



UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

Zurych, 28 listopada 2024

dr hab. inż. Anna Ptaszek, prof. URK
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego,
Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja

pracy doktorskiej mgr inż. Vadyma Chibrikova pt.:

“Modeling of mechanical properties of hemicellulose-cellulose networks in plant cell wall analogues”

przygotowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Artura Zdunka, czł. koresp. PAN.

Opinię przygotowano na wniosek Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie

na podstawie uchwały 159/P14/2024

z dnia 23 września 2024 r.

Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana mgr inż. Vadyma Chibrikova obejmuje przegląd wiedzy dotyczącej właściwości mechanicznych analogów ściany komórkowej roślin w kontekście zawartości polisacharydów, analizę podstaw teoretycznych istniejących modeli numerycznych ściany komórkowej roślin, ze szczególnym uwzględnieniem opisanych w literaturze przedmiotu koncepcji struktury ściany komórkowej, badania nad właściwościami mechanicznymi i molekularnymi analogów ściany komórkowej roślin oraz opracowanie modelu numerycznego bazującego na fenomenologicznym przybliżeniu oddziaływań molekularnych pomiędzy kulą i sprężyną reprezentującymi polisacharydowe składniki analogów ściany komórkowej.

Rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o cztery opublikowane w czasopismach o randze międzynarodowej publikacje oraz piątą pracę znajdującą się obecnie w recenzji:

- P1: **Chibrikov, V.**, Pieczywek, P. M., Zdunek, A., 2023. Tailor-Made Biosystems-Bacterial Cellulose-Based Films with Plant Cell Wall Polysaccharides. Polymer Reviews, 63(1), 40-66. DOI: 0.1080/15583724.2022.2067869,



Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

- P2: Pieczywek, P. M., **Chibrikov, V.**, Zdunek, A., 2023. In silico studies of plant primary cell walls–structure and mechanics. *Biological Reviews*, 98(3), 887-899. DOI: 10.1111/brv.12935,
- P3: **Chibrikov, V.**, Pieczywek, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A., 2023. Evaluation of elastoplastic properties of bacterial cellulose–hemicellulose composite films. *Industrial Crops and Products*, 205, 117578. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.117578,
- P4: **Chibrikov, V.**, Pieczywek, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A., 2024. Coarse-grained molecular dynamics model to evaluate the mechanical properties of bacterial cellulose– hemicellulose composites. *Carbohydrate Polymers*, 121827. DOI: 10.1016/j.carbpol.2024.121827,
- P5: Chibrikov, V., Pieczywek, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A. The effect of hemicellulose–specific enzymes on the structure and mechanical performance of cellulose–hemicellulose hydrogels. *Scientific Reports*.

Sumaryczny *IF* opublikowanych prac wynosi 40,2 natomiast sumaryczna liczba punktów *MNiSW* to 680.

Struktura rozprawy doktorskiej jest poprawna i typowa dla prac naukowych przygotowanych w oparciu o opublikowane artykuły. Pracę doktorską stanowi 210-stronnicowy manuskrypt zawierający wszystkie wymagane części: streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu, rozdział stanowiący analizę aktualnej literatury w tematyce rozprawy wraz z opisem materiałów i zastosowanych metod, hipotezy badawcze i cel pracy, streszczenie wyników opisanych w artykułach, wyniki wraz z dyskusją, wnioski. Integralną część pracy stanowią kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, materiały dodatkowe oraz oświadczenia współautorów publikacji dotyczących udziału kandydata i współautorów. Właściwa część rozprawy zawiera się w 53 stronach, pozostałą część stanowi bibliografia oraz kopie opublikowanych artykułów naukowych.

Mgr inż. Vadym Chibrikov jest pierwszym autorem trzech z czterech opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Z oświadczeń współautorów wynika ponadto, że wkład doktoranta w studia nad literaturą przedmiotu oraz uzyskanie wyników przeprowadzonych badań naukowych, ich analizę i przygotowanie publikacji był dominujący.



Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

Ocena podjętej tematyki badawczej

Badania nad właściwościami mechanicznymi układów polisacharydów i ich mieszanin najczęściej dotyczą wodnych roztworów tych związków wykorzystywanych w produkcji spożywczej, farmakologicznej czy kosmetycznej jako substancje strukturotwórcze (zagęstniki), stabilizatory układów wielofazowych zawierających inne biopolimery np. białkowe lub jako dodatki kształtujące wytrzymałość kompozytów tworzących nowe biokompatybilne materiały do produkcji biodegradowalnych opakowań. W wodnych układach polisacharydów występuje cała gama oddziaływań uzależnionych od składu chemicznego i konformacji przyjmowanej przez łańcuchy tych biopolimerów. Należą do nich oddziaływania fizyczne umożliwiające wytworzenie układów średniorozcieńczonych i stężonych o właściwościach lepkich, lepkosprężystych lub plastycznolepkosprężystych, ulegających synerezie lub stabilnych fizycznie, żeli fizycznych lub struktur pseudożelowych. Osobną grupę stanowią chemiczne żele polisacharydowe, które bardzo często wykorzystywane są jako materiały wodochłonne. Zazwyczaj właściwości fizykochemiczne i mechaniczne takich układów nie są addytywne względem właściwości poszczególnych składników a ich modelowanie wymaga dogłębnej znajomości konformacji jakie poszczególne polisacharydy mogą przyjąć w badanych systemach oraz charakteru oddziaływań pomiędzy nimi. Składniki ściany komórkowej, do której należą m.in. takie polisacharydy jak celulozy i hemicelulozy tworzą wysoce uporządkowaną i wyspecjalizowaną sieć, której zadaniem jest m.in. przenoszenie naprężeń mechanicznych jakim poddawana jest komórka roślinna. Z punktu widzenia wytrzymałości materiałów ściana komórkowa może być traktowana jako układ, który można opisać za pomocą takich wielkości jak elastyczność czy twardość. Badania nad wpływem poszczególnych składników polisacharydowych na wybrane właściwości mechaniczne ściany komórkowej stanowią nadal wyzwanie badawcze ze względu na trudność w modelowaniu oddziaływań pomiędzy nimi, ciągle rozwijające się metody poznania ich charakteru a przede wszystkim konieczność interdyscyplinarnego potraktowania tego zagadnienia. Wobec tak dużego stopnia złożoności problemu badawczego przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi cenne uzupełnienie luki w wiedzy na temat kształtowania wytrzymałości mechanicznej układów zawierających celulozy i hemicelulozy oraz roli helixeluloz w architekturze ściany komórki roślinnej.



Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

W pierwszej pracy (P1) o charakterze przeglądowym skupiono się na zaprezentowaniu szczegółowego stanu istniejących badań dotyczących mikrobiologicznych metod otrzymywania celulozy, właściwości hemiceluloz (ksylany, arabinoksylany, ksyloglukany i glukomany), właściwości strukturalnych i mechanicznych analogów wytworzonych przez hemicelulozy i celulozy pochodzenia mikrobiologicznego (układy dwuskładnikowe), analogów otrzymanych na bazie hemiceluloz, celulozy mikrobiologicznej i pektyn (układy trójskładnikowe) i ich wykorzystania do kształtowania właściwości mechanicznych analogów ściany komórek roślinnych. Ze względu na specyficzne warunki syntezy celulozy mikrobiologicznej szczególny nacisk położono na wpływ warunków biosyntezy na właściwości strukturalne i mechaniczne analogów roślinnej ściany komórkowej, które mogą być determinowane przez czynniki biologiczne (aktywność metaboliczna szczepów bakterii, obecność innych mikroorganizmów), chemiczne (skład pożywki) i fizyczne (lepkość pożywki, temperatura hodowli, statyczny lub dynamiczny rodzaj hodowli). Ponadto w pracy omówiono możliwe mechanizmy oddziaływań pomiędzy polisacharydami, które obejmują adsorpcję hemicelulozy i agregację na włóknach/mikrowłóknach celulozowych, tworzenie wiązań krzyżowych lub przeplatanie włókien/mikrowłókien celulozowych.

Zagadnienia omawiane w kolejnej pracy (P2) obejmują wiedzę na temat możliwych interakcji pomiędzy polisacharydami budującymi ścianę komórki roślinnej, popartą szczegółowym przeglądem literatury przedmiotu. Przede wszystkim bierze się pod uwagę oddziaływania pomiędzy łańcuchami celulozy oraz łańcuchami celulozy i hemiceluloz. W pierwszym przypadku za architekturę ściany komórkowej odpowiadają oddziaływania pomiędzy łańcuchami celulozy a rola hemiceluloz i pektyny jest ograniczona. W drugim przypadku hemicelulozy odgrywają istotną rolę w kształtowaniu wytrzymałości mechanicznej struktury wytworzonej przez większe łańcuchy celulozy. Możliwe są cztery schematy interakcji: i) macierzy celulozowej wzmocnionej przez oddziaływania kowalencyjne wytworzone pomiędzy łańcuchami pektyn, białek i wybranych hemiceluloz, ii) wielowarstwowego płaszcza wytworzonego przez równoległe warstwy łańcuchów celulozy, hemiceluloz i pektyn, iii) sieci wytworzonej przez równoległe ułożone łańcuchy celulozy poprzecznie wzmocnione łańcuchami hemiceluloz oraz iv) nieuporządkowanej sieci wytworzonej przez wymieszane łańcuchy celulozy i hemiceluloz z lokalnymi punktami o zwiększonej kondensacji łańcuchów polisacharydowych. Wiadomości te stanowią podstawę do dalszej dyskusji na temat ewolucji podejścia do badania właściwości mechanicznych tych sieci z wykorzystaniem modeli



Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

ciągłych (klasyczna mechanika i wytrzymałość materiałów) i dyskretnych (podejście molekularne), a w konsekwencji metod modelowania właściwości roślinnych ścian komórkowych.

Kolejnym etapem pracy doktorskiej były badania właściwości mechanicznych modelowych układów kompozytowych złożonych z celulozy pochodzenia mikrobiologicznego oraz wybranych hemiceluloz (ksylan, arabinoksylian, ksyloglukana i glukomanna). Materiały te stanowiły analogi ściany komórki roślinnej, które zostały poddane badaniom mechanicznym a wyniki opracowane statystycznie (publikacja P3). Doświadczenie zostało zaplanowane w taki sposób, aby określić wpływ dodatku hemiceluloz na wytrzymałość mechaniczną badaną z wykorzystaniem testu na jednoosiowe rozciąganie, realizowanego w cyklach rozciąganie z wybraną szybkością deformacji - zanik deformacji. Zastosowano dodatkowy etap relaksacji naprężeń próbki pomiędzy cyklami badawczymi. Przeprowadzone badania potwierdziły, że właściwości mechaniczne celulozowo-hemicelulozowych analogów ściany komórkowej roślin determinowane są głównie przez odkształcenie włókien celulozy, w łańcuchu których pośredniczą hemicelulozy. Podczas gdy odkształcenie sprężyste celulozowo-hemicelulozowych analogów ściany komórkowej roślin jest uwarunkowane drganiem rozciągającymi wiązań strukturalnych celulozy i hemicelulozy, odkształcenie plastyczne jest związane ze zmianami na poziomie supramolekularnym zachodzącym w strukturze celulozowo-hemicelulozowych analogów ściany komórkowej roślin.

Do modelowania oddziaływań w układach celuloza pochodzenia mikrobiologicznego - hemicelulozy (publikacja P4), stanowiących analog ścian komórkowych roślin wybrano dyskretny model numeryczny opierający się na dynamice molekularnej. Syntezę celulozy mikrobiologicznej prowadzono z wykorzystaniem wybranych hemiceluloz (ksylanu, arabinoksylianu, ksyloglukanu lub glukomanna) jako substratów a wytworzone materiały kompozytowe poddano badaniom strukturalnym i mechanicznym w nano i makroskali. Fenomenologicznie zachowanie włókien polisacharydów podczas przybliżono za pomocą modelowych kul i sprężyn. Badania strukturalne w skali nano wykonano z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych, która umożliwiła wyznaczenie wartości modułu Yunga łańcuchów polisacharydowych. Właściwości materiałów kompozytowych - analogów ściany komórki roślinnej - badano również w skali makro z wykorzystaniem opisanego we wcześniejszej pracy stanowiska pomiarowego. Wyniki umożliwiły ocenę wpływu zastosowanych hemiceluloz na właściwości mechaniczne celulozowo-hemicelulozowych analogów ściany komórkowej roślin. Wyniki wykorzystano do ewaluacji przyjętego modelu molekularnego, w wyniku której uzyskano zgodność strukturalną pomiędzy wynikami symulacji



Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

właściwości mechanicznych z wykorzystaniem modelu a wynikami badań w skali nano - mikro. Stwierdzono, że o właściwościach mechanicznych materiałów kompozytowych decydują odkształcenia włókien celulozowych, w których pośredniczą hemicelulozy - co można interpretować na korzyść modelu ściany zakładającego architekturę nieuporządkowanej sieci wytworzonej przez wymieszane łańcuchy celulozy i hemiceluloz z lokalnymi punktami o zwiększonej kondensacji łańcuchów polisacharydowych (biomechaniczne hotspoty). Na siłę oddziaływania między włóknami wpływ mają także cechy morfologiczne celulozowo-hemicelulozowych analogów ściany komórkowej roślin, takie jak szerokość/długość/moduł włókna. Wykazano również przydatność modeli opartych na dynamice molekularnej do badania mechanobiologii sieci włókien celulozowych.

