

Rada Naukowa Instytutu Katalizy i Fizykochemii
Powierzchni im. Jerzego Habera
Polskiej Akademii Nauk
ul. Niezapominajek 8
30-239 Kraków
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Dr Maciej Guzik

.....
(imię i nazwisko wnioskodawcy)
Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk
.....
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 27/10/2020

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w **dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych** w dyscyplinie¹ **nauki chemiczne**

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Polihydroksyalkaniiany, bakteryjnie syntetyzowane polimery, jako źródło związków chemicznych do syntezy bioaktywnych cząsteczek i zaawansowanych materiałów

Wnioskuje – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **jawnym**.

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

.....
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy
2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora
3. Autoreferat
4. Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny
5. Oświadczenia o swoim indywidualnym wkładzie w powstałe prace
6. Oświadczenia współautorów wskazujące na ich merytoryczny wkład powstanie każdej pracy
7. Cykl prac tworzących osiągnięcie habilitacyjne (tylko w wersji elektronicznej)
8. Kopie dokumentów potwierdzającymi określone osiągnięcia (tylko w wersji elektronicznej)

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).





Autoreferat

A handwritten signature in blue ink is positioned above the author's name. The signature is fluid and stylized, with a prominent vertical stroke and a horizontal stroke that loops back.

Dr Maciej Wojciech Guzik

Kraków, 22/10/2020

Spis treści

POSIAĐANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO	
STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	3
INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH	4
OMÓWIENIE OSIĄGNIĘCIA, O KTÓRYM MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY	5
TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA, O KTÓRYM MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY	5
LISTA PRAC WCHODZĄCYCH W OSIĄGNIĘCIE HABILITACYJNE.....	5
WSTĘP [H1]	9
SYNTEZA POLIHYDROKSYALKANIANÓW Z ODNAWIALNYCH ŹRÓDEŁ WĘGLA I ICH CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA	12
<i>Projektowanie procesów syntezy biopolimerów PHA z uwzględnieniem aspektu środowiskowego [H2].....</i>	<i>12</i>
<i>Charakterystyka fizykochemiczna syntetyzowanych PHA na przykładzie P(3HO) [H3, H5]</i>	<i>15</i>
ZASTOSOWANIE P(3HO) W PROJEKTOWANIU MATERIAŁÓW DLA MEDYCYN	18
<i>Przykłady materiałów na bazie P(3HO), drogi ich syntezy i charakterystyka materiałów</i>	<i>18</i>
<i>Ocena biologiczna in vitro wytworzonych materiałów</i>	<i>23</i>
PRODUKTY DEPOLIMERYZACJI PHA I ICH ZASTOSOWANIE DO SYNTEZY ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE CZYNNYCH	27
<i>Estry cukrowe kwasów tłuszczowych [H7, H8, H9].....</i>	<i>28</i>
<i>Synteza i charakterystyka podklasy cieczy jonowych – mieszanin głęboko eutektycznych – na bazie</i> <i>monomerów PHA [H10, H11].....</i>	<i>32</i>
PRZYSZŁE KIERUNKI BADAŃ	35
PODSUMOWANIE	35
BIBLIOGRAFIA	36
INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ	41
INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ	44

Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

School of Biomolecular & Biomedical Science, University College Dublin, National University of Ireland, Dublin, Irlandia 18/10/2012

Biomolecular & Biomedical Science, Mikrobiologia; Doktorat (PhD, Irish NFQ level 10)

Chemo-biotechnological conversion of polyethylene to the biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate

Promotor: Prof. dr Kevin O'Connor, Recenzenci: Dr Cormac Murphy, Prof. dr Alexander Steinbüchel

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska 18/06/2008

Magisterium z Ochrony Środowiska, spec. Biologia środowiska

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska 27/06/2007

Licencjat z Ochrony Środowiska

Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk (Kraków, Polska)

Czerwiec 2015- obecnie

Instytut naukowy

2015 – 2017 *Asystent*

2017 – obecnie *Adiunkt*

- Biokatalityczna synteza estrów cukrowych (projekt Sonata NCN, projekt KNOW)
- Produkcja bioplastików do zastosowań medycznych (polihydroksyalkanianów) (Projekt Lider i TechMatStrateg NCBiR)
- Rozwój linii fermentacyjnej wysokich stężeń bakteryjnych
- Synteza zielonych rozpuszczalników (cieczy jonowych) – charakterystyka, zastosowanie

University College Dublin (Belfield, Dublin 4, Irlandia) / Glanbia Ingredients Limited Ireland (Ballyraget, Kilkenny, Irlandia) Czerwiec 2014 – Maj 2015

Uczelnia wyższa/Duże przedsiębiorstwo

Adiunkt (post-doctoral researcher)

Optymalizacja procesu fermentacji kwasu mlekowego na dużą skalę (300 000L) z odpadów poprodukcyjnych sera

Bioplastech Ltd, Dublin (Belfield Innovation Park, Belfield, Dublin 4, Irlandia)

Wrzesień 2012 – Czerwiec 2014

Małe przedsiębiorstwo

Specjalista od rozwoju bioprocessu

- Rozwój bioprocessu wraz optymalizacją – fermentacja dużych gęstości bakteryjnych ukierunkowana na otrzymywanie bioplastiku – polihydroksyalkanianów w fermentorach firmy Sartorius i New Brunswick (skala od 5L do 600L)
- Opracowanie metod przed i poprocesowej obróbki substratów oraz produktów fermentacyjnych w/w skalach. Analityka procesowa (GC, HPLC, chromatografia cieczowa, MS)

University College Dublin (Belfield, Dublin 4, Irlandia)

Wrzesień 2011 – Wrzesień 2012

Uczelnia wyższa

Adiunkt

- Klonowanie i ekspresja rekombinowanych enzymów bakteryjnych (dehydrogenazy acylo-CoA)
- Optymalizacja nadekspresji białek i oczyszczanie enzymów (ÄKTAprime system)
- Projektowanie testów biochemicznych dla wybranych enzymów
- Nauczanie przedmiotów takich jak mikrobiologia ogólna, rolnicza, żywnościowa; nadzorowanie prac laboratoryjnych licencjatów/magistrantów

Omówienie osiągnięcia, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

Tytuł osiągnięcia, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

Polihydroksyalkaniiany, bakteryjnie syntetyzowane polimery, jako źródło związków chemicznych do syntezy bioaktywnych cząsteczek i zaawansowanych materiałów

Lista prac wchodzących w osiągnięcie habilitacyjne

H1) **Guzik MW***, Witko T, Steinbüchel A, Wojnarowska M, Sołtysik M, Wawak S, What has been trending in the research of polyhydroxyalkanoates? A systematic review. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:959, 2020, IF **3,644**

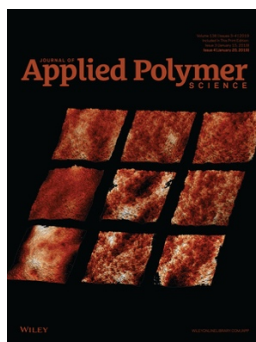
Udział w pracy: 60%; Opracowałem koncepcję pracy, przygotowałem bazę publikacji do analizy, dokonałem częściowej analizy wyników – opisałem trendy 3, 5, 6, 8; stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H2) Nitkiewicz T, Wojnarowska M, Sołtysik M, Kaczmarski A, Witko T, Ingrao C, **Guzik MW***, How sustainable are biopolymers? Findings from a Life cycle assessment of polyhydroxyalkanoate production from rapeseed-oil derivatives., Sci. Total Environ., 749, 141279, 2020 IF **6,551**

Udział w pracy: 55%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem dane wsadowe do analizy LCA, dokonałem częściowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H3) Sofińska, K; Barbasz, J; Witko, T; Dryzek, J; Harażna, K; Witko, M; Kryściak-Czerwenka, J; **Guzik, MW***, Structural, topographical, and mechanical characteristics of purified polyhydroxyoctanoate polimer, J. App. Polymer Sci., 136(4), 47192, 2019, IF **2,520**

Udział w pracy: 55%; Zaplanowałem badania, pozyskałem środki finansowe, nadzorowałem prace, wyprodukowałem polimer do badań, przygotowałem i edytowałem manuskrypt, korespondowałem z recenzentami



Moje badania zostały wyróżnione poprzez stworzenie okładki wydania J. App. Polymer Sci., 136(4) z przedstawionych wyników w powyższej pracy (<https://doi.org/10.1002/app.47326>).

H4) Cichoń, E; Harażna, K; Skibiński, S; Witko, T; Zima, A; Ślósarczyk, A; Zimowska, M; Witko, M; Leszczyński, B; Wróbel, A; **Guzik, MW***, Novel bioresorbable tricalcium phosphate/polyhydroxyoctanoate (TCP/PHO) composites as scaffolds for bone tissue engineering applications, J. Mech. Behav. Biomed. 98, 235-245, 2019, IF **3,372**

Udział w pracy: 55%; Zaprojektowałem badania, nadzorowałem merytoryczne wykonanie pracy, przygotowałem polimer, opracowałem metodę oznaczenia monomerów w roztworze za pomocą HPLC-MS/MS, edytowałem manuskryptu (draft, finalną wersję), korespondowałem z recenzentami, pozyskałem środki na badania.

H5) Witko, T; Solarz, D; Feliksiak, K; Rajfur, Z; **Guzik, MW***, Cellular architecture and migration behavior of fibroblast cells on polyhydroxyoctanoate (PHO): A natural polymer of bacterial origin, Biopolymers, 110(11), e23324, 2019, IF **1,845**

Udział w pracy: 30%; Zaprojektowałem badania, wyprodukowałem polimer, sprawowałem nadzór merytoryczny nad wykonaniem pracy, zdobyłem finansowanie umożliwiające wykonanie prac, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H6) Witko, T; Solarz, D; Feliksiak, K; Rajfur, Z*; Harażna, K.; **Guzik, MW***, Insights into *in vitro* wound closure on two biopolyesters – polylactide and polyhydroxyoctanoate, Materials, 13(12), 2793, 2020, IF=**3,057**

Udział w pracy: 30%; Zaprojektowałem badania, wyprodukowałem polimer, sprawowałem nadzór merytoryczny nad wykonaniem pracy, zdobyłem finansowanie umożliwiające wykonanie prac, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H7) Staroń, J; Dąbrowski, J M; Cichoń, E; **Guzik, MW***, Lactose esters: Synthesis and biotechnological applications, Crit. Rev. Biotechnol. 38(2), 245-258, 2018, IF **8,108**

Udział w pracy: 60%; Zaprojektowałem koncepcje pracy, opisałem część enzymatyczną syntezy estrów laktozy, zdobyłem finansowanie umożliwiające powstanie pracy, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H8) Snoch, W; Tataruch, M; Zastawny, O; Cichoń, E; Gosselin, M; Cabana, H; **Guzik, MW***, Hollow silica microspheres as robust immobilization carriers, Bioorg. Chem. 93, 102813, 2019, IF **4,831**

Udział w pracy: 60%; Zaplanowałem koncepcję badań, pozyskałem środki finansowe do ich realizacji, napisałem i edytowałem manuskrypt, odpowiadałem na recenzje, sprawowałem całościowy nadzór nad wykonaniem badań

H9) Snoch, W; Stępień, K; Prajsnar, J; Staroń, J; Szaleniec, M; **Guzik, MW***, Influence of chemical modifications of polyhydroxyalkanoate-derived fatty acids on their antimicrobial properties, Catalysts, 9(6), 510, 2019, IF **3,520**

Udział w pracy: 60%; Zaprojektowałem badania, pozyskałem środki finansowe na ich wykonanie i publikację, prowadziłem nadzór merytoryczny nad wykonaniem badań, konsultowałem i poprawiałem manuskrypt na wszystkich etapach procesu edytorskiego, przygotowałem odpowiedzi dla recenzentów i korespondowałem z nimi

H10) Haraźna, K; Walas, K; Urbańska, P; Witko, T; Snoch, W; Siemek, A; Jachimska, B; Krzan, M; Napruszewska, BD; Witko, M; **Guzik, MW***, Polyhydroxyalkanoate-derived hydrogen-bond donors for the synthesis of new deep eutectic solvents, Green Chem., 21(11), 3116-3126, 2019, IF **9,480**

Udział w pracy: 55%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem część wyników z biodegradacji (próbki, analiza HPLC-MS), dokonałem całościowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H11) Archer, L.; Jachimska, B.; Krzan, M.; Szaleniec, M.; Hebda, E.; Radzik, P.; Pielichowski, K.; **Guzik, MW***, Physical properties of biomass-derived novel natural deep eutectic solvents based on choline chloride and (R)-3-hydroxyacids, J. Mol. Liq., 315, 113680, IF **5.065**

Udział w pracy: 60%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem kwasy tłuszczowe z PHA oraz część DESów, dokonałem całościowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H12) Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; **Guzik, MW**, Sposób elektroprzędzenia polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434432 do UPRP, 24/06/2020

Udział w pracy: 50%; Opracowałem koncepcję badań, przygotowałem polimer, zaproponowałem rozwiązanie z użyciem chłodziwa, poprawiałem tekst zgłoszenia, prowadziłem postępowanie z Rzecznikiem Patentowym, sfinansowałem badania

H13) Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; **Guzik, MW**, Sposób krystalizacji polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434423 do UPRP, 24/06/2020

Udział w pracy: 50%; Opracowałem koncepcję badań, przygotowałem polimer, poprawiałem tekst zgłoszenia, prowadziłem postępowanie z Rzecznikiem Patentowym, sfinansowałem badania

Sumaryczny IF prac = 52.002, Sumaryczny liczba punktów MNiSW = 1320

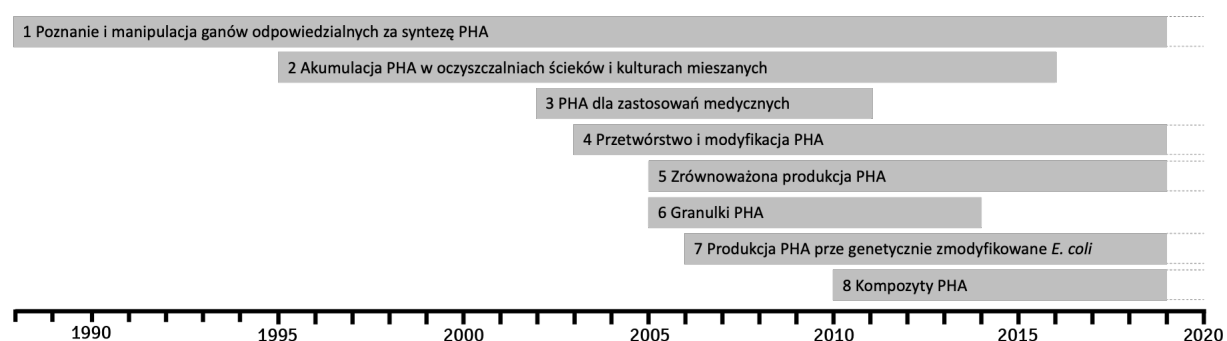
Wstęp [H1]

Większość materii żywej zbudowana jest z wielkocząsteczkowych związków zwanych polimerami. Podstawowymi z nich są nośniki informacji genetycznej organizmów tj. DNA i RNA oraz białka. Niemniej jednak w przyrodzie występuje cała gama innych polimerów o szerokim wachlarzu właściwości biologicznych, chemicznych i fizycznych, takich jak np. polimery roślinne – skrobia, celuloza czy lignina oraz zwierzęce jak np. kolagen, chityna czy chitozan. Biopolimery również powszechnie występują u mikroorganizmów – w królestwach bakterii i archeonów – a jednymi z ciekawszych polimerów przez nie syntetyzowanych są polihydroksyalkaniany (PHA). Po raz pierwszy zostały opisane w 1926 roku przez Lemoigne, który wykazał, że nieznanym materiałem akumulowanym przez *Bacillus magaterium* jest homopoliester kwasu (*R*)-3-hydroksymaślowego [P(3HB)]¹. Jednakże dopiero pod koniec lat pięćdziesiątych wyjaśniono rolę, jaką ten polimer spełnia w metabolizmie komórek bakteryjnych. Mianowicie, Stanier i Wilkinson dowiedli, że granulki P(3HB) w bakteriach służą jako wewnątrzkomórkowa rezerwa źródła węgla oraz energii². Określono również, że substancje te gromadzą się w odpowiedzi na ograniczenie składników odżywczych w środowisku³. Obecność innych hydroksykwasów w komórkach bakteryjnych została potwierdzona w 1974 r. gdy Wallen i Rohwedder zidentyfikowali kopolimer (*R*)-3-hydroksywalerianu i (*R*)-3-hydroksymaślanu [P(3HB-co-3HV)] w ekstraktach aktywowanego osadu ściekowego⁴. Doświadczenia prowadzone przez De Smet i współpracowników na hodowli *Pseudomonas oleovorans* karmionej n-oktanem otworzyły kolejny rozdział w badaniach nad PHA. Dowiedziono, że utworzony polimer składa się głównie z jednostek (*R*)-3-hydroksyoktanowych [P(3HO)]⁵. Był to pierwszy przypadek, gdy opisano akumulację innych jednostek monomerycznych niż kwas (*R*)-3-hydroksymaśłowy czy (*R*)-3-hydroksywalerianowy.

Polihydroksyalkaniany należą do grupy biodegradowalnych, aktywnych optycznie poliestrów. Mogą być gromadzone przez bakterie w nie zrównoważonych warunkach ich wzrostu, tj. gdy ograniczone zostają składniki odżywcze takie jak związki azotu, fosforu, siarki, tlenu bądź magnezu⁶⁻⁸. Materiały te akumulowane są w postaci wewnątrzkomórkowych hydrofobowych granulek (karbonosmów), które zazwyczaj mają średnicę od 0,2 do 0,7 μm i składają się w 97,7% z PHA, 1,8% z białek oraz 0,5% z lipidów⁹. Dzięki zastosowaniu różnych substratów węglowych, warunków hodowli i starannej selekcji gatunków bakterii, zidentyfikowano wiele monomerów PHA. Wiadomo, że około 150 różnych kwasów hydroksylowych występuje jako składniki PHA^{10,11}, co czyni je największą grupą naturalnych poliestrów¹¹. Co więcej liczba różnych monomerów stale rośnie poprzez modyfikacje ich struktury wprowadzane na drodze syntezy chemicznej. We wszystkich scharakteryzowanych dotychczas naturalnych PHA, hydroksylowany atom węgla ma konfigurację *R* ze względu na stereospecyficzność enzymów biosyntezujących PHA, tj. dehydrogenazy 3-hydroksyacylo-CoA, (*R*)-

specyficznej hydratazy enoilo-CoA i 3-hydroksyacylo-ACP:CoA transferazy¹². Polimery te można również otrzymywać metodami tradycyjnej syntezy chemicznej. Dla przykładu PHB może być syntezowany na drodze polimeryzacji z otwarciem pierścienia β -butyrolaktonu, katalizowanej przez sole anionowe, bądź w obecności enzymów, która skutkuje otrzymaniem materiału o różnej taktyczności^{13,14}. PHA to głównie liniowe poliestry składające się z (*R*)-3-hydroksykwasów, w których wiązanie estrowe powstaje pomiędzy grupą karboksylową jednego monomeru i grupą hydroksylową sąsiadującego monomeru⁷. W przeważającej większości cząsteczek merów budujących łańcuch PHA podstawnik *R*-OH zlokalizowany jest przy trzecim (β) atomie węgla cząsteczki. Jednakże istnieją również polimery, których podstawnik *R*-OH znajduje się w 4 oraz 5 pozycji łańcucha węglowego, takie jak np. P(4HB) czy P(5HV)^{15,16}.

Różnorodność rodziny polimerów PHA spowodowała, na przestrzeni ostatnich 50 lat, lawinowy wzrost zainteresowania tymi związkami w kręgach naukowych jak i w szeroko rozumianym przemyśle. Większość przedstawicieli PHA posiada dwie niezmiennie atrakcyjne cechy – polimery te są biogodne oraz biodegradowalne, a to otwiera drogę do szerokich możliwości ich zastosowań zarówno w życiu codziennym jak i w zastosowaniach medycznych. W opublikowanym przeglądzie systematycznym opisałem trendy jakie istniały i istnieją w dziedzinie badań nad polihydroksyalkanianami¹⁷ [H1]. Używając zaawansowane algorytmy (np. HDBSCAN – *Hierarchical Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise*) przebadaliśmy wraz z naukowcami z Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie zbiór 2227 pełno tekstowych oryginalnych prac badawczych w tematyce PHA dostępnych w Web of Science Core Collection. Próbką ta umożliwiła wyłonienie ośmiu trendów definiujących kluczowe kierunki badań w tej dziedzinie (**Rysunek 1**).



Rysunek 1 Ośmiu zidentyfikowanych trendów w badaniach poświęconym polihydroksyalkanianom

Główne nurty badawcze skierowane są na poznanie mechanizmów syntezy biopolimerów PHA. Ciągłe odkrywane są nowe geny i ich połączenia w różnych mikroorganizmach, które odpowiedzialne są za produkcję aparatu biochemicznego umożliwiającego syntezę PHA (trend 1). W celu ich lepszego poznania przenoszone są do organizmów dobrze poznanych, takich jak *Escherichia coli* (trend 7).

Skutkuje to konstrukcją nowych i wydajnych szczepów genetycznie modyfikowanych używanych do syntezy skrojonych na miarę polimerów PHA. Nie mniej ważny aspekt na pograniczu genetyki, biochemii i fizjologii mikroorganizmów dotyczy poznawania natury karbonsomów, czyli granulek w których odkładane są PHA, i możliwości wykorzystania ich potencjału w biochemii, immunologii czy medycynie (trend 6).

Równie istotnym jawią się zagadnienia opisywane w literaturze takie jak synteza i zastosowanie PHA. Z punktu widzenia przedstawianego osiągnięcia habilitacyjnego, są to dwa najważniejsze aspekty. Ogrom wysiłku naukowego kładziony jest na poznawanie procesów syntezy PHA w mikroorganizmach. Istnieją tutaj dwie szkoły. Pierwsza zakłada manipulacje genetyczne wybranych szczepów produkcyjnych w celu maksymalizacji biomasy jak i zawartości polimeru, a przykładem mogą być badania opisywane w trendzie 7. Podejście takie z pewnością zapewnia zwiększone wydajności w niektórych przypadkach, jednakże zastosowanie tak opracowanych technologii w poszczególnych państwach jest problematyczne (np. kraje Unii Europejskiej posiadają ograniczenia w stosowaniu genetycznie modyfikowanych organizmów). Z drugiej strony opracowywane są technologie produkcji PHA, którym przyświecają idee zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju oraz wykorzystują szczepy typu dzikiego. Można tu wymienić procesy optymalizowane dla syntezy PHA w oczyszczalniach ścieków na kanwie mieszanych kultur bakteryjnych (trend 2) czy takie, które wykorzystując monokultury, prowadzone są na odnawialnych źródłach węgla i energii (trend 5). W kolejnej części dysertacji habilitacyjnej zostaną przedstawione właśnie takie procesy fermentacyjne prowadzące do powstawania polimerów PHA, które wykorzystują pochodne biomasy – kwasy tłuszczowe i glicerol – oraz szczepy typu dzikiego izolowane ze środowiska. Omówiony zostanie również aspekt środowiskowy ich produkcji z naciskiem na analizę cyklu życia przeprowadzoną dla produkcji wybranych polimerów z odnawialnych źródeł węgla¹⁸ [H2]. Dalej czytelnik zostanie zapoznany z potencjałem jaki tkwi w polimerach PHA na przykładach przeprowadzonych badań wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego. W pierwszej kolejności zostaną opisane podstawowe właściwości polimerów PHA¹⁹ [H3]. Kolejno zostanie opisana synteza hybrydowych materiałów ceramiczno-polimerowych, do konstrukcji których wykorzystywane są polimery PHA²⁰ (badania wpisujące się w trend 8 na podstawie pracy H4). Opracowane materiały na bazie PHA, czy to wyłącznie polimerowe czy hybrydowe, są obiecującymi alternatywami dla zastosowań medycznych (trend 3). W niniejszej rozprawie zostaną przedstawione wyniki badań ukazujące właśnie ten potencjał otrzymanych opatrunków i implantów kości^{21,22} [H4, H5, H6, H12, H13].

