



Gdańsk, 04.12.2025

Recenzja pracy doktorskiej mgr Zofii Nuc

Tytuł rozprawy: Wybrane skorupiaki z wód polskich jako alternatywne źródło chityny i chitozanu

Rozprawa na stopień doktora Nauk o Ziemi i środowisku

Podstawą rozprawy jest cykl dwóch artykułów opublikowanych, w tym jedna praca przeglądowa i jedna praca oryginalna. We wszystkich pracach, Pani Nuc jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Łączny impact factor uzyskany w ramach publikacji wynosi 3,9, 170 punktów ministerialnych. Trzecią pracę stanowi artykuł pozostający w trakcie recenzji do czasopisma o IF=5,4.

Część doświadczeń została wykonana w oparciu o współpracę z Uniwersytetem w Pavii we Włoszech i Uniwersytetem Algarve w Portugalii w ramach programu ERASMUS +.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska poświęcona jest zagadnieniu pozyskiwania i charakterystyki chityny oraz chitozanu z czterech gatunków raków: rodzimego *Pontastacus leptodactylus* oraz inwazyjnego *Faxonius limosus*, oraz *D.villosus* i *N. integer*. Temat ten wpisuje się w aktualne kierunki badań poszukujących nowych, zrównoważonych i niewykorzystanych źródeł biopolimerów, które znajdują szerokie zastosowania w biomedycynie, technologii żywności, rolnictwie czy inżynierii materiałowej. Autorka rozprawy podejmuje zagadnienie istotne zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i praktycznego, wnosząc istotny wkład do wiedzy dotyczącej surowców pochodzenia skorupiakowego, w szczególności takich, które dotychczas nie były szeroko badane pod kątem ich potencjału biopolimerowego. Na uwagę zasługuje fakt wykorzystania gatunków skorupiaków z obcych gatunków inwazyjnych.

Praca została przygotowana w oparciu o starannie zaprojektowane badania eksperymentalne. Na uwagę zasługuje fakt, postępowania zgodnie z założeniami „Zielonej i zrównoważonej chemii” oraz rezolucji przyjętej przez Parlament Europejski w sprawie strategii w zakresie chemikaliów na rzecz zrównoważenia środowiska. Zastosowane metody analityczne – w tym analiza stopnia deacetylacji, wydajności, właściwości fizykochemicznych oraz porównania pomiędzy gatunkami – są odpowiednie i aktualne względem stosowanych współcześnie standardów w badaniach nad chityną i chitozaniem. Szczególnym atutem jest równoległe porównanie dwóch gatunków skorupiaków różniących się zarówno pochodzeniem, jak i potencjalnym znaczeniem gospodarczym. Ponadto zastosowano metody izolacji polimeru, pozwalające na wykorzystanie mniejszych zasobów.

Wyniki badań wskazują, że zarówno *P. leptodactylus*, jak i *F. limosus* mogą stanowić wartościowe i realne alternatywne źródło chityny i chitozanu, co jest szczególnie ważne w



kontekście ograniczeń związanych z pozyskiwaniem tych biopolimerów z tradycyjnych źródeł, takich jak skorupiaki morskie. Ponadto wykorzystanie gatunku inwazyjnego jako surowca może stanowić przykład praktycznego i innowacyjnego podejścia do zarządzania obcymi gatunkami w ekosystemach słodkowodnych. Jednocześnie został sprawdzony potencjał przeciwbakteryjny z zastosowaniem standaryzowanych metod, jak i wrażliwość ludzkich komórek na wyizolowany chitozan. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazano, że za pomocą metody z wykorzystaniem mniejszych nakładów energetycznych można skutecznie wyizolować chitozan z tylko jednego gatunku. Izolacja polimeru z różnych gatunków pozwoliła na uzyskanie biopolimerów o różnych właściwościach fizycznych i przeciwbakteryjnych.

Dyskusja wyników została przedstawiona w sposób rzetelny i logiczny, z odpowiednimi odniesieniami do literatury przedmiotu.

Pod względem formalnym praca jest napisana starannie, przejrzysto i z zachowaniem zasad poprawności językowej oraz naukowej. Poszczególne części rozprawy układają się w spójną całość, a przeprowadzone analizy są poprawnie interpretowane i prowadzą do jasno sformułowanych wniosków. Autorka wykazała się umiejętnością krytycznego myślenia, właściwego projektowania badań oraz interpretacji otrzymanych rezultatów w kontekście aktualnego stanu wiedzy.

Jednakże w opisie metod brakuje wyjaśnienia dotyczącego kilku aspektów pracy.

W opisie konwencjonalnej ekstrakcji brakuje dokładnego podania pH otrzymanego materiału. Jest podana informacja jedynie o płukaniu w celu neutralizacji pH. Natomiast pH fizjologiczne dla człowieka wynosi 7.36-7.46, czyli jest lekko zasadowe a niewielkie zmiany pH mogą prowadzić do inhibicji aktywności enzymów mitochondrialnych, które były mierzone w teście MTT.

Ponadto, czy sprawdzane było pH chitozanu po rozpuszczeniu w kwasie octowym?

Dlaczego do badań cytotoksycznych wybrano komórki A549? Są to komórki pochodzące z nowotworu, więc mają one wysoki potencjał proliferacyjny i mogą wykazywać się zwiększoną opornością na potencjalne działanie cytotoksyczne.

Mam również kilka uwag co do metodyki zastosowanej:

W publikacji nr 2 w opisie brakuje podania nr pasaży komórek, co ma znaczący wpływ na ich wrażliwość. Natomiast w publikacji nr 3 podano, że wykorzystano wysokie, powyżej 80 pasaży komórek. Tak długa hodowla obarczona jest dużym ryzykiem zmiany fenotypu badanych komórek.

Hodowla wstępna podczas trwania testu MTT wynosiła 24h i nanoszona 10 tys komórek na dołek w 96-cio dołkowej płytce. Komórki A549 ulegają podwojeniu przez 24h. Natomiast ilość



komórek nałożonych na dołek jest zbyt mała aby po 24h uzyskać fazę sub-konfluencji. W tej fazie należy wykonywać testy cytotoksyczne.

Jednakże podsumowując, rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom tego typu. Przedstawione w niej badania są oryginalne, wartościowe i wykonane z zachowaniem wysokich standardów metodologicznych. Wyniki mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w praktyce oraz stanowić solidną podstawę do dalszych badań nad biopolimerami pozyskiwanymi ze skorupiaków słodkowodnych.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce oraz w regulaminie nadawania stopni naukowych. Wnioskuje o dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o przyjęcie rozprawy jako pracy odpowiadającej wymaganiom dla stopnia doktora.

Z wyrazami szacunku,

Dr hab. Anna Ronowska

GDANSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
Katedra Biochemii Klinicznej
Zakład Medycyny Laboratoryjnej
80-211 Gdańsk, ul. Dębina 7
tel. 58 349 27 70