koniugaty substancji biologicznie czynnych  
z biodegradowalnymi oligomerami polihydroksyalkanianów  
jako systemy kontrolowanego uwalniania pestycydów”**

**Promotor: dr hab. (prof. nzw.) Grażyna Adamus**

Pestycydy należą do grupy specyficznych substancji chemicznych, których rolą jest odstraszenie i niszczenie szkodników roślin. Zazwyczaj substancje te są lotne i hydrofilowe, dlatego łączenie ich z substancjami pomocniczymi, głównie polimerami, poprawia właściwości użytkowe głównie poprzez kontrolowane ich uwalnianie i tym samym zmniejszenie niekorzystnego oddziaływania na środowisko. Taki efekt pozwalają osiągnąć biodegradowalne polimery, zwłaszcza alifatyczne poliestry, które ulegają degradacji w warunkach środowiskowych, a produkty ich degradacji są bezpieczne dla środowiska.

Zapewne wyżej wymienione przesłanki zaważyły o podjęciu tematyki pracy doktorskiej mgr inż. Iwony Kwiecień, realizowanej w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk w Zabrzu pod kierunkiem dr hab. Grażyny Adamus, prof. nzw. PAN.

Cel naukowy pracy został jasno sformułowany, a praca dobrze zaplanowana. Mgr inż. Iwona Kwiecień postawiła przed sobą zadanie opracowania

biodegradowalnych polimerowych systemów dla uwalniania substancji biologicznie aktywnych, wybranych z grupy pestycydów, dla potencjalnych zastosowań w rolnictwie. W szczególności, doktorantka zajęła się opracowaniem koniugatów pestycydów z biodegradowalnymi oligomerami polihydroksyalkanianów, przeprowadzeniem pełnej charakterystyki molekularnej i strukturalnej wytworzonych układów oraz potwierdzeniem ich bioaktywności w testach polowych i szklarniowych.

Wyniki swoich badań doktorantka zawarła w pięciu publikacjach, w tym w jednym rozdziale w książce, które opatrzyła 54-o stronicowym komentarzem. Wyniki prac zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach: *PLoS ONE* (IF 4.015), *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (IF 2.634) oraz *Designed Monomers and Polymers* (IF 1.726) oraz w rozdziale w książce „*Pesticide Formulation and Delivery Systems: 32nd Volume, Innovating Legacy Products for New Uses*” wydanej przez wydawnictwo ASTM International, USA. Badania skuteczności działania w warunkach szklarniowych oraz polowych Doktorantka przeprowadziła w Instytucie Ochrony Roślin w Sośnicowicach we współpracy z Akademią im. Jana Długosza w Częstochowie.

Pokrótce omówię najważniejsze osiągnięcia doktorantki, zwracając uwagę na ich oryginalność oraz znaczenie poznawcze i aplikacyjne.

W pierwszej fazie swojej pracy mgr inż. Iwona Kwiecień podjęła próbę oligomeryzacji anionowej  $\beta$ -butyrolaktonu inicjowanej solami wybranych substancji biologicznie czynnych. Spośród herbicydów, Doktorantka wybrała MCPA, 2,4-D oraz dikambę (związki te są herbicydami), natomiast kwas benzoesowy i kwas sorbinowy stanowiły modelowe substancje przeciwbakteryjne. Stosując wielostopniową spektrometrię mas ESI-MS<sup>n</sup>, protonowy rezonans magnetyczny (<sup>1</sup>H NMR), spektroskopię w podczerwieni (FT-IR) oraz chromatografię żelową (GPC), mgr inż. Kwiecień określiła budowę chemiczną koniugatów i potwierdziła, że substancje aktywne są połączone wiązaniem estrowym z łańcuchem oligo([R,S]-3-hydroksymaślanu. Stwierdziła również, że jako produkty reakcji ubocznych tworzą się oligomery 3-hydroksymaślanu zakończone krotonianowymi i karboksylowymi grupami końcowymi. Co istotne, zsyntezowane koniugaty posiadają tylko jedną cząsteczkę substancji biologicznie czynnej przypadającą na jeden łańcuch oligomeru.

Znacznie wyższą zawartość substancji biologicznie aktywnych na cząsteczkę oligomeru, Doktorantka otrzymała syntezując (ko)oligoestry na drodze karbonylowania odpowiedniego estru glicydylowego, stosując homo- lub

kopolimeryzację anionową i wykorzystując monomery lub komonomery  $\beta$ -podstawionych  $\beta$ -laktonów. Strukturę nowych, niepisanych wcześniej monomerów, Doktorantka opisała na podstawie wyników eksperymentów fragmentacyjnych z wykorzystaniem tandemowej spektrometrii mas ESI-MS/MS.

W ramach pracy Doktorantka zsyntezowała również koniugaty pestycydowo-oligomerowe metodą bezpośredniej transestryfikacji dostępnych handlowo polihydroksyalkanianów z wybranymi pestycydami prowadząc reakcję w stopie w obecności monohydratu kwasu p-toluenosulfonowego (TSA·H<sub>2</sub>O), w wersji „one pot”. Doktorantka dobrała warunki syntezy umożliwiające całkowite stopienie biopoliestru PHA z minimalnym udziałem reakcji ubocznych, takich jak w procesie rozkładu termicznego PHA prowadzącego do wytworzenia koniugatów oligomerów PHA z krotonianowymi grupami końcowymi. Co istotne doktorantka wykazała, że metoda ta może być stosowana do syntezy koniugatów zarówno z pestycydami zawierającymi grupę karboksylową jak i hydroksylową, a przy doborze odpowiedniego stosunku substratów i katalizatora zapewnia wysoki procent przyłączenia pestycydu do oligomerów PHA.