Jednakże nie na tym kończą się możliwości aplikacyjne PHA. Polimery te zbudowane są z optycznie aktywnych i chiralnych (*R*)-3-hydroksykwasów. Cząsteczki te posiadają dwie łatwo modyfikowalne grupy chemiczne – karboksylową i hydroksylową. Stwarza to potencjał do wykorzystywania ich w szeroko rozumianej syntezie chemicznej. Dowiedziono na przykład, iż

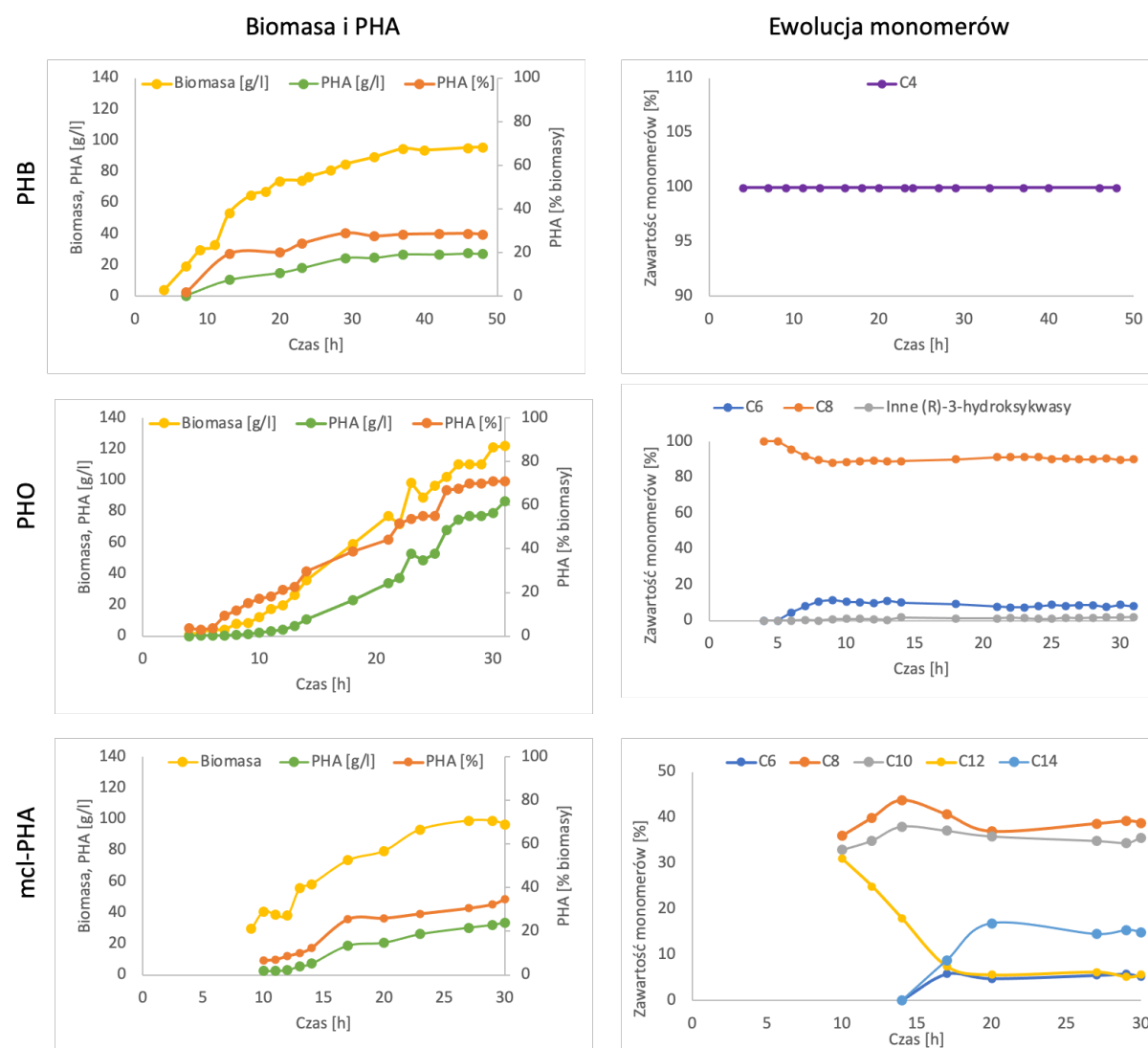
połączenie (*R*)-3-hydroksykwasów z krótkim peptydem antynowotworowym znacząco zwiększa jego aktywność biologiczną^{23,24}. Wiadomo również, że związki na bazie (*R*)-3-hydroksykwasów wykazują działanie przeciw mikrobiologiczne, jak zostało to pokazane względem panelu bakterii i drożdżaków chorobotwórczych²⁵. Podążając tą drogą opracowałem metody biokatalitycznej syntezy nowej rodziny związków opartych na (*R*)-3-hydroksykwasach, a mianowicie estrów cukrowych kwasów tłuszczowych^{26,27} [H7, H8]. W niniejszej rozprawie habilitacyjnej zostaną omówione również metody syntezy organicznej umożliwiającej modyfikację grupy (*R*)-3-hydroksylowej monomerów PHA poprzez eterowe jej podstawienie małowcząsteczkowymi związkami zawierającymi fluor²⁸ [H9]. Tak zsyntetyzowane związki wykazują potencjał do wykorzystania ich w przemysłach kosmetycznym, farmaceutycznym i żywieniowym, nie tylko ze względu na ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe czy antynowotworowe, lecz również czynny powierzchniowo charakter²⁸ [H9]. Ciekawym aspektem, o dużym potencjale aplikacyjnym w selektywnej ekstrakcji komponentów biomasy, jawi się również wykorzystanie monomerów PHA do syntezy zielonych rozpuszczalników. Przedstawiona zostanie synteza głębokich eutektyków (DES), w których donorami wiązań wodorowych są (*R*)-3-hydroksykwasy. Omówione zostaną wybrane aspekty właściwości fizycznych zsyntetyzowanych DESów powstałych na bazie monomerów PHA oraz chlorków choliny, 1-etylo-3-metyloimidazolu czy tributylometyloamoni^{29,30} [H10, H11].

Synteza polihydroksyalkanianów z odnawialnych źródeł węgla i ich charakterystyka fizykochemiczna

Projektowanie procesów syntezy biopolimerów PHA z uwzględnieniem aspektu środowiskowego [H2]

Procesy prowadzące do syntezy polimerów PHA w dominującej liczbie przeprowadzane są na drodze fermentacji bakteryjnej. Mikroorganizmy te są w stanie przyswoić rozmaite organiczne źródła węgla w celu proliferacji, co wiąże się z przyrostem biomasy i w niektórych przypadkach syntezą polimerów PHA. Obecne trendy dążą do zrównoważonego wykorzystywania zasobów naturalnych, innymi słowy odnawialnych źródeł węgla, w produkcji polimerów PHA. Możemy wyróżnić tutaj zasoby pierwotne i wtórne³¹. Te pierwsze obejmują produkcję rolniczą stricte przeznaczoną pod syntezę PHA na drodze fermentacji – tzn. uprawę kukurydzy w celu pozyskania glukozy czy uprawę roślin oleistych, z których uzyskuje się olej, a następnie kwasy tłuszczowe i glicerynę. Nie są to scenariusze pożądane, ponieważ bezpośrednio konkurują z łańcuchem pokarmowym człowieka. Z tego powodu główny nacisk badawczy położony jest na wykorzystanie surowców wtórnych, generowanych w dużych ilościach jako frakcje odpadowe z innych procesów³². Dla przykładu, mogą to być cukry pochodzące z odpadów sektora rolnego i leśnego, glicerol powstający jako produkt uboczny podczas produkcji biodiesla,

frakcja organiczna odpadów komunalnych, itp. Opracowana metodologia syntezy polimerów PHA omówiona w niniejszym osiągnięciu dotyczy przede wszystkim wykorzystania naturalnych substratów pochodzenia roślinnego – kwasów tłuszczowych oraz glicerolu – pierwszej czy drugiej generacji. Wykorzystanie tych dwóch typów zasobów, w połączeniu z odpowiednim doбором szczepu produkcyjnego, pozwala uzyskać gamę polimerów PHA o szerokim wachlarzu właściwości fizykochemicznych.



Rysunek 2 Porównanie bioprocessów pozwalających na akumulację trzech różnych polimerów PHA: poli(hydroksymaślanu) (P(3HB)), poli(hydroksyoktatanu) (P(3HO)) i średnio łańcuchowego PHA z kwasów tłuszczowych (mcl-PHA). Kolumna lewa przedstawia akumulację biomasy i PHA w czasie. Kolumna prawa przedstawia ewolucję poszczególnych monomerów w czasie fermentacji, gdzie C4 – (R)-3-hydroksymaślan, C6 – (R)-3-hydroksyheksanian, C8 – (R)-3-hydroksyoktanian, C10 – (R)-3-hydroksydekanian, C12 – mieszanina nasyconego i nienasyconego (R)-3-hydroksydodekadianu, C14 – mieszanina nasyconego i nienasyconego (R)-3-hydroksytetradekadianu.

Stworzone przeze mnie bioprocessy w skali 5L fermentacji pozwoliły na efektywną syntezę trzech rodzajów polimerów: twardego i kruche go P(3HB), elastomerycznego P(3HO) oraz półpłynnego polimeru średnio łańcuchowego (*medium chain length*) mcl-PHA. Pierwszy syntetyzowany jest z glicerolu przy użyciu szczepu *Zobellella denitrificans* MW1, dwa pozostałe powstają z kwasu

oktanowego i fermentacji *Pseudomonas putida* KT2440 oraz mieszaniny kwasów pochodzących z oleju rzepakowego i fermentacji *P. putida* CA3. Procesy fermentacji P(3HO) i mcl-PHA znacząco różnią się od procesu prowadzącego do pozyskania P(3HB) (Rysunek 2). Fermentacje oparte na kwasach tłuszczowych są do siebie zbliżone. Prowadzi się je wykorzystując syntetyczne medium mineralne, które zaprojektowane jest odpowiednio tak aby wywrzeć na bakteriiach presję środowiskową pozbywając ich w pewnym momencie (około 20 h hodowli) dostępnych fosforanów. Ponadto steruje się tempem podawania substratu w taki sposób, aby hodowla nigdy nie osiągnęła maksymalnego tempa wzrostu (μ_{max}). Powoduje to liniowe tempo odkładania polimerów PHA. Proces prowadzi się przez ok. 30 godzin³³. Natomiast wydajność procesu syntezy P(3HB) nie jest uzależniona od wywarcia podobnego stresu. Tu medium hodowlane zaprojektowane jest tak aby wszystkie składniki mineralne i glicerol były zawsze w nadmiarze. Różnice te wynikają z dwóch powodów – zastosowanego substratu oraz metabolizmu szczepu produkcyjnego. Kwasy tłuszczowe są szybko przyswajalne przez *Pseudomonas* spp. Nadmierna i nieodpowiednio dobrana ich ilość powoduje wzmożoną aktywność metaboliczną zastosowanych szczepów, zwiększenie zapotrzebowania na tlen, co bezpośrednio prowadzi do komplikacji metabolicznych poprzez ograniczony transfer tego gazu do bakterii w medium hodowlanym. Sprawa wygląda inaczej podczas syntezy P(3HB) – glicerol nie jest tak wydajnie metabolizowany przez *Z. denitrificans* przez co może być obecny w nadmiarze podczas całego procesu³⁴. Powstające z niego P(3HB) syntetyzowane jest przez ten szczep niezależnie od tempa wzrostu pozostałej biomasy. Śledząc procesy syntezy mcl-PHA i P(3HO) możemy zauważyć pewną prawidłowość w zakresie jakości monomerów wchodzących w ich skład w czasie fermentacji. Wraz ze wzrostem procentowej ilości obu polimerów względem całej biomasy (**Rysunek 2**) można zważyć, iż między czasem T5h a T20h ustala się końcowa proporcja poszczególnych (R)-3-hydroksykwasów względem siebie i utrzymuje się w stałej zależności do końca procesu. Podsumowując, opracowane przeze mnie procesy fermentacji pozwalają na efektywną konwersję wymienionych substratów do wysokich stężeń bakteryjnych (*high cell density fermentations*) zawierających znaczne ilości PHA w materiale biologicznym.

W celu poznania rzeczywistego wpływu na środowisko naturalne opracowanych technologii syntezy biopolimerów PHA dokonałem analizy cyklu życia tychże procesów (*life cycle assessment*, LCA). W pracy [H2] porównywałem trzy prawdopodobne scenariusze umożliwiające syntezę P(3HB) oraz mcl-PHA z substratów pochodzących z oleju rzepakowego. Scenariusz 1 zakłada syntezę obu polimerów z glicerolu czy kwasów tłuszczowych pochodzących z nieprzetworzonego oleju rzepakowego, scenariusz 2 dotyczy produkcji P(3HB) z odpadowej gliceryny pochodzącej z instalacji biodiesla, a scenariusz 3 zakłada syntezę P(3HB) i mcl-PHA z glicerolu i kwasów tłuszczowych pochodzących z posmażalniczego oleju rzepakowego. Wyniki LCA jasno pokazały środowiskową przewagę procesów wykorzystujących strumienie odpadowe jako substraty do syntezy polimerów

PHA. Z drugiej strony synteza P(3HB) z użyciem *Z. dentrificans* okazała się mniej przyjazna dla środowiska, a wynika to bezpośrednio z małych wydajności procesowych w porównaniu do syntez mcl-PHA. Niemniej jednak należy podkreślić, że przeprowadzona analiza LCA dotyczyła procesów prowadzonych wyłącznie w skali laboratoryjnej. Czynniki takie jak skalowanie procesów w górę, czystość substratów używanych do syntezy PHA jak i optymalizacja nakładów energetycznych i zasobowych przy zwiększonej skali z pewnością będą oddziaływały na wyniki przyszłych analiz LCA^{7,35}.

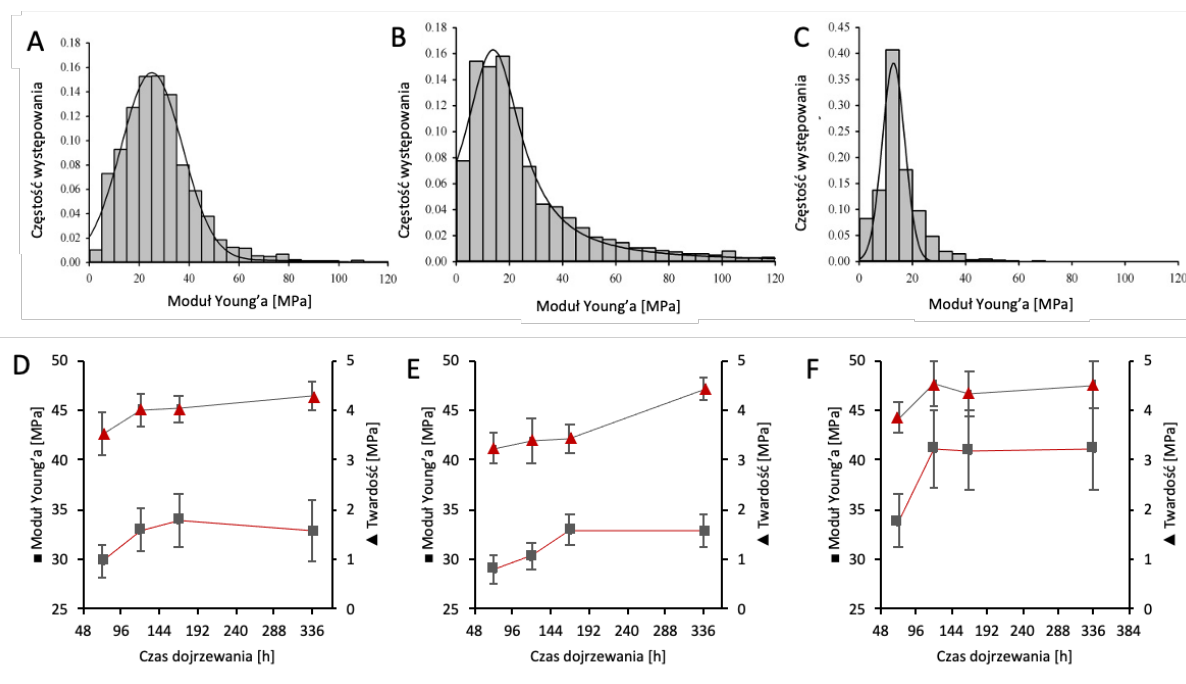
Charakterystyka fizykochemiczna syntetyzowanych PHA na przykładzie P(3HO) [H3, H5]

Polihydroksyoktanian jest stosunkowo słabo poznanym przedstawicielem średnio łańcuchowych PHA. Posiada interesującą charakterystykę materiałową, m.in. jest polimerem elastomerycznym i biogodnym, co sprawia, że potencjalnie może być zastosowany do konstrukcji implantów i materiałów medycznych³⁶. Właśnie z powyższych przyczyn podjąłem badania mające na celu przybliżenie właściwości fizykochemicznych tego polimeru. P(3HO) syntetyzowany jest z kwasu oktanowego przy pomocy *P. putida* KT2440 w sposób opisany w poprzednim podrozdziale. Wykorzystywany jest szczep Gram-negatywny, który charakteryzuje się również możliwością syntezy innych biopolimerów, a w tym lipopolisacharydu (LPS). LPS jest znaną endotoksyną a jej występowanie jest niepożądane w produktach medycznych, ponieważ wywołuje silną reakcję immunologiczną organizmu człowieka³⁷. Na proces ekstrakcji polimerów PHA składa się kilka kroków: zwirowana biomasa jest w pierwszej kolejności liofilizowana, następnie poddawana ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym, a w ostatniej fazie procesu następuje strącanie polimeru z zagęszczonego roztworu rozpuszczalnika w lodowatym roztworze alkoholu (metylowym, etylowym lub ich mieszaniny z wodą). Studiując dostępną literaturę dotyczącą ekstrakcji polimerów PHA podjąłem decyzję o zastosowaniu octanu etylu w procesie ekstrakcji oraz uwzględnieniu dodatkowego kroku przed strąceniem polimeru w alkoholu jakim, a mianowicie zastosowaniu filtracji r-r polimeru przez węgiel aktywny w tandemie z filtrem 0.2 μm ³⁷. Działanie takie zapewnia eliminację niepożądanych zanieczyszczeń występujących w PHA w stopniu umożliwiającym ich zastosowanie w medycynie. Dla celów porównawczych wpływu rozpuszczalnika na przygotowanie materiału do celów medycznych zostały przygotowane trzy rodzaje filmów P(3HO) – wylane z r-r octanu etylu, acetonu i chloroformu. Tak przygotowane próbki P(3HO) po dwutygodniowym okresie dojrzewania zostały poddane szerokim badaniom fizykochemicznym, które pozwoliły uzupełnić obecną w literaturze lukę wiedzy na temat tego biopolimeru.

W pracy [H3] dzięki zastosowaniu szeregu metod analitycznych opisałem podstawowe parametry materiałowe P(3HO). Kompozycja ilościowa polimeru została potwierdzona dzięki wykorzystaniu chromatografii gazowej (GC-FID) oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) – P(3HO) składa się w 91 mol% z (*R*)-3-hydroksyoktanianu, w 7 mol% z (*R*)-3-hydroksyheksanianu oraz w 2 mol% z innych (*R*)-3-hydroksykwasy. Wykorzystując żelową

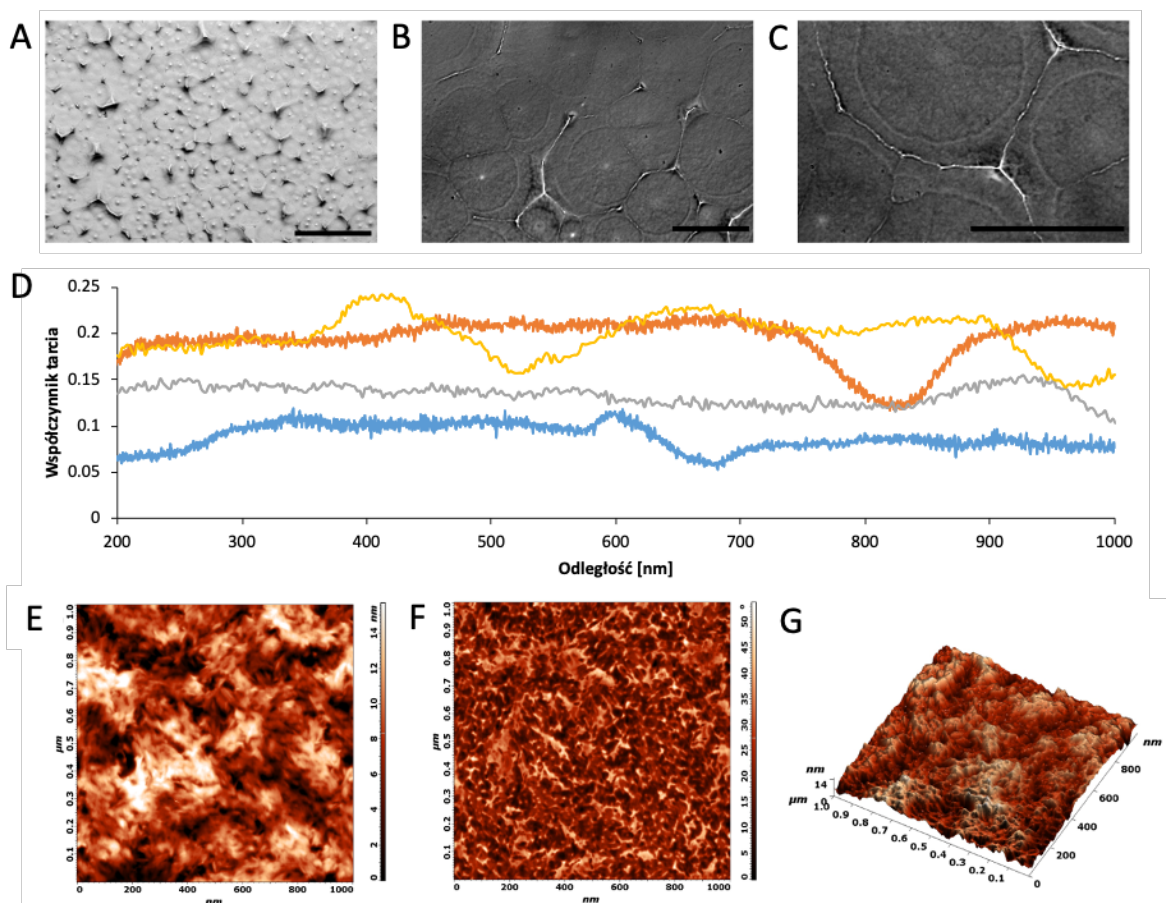
chromatografię wykluczenia GPC określiłem średnią masę cząsteczkową ($M_n = 73,0$ kDa) oraz średnią ważoną masę cząsteczkową ($M_w = 137$ kDa) dla tego polimeru, co pozwoliło na określenie stopnia dyspersyjności rzędu 1,88 mieszczącego się w granicach podawanych dla syntetycznych polimerów. Stopień krystaliczności ($X_{C,XRD} = 36,7\%$), wyznaczony dzięki pomiarom dyfrakcji rentgenowskiej, tłumaczy elastomeryczny charakter tego polimeru, którego większa część objętości budowana jest przez regiony amorficzne. Objętość ta charakteryzuje się również nanometrycznymi wolnymi przestrzeniami o średniej wielkości $17,9 \text{ nm}^3$ co wykazały pomiary z wykorzystaniem spektroskopii anihilacji pozytronowej (PALS). Ponadto zarejestrowane widmo IR polimeru było typowym dla całej rodziny PHA. Polimer P(3HO) posiada punkt zeszklenia w temperaturze $-35,4^\circ\text{C}$ a topi się w $52,8^\circ\text{C}$, dzięki czemu z powodzeniem może być wykorzystywany do konstrukcji materiałów mających kontakt z ludzkim ciałem ($36,6^\circ\text{C}$). Jest też polimerem termowytężalnym, gdyż zaczyna ulegać degradacji w temperaturze $278,5^\circ\text{C}$.

