



dr hab. Barbara Wagner
Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski
Pasteura 1
02-055 Warszawa

Warszawa, 19.11.2015 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Moniki Adelajdy Koperskiej

pod tytułem: "*Degradation of natural fibres in artefacts: mechanism and inhibition*"

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr Moniki Adelajdy Koperskiej "*Degradation of natural fibres in artefacts: mechanism and inhibition*" została wykonana w Zespole Kinetyki Reakcji Heterogenicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod opieką promotora dr hab. Joanny Łojewskiej. Praca stanowi spójny tematycznie zbiór artykułów poświęconych badaniom procesów starzeniowych zachodzących w jedwabiu i opracowaniu optymalnej metodyki badawczej pozwalającej na śledzenie kinetyki wywołanych zmian. Wybrane, do zaprezentowania w niniejszej pracy, publikacje zostały opublikowane w czasopiśmie naukowych z Listy Filadelfijskiej i są poprzedzone 32- stronicowym komentarzem, napisanym w języku angielskim. Pani mgr Monika A. Koperska jest pierwszym autorem trzech, z czterech zaprezentowanych publikacji i autorem korespondencyjnym dwóch wymienionych artykułów. Komentarz poprzedzający zbiór publikacji zawiera ogólny wstęp do opisywanej tematyki, opis uzyskanych wyników badań oraz podsumowanie pracy; wieńczy go sformułowanie podstawowych wskazówek konserwatorskich, wynikających logicznie z zaprezentowanych danych eksperymentalnych. Bibliografia zawiera 21 pozycji literaturowych, po których Autorka umieściła spis rysunków oraz tabel i skrótów występujących w tekście.

Tematyka pracy doktorskiej mgr Moniki A. Koperskiej znakomicie wpisuje się w nurt badań prowadzonych w Zespole Kinetyki Reakcji Heterogenicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Zespół ten od wielu lat prowadzi m.in. szczegółowe badania w dziedzinie chemii konserwatorskiej, poświęcając wiele uwagi mechanizmom degradacji materiałów tworzących zabytki i poszukiwaniu skutecznych sposobów ich spowalniania, szczególnie w kontekście ochrony obiektów historycznych i muzealnych. Jeden, z rozwijanych intensywnie kierunków badawczych Zespołu, wynika z zainteresowań możliwościami wykorzystania nieinwazyjnych lub jedynie mikroinwazyjnych metod instrumentalnych w badaniach degradacji polimerów naturalnych i właśnie ten obszar badawczy stanowi oś programu naukowego, wokół którego została zbudowana tematyka recenzowanej pracy doktorskiej. Stopień skomplikowania poruszanych zagadnień w znacznej mierze wynikał z trudności połączenia badań poznawczych (kinetyka reakcji chemicznych zachodzących pod wpływem zewnętrznych czynników) oraz konieczności zbudowania metodologii badawczej odpowiadającej wymaganiom konserwatorskim, ściśle ograniczającym ilości materiału badawczego pobieranego z cennych obiektów zabytkowych.



Struktura recenzowanej pracy doktorskiej: Doktorantka we wstępie opisała motywację, jaka skłoniła ją do podjęcia badań nad jedwabiem, procesami jego degradacji i możliwościami zapewnienia odpowiednich warunków ochrony oraz doboru najbardziej skutecznych sposobów konserwacji obiektów, jakie można zaproponować w oparciu o wyniki analiz chemicznych. Pierwsze rozdziały poświęcone zostały także historii jedwabiu, zaprezentowaniu sposobu uzyskiwania włókien jedwabnych oraz ich strukturze chemicznej; w kolejnych rozdziałach opisane zostały procesy degradacji zachodzące podczas naturalnego starzenia polipeptydów, a także możliwości sztucznego przyspieszenia kinetyki zachodzących reakcji podczas wymuszonego postarzania próbek badanego materiału. Mgr Monika A. Koperska zwięźle zaprezentowała wybrane sposoby charakteryzowania materiału badawczego w skali makroskopowej i wykorzystanie mikroskopii optycznej w rozpoznaniu morfologii próbek tkanin jedwabnych, poprzedzające wyznaczenie ich głównego składu pierwiastkowego metodą fluorescencyjnej spektrometrii rentgenowskiej (XRF). Następnie opisała wybór metodyki starzeniowej i metod instrumentalnych pozwalających na udokumentowanie zmian pojawiających się w jedwabiu pod wpływem stopniowego postarzania próbek modelowych (schemat strategii analitycznej, strona 19).