Prowadząc dobór katalizatorów do syntezy koniugatów, mgr inż. Kwiecień wykorzystwała również lipazę, *Candida antarctica*, do dwuetapowej syntezy koniugatów, wykorzystując cykliczne oligomery PHB i tyrosol jako substancję biologicznie czynną. Pomimo zdecydowanie dłuższych czasów reakcji przy zastosowaniu katalizatora enzymatycznego, reakcja ta umożliwiła otrzymanie populacji bioaktywnych koniugatów o zdefiniowanych długościach łańcuchów polimerowego nośnika.

Aby zrealizować cel użyteczny swoich prac badawczych, Doktorantka przeprowadziła wstępne testy potwierdzające przydatność opracowanych koniugatów pestycydowo-oligomerowych dla ochrony roślin. Badania te obejmowały wstępne testy degradacji hydrolitycznej oraz testy skuteczności chwastobójczego działania wobec populacji wybranych chwastów. Przeprowadzone wstępne badania degradacji hydrolitycznej koniugatów pestycydowo-oligomerowych potwierdziły, że wiązanie estrowe pomiędzy substancją biologicznie czynną a łańcuchem oligomerowym ulega hydrolizie, umożliwiając stopniowe uwalnianie z łańcucha oligomerowego związków biologicznie czynnych w pierwotnej postaci z zachowaniem ich biologicznej aktywności.

Uzyskane przez Panią mgr inż. Iwonę Kwiecień wyniki badań w warunkach szklarniowych i polowych wykazały, że skuteczność chwastobójczego działania

formulacji zawierającej koniugat 2,4-D-oligo([R,S]-3-hydroksymaślanu) wobec wybranych chwastów dwuliściennych jest porównywalna do skuteczności działania formulacji dostępnej handlowo zawierającej tę samą substancję czynną. Ponadto, Doktorantka nie zaobserwowała fitotoksycznego działania otrzymanych koniugatów pestycydowo-oligomerowych na pszenicę ozimą.

Dokonując oceny merytorycznej pracy, z przyjemnością konstatuje dobry i zwięzły poziom opisu części doświadczalnej pracy. Stosując zaawansowane techniki spektroskopii mas i rezonansu magnetycznego, Doktorantka przeprowadziła identyfikację indywidualnych makrocząsteczek występujących w badanych koniugatach oraz określiła strukturę chemiczną grup końcowych. Analiza literatury zamieszczonej we wszystkich publikacjach jest dogłębna i wskazuje na dobre poruszanie się doktorantki w przedmiocie stanowiącym podstawę rozprawy. Komentarz do publikacji, napisany w sposób czytelny i dojrzały, został również opatrzony odpowiednią literaturą (85 pozycji).

Doktorantka nie ustrzegła się niewielkiej liczby błędów i niezręczności, że wymienię takie sformułowanie jak „okres czasu” (str. 9 i 10). Brak też informacji o wydajności reakcji transestryfikacji, zwłaszcza katalizowanej lipazą *Candida antarctica*.

Przytoczone uwagi nie mają istotnego znaczenia i nie podważają w żadnej mierze wartości rozprawy i mojej bardzo pozytywnej jej oceny.

Podsumowując uważam, że mgr inż. Iwona Kwiecień z dużym powodzeniem zrealizowała postawiony przed sobą cel pracy. Uzyskała cenne wyniki dotyczące syntezy i budowy chemicznej nowych koniugatów oligomerów/polimerów ze środkami biologicznie czynnymi. Wykazała, że oligomeryzacja i kooligomeryzacja anionowa jest efektywnym narzędziem w syntezie chemicznej koniugatów estrowych zawierających substancje bioaktywne. Warto podkreślić, że doktorantka zrealizowała plan badawczy w sposób bardzo kompleksowy: od syntezy nowych związków po bardzo dobre scharakteryzowanie ich budowy chemicznej, struktury, podatności na degradację hydrolityczną, aż po testy skuteczności chwastobójczej.

Uwzględniając aspekt poznawczy i aplikacyjny pracy, uważam, że stanowi ona istotny wkład do wiedzy na temat biodegradowalnych poliesterów i możliwości ich zastosowań jako środków ochrony roślin o przedłużonym uwalnianiu związków czynnych biologicznie. Warto nadmienić, że oprócz 5 prac, na których opiera się zasadniczy trzon rozprawy doktorskiej, mgr inż. Iwona Kwiecień jest współautorką

czterech innych publikacji w czasopiśmie, jednego rozdziału w monografii oraz dwóch zgłoszeń patentowych.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki i sposób ich interpretacji uważam, iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr inż. Iwony Kwiecień pt. „Koniugaty substancji biologicznie czynnych z biodegradowalnymi oligomerami polihydroksyalkanianów jako systemy kontrolowanego uwalniania pestycydów” odpowiada w pełni wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim w świetle ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym (art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. Dz.U. z 2003 r., nr.65, poz. 595 z późniejszymi zmianami), dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Iwony Kwiecień do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony. Jednocześnie, uwzględniając wymienione wyżej argumenty wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy.



Mirosława El Fray

Szczecin, 4.05.2015 r.