Wykorzystanie technik takich jak nanoindentacja (NI) czy spektroskopia sił atomowych (FS) pozwoliły mi na określenie lokalnych właściwości mechanicznych spreparowanych filmów P(3HO) [H3, H5]. Zazwyczaj w literaturze określa się globalne parametry mechaniczne danego polimeru^{38–40}, jednakże poznanie lokalnych wartości w nanoskali może być istotne do zrozumienia zachowania komórek na badanym materiale. Otrzymane uśrednione wartości modułów Young’a dla sporządzonych filmów z FS nie odbiegały znacząco od tych otrzymywanych w badaniach globalnych ($12.6 - 25.4 \text{ MPa}$ vs $11.4 - 14.0 \text{ MPa}$). Pomiary te jednak pokazały jak te wartości rozkładają się na powierzchni materiału (**Rysunek 3, Panele A,B,C**). Najbardziej jednorodną dystrybucję modułów Young’a opisujących lokalne wartości sztywności otrzymano w przypadku P(3HO) wylanego z chloroformu, z drugiej strony największy rozrzut zaobserwowałem dla polimeru otrzymanego z r-r acetonu. Komplementarne badania z użyciem NI dostarczyły zbliżonych wyników modułów Young’a ($33\text{--}41 \text{ MPa}$), jednakże obarczonych znacznie większym błędem pomiarowym (średnio 10% ; **Rysunek 3, Panele D,E,F**). Ta nieznaczna rozbieżność w uzyskanych wartościach związana jest z zastosowaną techniką pomiarową. Nanoindentacja dostarczyła także kolejnych cennych wiadomości na temat właściwości mechanicznych filmów P(3HO), a mianowicie informacji o ich twardości ($3.2 - 4.5 \text{ MPa}$) oraz współczynnika tarcia ($0.198 - 0.202$). Pomiary przeprowadzone w momencie od momentu preparatyki filmu pozwoliły na określenie czasu potrzebnego na maturację filmów. Dwutygodniowy okres starzenia pozwala na otrzymanie preparatu stabilnego pod kątem jego właściwości mechanicznych.



Rysunek 3 Rozkład lokalnych modułów Young'a [MPa] dla filmów P(3HO) wylanych na podłoże szklane z r-r octanu etylu (Panel A), r-r acetonu (Panel B) i r-r chloroformu (Panel C) uzyskane z pomiarów spektroskopii sił atomowych. Histogramy zostały obliczone przy użyciu 2800 - 3200 punktów pomiarowych. Linia ciągła przedstawia dopasowanie Gaussa do danych eksperymentalnych [H3]. Rozkład lokalnych modułów Young'a [MPa] oraz twardości [MPa] dla filmów P(3HO) wylanych na podłoże szklane z r-r octanu etylu (Panel D), r-r acetonu (Panel E) i r-r chloroformu (Panel F) uzyskane z pomiarów nanoindentacji. Wyniki otrzymano dla 5 różnych filmów, dla każdego rozpuszczalnika i czasu dojrzewania. Na każdej próbce wykonano 10 pomiarów. [H5]

Ponadto techniki mikroskopowe pozwoliły mi na zwizualizowanie powierzchni przygotowanych filmów w różnych skalach [H3]. Mikroskopia w świetle spolaryzowanym uwidoczniła nierówności powierzchni w skali mikrometrycznej (Rysunek 4, panele A,B,C). Zaobserwowałem koliste i eliptyczne zaburzenia powierzchni powstające prawdopodobnie z różnic miejscowego tempa krystalizacji przygotowanych filmów. Korelowało to z otrzymanymi z nanoindentora przebiegami krzywych zarysowań na długości 1000 nm (Rysunek 4, panel D). Dzięki zastosowaniu mikroskopii sił atomowych (AFM) byliśmy w stanie zaobserwować powierzchnię w nano skali, która z punktu widzenia oddziaływania komórka-substrat jawi się najbardziej istotną (Rysunek 4, panele E,F,G). W tym powiększeniu i niezależnie od rozpuszczalnika zaobserwowałem, iż otrzymane powierzchnie P(3HO) były relatywnie płaskie i jednorodne, co bezpośrednio może przekładać się na jakość adhezji komórek, ich proliferację czy tworzenie się biofilmu bakteryjnego. Przeprowadzona analiza zdjęć AFM wykazała, że chropowatość powierzchni wynosiła 4.5 – 5.9 nm dla zdjęć z powierzchni 25 μm^2 . Dla porównania, chropowatości powierzchni uzyskane dzięki zastosowaniu bardzo zbliżonej metodologii i dla takiego samego obszaru, wynosiły odpowiednio: ~15 nm dla polikwasu mlekowo-glikolowego (PLGA); ~105 nm dla tytanu; 15 – 35 nm dla nanokompozytu PLGA-tytan; a dla kości ten współczynnik wyniósł ~76 nm⁴¹.



Rysunek 4 Powierzchnia polimeru P(3HO). Obrazy powierzchni polimeru w świetle spolaryzowanym dla filmu przygotowanego z r-r- z octanu etylu w powiększeniach 500 μm (Panel A), 50 μm (Panel B) i 5 μm (Panel C). Przebieg krzywych zarysowań dla filmu P(3HO) (Panel D). Obrazy AFM filmu P(3HO) otrzymanego z roztworu w octanie etylu (1 x 1 μm^2): topografia powierzchni (Panel E), kontrast fazowy (Panel F) i obraz 3D (Panel G) [H3].

Zastosowanie P(3HO) w projektowaniu materiałów dla medycyny

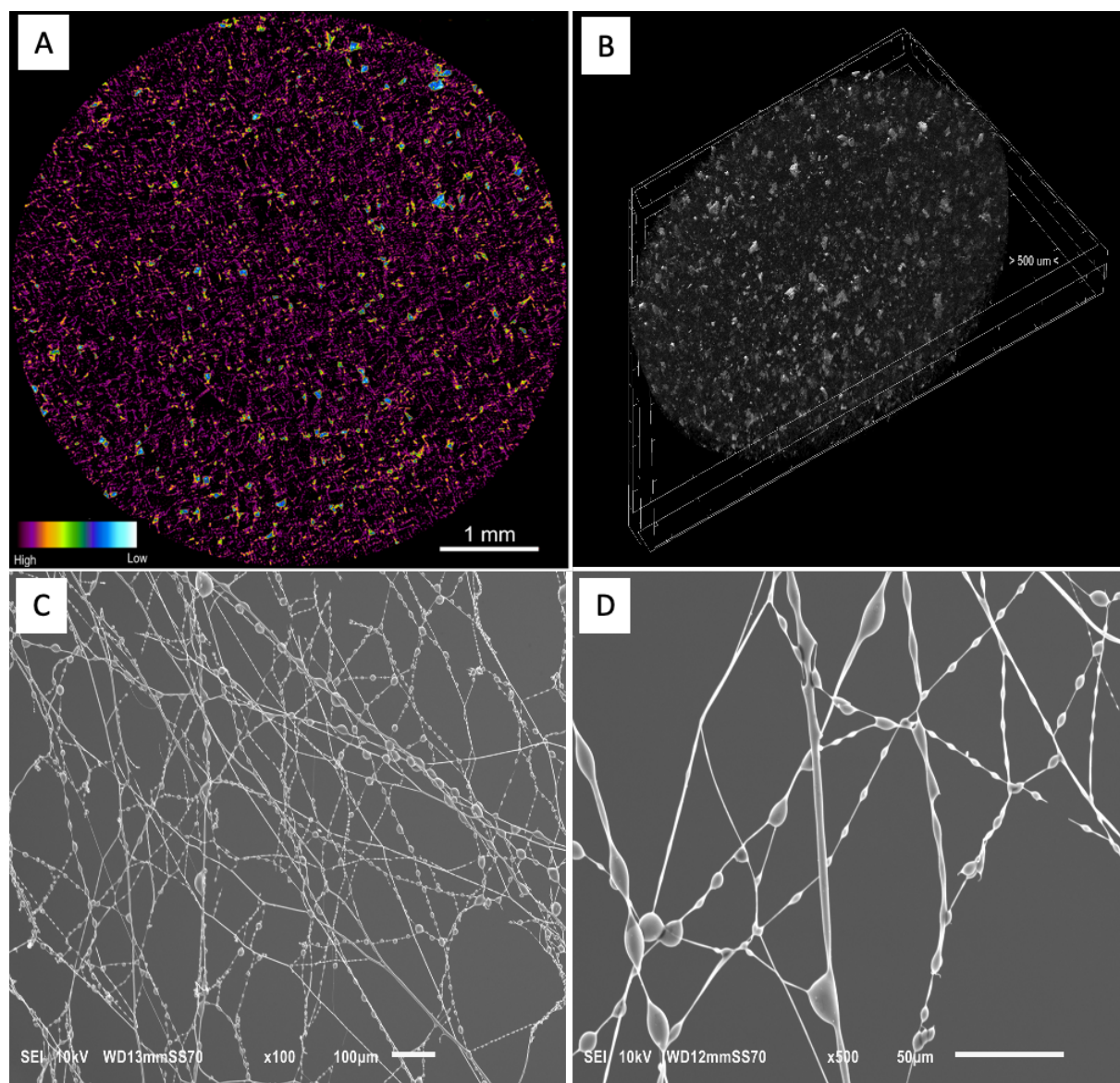
Przykłady materiałów na bazie P(3HO), drogi ich syntezy i charakterystyka materiałów

Synteza opatrunków na bazie P(3HO) [H12, H13]

Rynek opatrunków jest jednym z prężnie rozwijających się obszarów materiałów medycznych. Obecnie wyceniany jest na ok. 7,0 miliarda USD z projekcją iż osiągnie on 11,2 miliarda USD w 2025 roku przy utrzymującym się tempie 9,7% wzorstu⁴². Istnieje również duże zapotrzebowanie na syntezę biogodnych materiałów z odnawialnych źródeł węgla. W te dwa nurty wpisują się materiały oparte na PHA. Z powyższych powodów podjąłem próby syntezy takich materiałów na bazie elastomerycznego P(3HO).

Pierwszą opracowaną metodą było wykorzystanie metodologii odlewu matrycy z roztworu polimeru na ziarnach porogenu. W charakterze porogenu zastosowaliśmy przesiane ziarna chlorku sodu o wielkości od 100 do 300 μm . Eksperymentalnie dobraliśmy również stężenie roztworu P(3HO) w octanie etylu, co umożliwiło efektywne i równomierne opłaszczanie ziaren NaCl przez polimer. Po odparowaniu rozpuszczalnika materiały poddane zostały płukaniu w celu odmycia ziaren soli; w efekcie

wytworzone zostały cienkie, miękkie pianki. Materiały te poddałem analizie mikrotomografii komputerowej (μ CT) w celu zobrazowania powstałych porów, poznania czy istnieją między nimi kanały łączące (otwarta porowatość) oraz analizy procesu wypłukania porogenu. Badania wykazały, iż dla użytego 5% r-r P(3HO) średnia wielkość powstałych porów wynosiła 179 μ m przy uzyskanej 98% porowatości (**Rysunek 5, Panele A i B**). Niemniej nie wszystkie pory posiadały kanały umożliwiające prawidłowe wypłukanie chlorku sodu, a na mikrofotografiach widoczne są jego znikome pozostałości (jasnoniebieskie obszary).



Rysunek 5 Synteza opatrunków na bazie P(3HO). Zrekonstruowany przekrój poprzeczny pianki uzyskanej z 5% r-r P(3HO) (Panel A) i jej trójwymiarowe odwzorowanie (Panel B). Obrazy SEM uzyskanych włókien P(3HO) metodą elektroprzędzenia (Panele C i D).

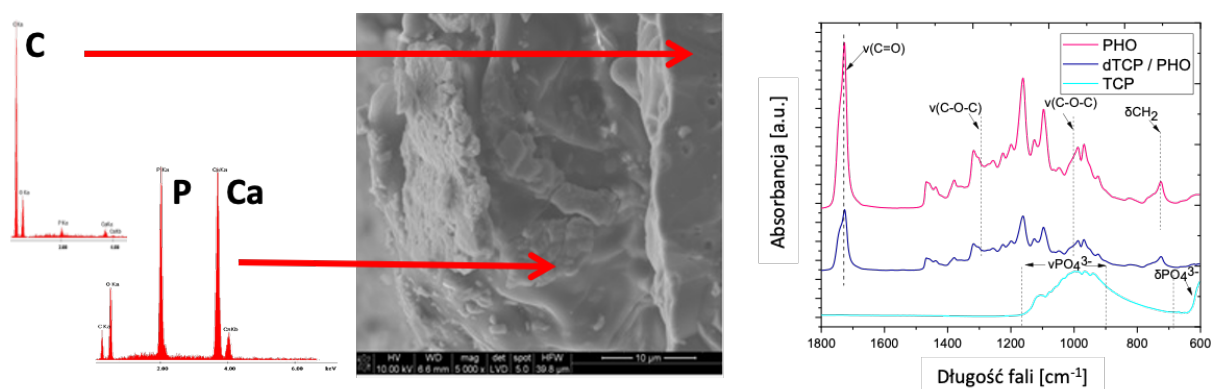
Drugą zastosowaną metodą było wykorzystanie techniki elektroprzędzenia. We współpracy z naukowcami z Politechniki Krakowskiej podjęliśmy próby przędzenia nanowłókien z roztworu. Dobrane początkowe warunki nie pozwalały na osiągnięcie materiału o dobrej charakterystyce – włókna zlepiały się na kolektorze od razu po osiągnięciu kontaktu z podłożem tworząc jednorodną warstwę filmu P(3HO). Moim autorskim pomysłem było zastosowanie chłodziwa, w tym przypadku ciekłego azotu w procesie przędzenia, co pozwoliło na uzyskanie nanowłókien o nanometrycznej średnicy (**Rysunek 5, Panele C i D**). Część z otrzymanych włókien charakteryzowała się jednolitą budową, a część posiadała dodatkowo swoiste koraliki. Niestety nie udało się wyeliminować tej postaci włókien poprzez manipulację parametrami procesu. Wykazaliśmy równolegle, że przedmuchiwanie powierzchni uprzedzonej maty sprężonym powietrzem pozwala skrócić czas dojrzewania polimeru z ok. dwóch tygodni do trzech godzin. Na kanwie przeprowadzonych doświadczeń dokonałem wraz ze współpracownikami z Politechniki Krakowskiej dwóch zgłoszeń patentowych (**H12, H13**).

Wytworzenie implantów kostnych – kompozytowych materiałów ceramiczno-polimerowych [H4]

Rozwój kompozytowych materiałów kośćcozastępczych jest kolejną prężnie rozwijającą się gałęzią medycyny regeneracyjnej. Kompozyty takie powinny charakteryzować się biokompatybilnością, bioaktywnością, osteokonduktywnością lub nawet osteoinduktywnością, aby promować wrastanie w nie nowych tkanek⁴³. Ich architektura musi również sprzyjać migracji oraz proliferacji komórek i dodatkowo zapewniać odpowiednią dystrybucję składników odżywczych co bezpośrednio wpływa na proces regeneracji uszkodzonej tkanki kostnej. Jednymi z najlepiej prosperujących materiałów stosowanych w regeneracji tkanki kostnej są te oparte na ceramice fosforanowo-wapniowej (tj. hydroksyapatyt, α/β -fosforany (V) trójwapnia) spełniające w dużej mierze wcześniej przedstawione wymagania w szczególności, gdy stosuje się je w formie porowatych rusztowań (*ang. scaffold*). Takim ceramicznym rusztowaniom można nadać dodatkowe funkcje. Jedną ze strategii jest pokrywanie/infiltrowanie ich biodegradowalnym polimerem - pozwala to nie tylko na polepszenie ich właściwości mechanicznych, ale często również wprowadza możliwość wykorzystywania ich jako systemy kontrolowanego dostarczania leków.

W celu wykorzystania potencjału ceramiki fosforanowo-wapniowej wraz ze współpracownikami z Akademii Górniczo Hutniczej opracowałem materiały o osnowie fosforanu (V) trójwapnia (TCP) pokryte polimerem – polihydroksyoktanianem (P(3HO)) [**H4**]. Rusztowania ceramiczne zostały wytworzone z wysoko reaktywnego proszku β -TCP otrzymanego metodą mokrą⁴⁴. Wyściowy proszek β -TCP po odpowiedniej preparatyce został wykorzystany do przygotowania dwóch rodzajów materiałów – płaskich, mikroporowatych dysków oraz trójwymiarowych makroporowatych gąbek. Ceramiczne dyski przygotowaliśmy metodą prasowania jednoosiowego natomiast wysoce

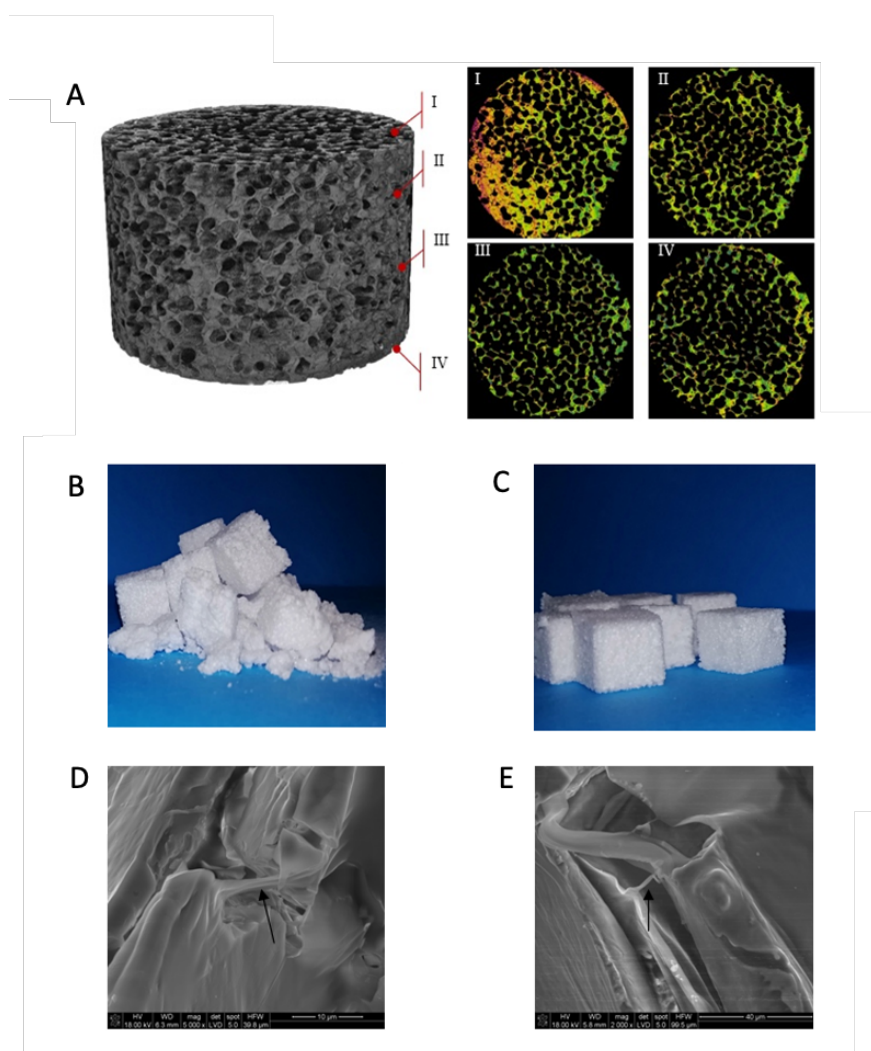
porowate gąbki metodą odwzorowania matrycy poliuretanowej. Surowe materiały poddano spiekaniu w temperaturze 1200°C. Gotowe, ceramiczne tworzywa zostały pokryte cienką warstwą P(3HO) poprzez ich immersję w 5% w/v r-r tego polimeru. Dyski pokryte polimerem posłużyły do badań wstępnych w celu określenia jakości pokrycia i interakcji pomiędzy dwoma komponentami materiału kompozytowego. Obserwacje mikroskopowe SEM przygotowanych materiałów pozwoliły na oszacowanie grubości warstwy polimerowej na ok. 30 µm. Analiza EDS oraz IR powierzchni materiału jasno potwierdziły, że obserwowane pokrycie pochodzi od polimeru PHA (**Rysunek 6**). Dodatkowo, powierzchniowa analiza XRD pokrytych dysków wykazała dwojaki charakter materiału – na dyfraktogramie widoczne były typowe refleksy pochodzące od TCP oraz lekkie podniesienie tła (halo)wynikające z obecności polimeru. Wykonano również testy zwilżalności powierzchni otrzymanych materiałów – zaobserwowałem, że powierzchnia niepokrytych dysków ceramicznych posiadała charakter wysoce hydrofilowy ($35 \pm 6^\circ$ dla wody). Pokrycie P(3HO) skutkowało zmianą ich charakteru na hydrofobowy ($94 \pm 2^\circ$ dla wody). Taka charakterystyka materiału może pozytywnie wpływać na adhezję, migrację i proliferację osteoblastów poprzez zwiększoną adhezyjność białek w porównaniu z materiałami hydrofilowymi⁴⁵.



Rysunek 6 Przekrój przez dysk TCP pokryty P(3HO) z widocznymi obszarami organicznymi i nieorganicznymi kompozytu oraz analiza IR powierzchni materiałów [H5].