W ostatniej części pracy doktorskiej (nieopublikowany artykuł P5) zaprezentowano wyniki badań nad wpływem sposobu związania hemiceluloz w strukturze materiałów kompozytowych. W tym celu wykorzystano jedną z opisanych w pracy przeglądowej (P1) metod polegającą na dekompozycji wybranych składników analogu ściany komórki roślinnej za pomocą enzymów hydrolizujących wybrane hemicelulozy. W wyniku porównania właściwości mechanicznych wyjściowych materiałów kompozytowych i poddanych hydrolizie ustalono, że hemicelulozy niedostępne dla enzymów odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu właściwości mechanicznych materiałów kompozytowych.

Najważniejsze osiągnięcia

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pana mgr inż. Vadyma Chibrikova opiera się na spójnej koncepcji naukowej, zawiera wyniki interdyscyplinarnych badań i ich interpretację a także modelowanie matematyczne i jego ewaluację w oparciu o wyniki doświadczeń. W ocenie recenzenta najważniejszym osiągnięciem pracy jest właśnie zaplanowanie i przeprowadzenie wielowątkowych badań w oparciu o biosyntezę materiałów kompozytowych stanowiących analogi ściany komórkowej roślin, wykorzystanie spektroskopii Ramanowskiej do identyfikacji składników materiałów kompozytowych, zastosowanie osiągnięć z obszaru wytrzymałości materiałów do opisu właściwości mechanicznych analogów ścian komórki roślinnej. Do niezwykle ciekawych wyników należy opracowanie zależności naprężeń od odkształcenia na podstawie modelu i jego weryfikacja w oparciu o dane pochodzące z pomiarów w nano- i makroskali. Najważniejszym osiągnięciem jest wykazanie możliwości zastosowania modeli opartych na dynamice molekularnej do badania właściwości mechanicznych sieci włókien celulozowych.



Uwagi i komentarze

Biorąc po uwagę wymienione wcześniej mocne strony pracy doktorskiej recenzent czuje pewien niedosyt związany z brakiem w rozprawie osobnego rozdziału dotyczącego wprowadzenia do modelowania właściwości mechanicznych w oparciu o równania opisujące oddziaływania w sieci oraz opisu metod numerycznych wykorzystanych podczas symulacji tych właściwości. Podstawowe informacje na ten temat znalazły się w materiałach dodatkowych do publikacji P4 (Chibrikov, V, Pieczywek, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A., 2024. Coarse-grained molecular dynamics model to evaluate the mechanical properties of bacterial cellulose – hemicellulose composites. Carbohydrate Polymers, 121827. DOI: 10.1016/j.carbpol.2024.121827), jednak właśnie ta część pracy wnosi bardzo duży udział w interdyscyplinarny odbiór rozprawy doktorskiej. W związku z tym recenzent bardzo prosi o szerszą dyskusję zagadnień związanych z modelowaniem podczas publicznej obrony pracy doktorskiej.

Lektura ostatniej części pracy doktorskiej (nieopublikowany artykuł P5) w połączeniu informacjami dotyczącymi warunków (m. in. wilgotności) pomiarów wytrzymałości mechanicznej materiałów kompozytowych, a także ich składu chemicznego nasunęła recenzentowi dodatkowe pytanie do Doktoranta dotyczące roli wody w kształtowaniu oddziaływań pomiędzy polisacharydami budującymi ścianę komórki roślinnej oraz jej wpływu na właściwości mechaniczne sieci.

Wniosek końcowy

Ocena przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej jest jednoznacznie pozytywna, dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i poszerza wiedzę w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. W opinii recenzenta rozprawa doktorska pt. “Modeling of mechanical properties of hemicellulose-cellulose networks in plant cell wall analogues” odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim określonym w art. 190 ust. 3 Ustawy z dnia 18 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Agrofii-



Wydział Technologii Żywności
Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego

zyki PAN w Lublinie o dopuszczenie Pana mgr. inż. Vadyma Chibrikova do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wyróżnienie rozprawy doktorskiej Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy i interdyscyplinarny charakter prowadzonych badań, obejmujący wykorzystanie osiągnięć biotechnologii, wytrzymałości materiałów oraz symulacje numeryczne wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. W uzasadnieniu stwierdzam, że wyniki badań prowadzonych przez Pana mgr. inż. Vadyma Chibrikova mają dużą wartość naukową i aplikacyjną, a sposób ich analizy, prezentacji oraz umiejętność współpracy w zespole świadczą o dojrzałości naukowej Doktoranta i dobrym przygotowaniu do dalszej pracy naukowej.

dr hab. inż. Anna Ptaszek, prof. URK