Opis badań: Badania opisane w pracy doktorskiej mgr Moniki A. Koperskiej skupiały się na możliwości wskazania optymalnego wyboru zmiennych kinetycznych opisujących szybkość procesów degradacji jedwabiu naturalnego z jedwabnika morwowego (*Bombyx mori*). Hodowla jedwabnika znana była w Chinach od wielu tysięcy lat; w Europie pierwsze hodowle zakładano od XII w., a w Polsce w XVIII w. Pomimo bogatej wiedzy na temat możliwości stosowania włókien jedwabnych do celów praktycznych, nadal materiał ten nie jest dostatecznie dobrze poznany i nadal rozpoznawany jest jako bardzo interesujący, lecz skomplikowany przedmiot badań strukturalnych i chemicznych. Zastosowanie nowoczesnych metod instrumentalnych pozwala wszakże na szczegółowe badanie procesów zachodzących w jedwabiu pod wpływem czynników zewnętrznych, które zmieniają wygląd jedwabiu i jego wytrzymałość w miarę upływu czasu.

Jedwab naturalny tworzą dwa rodzaje białek: fibroina i serycyna, która pokrywa fibroinę. Serycyna jest usuwana z powierzchni fibroiny na wstępnym etapie przygotowania włókna jedwabnego, w procesie technologicznym, zwanym odklejaniem jedwabiu. Fibroina jedwabiu składa się z dwóch podstawowych grup polipeptydów: H-fibroin o masie ok. 350000 Da oraz L-fibroin o masie ok. 25000 Da. Trzecim składnikiem jest glikoproteina P-25, jednak jej zawartość jest znacznie mniejsza, niż dwóch pozostałych białek. H-fibroina zawiera głównie Gly (45,9% w/w); Ala (30,3% w/w); Ser (12,1% w/w) i Tyr (5,3% w/w), a wzajemne ułożenie aminokwasów powoduje występowanie w fibroinie obszarów amorficznych i krystalicznych, których zawartość ulega zmianie w wyniku procesów starzenia wpływających na stan zachowania jedwabiu. Procesy prowadzące do utraty pożądanych cech optycznych lub wytrzymałościowych jedwabiu mogą zachodzić w wyniku synergistycznego działania wielu czynników (fizycznych, fotochemicznych, temperaturowych, chemicznych...). Swoje badania Doktorantka poświęciła obserwacjom kinetyki procesów zachodzących w fibroinie pod wpływem sztucznego postarzania jedwabiu w kontrolowanych warunkach. Zachodzące zmiany



systematycznie i szczegółowo dokumentowała wynikami analiz prowadzonych z zastosowaniem metod makroskopowych i mikroskopowych.

Metody makroskopowe wykorzystane były podczas pomiarów parametrów opisujących jedwab na poziomie definiowania jego cech użytkowych pod względem koloru tkaniny, poziomu odczynu chemicznego (pH), masy i wytrzymałości na rozciąganie.

Metody mikroskopowe pozwoliły na rejestrowanie zmian zachodzących na poziomie pierwszorzędowej struktury białka oraz jego stopnia krystaliczności. Znaczna część badań dotyczyła omówienia wyników uzyskanych metodami spektroskopii w podczerwieni, w zakresie ultrafioletu i widzialnym, spektroskopii Ramanowskiej oraz wiskozymetrii, chromatografii gazowej, chromatografii żelowej oraz dyfrakcji rentgenowskiej. Czułość wybranych metod instrumentalnych pozwoliła na udokumentowanie zmian pojawiających się w czasie sztucznego postarzania próbek jedwabiu. W kontekście intencji późniejszego odnoszenia wyników prowadzonych badań do zabytkowych obiektów jedwabnych, które podlegały na przestrzeni wielu lat procesom naturalnego starzenia, należy podkreślić fakt, że wybór warunków postarzania także stanowił istotny punkt badań prezentowanych przez Doktorantkę (strona 22 komentarza poprzedzającego wybrane publikacje).