Mikrotomografia komputerowa pozwoliła na ocenę architektury tworzyw i wydajności pokrycia polimerowego oraz oszacowanie wielkości porów w wytworzonych rusztowaniach (**Rysunek 7, Panel A**). Zaobserwowałem, że niepokryte rusztowania ceramiczne charakteryzowały się średnią wielkością porów rzędu $416 \pm 252 \mu\text{m}$, natomiast materiały pokryte P(3HO) – $254 \pm 45 \mu\text{m}$. Różnica ta najpewniej spowodowana była pokryciem przestrzeni wewnątrz porów warstwą polimeru. Porowatość otrzymanych makroporowatych kompozytów została wyznaczona za pomocą metody ważenia hydrostatycznego i wynosiła $61.22 \pm 4.56 \%$ dla niepokrytych i $59.18 \pm 2.60 \%$ dla rusztowań pokrytych polimerem. Pokrycie tworzywa ceramicznego polimerem pozwoliło zachować jego integralność nawet po testach wytrzymałości na ściskanie (**Rysunek 7, Panele B-E**). Jednakże obecność P(3HO) nie

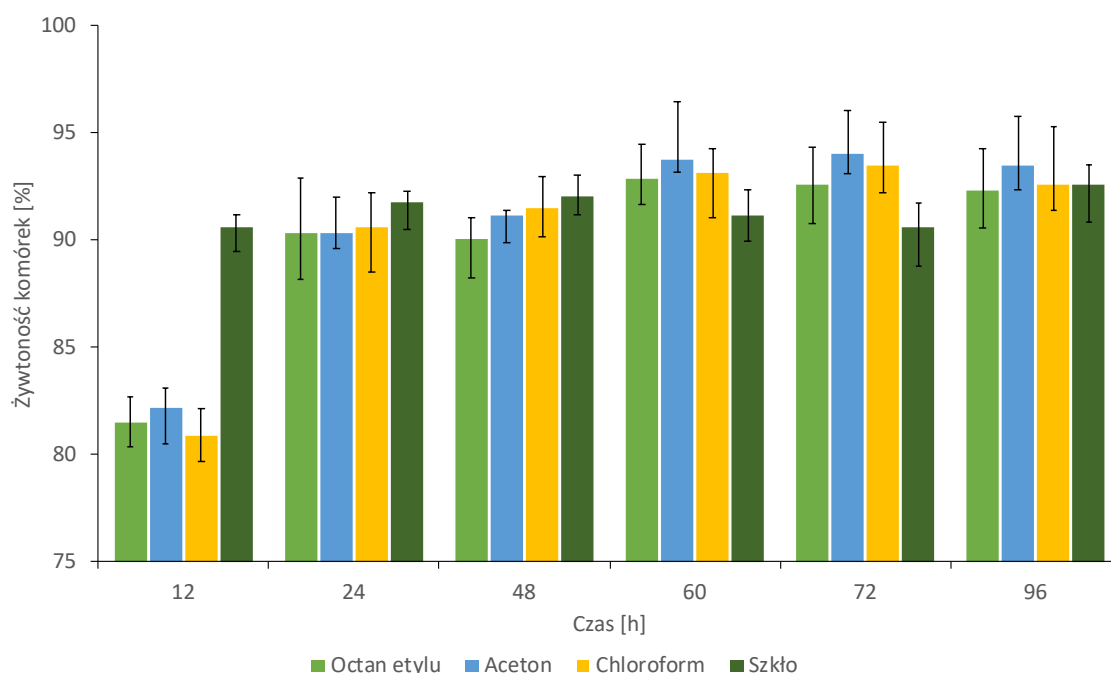
wpłynęła znacząco na charakterystykę naprężeniowo-odkształceniową materiałów – wytrzymałość na ściskanie dla niepokrytych i pokrytych materiałów polimerem wyniosła odpowiednio 6.0 ± 1.8 MPa oraz 6.7 ± 2.5 MPa. Przeprowadziliśmy również badania stabilności chemicznej, bioaktywności *in vitro* i degradacji otrzymanych materiałów. Po okresie 21 dniowej inkubacji w sztucznych osoczu (SBF), zaobserwowaliśmy na powierzchni materiałów TCP/P(3HO) uformowanie się warstwy apatytowej, przy czym na powierzchni ceramiki TCP jedynie pojedyncze wytrącenia apatytowe. Wyniki te potwierdziły, że elastomerowa powłoka polihydroksyoktanianowa na TCP sprzyja tworzeniu się pseudoapatytowej warstwy na powierzchni materiału. Podczas inkubacji kompozyty ulegały stopniowej degradacji. Podczas analizy obrazów z SEM zauważyłem mikropęknięcia oraz ubytki w warstwie polimerowej. Potwierdziły to analizy HPLC-MS/MS, dzięki którym udowodniłem uwalnianie się mono- i oligomerów P(3HO) do roztworu SBF.



Rysunek 7 Rekonstrukcja 3D architektury rusztowań kompozytowych na bazie TCP i P(3HO) (Panel A z widocznymi przekrojami poprzecznymi I, II, IV w różnych płaszczyznach). Makroskopowe i mikroskopowe zdjęcia rusztowań bez polimeru (Panel B) i pokrytych P(3HO) (Panele C-E) po testach wytrzymałościowych.

Ocena biologiczna *in vitro* wytworzonych materiałów

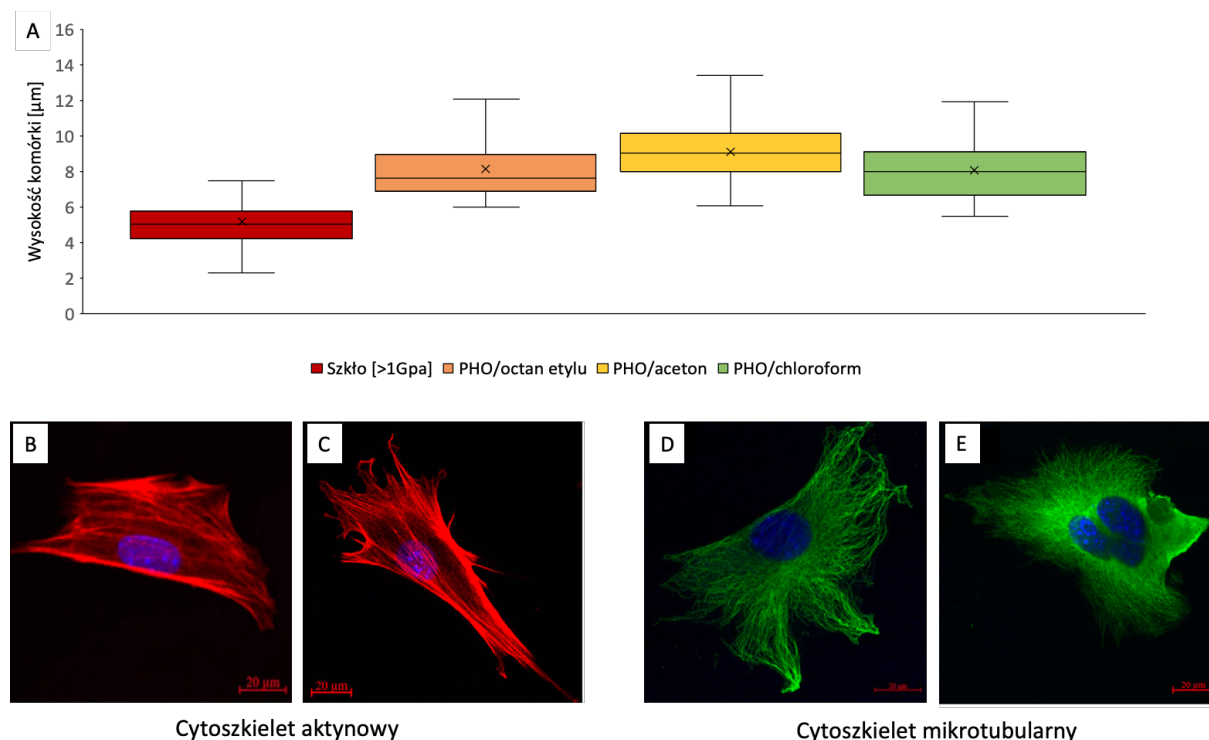
*Wpływ P(3HO) na architekturę cytoszkieletu i migrację fibroblastów oraz proces zabliźniania się rany w modelu *in vitro* [H5, H6]*



Rysunek 8 Wskaźniki żywotności komórek MEF 3T3 hodowanych na różnych podłożach – szkło i P(3HO) spreparowanym po wylaniu z roztworów wskazanych rozpuszczalników. Ocenę cytotoksyczności przeprowadzono dla 5 szalek hodowlanych dla każdego rozpuszczalnika i etapu czasowego [H5].

Wykonane płaskie materiały z P(3HO) poddałem dogłębnej charakterystyce biologicznej z wykorzystaniem modelu fibroblastów (linia mysich embrionalnych fibroblastów MEF 3T3) mając na uwadze przyszłe zastosowanie tychże materiałów w leczeniu ran (**H5, H6**). W celu określenia cytotoksyczności metody wytwarzania materiałów, filmów P(3HO) sporządzonych poprzez wylanie roztworu polimeru z trzech rozpuszczalników (aceton, octanu etylu i chloroformu), przeprowadziłem przy współpracy z naukowcami z Uniwersytetu Jagiellońskiego hodowlę mysich fibroblastów embrionalnych MEF 3T3 na substratach spreparowanych w odpowiednich odstępach czasowych (**Rysunek 8**). Z przeprowadzonych badań wynika, iż dobór rozpuszczalnika nie ma znaczącego wpływu na proliferację komórek, istotny jest za to czas jaki upłynął od przygotowania podłoża wzrostowego. Fibroblasty były w stanie normalnie wzrastać na materiałach już po 24 godzinach od ich przygotowania, niezależnie od procesu starzenia się materiału (czas stabilizacji podłoża to ok. 2 tygodnie, **Rysunek 3**). Dzięki zastosowaniu zaawansowanych metod mikroskopii konfokalnej zobrazowaliśmy architekturę cytoszkieletu fibroblastów hodowanych na filmach P(3HO). Komórki prezentowały zróżnicowaną morfologię. W porównaniu do kontroli (szkło) fibroblasty były bardziej wypukłe – ich średnia wysokość mieściła się w przedziale 6-12 μm , a dla szkła wyniosła 4-6 μm (**Rysunek 9**). Widoczne były liczne drobne rozgałęzienia włókien aktyny i mikrotubuli, które znacznie różniły się w porównaniu do

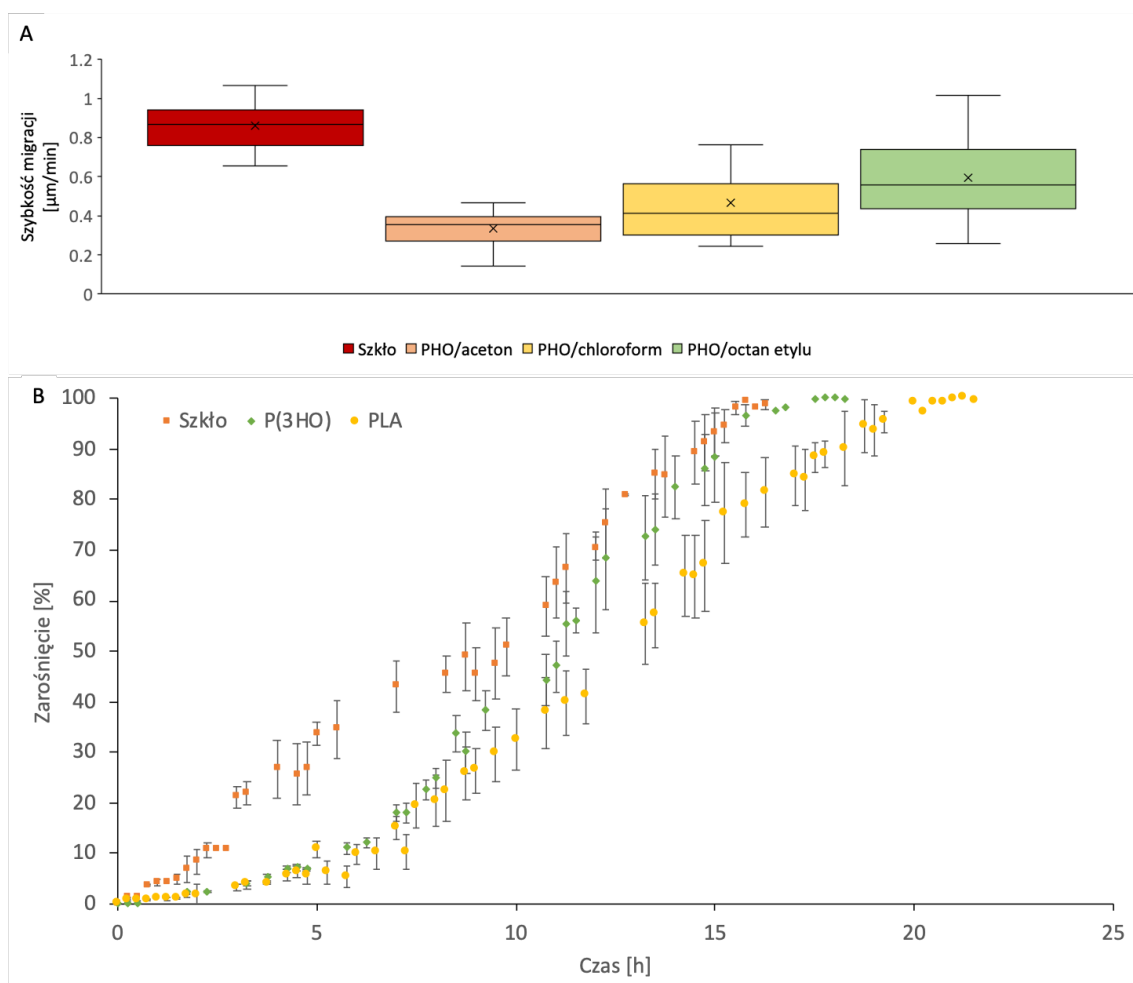
komórek hodowanych na szkle. Opracowaliśmy również metodę ilościowej analizy porównawczej wybranych regionów komórki z zastosowaniem analizy komputerowej (algorytmy ImageJ). Badania wykazały, iż całkowita powierzchnia zajmowana przez aktynę w komórkach porastających filmy polimerowe była znacząco mniejsza niż tych wzrastających na szkle. Odrotny trend towarzyszył pomiarom zawartości mikrotubul.



Rysunek 9 Wysokość hodowanych komórek na podłożach przygotowanych z różnych *r-rów* P(3HO) w porównaniu ze szkłem (Panel A). Porównanie cytoskieletu aktynowego i mikrotubularnego dla komórek hodowanych na różnych podłożach (szkło – Panele B i D; P(3HO) – Panele C i E) – widoczne różnice w morfologii [H5].

Obserwacje morfologiczne jak i wyniki ilościowej analizy zawartości poszczególnych komponentów cytoskieletu zostały skorelowane z parametrami migracyjnymi fibroblastów na badanych podłożach [H5]. Szybkość migracji komórek MEF 3T3 na materiałach wykonanych z P(3HO) była w znaczącym stopniu wolniejsza niż dla grupy kontrolnej (np. 0,35 $\mu\text{m}/\text{min}$ dla podłoża P(3HO) wylanego z acetonu versus 0,90 $\mu\text{m}/\text{min}$ dla szkła), co bezpośrednio tłumaczy niższą gęstość spolimeryzowanej aktyny w tych populacjach komórkowych (**Rysunek 10, Panel A**). Znacząco niższa była również wielkość kroku z jakim komórki pokonywały dystans w czasie migracji na podłożach biopolimerowych (np. 2,0 μm dla podłoża P(3HO) wylanego z acetonu względem 4,5 μm dla szkła). Zachowanie takie można tłumaczyć jakością podłoża – P(3HO) będąc biokompatybilnym polimerem jest doskonałym materiałem umożliwiającym proliferację komórek wydzielając hydrolizowane (*R*)-3-hydroksykwasy [H4]. Te naturalnie występujące metabolity komórkowe (związki pochodzące również z β -oksydacji kwasów tłuszczowych) odżywiają komórkę, co zmniejsza zapotrzebowanie na penetrację

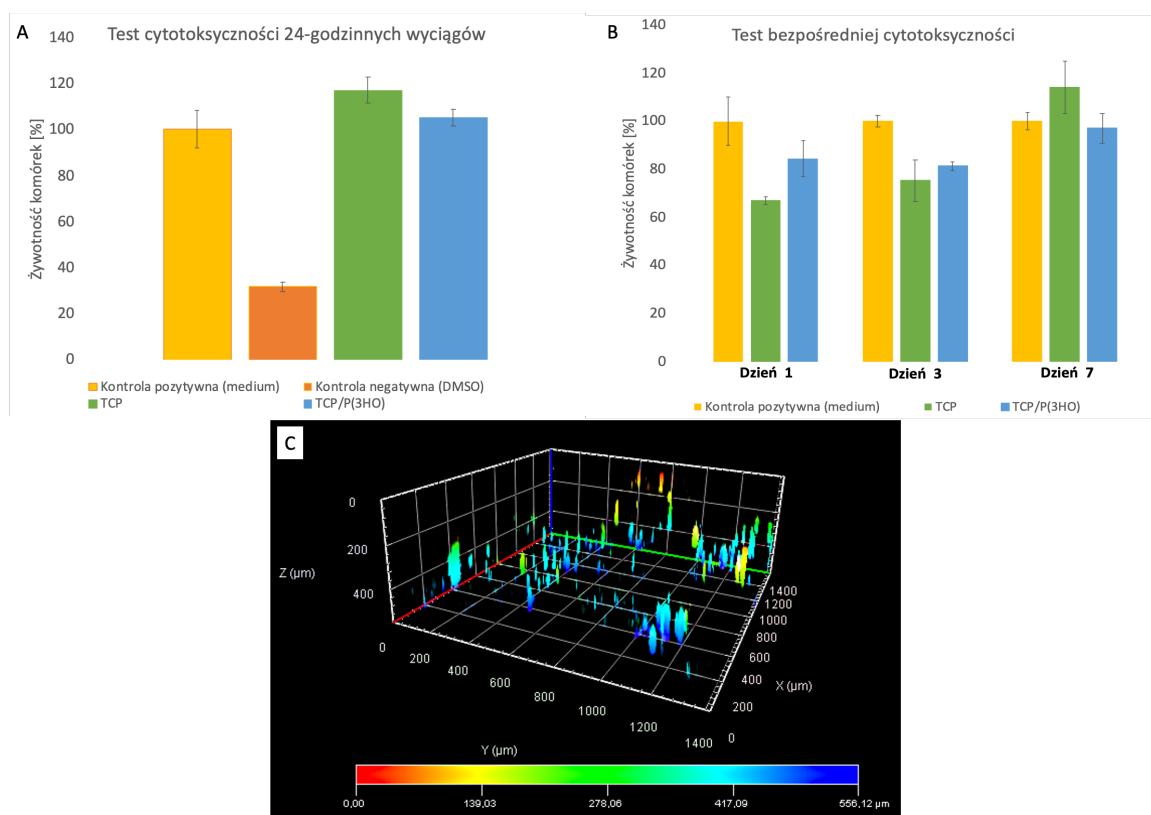
otoczenia w celu poszukiwania substancji odżywczych. Niezależnie jednak od podłoża nie stwierdziliśmy różnic w kierunkowości poruszania się komórek – fibroblasty poruszały się po losowo wybranych trajektoriach. Zaobserwowana charakterystyka zachowywania się pojedynczych komórek na biomateriale wykonanym z P(3HO) dobrze korelowała z ruchem monowarstwy komórkowej w symulowanym procesie zablężniania się rany w modelu *in vitro* (H6, Rysunek 10, Panel B). W podobny sposób jak zaobserwowaliśmy poprzednio komórki migrowały do środka wytworzonej przerwy symulującej ranę szybciej na szkle niż na filmie P(3HO). W badaniach porównaliśmy szybkość zablężniania się sztucznej rany względem innego biopolimeru – komercyjnie dostępnego polilaktydu (PLA). Doświadczenie zaprojektowałem mając na uwadze dwa cele. Po pierwsze wiadomym jest, iż szkło nie nadaje się do wytwarzania materiałów opatrunkowych, mimo doświadczalnie osiągniętych lepszych parametrów zarastania się na nim monowarstwy fibroblastów (czas zablężniania równy 16,2 godzinom). Po drugie PLA wykorzystywane jest już obecnie jako materiał do zastosowań medycznych⁴⁶. Przeprowadzone eksperymenty pokazały wyższość P(3HO) nad PLA w stymulacji procesu zablężniania się sztucznej rany. Czas jaki potrzebowała monowarstwy fibroblastów do pokrycia wytworzonej przerwy wyniósł 16,4 godziny na filmie P(3HO), a na materiale z PLA był on o 4,1 godziny dłuższy.



Rysunek 10 Porównanie szybkości migracji fibroblastów na szkle i podłożach z PHO spreparowanych z wybranymi rozpuszczalnikowymi roztworami (Panel A). Zarastanie się rany w modelu *in vitro* na szkle i polimerze PHO (Panel B) [H6].

Ocena biokompatybilności hybrydowych materiałów ceramiczno-polimerowych

W celu weryfikacji potencjału wytworzonych materiałów kompozytowych do zastosowań w regeneracji tkanki kostnej przeprowadziłem badania w modelu *in vitro* z wykorzystaniem komórek preosteoblastycznych pochodzących z mysiego sklepienia czaszki (MC3T3-E1)⁴⁷. Przeprowadzone testy pośredniej cytotoksyczności na wyciągach po 24-godzinnej inkubacji materiałów w medium przeprowadzonej zgodnie z normą ISO 10993 dowodzą wysokiej biozgodności badanych materiałów (**Rysunek 11, Panel A**). Wyniki wskazywały, iż otrzymane kompozyty nie wydzielają toksycznych substancji do otaczającego je medium, a wręcz przeciwnie, sprzyjały wzrostowi MC3T3-E1 zapewne poprzez uwalnianie jonów wapnia alkalizujących środowisko czy też w niewielkiej ilości (R)-3-hydroksykwasów służących komórkom jako substancje odżywcze. Pogłębione testy proliferacji tejże linii komórkowej na rusztowaniach ceramicznych z TCP niepokrytych i pokrytych P(3HO) prowadzone były przez okres 7 dni (**Rysunek 11, Panel B**). Zauważyliśmy szybszą proliferację komórek preosteoblastycznych na materiałach pokrytych biopolimerem aniżeli na tych bez pokrycia w pierwszych dniach eksperymentu, co sugeruje, iż P(3HO) moduluje biokompatybilność implantu w stronę szybszej adaptacji komórek względem podłoża. Niemniej jednak pod koniec eksperymentu wyniki żywotności komórkowej wykazały podobną, zbliżoną do kontroli (prolifерacja komórek w medium hodowlanym) proliferację na obu typach testowanych materiałów.



Rysunek 11 Testy biokompatybilności materiałów ceramiczno-polimerowych na linii mysich preosteoblastów (Panel A – żywotność komórek w 24-godzinnych wyciągach uzyskanych z biomateriałów, Panel B – Prolifерacja komórek na biomateriałach w kontakcie bezpośrednim. Migracja komórek w głąb makroporów ceramiczno-polimerowego rusztowania zwizualizowana poprzez wybarwienie jąder komórkowych i ich obserwację z użyciem mikroskopu konfokalnego (Panel C).

Materiały, na których komórki MC3T3-E1 proliferowały przez 7 dni, poddano obserwacjom mikroskopowym (mikroskopia konfokalna, SEM). Mikrofotografie powierzchni TCP pokrytego P(3HO) pozwoliły nam zaobserwować uformowanie się jednolitej warstwy komórkowej na jego powierzchni. Dzięki zastosowaniu mikroskopii konfokalnej udowodniliśmy, że komórki preosteoblastyczne nie tylko pokrywają wytworzone implanty z zewnątrz, lecz również penetrują w głąb porowatej struktury rusztowania opłaszczając się wewnątrz jego porów (**Rysunek 11, Panel C**). Przeprowadzone badania wskazują brak cytotoksyczności i bardzo dobrą biokompatybilność wytworzonych materiałów kościozastępczych.

Produkty depolimeryzacji PHA i ich zastosowanie do syntezy związków biologicznie czynnych

Polihydroksyalkaniany z łatwością ulegają degradacji na drodze chemicznej depolimeryzacji do estrów metylowych, a idąc dalej, na drodze zmydlania zasadowego można otrzymać mieszaninę czystych soli hydroksykwasów. Mnogość tworzących je (*R*)-3-hydroksykwasów umożliwia syntezę, za pomocą mikroorganizmów, szerokiej platformy chiralnie czystych kwasów hydroksylowanych, posiadających w swej budowie liczne grupy funkcyjne, takie jak: estrowa, nitrylowa, aminowa, fenylowa, karboksylowa, nitrozowa, a także metylowa, ketonowa, acetylotioestrowa, fluorofenoksykowa i wiele innych^{48,49}. Istotnym jest fakt, iż mikroorganizmy mogą syntetyzować polimery PHA ze źródeł węgla, które strukturalnie nie przypominają budowy chemicznej finalnie uzyskanych monomerów (np. glicerol, glukoza, związki fenolowe - wszystkie fermentowane są do biomasy, a następnie do PHB czy mcl-PHA). Ponadto stała obecność dwóch łatwo modyfikowalnych grup – karboksylowej oraz hydroksylowej – umożliwia zastosowanie tychże monomerów w szeroko rozumianej syntezie organicznej. Wykazano, że kwasy (*R*)-3-hydroksyalkanowe zapewniają chiralne syntony do syntezy farmaceutyków, witamin, feromonów i antybiotyków^{50–52}. Dla przykładu, badania w których brałem udział w Irlandii pokazały, iż możliwa jest synteza leków o zwiększonym potencjale przeciwrakowym dzięki przyłączeniu (*R*)-3-hydroksykwasów do krótkiego peptydu^{23,24}. Udokumentowaliśmy również w grupie Prof. O’Connora, że modyfikacja grupy (*R*)-3-hydroksylowej przez zamianę na atomu halogenu zwiększa potencjał bójczy względem grzybów i bakterii, równoległe pokazując potencjalne zastosowanie monomerów PHA jako związków grzybo- i bakteriostatycznych²⁵.