Wybrane warunki zastosowane zostały podczas etapu przygotowania próbek modelowych opisanych we wszystkich publikacjach i obejmowały 14-dniowy proces starzenia odklejonego jedwabiu chińskiego *Bombyx Mori* ($35 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) w postaci kawałków o zdefiniowanej masie. Próbki postarzane były w warunkach wysokiej temperatury (150°C) w atmosferze otwartej lub zamkniętej, sprawdzając wpływ endogennych lotnych związków organicznych na kinetykę zachodzących zmian, w obecności powietrza lub w atmosferze beztlenowej, a także regulując poziom wilgotności bezwzględnej w taki sposób, aby odpowiadał zawsze trzem wartościom: 0; 0,6 lub $1,7 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Wprawdzie w zaprezentowanym cyklu badań warunki starzeniowe pozostają dla wszystkich serii pomiarowych identyczne, jednak zastanawia mnie możliwość późniejszego porównania uzyskanych wyników do innych, opisywanych w literaturze badań starzeniowych jedwabiu (np.: F.Vilaplana et al., *Analytical markers for silk degradation: comparing historic silk and silk artificially aged in different environments*, *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407: 1433-1449; lub J. Nilsson et al. *The Validation of Artificial Ageing Methods for Silk Textiles Using Markers for Chemical and Physical Properties of Seventeenth-Century Silk Studies in Conservation*, 2010, 55: 55-65), które prowadzone były dla jedwabiu ISO 105-F06:2000 *Bombyx Mori* ($60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) przy niższej temperaturze (125°C) starzenia. Brakuje mi dyskusji wyboru warunków starzeniowych nie tylko dla wybranych danych eksperymentalnych z prowadzonych badań, ale w szerszym kontekście dostępnych danych literaturowych na ten temat.

Wyniki analiz makroskopowych pozwoliły na wstępne udokumentowanie niekorzystnych zmian próbek modelowych systematycznie postępujących w czasie ich postarzania i dotyczyły zarówno cech fizycznych (spadek masy i wytrzymałości mechanicznej, zmiana koloru), jak i chemicznych (pH).



Wyniki analiz mikroskopowych pozwoliły na udokumentowanie skuteczności wyboru wskaźników głównych reakcji zachodzących podczas termo-rozkładu fibroiny prowadzącego do degradacji pierwszorzędowej struktury polipeptydów w wyniku (1) utleniania; (2) hydrolizy i (3) zmiany stopnia krystaliczności.

Sprawdzając krzyżowo spójność zmiennych kinetycznych obliczonych na podstawie wyników kolejnych analiz Doktorantka dokonała krytycznego przeglądu wskaźników zmian fibroiny opisanych w literaturze i wskazała, które z nich pozwalają na uzyskanie porównywalnych informacji przynajmniej dla dwóch niezależnych metod instrumentalnych. *Wskaźniki utleniania* zostały wybrane na podstawie badań spektroskopowych w zakresie UV-VIS i podczerwieni. *Wskaźniki hydrolizy* wybrane zostały na podstawie wyników badań przeprowadzonych metodami chromatografii żelowej oraz wiskozymetrii. Bardzo interesujące wydaje się porównanie tych ostatnich wyników do wyników badań przeprowadzonych z zastosowaniem spektroskopii w podczerwieni i zaproponowanie nowego parametru pozwalającego na szacowanie stopnia degradacji fibroiny w wyniku reakcji hydrolizy. Nowy, selektywny wskaźnik degradacji fibroiny powiązany jest ze zmieniającą się intensywnością sygnałów pochodzących od drgań zginających grup $-CH$ przy grupach $-COOH$ (E_{COOH}) i pozwala na monitorowanie zmian zawartości grup di-karboksyłowych wywołanych hydrolizą fibroiny. Doktorantka porównała także opisane w literaturze *wskaźniki stopnia krystaliczności*, które obliczane są na podstawie intensywności wybranych sygnałów zarejestrowanych w widmie podczerwieni i porównała je do wyników pomiarów dyfrakcji rentgenowskiej. Ostatecznie zaproponowała rezygnację z dwóch, spośród trzech pojawiających się w literaturze wskaźników, gdyż ich zastosowanie nie prowadziło do wniosków spójnych wynikami pomiarów XRD.

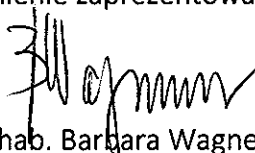
Pani mgr Monika A. Koperska podkreśliła konieczność połączenia konserwatorskiej troski o zachowanie cennych obiektów zabytkowych wykonanych z jedwabiu z wynikami badań chemicznych, które odpowiednio przeprowadzone pozwalają poznać stan zachowania i odpowiednio dobrać warunki przechowywania nawet dla najbardziej cennych obiektów. Zapewnienie odpowiednich warunków przechowywania i próba utworzenia listy najbardziej istotnych czynników, jakie należy uwzględnić we wskazówkach konserwatorskich dotyczących opieki nad zabytkowymi obiektami wykonanymi z jedwabiu wskazuje przede wszystkim na konieczność kontroli obecności pary wodnej w atmosferze oraz obecności LZO i tlenu. Jednak działanie LZO i tlenu ma znaczący wpływ na przyspieszenie kinetyki zmian fibroiny przede wszystkim w przypadku podwyższonej wilgotności.

Rozprawa doktorska Pani Moniki A. Koperskiej została bardzo estetycznie przygotowana pod względem graficznym, jednak mam drobną uwagę dotyczącą sposobu zaprezentowania bibliografii, przy której należało zastosować jednakowy sposób prezentowania wszystkich autorów poprzez podanie inicjału imienia przed pełnym nazwiskiem. Obecnie dla większości autorów podane jest pełne brzmienie zarówno imienia, jak nazwiska, ale jednak ten sposób nie jest identyczny dla wszystkich (np. pozycje 9, 11, 12, 13, 19 i 20 sformatowane zostały inaczej od pozostałych).



Opisane badania zostały zrealizowane między innymi w ramach projektu naukowego PRELUDIUM pod tytułem „Metody spektroskopii Operando i In situ do badania mechanizmu degradacji polipeptydów na przykładzie fibroiny”, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki”. Poza wymienionym projektem, Pani Monika A. Koperska brała udział w 6 innych projektach, których tematyka także związana była z badaniami chemicznymi zabytków oraz sposobami ich konserwacji. Uważam, że na uwagę zasługuje nie tylko ogromna aktywność naukowa, ale również działalność popularyzatorska, która zdecydowanie wykracza poza przeciętną skalę aktywności prowadzonej podczas studiów doktoranckich. Pani Monika A. Koperska w 2011 roku ukończyła studia podyplomowe „Analiza i dokumentacja tekstyliów zabytkowych” na Politechnice Łódzkiej, które na pewno przyczyniły się do głębszego poznania procesów związanych z badaniami historycznych tkanin. Zdobytą wiedzę dzieli się z innymi w taki sposób, który budzi najwyższy podziw. Na pewno nie uda mi się wymienić wszystkich osiągnięć Doktorantki, ale na niektóre chciałabym zwrócić uwagę. W 2012 roku Pani mgr Monika A. Koperska wygrała pierwszą edycję konkursu FameLab w Polsce, potem zajęła 2 miejsce w ogólnoświatowym etapie FameLab International. Zajmuje się także prowadzeniem programów popularnonaukowych dla dzieci i młodzieży współpracując z KidsLab, UniKids, Polską Akademią Dzieci oraz z Uniwersytetem Dzieci, jest Ambasadorką Nauki w kampanii MNiSW „Zawód Naukowiec”... Pani Monika A. Koperska jest współautorką 7 publikacji naukowych (IF= 1.704 - 5.856) o łącznym IF powyżej 20. Jest także współautorką jednego rozdziału w książce i 10 publikacji popularno-naukowych. Jej aktywny udział w prowadzonych badaniach jest oczywisty, w czasie trwania pracy doktorskiej wykazała się umiejętnością kreatywnego wykorzystania wielu nowoczesnych metod instrumentalnych, elastycznie interpretując wyniki i krytycznie oceniając dane eksperymentalne. Wspaniale ujęty został w tych badaniach interdyscyplinarny aspekt prowadzonych analiz chemicznych, których wyniki zostały zinterpretowane pod kątem konkretnych wskazówek konserwatorskich umożliwiając poprawę warunków przechowywania cennych obiektów wykonanych z jedwabiu.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.), dlatego przedkładam wniosek do Rady Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Moniki A. Koperskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Połączenie badań interdyscyplinarnych prowadzonych na pograniczu dwóch tak wymagających dziedzin, za jakie można uznać chemię i konserwację zabytków jest niezwykle trudne. Tymczasem Pani mgr Monika A. Koperska zaproponowała badania modelowe i potrafiła połączyć ograniczenia związane z koniecznością zachowania materii zabytkowej, w pełni wykorzystując możliwości dostępnych metod instrumentalnych w badaniach, które mogą w zaowocować wzrostem skuteczności ochrony Dziedzictwa Kulturowego i dlatego wnioskuję o wyróżnienie zaprezentowanej pracy.


dr hab. Barbara Wagner