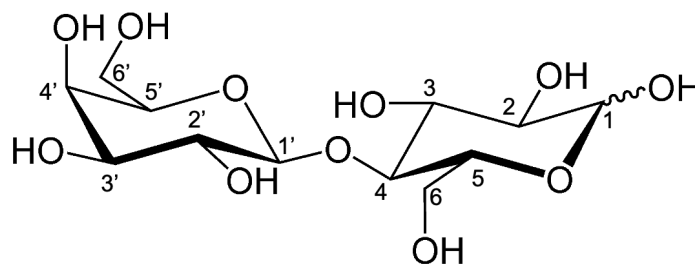
Terenem jeszcze nieeksplorowanym jest zastosowanie monomerów PHA do syntezy estrów cukrowych poprzez wytworzenie stałego wiązania estrowego między (*R*)-3-hydroksykwasem a wybranym cukrem. Estrы cukrowe powszechnie stosowane są w przemyśle spożywczym i kosmetycznym ze względu na ich właściwości powierzchniowocynne oraz działanie bakteriostatyczne. Innym interesującym zastosowaniem (*R*)-3-hydroksykwasów jest ich wykorzystanie do konstrukcji

nowej klasy rozpuszczalników organicznych. Monomery PHA w połączeniu z aminami trzeciorzędowymi lub pochodnymi imidazolu z łatwością tworzą ciecze zaliczane do głębokich eutektyków (ang. *deep eutectic solvents*, DES). W niektórych przypadkach w kombinacji ze związkami ze źródeł odnawialnych tworzą podklasę naturalnych DES (NADES), które wykazują się brakiem cytotoksyczności względem komórek ludzkich i mikroorganizmów, dzięki czemu są przyjazne dla człowieka i środowiska, ulegając szybkiej biodegradacji^{29,30}. Poniżej czytelnik zostanie zapoznany z biokatalityczną techniką syntezy estrów cukrowych jak i syntezą DESów na bazie monomerów PHA. Następnie omówione zostaną zastosowane metody charakterystyki fizykochemicznej i biologicznej oraz otrzymane wyniki dla obu wyżej wymienionych klas związków chemicznych.

Estry cukrowe kwasów tłuszczowych [H7, H8, H9]

Estry cukrowe kwasów tłuszczowych (ECKT) są znane od lat 70' minionego stulecia i powszechnie stosowane w takich gałęziach przemysłu jak żywieniowy, kosmetyczny czy farmakologiczny²⁶ [H7]. Głównym cukrem używanym na świecie w syntezie ECKT jest sacharoza, niemniej jednak przeznaczenie jej do produkcji dla celów przemysłowej syntezy bezpośrednio konkuruje z łańcuchem żywności człowieka. Z tego powodu należy poszukiwać alternatywnych źródeł bogatych w sacharydy, które mogą stanowić substrat dla syntezy estrów cukrowych. Jednym z takich przykładów może być laktoza, pochodząca z serwatki – odpadu z przemysłu mleczarskiego, która produkowana jest globalnie w ogromnej ilości wynoszącej 200 mln ton na rok⁵³. Ponadto dwucukier ten można z powodzeniem poddać rozkładowi, np. enzymatycznemu, do jego komponentów – glukozy i galaktozy, otrzymując platformę związków dla syntezy ECKT. Do początku lat 2000 stosowano metody chemicznej syntezy tej klasy substancji chemicznych, takie jak acylacja z użyciem bezwodników kwasów tłuszczowych w obecności jodu⁵⁴, chlorku żelaza⁵⁵, H- β -zeolitu⁵⁶, pirydyny⁵⁷, trietyloaminy i DMAP⁵⁸ czy innych. Nie mniej jednak stosowane metody syntezy chemicznej okazywały się nie tylko mało specyficzne ale i obciążone dużym śladem środowiskowym poprzez zastosowanie toksycznych rozpuszczalników. Z tychże powodów zaczęto coraz powszechniej stosować metody enzymatyczne w celu prowadzenia procesów w sposób przyjazny środowisku oraz takich, które skutkują wysoką regiospecyficznością otrzymywanych produktów. W dokonanym przeglądzie literaturowym [H7], na przykładzie laktozy zebrano powszechnie stosowane biokatalizatory używane w enzymatycznej acylacji sacharydów (**Rysunek 12**). Część z nich została skomercjalizowana (np. Novozyme 435, inaczej CalB, czyli lipaza B z *Candida antarctica*) i jest powszechnie stosowana do prowadzenia szeregu reakcji biokatalitycznych, w tym syntezy estrów cukrowych. Biokataliza z użyciem enzymów zapewnia łagodne warunki reakcji (np. temperatura w zakresie 20–75°C). Reakcja syntezy ECKT przebiega w środowisku bezwodnym – znajdują tutaj zastosowanie rozpuszczalniki organiczne jak ketony, alkohole VI-rzędowe czy ciecze jonowe.

W większości reakcji enzymatycznych prowadzących do syntezy ECKT komponenta hydrofobowa jest w postaci estru winylowego, rzadziej w formie metylowanej. Przeważają estry kwasu octowego, a tak powstałe ECKT stają się syntonami do konstrukcji bardziej skomplikowanych cząsteczek. Niemniej jednak istnieje wiele doniesień literaturowych, w których stosuje się kwasy organiczne pochodzenia roślinnego (np. kwas oktanowy, dekanowy, palmitynowy, oleinowy i in.). W zależności od zastosowanego cukru jak i acylu czy obsadzeniu grup hydroksylowych sacharydu (mono, di, tri estry itd.) zmieniają się właściwości fizykochemiczne danego ECKT – np. rozpuszczalność, zdolność do tworzenia emulsji, wpływ na napięcie powierzchniowe ich roztworów, itp., co otwiera szerokie pole możliwych zastosowań. Ponadto taka różnorodność ECKT obfituje w wielorakie właściwości biologiczne. Obecne trendy opisują ich zastosowania w formulacjach przemysłu spożywczego i kosmetycznego, nie tylko nadające produktom odpowiednie cechy poprzez wykorzystanie właściwości powierzchniowoczynnych ECKT, lecz również pozwalające chronić je przed skażeniem mikrobiologicznym.



Enzym	1 ^{sza} pozycja	2 ^{ga} pozycja
<i>Bacillus subtilis</i> proteaza	C6'	C4' oraz C3'
<i>Candida antarctica</i> lipaza	C6'	C2'
<i>Candida rugosa</i> lipaza	C6'	
<i>Mucor miehei</i> lipaza	C6'	
<i>Pseudomonas cepacia</i> lipaza	C6'	C2'
<i>Rhizomucor miehei</i> lipaza	C6' oraz C6	
<i>Thermomyces lanuginosa</i> lipaza	C6'	
<i>Trichoderma reesei</i> acetyloesteraza	C3' oraz C2	

Rysunek 12 Stosowane biokatalizatory w acylacji cukrów na przykładzie laktozy z uwzględnionymi miejscami regiospecyficznego przyłączenia stosowanych acylów [H7].

Chemo-biotechnologiczna synteza estrów cukrowych kwasów tłuszczowych na bazie monomerów PHA

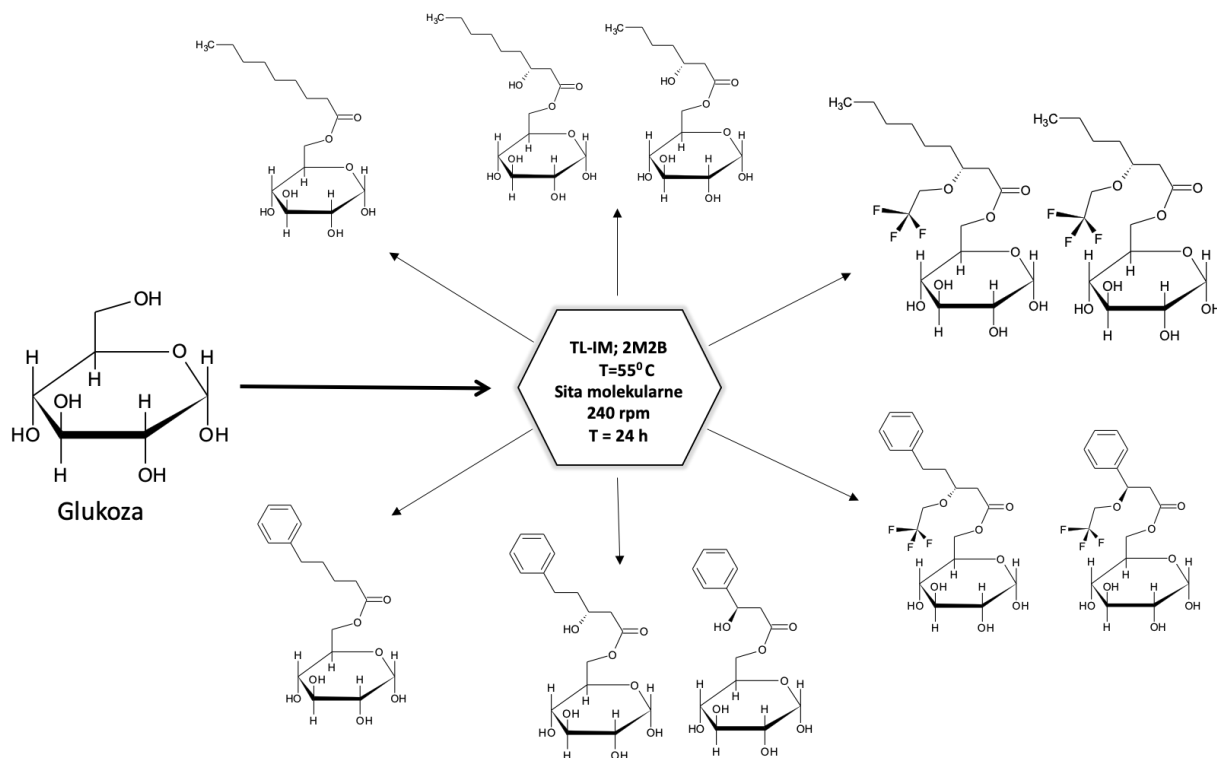
Interesującym zastosowaniem monomerów pochodzących z depolimeryzacji PHA może być ich użycie w syntezie ECKT. Pierwszym powodem przemawiającym za tym, jest możliwość syntezy PHA ze źródeł węgla strukturalnie nieprzypominających monomerów, co wiąże się z dodaniem wartości tymże substratom (np. glicerol, cukry lub inne komponenty biomasy). Po drugie, jak wspomniano wielokrotnie, istnieje duża różnorodność samych monomerów. Po trzecie (*R*)-3-hydroksykwas

posiadają grupę hydroksylową umożliwiającą projektowanie cząsteczek o nowych właściwościach chemicznych i biologicznych, stwarzając tym wszechstronną paletę możliwych syntonów.

W pierwszej kolejności w prowadzonych badaniach opracowałem warsztat pozwalający na efektywną syntezę oraz analitykę ECKT [H8]. W swojej pracy wykorzystałem lipazy, które enantjoselektywnie potrafią przyłączać wybrane acyle do cząsteczek cukrów. Na etapie prac przesiewowych jako substancje modelowe wybrałem nonanian metylu oraz glukozę, co znacznie uprościło system eksperymentalny, równolegle umożliwiając wszechstronne testowanie warunków reakcji z łatwością porównywalnych z wynikami opisanymi w literaturze. Pierwsze testy syntezy ECKT wykazały, iż forma zmobilizowana enzymu pozwala osiągnąć lepsze procentowe konwersje. Z tego powodu podjąłem decyzję o konstrukcji własnych immobilizowanych preparatów na bazie azurowych mikrosfer krzemionkowych, które z powodzeniem mogą być stosowane w reaktorach przepływowych nie powodując znacznego wzrostu ciśnienia. Zastosowaliśmy dwa rodzaje podłoży krzemionkowych – z funkcjonalizacją -OH oraz -NH₂. Enzymy przyłączaliśmy za pomocą linkerów, odpowiednio diwinylosulfonu oraz aldehydy glutarowego. Do tak przygotowanych sfer podłączyliśmy lipazę EL070, a jako kontrole w reakcji użyliśmy komercyjnie dostępnych i immobilizowanych lipaz z *Candida atharctica* (CalB) oraz *Thermomyces lanuginosus* (TL-IM). W celu umożliwienia rozpuszczenia się obu reagentów (estry metylowego kwasu nonanowego i glukozy) przetestowaliśmy szereg rozpuszczalników, z czego jako najbardziej odpowiedni wybrano 2-metylo-2-butanol w połączeniu z DMSO (8:2). W reaktorze przepływowym najbardziej efektywnie syntezę ECKT katalizowały sfery z funkcyjnością -NH₂ (88.3% konwersji w drugim przepływie). Równolegle do prac związanych z syntezą ECKT opracowałem metodologię szybkiej analizy z wykorzystaniem układu HPLC-MS/MS. W celu rozdzielania produktów od substratów wykorzystana została chromatografia cieczowa w odwróconej fazie w gradiencie woda-metanol. Detekcja jonów fragmentacji analizowanych związków, poprzedzona jonizacją typu ESI, umożliwiła mi precyzyjną analizę jakościową i ilościową badanych związków.

W dalszych badaniach zaplanowałem prace zmierzające do strukturalnej modyfikacji monomerów PHA poprzedzające finalną syntezę ECKT [H9]. Jako cel obrałem modyfikację grupy hydroksylowej umożliwiającej wprowadzenie w strukturę cząsteczki ugrupowania zawierającego fluor. Powszechnie wiadomym jest, że związki zawierające atomy halogenków, w tym fluor, posiadają odmienne właściwości chemiczne i biologiczne w porównaniu do związków wyjściowych, pozbawionych tych atomów. Wraz ze współpracownikami z Instytutu Farmakologii PAN przeprowadziłem badania przesiewowe z wykorzystaniem estrów metylowych pochodzących z dwóch typów PHA (polihydroksynonanian, PHN; polihydroksyfenylowalerian, PHPV). Testowaliśmy szereg mediów reakcyjnych, nukleofilów oraz modyfikatorów (np. 1-fluoro-3-jodopropan, 1,1-difluoro-2-jodoetan, 1,1,1-trifluoro-3-jodopropan). Z sukcesem zsyntetyzowaliśmy nowe pochodne monomerów PHN i PHPV zawierające grupę trifluoroetoksyłową przyłączoną w miejsce grupy hydroksylowej.

Wykorzystując opracowany warsztat biokatalizy stworzyłem bibliotekę ECKT na bazie glukozy oraz niemodyfikowanych i modyfikowanych monomerów PHN i PHPV (**Rysunek 13**). Związki te przetestowaliśmy we współpracy z naukowcami z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego względem ich potencjału przeciw mikrobiologicznego. Testy na panelu 15 szczepów (bakterie Gram dodatnie i ujemne, drożdżaki) pozwoliły na wyznaczenie minimalnego stężenia hamującego wzrost tych mikroorganizmów dla każdego zsyntetyzowanego ECKT. Estry glukozy i monomerów PHA wykazywały umiarkowany potencjał przeciw mikrobiologiczny, co sugeruje ich potencjalne zastosowanie jako dodatków do żywności czy kosmetyków pozwalające na wydłużenie terminu ich przydatności poprzez zahamowanie namnażania się niepożądaną mikroflory.



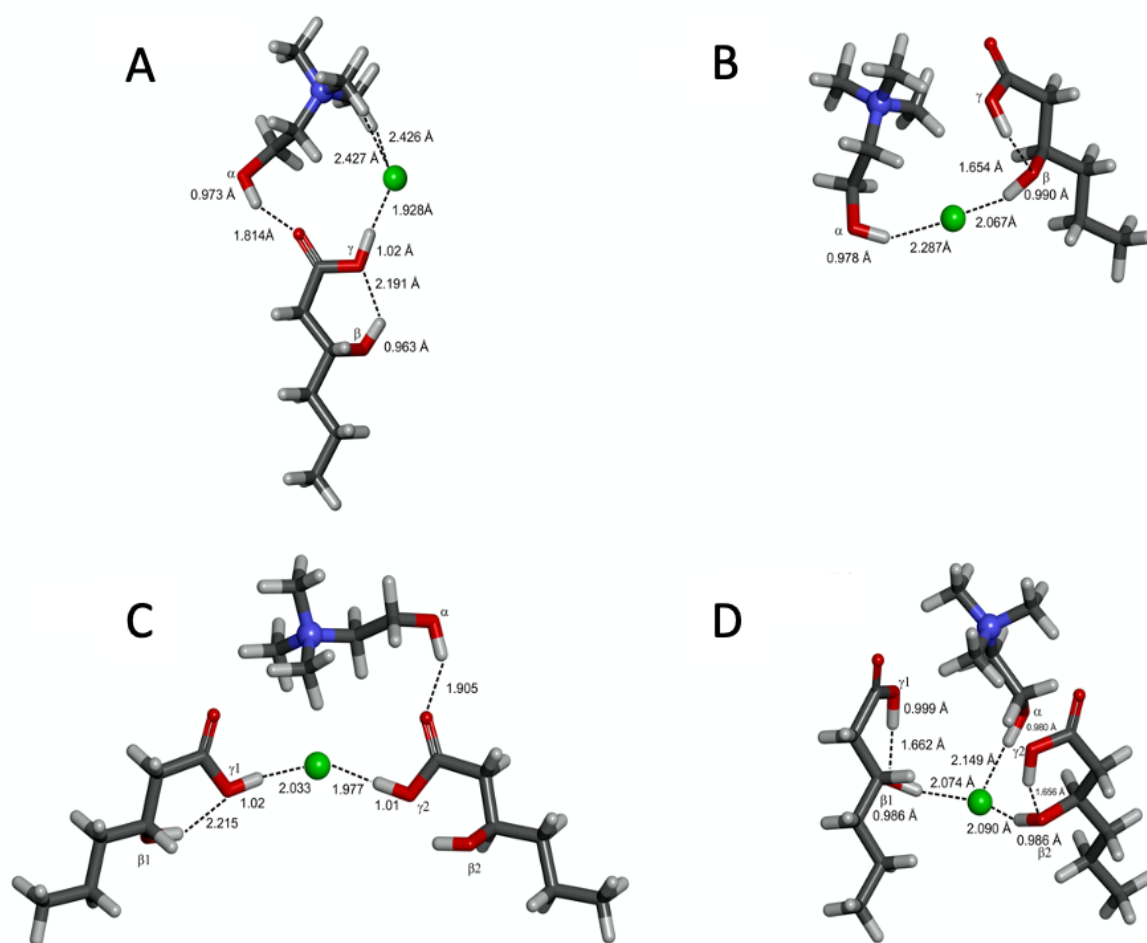
Rysunek 13 Biblioteka estrów cukrowych kwasów tłuszczowych (ECKT) na bazie glukozy zsyntetyzowana za pomocą lipazy TL-IM. Widoczne pochodne alifatycznego kwasu nonanowego oraz aromatycznego kwasu 5-fenyl-walerianowego, monomerów PHN, modyfikowanych monomerów PHN związkami fluoru i analogiczne pochodne zawierające w swojej budowie modyfikowane i nie modyfikowane monomery PHPV.

Obecnie ECKT na bazie glukozy, galaktozy i laktozy modyfikowane pochodnymi PHN testowane są we współpracy z naukowcami z Uniwersytetu Jagiellońskiego jako związki antynowotworowe. Wstępne wyniki ukazały potencjał tych związków – wybrane ECKT z syntetyzowanej biblioteki specyficznie hamują rozwój komórek raka jelita grubego czy prostaty, gdy obecne są w niskich stężeniach mikromolowych. Prowadzone przeze mnie badania w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni pozwoliły ponadto określić potencjał tych związków w tworzeniu emulsji oraz nanokapsulek. Mając powyższe na uwadze kolejnym etapem badań jaki zamierzam rozwijać w tej dziedzinie jest opracowanie bioaktywnych mikrokapsulek na bazie wybranych ECKT pozwalających na enkapsulację specyficznych leków przeciwnowotworowych i umożliwiających terapię celowaną.

Synteza i charakterystyka podklasy cieczy jonowych – mieszanin głęboko eutektycznych – na bazie monomerów PHA [H10, H11]

W obecnych czasach coraz częściej poszukuje się alternatyw dla konwencjonalnych rozpuszczalników opartych na produktach przetwórstwa ropy naftowej. Jedną z alternatyw co raz częściej stają się mieszaniny głęboko eutektyczne (DES). Mieszaniny te z powodzeniem mogą być stosowane w procesach elektrochemicznych, syntezie polimerów, procesach biokatalitycznych czy ekstrakcji komponentów biomasy²⁹. DESy to związki zbudowane z donora i akceptora wiązania wodorowego i przeważnie ich temperatura topnienia znajduje się poniżej 100°C. W ich skład wchodzić mogą cząsteczki takie jak kwasy organiczne, cukry, chlorki amin VI-rzędowych, związki imidazolu i podobne.

Monomery PHA w swej strukturze posiadają dwie grupy funkcyjne, hydroksylową i karboksylową, które z powodzeniem mogą służyć jako donory dla wiązań wodorowych. Zważywszy właśnie na te cechy, w prowadzonych badaniach wykonałem pierwsze w historii syntezy DESów opartych na monomerach PHA [H10, H11]. W badaniach wykorzystałem pochodne dwóch polimerów – PHN oraz mcl-PHA syntetyzowanego z kwasów oleju rzepakowego. Pierwszy z nich w swej kompozycji posiada dwa monomery – kwasy (*R*)-3-hydroksynonanowy oraz (*R*)-3-hydrokseyheptanowy w proporcji 7 mol: 3 mol. Mieszanina ta została wykorzystana do badań typu „proof-of-concept” testujących możliwości syntezy DESów opartych na 3-hydroksykwasach [H10]. Wykazałem, że monomery PHN z powodzeniem tworzą ciecze w połączeniu z chlorkiem choliney ([Ch]Cl), chlorkiem 1-etylo-3-metyloimidazolium ([EMIm]Cl) lub chlorkiem tributylometyloamoniowy ([TBMA]Cl) w proporcjach donora do akceptora wiązań wodorowych 1:1 oraz 2:1. Zaobserwowałem, że w przypadku chlorku choliney kontrolna mieszanina, jaką sztucznie stworzyłem z alifatycznych kwasów nonanowego i heksanowego naśladujących mieszaninę pochodzącą z PHN, w stosunku 1:1 z chlorkiem choliney nie stworzyła w temperaturze pokojowej cieczy w porównaniu z identyczną mieszaniną pochodzącą z PHN. Na tej podstawie postawiłem hipotezę, że obecność dodatkowych grup hydroksylowych umożliwia syntezę cieczy typu DES, gdy łańcuch alifatyczny kwasu karboksylowego jest dłuższy niż 9 węgli. W celu potwierdzenia tej hipotezy do konstrukcji DES na bazie chlorku choliney użyłem mieszaniny monomerów pochodzących z mcl-PHA otrzymanego z kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego. Ta mieszanina w swoim składzie zawiera następujące (*R*)-3-hydroksykwasy: C6, C8, C10, C12, C12:1 i C14 w stosunkach molowych 4.0 : 33.7 : 31.8 : 5.0 : 6.4 : 19.1 [H11]. Z powodzeniem otrzymałem szereg DESów na bazie chlorku choliney z mieszaniną kwasów mcl-PHA (stosunki 1:1, 1.5:1, 2:1, 2.5:1 oraz 3:1), tym samym potwierdzając założoną hipotezę.



Rysunek 14 Zoptymalizowane geometrie w fazie gazowej dla DESów opartych na chlorku choliny i kwasie (R)-3-hydroksoheksanowym – kompleksy składają się z jednego kwasu (Panel A i B), dwóch (Panel C) i trzech (Panel D). Linie przerywane odzwierciedlają wiązania wodorowe. Odległości podano w Å.

Wykorzystując spektroskopie NMR i FTIR potwierdziliśmy, że DESy monomerów PHA z testowanymi akceptorami były mieszaninami czysto fizycznymi. Techniki te pozwoliły również na wykazanie wytworzenia się wiązań wodorowych między komponentami mieszanin dzięki obserwacji odpowiednich przesunięć sygnałów. Zaobserwowałem, że im więcej w mieszaninie monomerów PHA tym większe przesunięcia spektralne, a to oznacza wytworzenie silniejszych oddziaływań międzycząsteczkowych [H10]. Kolejne badania pozwoliły pogłębić wiedzę na temat mechanizmu tworzenia się wiązań wodorowych w DESach na bazie monomerów PHA [H11]. Wykorzystując obliczenia kwantowo-mechaniczne w stanie gazowym przebadaliśmy kompleksy cholina - chlorek - kwas (R)-3-hydroksoheksanowy, gdzie udział kwasu stopniowo zwiększano (**Rysunek 14**). Pozwoliło to na wstępne określenie siły wytwarzanych wiązań wodorowych. W pierwszej kolejności zauważyłem, że grupa hydroksylowa oraz karboksylowa monomeru tworzą wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe (interakcja komponent -OH), przy czym tlen =O w ugrupowaniu karboksylowym tworzy

wiązanie wodorowe z grupą -OH choliny bezpośrednio lub poprzez obecny w kompleksie chlor. Atom ten stanowi jon centralny, będący swoistym łącznikiem między kwasem a choliną w wytwarzaniu wiązań wodorowych w kompleksach o zwiększonej liczbie monomerów.

Niezależnie od stosowanego akceptora wiązania wodorowego zsyntetyzowane ciecze charakteryzowały się gęstością zbliżoną wartością do jedności (g/cm^3 w temp. 60°C) bez widocznej korelacji. Wszystkie DESy na bazie monomerów PHA są cieczami wysoce lepki. Ilość zastosowanego monomeru w ich konstrukcji obniża nieliniowo lepkość mieszaniny, a ponadto nie ma liniowej zależności dla pomiaru lepkości cieczy od temperatury (zależność nie-Arrheniusa). Otrzymane wyniki DSC zebrane dla zsyntetyzowanych DES w zakresie temperatur -60°C do 60°C cechowały się niemal prostymi przebiegami, sugerując brak przejść szklistych w testowanym zakresie temperatur. Z drugiej strony mieszaniny DES charakteryzowały się kompleksowym mechanizmem degradacji termicznej. Badania wstępne pozwoliły jedynie na zgrubne określenie tego procesu. Na podstawie przebiegu krzywych TGA mogą spekulować, że proces termalnej degradacji rozpoczyna się od odparowania i degradacji komponenty kwasu organicznego, a następnie rozkładowi ulega akceptor wiązania wodorowego. Wykazałem, że zsyntetyzowane mieszaniny eutektyczne w pewnym stopniu mieszają się z lekko polarnymi rozpuszczalnikami (metanol, chloroform), jednakże nie z wysoce polarnymi (woda) i nie polarnymi (n-heksan). Korelując te wyniki z pomiarami kątów zwilżania uzyskanymi dla DESów na bazie chlorku choliny i monomerów mcl-PHA (mika $\sim 22^\circ$, Teflon $\sim 48^\circ$), mogę stwierdzić, że ciecze te posiadają polarny i lekko hydrofobowy charakter.

Interesującym zastosowaniem dla zsyntetyzowanych cieczy może być ich użycie we frakcjonowaniu biomasy. Przeprowadzone testy rozpuszczalności poszczególnych komponentów biomasy drzewnej wykazały, że DESy oparte na monomerach PHA selektywnie rozpuszczają ligninę, a nie np. celulozę, co wskazuje na ich potencjalne zastosowanie w biorafinerii. Ponadto badania biodegradacji wszystkich DESów sugerują, że te na bazie chlorku choliny i monomerów PHA są przyjazne dla środowiska. W testowanym układzie z osadem czynnym ulegały całkowitej biodegradacji w ciągu 6 dni. Dodatkowym atutem tych rozpuszczalników jest brak cytotoksyczności. Wykazaliśmy, że żywotność fibroblastów spada poniżej 80% dopiero powyżej stężenia 500 mg/L DESu opartego na chlorku choliny i monomerach PHN.

Wszystkie wstępne badania dotyczące syntezy i charakterystyki nowych mieszanin głęboko eutektycznych na bazie monomerów PHA oraz innych naturalnych komponentów, na przykładzie chlorku choliny, otwierają drogę dla nowych perspektyw ich zastosowań. Różnorodność bakteryjnych monomerów w połączeniu z naturalnymi akceptorami wiązań wodorowych oferowanych przez naturę stwarza szerokie możliwości dla syntezy odpowiednio skrojonych nowych biodegradowalnych i nietoksycznych DESów, o konkretnych właściwościach fizykochemicznych pod pożądane zastosowanie.

Przyszłe kierunki badań

Przedstawione osiągnięcie habilitacyjne stanowi swoisty punkt odniesienia dla planowanych przyszłych kierunków badań w tematyce produkcji, modyfikacji i zastosowań polihydroksyalkanianów oraz ich pochodnych. Obecnie konstruowany jest nowatorski prototyp modułu nowoczesnej biorafinerii umożliwiający przetwórstwo różnorodnych wsadów otrzymywanych z biomasy do biodegradowalnych PHA w skali 200L. Opracowanie rzeczowego prototypu umożliwi testowanie szerokiej gamy substratów fermentacyjnych w skali półtechnicznej, a precyzyjne sterowanie procesami pozwoli na szczegółowe skwantyfikowanie przepływu materiałów i energii w wybranym układzie. Doświadczenia przeprowadzane w takim reżimie będą skutkowały generacją wiedzy podstawowej i aplikacyjnej. Z jednej strony będzie można oceniać wydajności procesowe oraz stopień jak przyjazny środowisku jest testowany proces, z drugiej zaś prowadzone badania umożliwią bezpośrednie dostosowanie linii produkcyjnej na potrzeby przetwórstwa danego surowca.

Mając na uwadze przedstawiony potencjał polimerów PHA w obszarach medycznych planuję prowadzenie badań w celu stworzenia platformy umożliwiającej kontrolowane uwalnianie leków, która zostanie oparta na polimerach PHA jak i ich pochodnych. Wstępne badania, w których pokazaliśmy w zespole, że możliwe jest lokalne i szybkie uwalnianie substancji bioaktywnych z fizycznej mieszaniny lek-polimer, uświadomiły mi, że konieczne jest stworzenie takich rozwiązań, które pozwolą na spowolnione uwalnianie leków⁵⁹. Z tego powodu planuję opracowanie metod syntezy, które umożliwią wbudowywanie cząsteczek leku w strukturę polimerów PHA poprzez stałe wiązania chemiczne. Takie rozwiązanie umożliwi długotrwałe uwalnianie się substancji biologicznie czynnych podczas powierzchniowej degradacji hydrolitycznej polimeru. Innym podejściem jest wykorzystanie potencjału tkwiącego w estrach cukrowych opartych na monomerach PHA. Te powierzchniowo czynne związki same z siebie wykazują działanie biologiczne. Jednakże mogą one również tworzyć micelle, a dalej nano- i mikrokapsułki, z powodzeniem wykorzystywane w dostarczaniu leków w terapiach celowanych.

Rozwój nowych biopochodnych i biodegradowalnych rozpuszczalników jawi się kluczowym w perspektywie sprostania założeniom zrównoważonego rozwoju. W tym celu planuję dalej rozwijać wytworzone przeze mnie technologie syntezy DESów na bazie monomerów PHA. Badania te będą dotyczyć zastosowań tych zielonych rozpuszczalników w procesach separacji i frakcjonacji biomasy, wykorzystania ich jako medium w procesach katalitycznych oraz weryfikacji ich potencjału w zastosowaniach związanych z energetyką (np. zielone baterie i akumulatory).

Podsumowanie

Bakteryjne polimery polihydroksyalkaniany stanowią bardzo atrakcyjne materiały, nie tylko ze względu na ich różnorodność, biogodność i biodegradowalność, lecz również dzięki tworzącym je

monomerom – jako źródło bioaktywnych syntonów. Ukazany w niniejszej pracy potencjał PHA jako materiału dla zastosowań medycznych, otwiera drogę dla syntezy nowych rozwiązań przydatnych do konstrukcji opatrunków, implantów i innych materiałów biomedycznych. Zaprezentowane metody syntezy i charakterystyki sfunkcjonalizowanych polimerów PHA czy małych, biologicznie aktywnych cząsteczek powstałych na bazie monomerów PHA stanowią swoisty punkt odniesienia dla nowych rozwiązań wpisujących się w oczekiwania tego ogromnego rynku. Opracowane metody syntezy czy to polimerów czy to nowych rozpuszczalników na ich bazie wpisują się w cele wyznaczone dla zrównoważonego rozwoju społeczeństwa. Przeprowadzone badania jasno wskazują pozytywny środowiskowy i ekonomiczny wpływ PHA na otaczający nas świat, równolegle ukazując możliwości syntezy tych polimerów i ich pochodnych w rozwiązaniach przyszłości – biorafineriach.

Bibliografia

1. Lemoigne, M. Products of dehydration and of polymerization of β -hydroxybutyric acid. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **8**, 770–782 (1926).
2. Doudoroff, M. & Stanier, R. Y. Role of poly- β -hydroxybutyric acid in the assimilation of organic carbon by bacteria. *Nature* **183**, 1440–1442 (1959).
3. Chodak, I. Polyhydroxyalkanoates: Origin, properties and applications. *Monomers, Polym. Compos. from Renew. Resour.* 451–477 (2008) doi:10.1016/B978-0-08-045316-3.00022-3.
4. Wallen, L. L. & Rohwedder, W. K. Poly- β -hydroxyalkanoate from Activated Sludge. *Environ. Sci. Technol.* **8**, 576–579 (1974).
5. de Smet, M. J., Eggink, G., Witholt, B., Kingma, J. & Wynberg, H. Characterization of intracellular inclusions formed by *Pseudomonas oleovorans* during growth on octane. *J. Bacteriol.* **154**, 870–878 (1983).
6. Muhammadi, Shabina, Afzal, M. & Hameed, S. Bacterial polyhydroxyalkanoates-eco-friendly next generation plastic: Production, biocompatibility, biodegradation, physical properties and applications. *Green Chem. Lett. Rev.* **8**, 56–77 (2015).
7. Raza, Z. A., Abid, S. & Banat, I. M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **126**, 45–56 (2018).
8. Raza, Z. A., Riaz, S. & Banat, I. M. Polyhydroxyalkanoates: Properties and chemical modification approaches for their functionalization. *Biotechnol. Prog.* **34**, 29–41 (2018).
9. Koller, M., Salerno, A., Dias, M., Reiterer, A. & Braunegg, G. Modern biotechnological polymer synthesis: A review. *Food Technol. Biotechnol.* **48**, 255–269 (2010).
10. Dinjaski, N. & Prieto, M. A. Smart polyhydroxyalkanoate nanobeads by protein based functionalization. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **11**, 885–899 (2015).

11. Steinbüchel, A. & Valentin, H. E. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids. *FEMS Microbiol. Lett.* **128**, 219–228 (1995).
12. Suriyamongkol, P., Weselake, R., Narine, S., Moloney, M. & Shah, S. Biotechnological approaches for the production of polyhydroxyalkanoates in microorganisms and plants - A review. *Biotechnol. Adv.* **25**, 148–175 (2007).
13. Jedliński, Z., Kowalczyk, M., Adamus, G., Sikorska, W. & Rydz, J. Novel synthesis of functionalized poly(3-hydroxybutanoic acid) and its copolymers. *Int. J. Biol. Macromol.* **25**, 247–253 (1999).
14. Rydz, J. *et al.* Forensic engineering of advanced polymeric materials. Part 1 - Degradation studies of polylactide blends with atactic poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate] in paraffin. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **29**, 247–259 (2015).
15. Lu, J., Tappel, R. C. & Nomura, C. T. Mini-review: Biosynthesis of poly(hydroxyalkanoates). *Polym. Rev.* **49**, 226–248 (2009).
16. Rasu, K. M. & Arun, A. Exploring biodegradable polymer production from marine microbes. in: *Biodegradable Polymers: Recent Developments and New Perspectives* (2017) (ed. G. Rohman). doi:10.5599/obp.14.7.
17. Guzik, M. *et al.* What Has Been Trending in the Research of Polyhydroxyalkanoates? A Systematic Review. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **8**, (2020).
18. Nitkiewicz, T. *et al.* How sustainable are biopolymers? Findings from a life cycle assessment of polyhydroxyalkanoate production from rapeseed-oil derivatives. *Sci. Total Environ.* **749**, 141279 (2020).
19. Sofińska, K. *et al.* Structural, topographical, and mechanical characteristics of purified polyhydroxyoctanoate polymer. *J. Appl. Polym. Sci.* **136**, 47192 (2019).
20. Cichoń, E. *et al.* Novel bioresorbable tricalcium phosphate/polyhydroxyoctanoate (TCP/PHO) composites as scaffolds for bone tissue engineering applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **98**, 235–245 (2019).
21. Witko, T., Solarz, D., Feliksiak, K., Rajfur, Z. & Guzik, M. Cellular architecture and migration behavior of fibroblast cells on polyhydroxyoctanoate (PHO): A natural polymer of bacterial origin. *Biopolymers* **110**, e23324 (2019).
22. Witko, T. *et al.* Insights into In Vitro Wound Closure on Two Biopolyesters—Polylactide and Polyhydroxyoctanoate. *Materials (Basel)*. **13**, 2793 (2020).
23. O'Connor, S. *et al.* The anti-cancer activity of a cationic anti-microbial peptide derived from monomers of polyhydroxyalkanoate. *Biomaterials* **34**, 2710–2718 (2013).
24. Szwej, E. *et al.* The chain length of biologically produced (R)-3-hydroxyalkanoic acid affects biological activity and structure of anti-cancer peptides. *J. Biotechnol.* **204**, 7–12 (2015).

25. Radivojevic, J. *et al.* Polyhydroxyalkanoate-based 3-hydroxyoctanoic acid and its derivatives as a platform of bioactive compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 161–172 (2016).
26. Staroń, J., Dąbrowski, J. M., Cichoń, E. & Guzik, M. Lactose esters: synthesis and biotechnological applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* **38**, 245–258 (2018).
27. Snoch, W. *et al.* Hollow silica microspheres as robust immobilization carriers. *Bioorg. Chem.* **93**, 102813 (2019).
28. Snoch, W. *et al.* Influence of chemical modifications of polyhydroxyalkanoate-derived fatty acids on their antimicrobial properties. *Catalysts* **9**, 510 (2019).
29. Harażna, K. *et al.* Polyhydroxyalkanoate-derived hydrogen-bond donors for the synthesis of new deep eutectic solvents. *Green Chem.* **21**, 3116–3126 (2019).
30. Archer, L. *et al.* Physical properties of biomass-derived novel natural deep eutectic solvents based on choline chloride and (R)-3-hydroxyacids. *J. Mol. Liq.* **315**, 113680 (2020).
31. Guzik, M., Harażna, K., Prajsnar, J., Skibiński, S. & Witko, T. Bioplastiki przyszłości - polimery zbudowane z hydroksykwasów. in *Biogospodarka: Wybrane aspekty* (eds. Pink, M. & Wojnarowska, M.) 391–453 (Difin SA, 2020).
32. Anjum, A. *et al.* Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. *Int. J. Biol. Macromol.* **89**, 161–174 (2016).
33. Harażna, Szyk-Warszyńska, Liliana, Witko, Małgorzata, K. Preparation, characterisation and modification of bacterial polyhydroxyoctanoate for construction of wound patches. in *7th International Seminar including Special session 'Recent Advances in Polymer Nanocomposites and Hybrid Materials'* (ed. Krzysztof Pielichowski) 139–152 (2019).
34. Ibrahim, M. H. A. & Steinbüchel, A. Poly(3-hydroxybutyrate) production from glycerol by *Zobellella denitrificans* MW1 via high-cell-density fed-batch fermentation and simplified solvent extraction. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 6222–6231 (2009).
35. Du, C., Sabirova, J., Soetaert, W. & Ki Carol Lin, S. Polyhydroxyalkanoates Production From Low-cost Sustainable Raw Materials. *Curr. Chem. Biol.* **6**, 14–25 (2012).
36. Brigham & Sinskey. Applications of Polyhydroxyalkanoates in the Medical Industry. *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.* 53–60 (2012)
37. Wampfler, B. *et al.* Isolation and purification of medium chain length poly(3-hydroxyalkanoates) (mcl-PHA) for medical applications using nonchlorinated solvents. *Biomacromolecules* **11**, 2716–2723 (2010).
38. Panaitescu, D. M. *et al.* Medium Chain-Length Polyhydroxyalkanoate Copolymer Modified by Bacterial Cellulose for Medical Devices. *Biomacromolecules* **18**, 3222–3232 (2017).
39. Rai, R. *et al.* The homopolymer poly(3-hydroxyoctanoate) as a matrix material for soft tissue engineering. *J. Appl. Polym. Sci.* **122**, 3606–3617 (2011).

40. Rai, R. Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoates and its Medical Applications. (University of Westminster, PhD Thesis, 2010).
41. Liu, H., Slamovich, E. B. & Webster, T. J. Increased osteoblast functions among nanophase titania/poly(lactide-co- glycolide) composites of the highest nanometer surface roughness. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **78**, 798–807 (2006).
42. Markets and Markets. Wound Dressings Market by Type (Traditional, Advanced (Alginate, Collagen, Hydrogel, Foam, Hydrocolloid, Film)), Wound Type (Traumatic, Surgical, Diabetic Foot, Venous Leg Ulcer & Burns), End User (Hospital, ASCs, Homecare) - Global Forecast to 2025. *Mark. Rep.* (2019).
43. Velasco, M. A., Narváez-Tovar, C. A. & Garzón-Alvarado, D. A. Design, materials, and mechanobiology of biodegradable scaffolds for bone tissue engineering. *Biomed Res. Int.* **2015**, 729076 (2015).
44. Ślosarczyk, A. & Paszkiewicz, Z. Metoda otrzymywania wysokoreaktywnego proszku fosforanu wapnia. PL 190486B1 (2005).
45. Lim, J. Y., Taylor, A. F., Li, Z., Vogler, E. A. & Donahue, H. J. Integrin expression and osteopontin regulation in human fetal osteoblastic cells mediated by substratum surface characteristics. *Tissue Eng.* **11**, 19–29 (2005).
46. Farah, S., Anderson, D. G. & Langer, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **107**, 367–392 (2016).
47. Skibiński, S. *et al.* Functionalized tricalcium phosphate and poly(3-hydroxyoctanoate) derived composite scaffolds as platforms for the controlled release of diclofenac. *Ceram. Int.* (2020) doi:10.1016/j.ceramint.2020.09.248.
48. Rhiel, M., Ducommun, P., Bolzonella, I., Marison, I. & Von Stockar, U. Real-time in situ monitoring of freely suspended and immobilized cell cultures based on mid-infrared spectroscopic measurements. *Biotechnol. Bioeng.* **77**, 174–185 (2002).
49. Agnew, D. E. & Pfleger, B. F. Synthetic biology strategies for synthesizing polyhydroxyalkanoates from unrelated carbon sources. *Chem. Eng. Sci.* **103**, 58–67 (2013).
50. Ohashi, T. & Hasegawa, J. New preparative methods for optically active β - hydroxycarboxylic acids. in *Chirality in Industry* (eds. Sheldrake, G. N., Collins, A. N. & Crosby, J. E.) 249–268 (John Wiley and sons, 1992).
51. Choi, J. II & Lee, S. Y. Efficient and economical recovery of poly(3-hydroxybutyrate) from recombinant *Escherichia coli* by simple digestion with chemicals. *Biotechnol. Bioeng.* **62**, 546–553 (1999).
52. Ruth, K. *et al.* Efficient production of (R)-3-hydroxycarboxylic acids by biotechnological

- conversion of polyhydroxyalkanoates and their purification. *Biomacromolecules* **8**, 279–286 (2007).
53. Illanés, A. Whey upgrading by enzyme biocatalysis. *Electron. J. Biotechnol.* **14**, (2011).
 54. Kartha, K. P. R. & Field, R. A. Iodine : A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-O-Acetylation, regioselective acylation and acetolysis. *Tetrahedron* **53**, 11753–11766 (1997).
 55. Dasgupta, F., Singh, P. P. & Srivastava, H. C. Acetylation of carbohydrates using ferric chloride in acetic anhydride. *Carbohydr. Res.* **80**, 346–349 (1980).
 56. Bhaskar, P. M. & Loganathan, D. H-Beta zeolite as an efficient catalyst for per-O-acetylation of mono- and disaccharides. *Synlett* **1**, 129–131 (1999).
 57. Allavudeen, S. S., Kuberan, B. & Loganathan, D. A method for obtaining equilibrium tautomeric mixtures of reducing sugars via glycosylamines using nonaqueous media. *Carbohydr. Res.* **337**, 965–968 (2002).
 58. Chervin, S. M., Lowe, J. B. & Koreeda, M. Synthesis and biological evaluation of a new sialyl Lewis X mimetic derived from lactose. *J. Org. Chem.* **67**, 5654–5662 (2002).
 59. Skibiński, S. *et al.* Functionalized tricalcium phosphate and poly(3-hydroxyoctanoate) derived composite scaffolds as platforms for the controlled release of diclofenac. *Ceram. Int.* (in press 2020).

Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

Ukończyłem dwustopniowe studia licencjackie i magisterskie na kierunku *ochrona środowiska*, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Pracę licencjacką, wykonałem pod opieką prof. Jana Potempy w Zakładzie Mikrobiologii na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, i obroniłem w 2007 roku. Badania do pracy magisterskiej przeprowadziłem w Zakładzie Biochemii, Wydział Ogrodniczy Krakowskiego Uniwersytetu Rolniczego pod opieką dr hab. Pawła Kaszyckiego. Pracę magisterską obroniłem w 2008 roku. Po obronie rozpocząłem stacjonarne studia doktoranckie w Szkole Badań Biomolekularnych i Biomedycznych dublińskiego University College Dublin w Irlandii. Rozprawę doktorską pt. *Chemobiotechnological conversion of polyethylene to a biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate* przygotowałem pod opieką prof. Kevina O'Connora i obroniłem w 2012 roku. Tematyka badań dotyczyła optymalizacji procesu fermentacyjnej produkcji biopolimeru PHA z niedegradowalnego polietylenu. Wyniki otrzymane w trakcie studiów doktoranckich stały się podstawą dwóch publikacji naukowych w uznanych czasopismach z listy filadelfijskiej, jednego zgłoszenia patentowego, a na ich podstawie powstała firma (spin-off) Bioplastech Ltd z siedzibą w Dublinie, której jestem udziałowcem.

Podczas ostatniego roku doktoratu zostałem zatrudniony na University College Dublin na stanowisku asystenta. W tym okresie skupiłem się na badaniach dehydrogenaz związanych z cyklem utleniania kwasów tłuszczowych w organizmach prokariotycznych. W 2012 roku zostałem zatrudniony w Bioplastech Ltd., gdzie jako specjalista ds. rozwoju bioprocesu, opracowałem nowatorskie metody produkcji polihydroksyalkanianów na skalę półtechniczną. Zaprojektowałem i uruchomiłem linię produkcyjną zawierającą wszystkie potrzebne elementy do wytworzenia PHA począwszy od momentu hodowli wstępnej mikroorganizmu po otrzymanie gotowego produktu – biopolimeru PHA. Równolegle, zarządzając dwuosobowym zespołem badawczym, opracowałem wydajną metodę produkcji na skale gramową chiralnych hydroksykwasów (*Small molecules manufacturing*; Bioplastech Ltd. Dublin, Irlandia, Źródło finansowania: Bioplastech Ltd, Wysokość finansowania: €125,000). Obie technologie są aktywnie wykorzystywane przez Bioplastech Ltd w komercyjnej produkcji biopolimerów oraz ich pochodnych.

W czerwcu 2014 roku zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta (Senior Postdoctoral Researcher) w grupie badawczej prof. Kevina O'Connora na University College Dublin, gdzie jako specjalista ds. rozwoju procesu optymalizowałem fermentacje bakteryjne stosowane do produkcji

kwasu mlekowego w skali laboratoryjnej z serwatki i produktów pochodnych na zlecenie globalnej firmy mleczarskiej Glanbia Ingredients Limited Ireland (Ballyraget, Kilkenny, Irlandia). Równolegle zająłem się adaptacją ukierunkowaną mikroorganizmu produkcyjnego w celu uzyskania maksymalnej wydajności produkcyjnej. Uczestniczyłem w bezpośrednim transferze wiedzy z uniwersytetu do firmy zamawiającej (sprzedaż licencji 2017 rok), brałem udział w pracach przygotowujących instalację produkcyjną (300 000L) oraz w początkowych etapach jej instalowania. Badania zakończyły się złożeniem patentu międzynarodowego na proces produkcji kwasu mlekowego opracowaną przeze mnie metodą.

W czerwcu 2015 roku rozpocząłem pracę w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J. Habera Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. Zakres moich badań leży w dziedzinie biokatalizy. Na tym polu łączę swoje dotychczasowe doświadczenie związane z produkcją i wykorzystaniem bakteryjnych polihydroksyalkanianów z naukowymi zainteresowaniami członków grupy Biokataliza Teoretyczna i Eksperymentalna, gdzie poszukuję nowych zastosowań dla biokatalitycznie sfunkcjonalizowanych polimerów i ich pochodnych. W Instytucie zrealizowałem trzy projekty badawcze (w roli ich kierownika) rozwijające mój warsztat i zainteresowania badawcze: *Ciecze jonowe na bazie polihydroksyalkanianów i przykłady ich zastosowań* (Typ grantu: grant wewnętrzny dla młodych naukowców, Wysokość finansowania: 15,000 PLN), *Biokatalityczna synteza estrów cukrowych* (Typ grantu: grant wewnętrzny dla młodych naukowców, Wysokość finansowania: 16,000 PLN), *Biosynteza nowych estrów laktozy za pośrednictwem lipaz. Charakterystyka ich właściwości fizykochemicznych i przeciwrakowych* (Typ grantu: grant badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki - Sonata; Wysokość finansowania: 388,000.00 PLN) oraz jeden projekt wdrożeniowy na zlecenie Grupy Azoty Zakłady Azotowe „Puławy” S.A. „*Opracowanie katalizatorów na bazie lipaz*” (Typ grantu: zlecenie badawcze, Wysokość finansowania: 233,700.00 PLN).

Obecnie jestem kierownikiem trzech projektów: *Nowe sfunkcjonalizowane biopolimery do zastosowań medycznych* (Typ grantu: projekt badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju - Lider; Wysokość finansowania: 1,198,950.00 PLN), *Technologia biorafinacji olejów roślinnych do wytwarzania zaawansowanych materiałów kompozytowych* (Typ grantu: projekt badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju Strategiczny program badań naukowych i prac rozwojowych "Nowoczesne Technologie Materiałowe" TECHMATSTRATEG; Wysokość finansowania: 14,579,038.00 PLN; kierownik konsorcjum: IKiFP PAN, Akademia-Górnictwo Hutnicza (Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki), Politechnika Krakowska (Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej), Warszawski Uniwersytet Medyczny (I Wydział Lekarski) i firma Smart Labs) oraz *Projektu badawczo-rozwojowego w zakresie opracowania biotechnologicznego procesu produkcji polihydroksymaślanu (PHB)* (Typ grantu: zlecenie badawcze, Źródło finansowania: Orlen Południe S.A., Wysokość finansowania: 1,015,773.11 PLN).

Na przestrzeni swojej kariery rozwinąłem efektywną międzynarodową i krajową współpracę naukowo-przemysłową. Współpracuję z naukowcami i przedsiębiorcami z Irlandii (prof. Kevin O'Connor – Bioplastech/UCD, dr Bill Morrissey – Glanbia Plc, dr Lydie Coulombel – Henkel), z Niemiec (prof. Alexander Steinbuchel – Uniwersytet Munster), z Serbii (dr Jasmina Nikodinović – Uniwersytet Belgradzki), ze Słowenii (Dr Uros Novak, Instytut Chemiczny), a na terenie Polski z Uniwersytetem Jagiellońskim (dr Janusz Dąbrowski), Politechniką Krakowską (dr Szczepan Bednarz, prof. Krzysztof Pielichowski), Akademią Górniczo-Hutniczą (dr Aneta Zima, prof. Anna Ślósarczyk), Warszawskim Uniwersytetem Medycznym (dr Martyna Setą, mgr Karoliną Stępień). Równolegle współpracuję z organizacjami pozarządowymi. Wraz z Klasterem LifeScience Małopolska oraz Urzędem Marszałkowskim Województwa Małopolskiego biorę udział w wypracowywaniu polityk dot. biogospodarki oraz organizacji działań związanych z promocją Małopolski w Inicjatywie Awangarda. Zaś z samą Vanguard Initiative współtworzę Demo Case dla Małopolski w ramach tej Inicjatywy na przykładzie promocji koncepcji stosowania bakteryjnych bioplastików (poliestrów) – polihydroksyalkanianów w różnych aspektach życia codziennego.

Równolegle do osiągnięć aplikacyjnych przedstawionych powyżej, od czasu uzyskania tytułu doktora nie poprzestaję być aktywnym na polu badawczym. Chciałbym podkreślić, że w swoich badaniach zajmuję się różnorodną tematyką (fermentacją mikrobiologiczną, fizykochemiczną charakterystyką materiałów, zastosowaniem polimerów i ich pochodnych w medycynie) wykorzystując różne metody badawcze (np. fermentacja, biokataliza, biologia molekularna, analityka chemiczna – GC-MS, HPLC-MS) i jednocześnie otrzymuję wyniki o dużym znaczeniu poznawczym. Spośród moich najważniejszych osiągnięć naukowo-przemysłowych na szczególną uwagę zasługuje opracowanie profilu fermentacyjnego dla produkcji PHA z kwasów tłuszczowych, który stał się podwaliną do założenia spółki Bioplastech Ltd oraz stanowił punkt wyjścia dla rozwoju kolejnych profili fermentacyjnych do produkcji PHA z lotnych kwasów organicznych, glukozy i gliceryny. Wyniki moich prac w zasadniczy sposób przyczyniły się do zwiększenia potencjału rozwojowego firmy mleczarskiej – Glanbia Plc – gdzie poprzez wprowadzenie do jej działalności produkcyjnej linii fermentacyjnej kwasu mlekowego stała się potentatem dla dostaw tego surowca dla producentów polilaktydu w Europie i na Świecie.

Potwierdzeniem moich osiągnięć są publikacje naukowe w prestiżowych czasopismach z listy filadelfijskiej (m.in. *Crit Rev Biotechnol*, *J Biotechnol*, *Biotechnol Bioeng*, *Appl Microbiol Biotechnol*, *Sci. Tot. Environ.* czy *Bioresour Technol.*) oraz złożone zgłoszenia patentowe wraz z udanymi transferami technologii uczelnia->biznes. Na mój obecny dorobek naukowy składa się 28 prac (w tym: 26 w czasopismach z listy filadelfijskiej i 2 rozdziały w monografii). Moje prace budzą duże zainteresowanie środowiska naukowego, o czym świadczy ich liczba cytowań, tj. 268 (bez autocytowań, stan na 16/10/2020., wg. bazy danych Web of Science; H index = 8). Swoje badania prezentowałem również

na licznych konferencjach o zasięgu międzynarodowym (m.in. Green chemistry/ Environmental Technologies Conference, Society for Chemical Industry (SCI), Dublin, Irlandia (2010); International Symposium on Biopolymers, Stuttgart, Niemcy (2010), Cairns, Australia (2012), Pekin, Chiny (2018); SGM Irish Branch Meeting, Queen's University, Belfast, Irlandia Północna (2011); 1st European Congress of Applied Biotechnology, Berlin, Niemcy, The European Forum for Industrial Biotechnology and the Bioeconomy, Bruksela, Belgia (2015)).

Podsumowując, jestem doświadczonym i samodzielny naukowcem radzącym sobie doskonale w pracy naukowej i wdrożeniowej, a także w zarządzaniu grupą współpracowników. Moja inicjatywa badawcza, duża rozpiętość zainteresowań naukowych oraz pracowitość decydują o moim potencjale jako naukowca, z kolei charakter pozwala na organizowanie grupy badawczej i kierowanie nią.

Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

Na University College Dublin prowadziłem kursy dla studentów z zakresu mikrobiologii ogólnej, rolniczej i żywieniowej. Byłem opiekunem jednej pracy magisterskiej (Siofra Kelly). W Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J. Habera PAN prowadziłem wykłady dla doktorantów z zakresu fermentacji mikrobiologicznych. Co roku w czasie wakacyjnym podejmuję się opieki nad odbywanymi stażami studenckimi w naszej grupie badawczej. Do roku 2020 pod moją opieką w roli promotora lub promotora pomocniczego powstały: jedna praca inżynierska (inż. Maja Kowalczyk), cztery prace magisterskie (mgr Fabrizio Pulvirenti, mgr Mohammed Hindash, mgr inż. Anna Spytek, mgr inż. Patrycja Urbańska) oraz jedna praca doktorska (dr Tomasz Witko).

Uczestnicząc w projekcie Bloom pt. *Zwiększenie wiedzy i świadomości obywateli Europy, odnośnie badań i innowacji w dziedzinie Biogospodarki* (Horyzont 2020) w roli wykonawcy zorganizowałem trzy dniowe warsztaty zatytułowane „Zrób sobie bioplastik – Bioplastiks DIY” w języku angielskim dla grupy międzynarodowych studentów i pracowników naukowych z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie na terenie Instytutu.

Równolegle do mojej działalności stricte naukowo-biznesowej staram się szeroko popularyzować prowadzone przeze mnie badania, tak aby w sposób komunikatywny docierały do szerokiego grona społecznego. Począwszy od najmłodszych odbiorców – co roku uczestniczę w organizacji Dni Otwartych Instytutu. Prowadziłem wykłady popularnonaukowe w tematyce bioplastików produkowanych przez bakterie, takie jak m.in. dla studentów w ramach inicjatywy Boost Biotech, webinar zorganizowany przez Centrum Nauki Kopernik. Nagrałem krótkie filmy, które promują prowadzone przez mnie badania – jeden w ramach wcześniej wspomnianego projektu Bloom,

drugi na konkurs organizowany przez Ambasadę RP w Japonii. Ponadto wyniki moich badań stały się materiałem artykułów i wywiadów w mediach ogólnopolskich (gazeta Rzeczpospolita, portal PAP Nauka w Polsce przedrukowywany wielokrotnie oraz wywiad z Cezarym Łasiczką w TOK FM).



Wykaz osiągnięć naukowych albo
artystycznych, stanowiących znaczny
wkład w rozwój określonej
dyscypliny

A handwritten signature in blue ink, located below the title. The signature is fluid and stylized, with a large loop at the top and a horizontal stroke extending to the right.

Dr Maciej Wojciech Guzik

Kraków, 22/10/2020

Spis treści

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY	3
II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ	7
III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM	16
IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE	18

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

Tytuł osiągnięcia, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

Polihydroksyalkaniiany, bakteryjnie syntetyzowane polimery, jako źródło związków chemicznych do syntezy bioaktywnych cząsteczek i zaawansowanych materiałów

1. Monografia naukowa, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2a Ustawy; lub

2. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy; lub

3. Wykaz zrealizowanych oryginalnych osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych lub artystycznych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2c Ustawy.

Na cykl powiązanych ze sobą artykułów naukowych składa się 11 prac z recenzowanych czasopism oraz dwa zgłoszenia patentowe.

H1) **Guzik MW***, Witko T, Steinbüchel A, Wojnarowska M, Sołtysik M, Wawak S, What has been trending in the research of polyhydroxyalkanoates? A systematic review. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:959, 2020, IF **3,644**

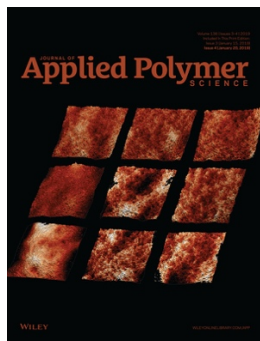
Udział w pracy: 60%; Opracowałem koncepcję pracy, przygotowałem bazę publikacji do analizy, dokonałem częściowej analizy wyników – opisałem trendy 3, 5, 6, 8; stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H2) Nitkiewicz T, Wojnarowska M, Sołtysik M, Kaczmarski A, Witko T, Ingrao C, **Guzik MW***, How sustainable are biopolymers? Findings from a Life cycle assessment of polyhydroxyalkanoate production from rapeseed-oil derivatives., Sci. Total Environ., 749, 141279, 2020 IF **6,551**

Udział w pracy: 55%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem dane wsadowe do analizy LCA, dokonałem częściowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H3) Sofińska, K; Barbasz, J; Witko, T; Dryzek, J; Haraźna, K; Witko, M; Kryściak-Czerwenka, J; **Guzik, MW***, Structural, topographical, and mechanical characteristics of purified polyhydroxyoctanoate polimer, J. App. Polymer Sci., 136(4), 47192, 2019, IF **2,520**

Udział w pracy: 55%; Zaplanowałem badania, pozyskałem środki finansowe, nadzorowałem prace, wyprodukowałem polimer do badań, przygotowałem i edytowałem manuskrypt, korespondowałem z recenzentami



Moje badania zostały wyróżnione poprzez stworzenie okładki wydania J. App. Polymer Sci., 136(4) z przedstawionych wyników w powyższej pracy (<https://doi.org/10.1002/app.47326>).

H4) Cichoń, E; Haraźna, K; Skibiński, S; Witko, T; Zima, A; Ślósarczyk, A; Zimowska, M; Witko, M; Leszczyński, B; Wróbel, A; **Guzik, MW***, Novel bioresorbable tricalcium phosphate/polyhydroxyoctanoate (TCP/PHO) composites as scaffolds for bone tissue engineering applications, J. Mech. Behav. Biomed. 98, 235-245, 2019, IF **3,372**

Udział w pracy: 55%; Zaprojektowałem badania, nadzorowałem merytoryczne wykonanie pracy, przygotowałem polimer, opracowałem metodę oznaczenia monomerów w roztworze za pomocą HPLC-MS/MS, edytowałem manuskryptu (draft, finalną wersję), korespondowałem z recenzentami, pozyskałem środki na badania.

H5) Witko, T; Solarz, D; Feliksiak, K; Rajfur, Z; **Guzik, MW***, Cellular architecture and migration behavior of fibroblast cells on polyhydroxyoctanoate (PHO): A natural polymer of bacterial origin, Biopolymers, 110(11), e23324, 2019, IF **1,845**

Udział w pracy: 30%; Zaprojektowałem badania, wyprodukowałem polimer, sprawowałem nadzór merytoryczny nad wykonaniem pracy, zdobyłem finansowanie umożliwiające wykonanie prac, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H6) Witko, T; Solarz, D; Feliksiak, K; Rajfur, Z*; Haraźna, K.; **Guzik, MW***, Insights into *in vitro* wound closure on two biopolyesters – polylactide and polyhydroxyoctanoate, Materials, 13(12), 2793, 2020, IF=**3,057**

Udział w pracy: 30%; Zaprojektowałem badania, wyprodukowałem polimer, sprawowałem nadzór merytoryczny nad wykonaniem pracy, zdobyłem finansowanie umożliwiające wykonanie prac, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H7) Staroń, J; Dąbrowski, J M; Cichoń, E; Guzik, MW*, Lactose esters: Synthesis and biotechnological applications, Crit. Rev. Biotechnol. 38(2), 245-258, 2018, IF **8,108**

Udział w pracy: 60%; Zaprojektowałem koncepcje pracy, opisałem część enzymatyczną syntezy estrów laktozy, zdobyłem finansowanie umożliwiające powstanie pracy, edytowałem manuskrypt (draft, finalną wersję, korespondencja z recenzentami).

H8) Snoch, W; Tataruch, M; Zastawny, O; Cichoń, E; Gosselin, M; Cabana, H; Guzik, MW*, Hollow silica microspheres as robust immobilization carriers, Bioorg. Chem. 93, 102813, 2019, IF **4,831**

Udział w pracy: 60%; Zaplanowałem koncepcję badań, pozyskałem środki finansowe do ich realizacji, napisałem i edytowałem manuskrypt, odpowiadałem na recenzje, sprawowałem całościowy nadzór nad wykonaniem badań

H9) Snoch, W; Stępień, K; Prajsnar, J; Staroń, J; Szaleniec, M; Guzik, MW*, Influence of chemical modifications of polyhydroxyalkanoate-derived fatty acids on their antimicrobial properties, Catalysts, 9(6), 510, 2019, IF **3,520**

Udział w pracy: 60%; Zaprojektowałem badania, pozyskałem środki finansowe na ich wykonanie i publikację, prowadziłem nadzór merytoryczny nad wykonaniem badań, konsultowałem i poprawiałem manuskrypt na wszystkich etapach procesu edytorskiego, przygotowałem odpowiedzi dla recenzentów i korespondowałem z nimi

H10) Haraźna, K; Walas, K; Urbańska, P; Witko, T; Snoch, W; Siemek, A; Jachimska, B; Krzan, M; Napruszewska, BD; Witko, M; Guzik, MW*, Polyhydroxyalkanoate-derived hydrogen-bond donors for the synthesis of new deep eutectic solvents, Green Chem., 21(11), 3116-3126, 2019, IF **9,480**

Udział w pracy: 55%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem część wyników z biodegradacji (próbki, analiza HPLC-MS), dokonałem całościowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H11) Archer, L.; Jachimska, B.; Krzan, M.; Szaleniec, M.; Hebda, E.; Radzik, P.; Pielichowski, K.; Guzik, MW*, Physical properties of biomass-derived novel natural deep eutectic solvents based on choline chloride and (R)-3-hydroxyacids, J. Mol. Liq., 315, 113680, IF **5.065**

Udział w pracy: 60%; Opracowałem koncepcję pracy, pozyskałem środki na badania, zorganizowałem pracę, przygotowałem kwasy tłuszczowe z PHA oraz część DESów, dokonałem całościowej analizy wyników, stworzyłem draft publikacji, poprawiłem wersję finalną, koordynowałem dyskusję wyników, korespondowałem z recenzentami

H12) Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; Guzik, MW, Sposób elektroprzędzenia polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434432 do UPRP, 24/06/2020

Udział w pracy: 50%; Opracowałem koncepcję badań, przygotowałem polimer, zaproponowałem rozwiązanie z użyciem chłodziwa, poprawiałem tekst zgłoszenia, prowadziłem postępowanie z Rzecznikiem Patentowym, sfinansowałem badania

H13) Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; Guzik, MW, Sposób krystalizacji polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434423 do UPRP, 24/06/2020

Udział w pracy: 50%; Opracowałem koncepcję badań, przygotowałem polimer, poprawiałem tekst zgłoszenia, prowadziłem postępowanie z Rzecznikiem Patentowym, sfinansowałem badania

Sumaryczny IF prac = 52.002, Sumaryczny liczba punktów MNiSW = 1320

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

brak

2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

Rozdziały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora

- [1]. **Guzik, M.**, Haraźna, K., Prajsnar, J., Skibiński, S., Witko, T., Bioplastiki przyszłości - polimery zbudowane z hydroksykwasów, in: Biogospodarka: Wybrane Aspekty. Difin SA, pp. 391–453, 2020
- [2]. Nikodinovic-Runic, J., **Guzik, M.**, Kenny, S.T., Babu, R., Werker, A., O'Connor, K.E., Carbon-rich wastes as feedstocks for biodegradable polymer (polyhydroxyalkanoate) production using bacteria, in: Advances in Applied Microbiology. Academic Press Inc., pp. 139–200, 2013

3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.

Brak

4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

Publikacje opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora

- [1]. Brzęczek-Szafran, A., Więcek, P., **Guzik, M.**, Chrobok, A., Combining amino acids and carbohydrates into readily biodegradable, task specific ionic liquids. RSC Adv. 10, 18355–18359, 2020
- [2]. Feliksiak, K., Witko, T., Solarz, D., **Guzik, M.**, Rajfur, Z., Vimentin Association with Nuclear Grooves in Normal MEF 3T3 Cells. Int. J. Mol. Sci. 21(20), 7478, 2020
- [3]. Lenart-Boroń, A., Prajsnar, J., **Guzik, M.**, Boroń, P., Chmiel, M., How much of antibiotics can enter surface water with treated wastewater and how it affects the resistance of waterborne bacteria: A case study of the Białka river sewage treatment plant. Environ. Res. 191, 110037, 2020
- [4]. Mrugała, B., Miłaczewska, A., Porebski, P.J., Niedziałkowska, E., **Guzik, M.**, Minor, W., Borowski, T., A study on the structure, mechanism, and biochemistry of kanamycin B dioxygenase (KanJ)—an enzyme with a broad range of substrates. FEBS J., *in press*, <https://doi.org/10.1111/febs.15462>, 2020
- [5]. Skibiński, S., Cichoń, E., Haraźna, K., Marcello, E., Roy, I., Witko, M., Ślósarczyk, A., Czechowska, J., **Guzik, M.**, Zima, A., Functionalized tricalcium phosphate and poly(3-hydroxyoctanoate) derived composite scaffolds as platforms for the controlled release of diclofenac. Ceram. Int., *in press*, doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.248, 2020

- [6]. Sofińska, K., Wojtkiewicz, A.M., Wójcik, P., Zastawny, O., **Guzik, M.**, Winiarska, A., Waligórski, P., Cieśla, M., Barbasz, J., Szaleniec, M., Investigation of quaternary structure of aggregating 3-ketosteroid dehydrogenase from *Sterolibacterium denitrificans*: In the pursuit of consensus of various biophysical techniques. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1863, 1027–1039, 2019
- [7]. Radivojevic, J., Skaro, S., Senerovic, L., Vasiljevic, B., **Guzik, M.**, Kenny, S.T., Maslak, V., Nikodinovic-Runic, J., O'Connor, K.E., Polyhydroxyalkanoate-based 3-hydroxyoctanoic acid and its derivatives as a platform of bioactive compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 161–172, 2016
- [8]. Davis, R., Duane, G., Kenny, S.T., Cerrone, F., **Guzik, M.W.**, Babu, R.P., Casey, E., O'Connor, K.E., High cell density cultivation of *Pseudomonas putida* KT2440 using glucose without the need for oxygen enriched air supply. *Biotechnol. Bioeng.* 112, 725–733, 2015
- [9]. Szwej, E., Devocelle, M., Kenny, S., **Guzik, M.**, O'Connor, S., Nikodinovic-Runic, J., Radivojevic, J., Maslak, V., Byrne, A.T., Gallagher, W.M., Zulian, Q.R., Zinn, M., O'Connor, K.E., The chain length of biologically produced (*R*)-3-hydroxyalkanoic acid affects biological activity and structure of anti-cancer peptides. *J. Biotechnol.* 204, 7–12, 2015
- [10]. Cerrone, F., Choudhari, S.K., Davis, R., Cysneiros, D., O'Flaherty, V., Duane, G., Casey, E., **Guzik, M.W.**, Kenny, S.T., Babu, R.P., O'Connor, K., Medium chain length polyhydroxyalkanoate (mcl-PHA) production from volatile fatty acids derived from the anaerobic digestion of grass. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 611–620, 2014
- [11]. Cerrone, F., Duane, G., Casey, E., Davis, R., Belton, I., Kenny, S.T., **Guzik, M.W.**, Woods, T., Babu, R.P., O'Connor, K., Fed-batch strategies using butyrate for high cell density cultivation of *Pseudomonas putida* and its use as a biocatalyst. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 9217–9228, 2014
- [12]. **Guzik, M.W.**, Kenny, S.T., Duane, G.F., Casey, E., Woods, T., Babu, R.P., Nikodinovic-Runic, J., Murray, M., O'Connor, K.E., Conversion of post consumer polyethylene to the biodegradable polymer polyhydroxyalkanoate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4223–4232, 2014 (praca z tematyki doktoratu)
- [13]. **Guzik, M.W.**, Narancic, T., Ilic-Tomic, T., Vojnovic, S., Kenny, S.T., Casey, W.T., Duane, G.F., Casey, E., Woods, T., Babu, R.P., Nikodinovic-Runic, J., O'Connor, K.E., Identification and characterization of an acyl-CoA dehydrogenase from *Pseudomonas putida* KT2440 that shows preference towards medium to long chain length fatty acids. *Microbiol. SGM (United Kingdom)* 160, 1760–1771, 2014 (praca z tematyki doktoratu)
- [14]. Casey, W.T., Nikodinovic-Runic, J., Fonseca Garcia, P., **Guzik, M.W.**, McGrath, J.W., Quinn, J.P., Cagney, G., Prieto, M.A., O'Connor, K.E., The effect of polyphosphate kinase gene deletion on polyhydroxyalkanoate accumulation and carbon metabolism in *Pseudomonas putida* KT 2440. *Environ. Microbiol. Rep.* 5, 740–746, 2013

- [15]. Davis, R., Kataria, R., Cerrone, F., Woods, T., Kenny, S., O'Donovan, A., **Guzik, M.**, Shaikh, H., Duane, G., Gupta, V.K., Tuohy, M.G., Padamatti, R.B., Casey, E., O'Connor, K.E., Conversion of grass biomass into fermentable sugars and its utilization for medium chain length polyhydroxyalkanoate (mcl-PHA) production by *Pseudomonas* strains. Bioresour. Technol. 150, 202–209, 2013.

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Nie dotyczy

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

Nie dotyczy

7. Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

Wystąpienia przed uzyskaniem stopnia doktora:

[1]. Wystąpienia ustne

- I. Kenny S, **Guzik MW**, Nikodinovic J, Kaminski W, Woods T, Babu R, Keely R, O'Connor KE The conversion of waste to the biodegradable polymer PHA, European Symposium on Biopolymers (ESBP 2011) Dublin, Irlandia, 2011
- II. **Guzik MW**, Kenny ST, Babu RP, Woods T, O'Connor KE Bioconversion of aliphatic hydrocarbons to a biodegradable polymer – polyhydroxyalkanoate, International Symposium on Biopolymers (ISBP 2012) Cairns, Australia, 2012
- III. **Guzik M**, Kenny S, Connor S O, Szwej E, Gallagher W, Nikodinovic J, Byrne A, Devocelle M, Babu R, Woods T, Zinn M, Ren Q, O'Connor K, Applications of PHA and PHA monomers, International Symposium on Biopolymers (ISBP 2012) Cairns, Australia, 2012

[2]. Postery

- I. **Guzik MW**, Kenny S, Nikodinovic J, Kaminski W, Woods T, Babu R, Keely R, O'Connor K Conversion of waste products to value added biodegradable plastic (2 miesjce - nagroda rektora UCD), UCD Festival of Research and Innovation; Earth Sciences, Energy & the Environment Dublin, Irlandia, 2010

- II. **Guzik MW**, Hume A, Nikodinovic J, O'Connor K Investigation of the role of β - oxidation upper pathway genes in PHA accumulation, International Symposium on BioPolymers (ISBP 2010) Stuttgart, Niemcy, 2010
- III. Nikodinovic Runic J, Kenny S, **Guzik M**, O'Connor K, The conversion of BTEX compounds by single and defined mixed cultures to medium chain length polyhydroxyalkanoate, EPA National Research Conference Dublin, Irlandia, 2010
- IV. **Guzik MW**, Kenny S, Nikodinovic J, Woods T, Babu R, O'Connor K The upcycling of waste to the biodegradable polymer, Green chemistry/Environmental Technologies Conference, Society for Chemical Industry (SCI) Dublin, Irlandia, 2010
- V. **Guzik MW**, Duane G, Kenny S, Casey E, O'Connor K. Mathematical modeling of a bioprocess for PHA production, 1st European Congress of Applied Biotechnology, Berlin, Niemcy, 2011
- VI. **Guzik MW**, Kelly S, Kenny ST, O'Connor KE Isolation of new hydrocarbon degrading bacteria capable of polyhydroxyalkanoate (PHA) accumulation, SGM Irish Branch Meeting Belfast, UK, 2011

Wystąpienia po uzyskaniu stopnia doktora:

[1]. Wystąpienia ustne na zaproszenie

- I. **Guzik M**, Bacterial polymers in medicine, Forum Nauka – Biznes: Nanotechnologia w medycynie, Katowice, Polska, 2018
- II. **Guzik M**, Production and applications of bacterially synthesized polymer – polyhydroxyalkanoate, 7th International Seminar On Modern Polymeric Materials For Environmental Applications, Kraków, Polska, 2019
- III. **Guzik M**, Harażna K, Witko T, Cichoń E, Skibiński S, Zima A, Ślósarczyk A, Roy I, Development of polyhydroxyalkanoate-based biomaterials for bone tissue regeneration; 3rd International Conference and Exhibition on Polymer Chemistry and Materials Engineering Singapore, keynote speaker, 2019

[2]. Wystąpienia ustne

- I. Sofińska K, **Guzik M**, Structure topography and local mechanical properties of PHA and PLA for medical applications, Nanotech Poland, Poznań, Polska, 2017
- II. **Guzik M**, Polyhydroxyalkanoates – bacterial polymers for biomedical applications, International Conference on Catalysis and Surface Chemistry Kraków, Polska, 2018
- III. Prajsnar J, Witko M, Bojarski A, **Guzik M**, Reverting chirality of bacterially synthesised pro-drugs, International Conference on Catalysis and Surface Chemistry Kraków, Polska, 2018

- IV. Snoch W, Staroń J, **Guzik M**, Enzymatic synthesis of lactose esters using modified monomers originating from bacterial polyhydroxyalkanoates for applications in food and medical industries, International Conference on Catalysis and Surface Chemistry Kraków, Polska, 2018
- V. Haraźna K, Radzik P, Witko M, Bojarski A, **Guzik M**, Physicochemical characterisation of polyhydroxyoctanoate (PHO) polymer, International Conference on Catalysis and Surface Chemistry Kraków, Polska, 2018
- VI. **Guzik M**, Sofińska K, Haraźna K, Witko T, Solarz D, Stępień K, Bacterial polymer – polyhydroxyalkanoate – a promising material for biomedical applications, 2018 Global Conference on Polymer and Composite Materials (PCM 2018), Kitakyushu, Japonia, 2018
- VII. **Guzik M**, Haraźna K, Witko T, Stępień K, Seta M, Cichoń E, Skibiński S, Polyhydroxyalkanoates in tissue regeneration, International Conference on Smart Materials Technologies, St.Petersburg, Rosja, 2019, nagroda za najlepszy wykład
- VIII. **Guzik M**, Produkcja i zastosowania polimeru syntetyzowanego bakteryjnie - polihydroksyalkanianu, 62 Zjazd PTChem, Warszawa, Polska, 2019

[3]. Postery

- I. Staroń J, Cichoń E, Stefaniak M, **Guzik M**, Chemo-biotechnological synthesis of precursors for biocatalytic acylation of sugars, European Congress on Biotechnology Kraków, Polska, 2016
- II. Szaleniec M, Rugor A, Janeczko T, Hochołowski M, **Guzik M**, Selective modifications of steroids and sterols by enzymes from bacterial cholesterol degradation pathway, European Congress on Biotechnology Kraków, Polska, 2016
- III. Rugor A, Tataruch M, Staroń J, **Guzik M**, Szaleniec M, Structure, reactivity and application of steroid C25 dehydrogenase, a molybdenum enzyme hydroxylating sterols and vitamin D3, Biocat 2016 Hamburg, Niemcy, 2016
- IV. Snoch W, Staroń J, **Guzik M**, Novel halogenated sugar esters derived from bacterial polymer polyhydroxyalkanoate, Nonatech Poland Poznań, Polska, 2017
- V. Witko T, **Guzik M**, Sofińska K, Stępień K, Podobinska M, Novel biocompatible polymers for biomedical applications, 62nd Annual Meeting - Biophysical Society San Francisco, Stany Zjednoczone Ameryki, 2018
- VI. Haraźna K, Witko M, Bojarski A, **Guzik M**, Enzymatic modification of polyhydroxyoctanoate (PHO) polymer by nonsteroidal anti-inflammatory drug, International Conference on Catalysis and Surface Chemistry Kraków, Polska, 2018

- VII. **Guzik M**, Sofińska K, Harażna K, Snoch W, Witko T, Solarz D, Stępień K, Staroń J, Polyhydroxyalkanoates – Bacterial Polymers for Biomedical Applications NYAS, Nowy Jork, Stany Zjednoczone Ameryki, 2018
- VIII. Witko T, **Guzik M**, Solarz D, Rajfur Z, Polyhydroxyoctanoate (PHO) – biopolymer creating new opportunities for medicine and biomedical sciences, 6th INTERM 2019 Oludeniz, Turcja, 2019
- IX. Witko T, **Guzik M**, Solarz D, Studies of polyhydroxyalkanoate (PHO) based 3D substrates for medical applications ACSB EMBO 2019 Meeting, Waszyngton DC, Stany Zjednoczone Ameryki, 2019

8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

Brak

9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

[1]. Projekty zrealizowane

- I. *The upcycling of post consumer polyethylene to a biodegradable plastic: Waste to value added product* (Typ grantu: grant badawczy, Źródło finansowania: Environmental Protection Agency (Dublin); Wysokość finansowania: 452,156.00 EUR, okres realizacji 2008-2012), Główny wykonawca
- II. *Converting a food production co-product to a high value biochemical* (Typ grantu: grant badawczy, Źródło finansowania: Enterprise Ireland (Dublin); Wysokość finansowania: 216,673.00 EUR, okres realizacji 2014-2015), Główny wykonawca
- III. *Biosynteza nowych estrów laktozy za pośrednictwem lipaz. Charakterystyka ich właściwości fizykochemicznych i przeciwrakowych* (Typ grantu: grant badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, konkurs Sonata; Wysokość finansowania: 388,000.00 PLN, okres realizacji 2016-2020), Kierownik projektu

[2]. Projekty będące w toku realizacji

- I. *Nowe sfunkcjonalizowane biopolimery do zastosowań medycznych* (Typ grantu: projekt badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju Lider 7;

Wysokość finansowania: 1,198,950.00 PLN, okres realizacji 2016 - obecnie), Kierownik projektu

- II. *Technologia biorafinacji olejów roślinnych do wytwarzania zaawansowanych materiałów kompozytowych* (Typ grantu: projekt badawczy, Źródło finansowania: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju Strategiczny program badań naukowych i prac rozwojowych "Nowoczesne Technologie Materiałowe" TECHMATSTRATEG; Wysokość finansowania: 14,579,038.00 PLN; okres realizacji 2019 - obecnie), Kierownik konsorcjum: IKiFP PAN, Akademia-Górnictwo Hutnicza, Politechnika Krakowska, Warszawski Uniwersytet Medyczny i firma Smart Labs; Kierownik Zadania 1 i 2.

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

[1]. Microbiology Society, Londyn, Wielka Brytania; członek zwyczajny od 2014

[2]. Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, Warszawa, Polska; członek zwyczajny od 2018

11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

[1]. Staż naukowy - Erasmus Plus, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Niemcy, 2019

[2]. Staż naukowy - Erasmus Plus, Uniwersytet Belgradzki, Serbia, 2019

12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).

Brak

13. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Recenzowałem 35 prac w następujących czasopismach:

[1]. Green Chemistry (8)

[2]. Fermentation (7)

[3]. Antioxidants (2)

[4]. Energies (2)

[5]. International Journal of Molecular Sciences (2)

- [6]. Polymers (2)
- [7]. Toxins (2)
- [8]. eXPRESS Polymer Letters (2)
- [9]. Applied Sciences (1)
- [10]. International Journal of Energy Research (1)
- [11]. Journal of Biomedical Materials Research Part A (1)
- [12]. Journal of Fungi (1)
- [13]. Molecules (1)
- [14]. International Journal of Environmental Research and Public Health (1)
- [15]. Urban Climate (1)
- [16]. Environmental Impact Assessment Review (1)

14. Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

1. Uczestnictwo w projekcie Bloom pt. *Zwiększenie wiedzy i świadomości obywateli Europy, odnośnie badań i innowacji w dziedzinie Biogospodarki*. Projekt pod kierownictwem dr Małgorzaty Pink otrzymał dofinansowanie z unijnego programu badań i innowacji „Horyzont 2020” w ramach umowy grantowej nr 773983 na lata 2018-2020. Moja rola jako wykonawcy projektu polegała na czynnym udziale w warsztatach w formule ‘co-creation’: 26.10.2019 oraz 30.11.2019, współautorstwie rozdziału na temat bio-plastików w wieloautorskiej monografii pod roboczym tytułem „Biogospodarka. Wybrane aspekty” oraz przeprowadzenie 3-dniowych warsztatów z zakresu technologii i procesu tworzenia bio-plastików w języku angielskim „Zrób sobie bioplastik – Bioplastiks DIY”: listopad 2019 roku.
2. Uczestnictwo w projekcie BioApp nr 1472551605 pt. *Transregional technological platform for transfer of advanced bio-polymers from lab to market*. Projekt pod kierownictwem dra Uroša Novaka otrzymał dofinansowanie w ramach *EU cohesion fund Interreg Italia-Slovenia VA – 2014-2020*. Jako wykonawca projektu moje zadanie polega na opracowywaniu wspólnej platformy wymiany naukowej i technologicznej w ramach współpracy regionów Inicjatywy Awangarda – Małopolska/Słowenia.
3. Uczestnictwo w paneuropejskiej Inicjatywie Awangarda. Promocja Małopolski poprzez utworzenie *demo case* dot. rozwoju technologii opartych na bioplastikach w tym PHA.

15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

[1]. Projekty zrealizowane

- I. *Small molecules manufacturing* (Typ grantu: grant badawczy wewnętrzny, Źródło finansowania: Bioplastech Ltd. (Dublin); Wysokość finansowania: 125,000.00 EUR, okres realizacji 2013-2014), Kierownik projektu
- II. *Biokatalityczna synteza estrów cukrowych* (Typ grantu: grant badawczy, Źródło finansowania: Konsorcjum Naukowe im. Smoluchowskiego Kraków; Wysokość finansowania: 16,000.00 PLN, okres realizacji 2015-2016), Kierownik projektu
- III. *Ciecze jonowe na bazie polihydroksyalkanianów i przykłady ich zastosowań* (Typ grantu: grant wewnętrzny dla młodych naukowców, Wysokość finansowania: 15,000 PLN, okres realizacji 2018-2019), Kierownik projektu
- IV. *Opracowanie katalizatorów na bazie lipaz* (Typ grantu: zlecenie badawcze, Źródło finansowania: Grupa Azoty Zakłady Azotowe „Puławy” S.A., Wysokość finansowania: 233,700.00 PLN, okres realizacji 2019-2020), Kierownik projektu

[2]. Projekty będące w toku realizacji

- I. *Projekt badawczo-rozwojowego w zakresie opracowania biotechnologicznego procesu produkcji polihydroksymaślanu (PHB)* (Typ grantu: zlecenie badawcze, Źródło finansowania: Orlen Południe S.A., Wysokość finansowania: 1,015,773.11 PLN, okres realizacji 2020 - obecnie), Kierownik projektu

16. Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

- [1]. Ekspert oceny merytorycznej wniosków o dofinansowanie projektów B+R w konkursach Szybkiej Ścieżki Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w Warszawie stale od 2017 roku.
- [2]. Ekspert oceny merytorycznej wniosków o dofinansowanie projektów naukowych w konkursach ogłaszanych przez National Centre of Science and Technology Evaluation przy Ministerstwie Edukacji i Nauki, Kazachstan stale od 2020 roku.
- [3]. Ekspert oceny merytorycznej wniosków o dofinansowanie projektów naukowych w konkursach ogłaszanych przez The Science Fund, Serbia stale od 2020 roku.

III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

Wyniki uzyskane podczas mojego doktoratu, w połączeniu z wynikami uzyskanymi podczas doktoratu kolegi – dr Shane’a Kenny’ego, umożliwiły nam wraz z prof. Kevin’em O’Connor’em, powołać spółkę typu spin-off Bioplastech Ltd w Dublinie, Irlandii w 2012 roku. Było to moje pierwsze połączenie nauki z biznesem. W spółce wdrożyłem opracowaną przez siebie metodologię produkcji biodegradowalnych polimerów – polihydroksyalkanianów. Zaprojektowałem i zmontowałem linię produkcyjną PHA w saski 30L (procesy *up stream*, fermentacji, *downstream*). Równolegle zoptymalizowałem i wdrożyłem w działalność spółki produkcję monomerów na skalę gramową pochodzących z depolimeryzacji PHA. Umożliwiło to spółce sprzedaż czystych chiralnie związków dla szerokiego rynku chemicznego i farmaceutycznego.

W kolejnych latach (2014-2015) zostałem oddelegowany z Bioplastech Ltd na University College Dublin, aby w roli kierownika zadania pokierować pracami zespołu mikrobiologów w celu opracowania fermentacji odpadu z przemysłu mleczarskiego do wysokich stężeń D i L kwasu mlekowego. Projekt sponsorowany był przez Enterprise Ireland oraz Glanbia Plc, Ballyraget, Irlandia i posiadał charakter stricte przemysłowy. Dla firmy opracowałem szczep produkcyjny tolerujący wysokie stężenie soli oraz laktozy. Następnie użyłem go do opracowania procesu fermentacji ich produktu ubocznego do wysokich stężeń kwasu mlekowego, który wdrażałem w działalność Glanbia Plc w skali 300,000L. Szczep i sposób wytwarzania kwasu mlekowego opracowany przeze mnie stał się przedmiotem zgłoszenia patentowego.

W Polsce stale rozwijam współpracę na linii nauka – przemysł. Współpracuję z Grupą Azoty Zakłady Azotowe Puławy S.A oraz Orlen Południe S.A. Dla Grupy Azoty prowadziłem projekt przemysłowy, zakończony w tym roku, mający na celu opracowanie katalizatorów na bazie lipaz dla wdrażanego procesu produkcyjnego w struktury przedsiębiorstwa. Projekt zakończył się sukcesem a opracowane przeze mnie katalizatory wkrótce znajdą zastosowanie w działaniach operacyjnych przedsiębiorstwa. Współpraca z Orlenem Południe S.A. w Trzebini zaowocowała wspólnym projektem przemysłowym mającym na celu opracowanie technologii produkcji polimeru PHB z frakcji odpadowych generowanych z innych bioprocessów przedsiębiorstwa. Jestem kierownikiem rzeczowego zlecenia, które rozpoczęło się na początku 2020. Realizuję również część badań przemysłowych zleconych Instytutowi mających na celu opracowanie procesu biotechnologicznego dla firmy Disproquima, które objęte są klauzulą poufności.

Ponadto w ramach realizacji projektu TechMatStrateg sponsorowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju kieruję konsorcjum naukowo-przemysłowym, którego celem jest

opracowanie modułu nowoczesnej biorafinerii dla produkcji polimerów PHA z oleju rzepakowego i zastosowaniu ich w produkcji materiałów medycznych i innych form użytkowych. W ramach konsorcjum jednym partnerem jest małe przedsiębiorstwo – Smart Labs. Spółka ta specjalizuje się w chirurgii 3D wykorzystując wachlarz technik przyrostowych do wytwarzania implantów. Koordynuję prace, które mają na celu wdrożenie technologii przetwórstwa kompozytów polimerowo-ceramicznych, opracowywanych w ramach projektu TechMatStrateg, w działalność spółki.

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.

- [1]. Bioplastech Ltd, Dublin, Irlandia, od 2012 roku
- [2]. Glanbia Plc, Ballyraget, Irlandia, od 2014 roku
- [3]. Grupa Azoty Zakłady Azotowe Puławy S.A, Puławy, Polska, od 2019 roku
- [4]. Orlen Południe S.A., Trzebinia, Polska, od 2019 roku
- [5]. Disproquima, Barcelona, Hiszpania, od 2019 roku

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.

Nie posiadam przyznanych jeszcze patentów, jednakże następujące pozycje posiadają status zgłoszeń patentowych:

- [1]. O'Connor, K, Kenny, S, **Guzik, MW**, Morrissey, B, O'Brien, C, A method for producing lactic acid by bacterial fermentation. Zgłoszenie patentowe nr US20180312885A1 (USPO) tożsame z WO2017072748A1 (WIPO) tożsame z EP3368680A1 (EPO) tożsame z AU2016347542A1 (APO), 01/11/2016
- [2]. Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; **Guzik, MW**, Sposób elektroprądzenia polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434432 do UPRP, 24/06/2020
- [3]. Majka, T.; Hebda, E.; Pielichowski, K.; **Guzik, MW**, Sposób krystalizacji polihydroksyoktanianu z roztworu. Zgłoszenie patentowe nr P.434423 do UPRP, 24/06/2020

4. Informacja o wdrożonych technologiach.

- [1]. Opracowanie i wdrożenie w działalność spółki Bioplastech Ltd. linii fermentacyjnej umożliwiającej pełną produkcję gamy biopolimerów (up-stream, fermentory, down-stream);
- [2]. Praca nad projektowaniem i uczestnictwo w początkowym etapie montażu linii fermentorowej do produkcji kwasu mlekowego na skalę 300,000 L w Glanbia, Ballyraget, Irlandia; Wdrożenie w działalność spółki procesu produkcji kwasu mlekowego z frakcji odpadowej przetwórstwa mleczarskiego;

[3]. Opracowanie technologii separacji kwasów (R)-3-hydroksylowanych w gramowych ilościach z ich mieszanin powstałych z depolimeryzacji polimerów PHA w skali gramowej i w drożenie w działalność operacyjną spółki Bioplastech Ltd.

5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.

brak

6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.

[1]. Ekspert oceny merytorycznej wniosków o dofinansowanie projektów B+R w konkursach Szybkiej Ścieżki Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w Warszawie stale od 2017 roku.

7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

Nie dotyczy

IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

1. Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).

Jestem autorem 28 prac, z czego 27 zostało opublikowane w czasopismach posiadających Impact Factor, a ich sumaryczna wartość wynosi 114.975.

2. Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.

Moje prace były cytowane 296 razy (z czego 268 bez autocytowań), stan na 16/10/2020., wg. bazy danych Web of Science.

3. Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.

Mój indeks Hirsha na dzień 16/10/2020 wynosi 8 wg. bazy danych Web of Science, a 9 wg. bazy danych Google Scholar.

4. Informacja o liczbie punktów MNiSW.

Jestem autorem 28 prac, z których wszystkie posiadają punktację MNiSW, a ich sumaryczna wartość wynosi 3020 punktów.