



Prof. dr hab. Maciej Guzik

Kraków, 29/12/2025

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera

Polskiej Akademii Nauk

Niezapominajek 8

30-239 Kraków

Polska

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej pt.

“Biomasa mikrobiologiczna w procesach modyfikacji 2-fenyletanolu i odzysku metali ziem rzadkich”

Ocena formalna

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej została przygotowana na zlecenie Przewodniczącego Rady Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej. Promotorem rozprawy była dr hab. inż. Małgorzata Brzezińska-Rodak, prof. uczelni. Praca została wykonana na Politechnice Wrocławskiej.

Rozprawa została przygotowana w formie klasycznej monografii i liczy 223 strony. Zawiera streszczenie w języku polskim oraz angielskim, obszerny i dobrze udokumentowany przegląd literaturowy, jasno sformułowany cel i zakres badań, szczegółowo opisaną część materiałowo-metodyczną, rozbudowaną część eksperymentalną wraz z analizą i dyskusją wyników, podsumowanie oraz kompletny wykaz literatury. Całość uzupełniają wykazy rycin, tabel i wykresów, a także zestawienie dorobku naukowego Doktorantki. Układ pracy jest logiczny i przejrzysty, a sekwencja rozdziałów odpowiada standardom rozpraw doktorskich obowiązującym w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie chemia. Autorka zachowała spójność terminologiczną, a zastosowany język naukowy jest precyzyjny i adekwatny do podejmowanej tematyki. Od strony edytorskiej praca została przygotowana starannie; ewentualne drobne uchybienia redakcyjne nie mają wpływu na odbiór merytoryczny rozprawy. Od strony formalnej rozprawa spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571).

Ocena merytoryczna

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej poświęcona jest ocenie potencjału biokatalitycznego wyselekcjonowanych mikroorganizmów – grzybów z



rodzajów *Beauveria* i *Cunninghamella* oraz mikroalgi *Galdieria sulphuraria* – w procesach biotransformacji i biodegradacji 2-fenylloetanolu, a także możliwości wykorzystania tej samej biomasy w odzysku pierwiastków ziem rzadkich. Praca ma charakter interdyscyplinarny i lokuje się na styku biokatalizy, biotechnologii środowiskowej oraz chemii zrównoważonej, podejmując aktualną i istotną problematykę zarówno z punktu widzenia nauk podstawowych, jak i potencjalnych zastosowań aplikacyjnych.

Pierwsza część badań koncentrowała się na analizie zdolności wybranych szczepów grzybów do modyfikacji 2-fenylloetanolu w kierunku uzyskania pochodnych o wartości dodanej. Autorka w sposób metodyczny i konsekwentny przeprowadziła badania przesiewowe w skali laboratoryjnej, a następnie – dla wybranych układów – dokonała ich przeniesienia do skali pół-preparatywnej. Wykazała, że w zależności od zastosowanego biokatalizatora procesy te mogą przebiegać zarówno w kierunku selektywnej biotransformacji, jak i szybkiej biodegradacji substratu. Szczególnie istotnym osiągnięciem jest stereoselektywne otrzymywanie enancjomerów 1-fenylloetano-1,2-diolu z wykorzystaniem szczepów *Cunninghamella elegans* DSM 1908 oraz *Beauveria bassiana* DSM 1344. Uzyskane wyniki wskazują na wyraźną zależność enancjoselektywności procesu od rodzaju mikroorganizmu oraz formy zastosowanego biokatalizatora.

Na uwagę zasługuje fakt, że Autorka nie ograniczyła się jedynie do identyfikacji podstawowych produktów biotransformacji, lecz przeanalizowała również wpływ skali procesu na wydajność, czystość optyczną oraz stopień przereagowania substratu. Przedstawione dane jednoznacznie pokazują, że skalowanie procesów biokatalitycznych wiąże się z określonymi kompromisami pomiędzy wydajnością a selektywnością, co stanowi ważny element poznawczy pracy. Interesującym obserwowanym zjawiskiem była również zmiana charakteru reakcji po immobilizacji biomasy, prowadząca w jednym z przypadków do utraty stereoselektywności i otrzymania produktu racemicznego.

Kolejnym istotnym elementem rozprawy są badania nad wykorzystaniem szczepów *Beauveria brongniartii* DSM 6651 oraz *Cunninghamella echinulata* DSM 1905, które wykazywały bardzo wysoką zdolność do szybkiej biodegradacji 2-fenylloetanolu. Autorka słusznie zidentyfikowała potencjał tych mikroorganizmów nie tyle w syntezie pochodnych, co w zastosowaniach środowiskowych. Przeprowadzone eksperymenty z użyciem immobilizowanej biomasy w alginianie wapnia, zarówno w układach okresowych, jak i przepływowych, wskazują na możliwość wykorzystania takich systemów w procesach bioremediacji wód zanieczyszczonych związkami aromatycznymi. Zaprezentowane wyniki są spójne, logicznie zinterpretowane i dobrze osadzone w kontekście literaturowym.

Ostatni, wyraźnie wyodrębniony etap badań dotyczył zastosowania biomasy mikroalgi *Galdieria sulphuraria* w dwuetapowym procesie kaskadowym obejmującym biotransformację 2-fenylloetanolu oraz następczy odzysk pierwiastków ziem rzadkich z grupy lantanowców. Koncepcja ponownego wykorzystania biomasy poprocesowej wpisuje się w aktualne założenia gospodarki o obiegu zamkniętym i stanowi interesujące rozwinięcie wcześniejszych etapów pracy. Autorka wykazała, że ekspozycja mikroalgi na 2-fenylloetanol wpływa korzystnie na jej zdolność do akumulacji

jonów metali, co może sugerować udział zarówno mechanizmów biosorpcji, jak i bioakumulacji. Chociaż struktura chemiczna produktu powstającego w procesie biotransformacji z udziałem *G. sulphuraria* nie została jednoznacznie określona, Autorka trafnie wskazuje ten aspekt jako kierunek dalszych badań, nie wyciągając nadmiernie daleko idących wniosków.

W całościach część merytoryczna rozprawy została przygotowana na dobrym poziomie naukowym. Autorka wykazała się dobrą znajomością zagadnień z zakresu biokatalizy whole-cell, umiejętnością projektowania i prowadzenia złożonych eksperymentów biologiczno-chemicznych oraz dojrzałością w interpretacji uzyskanych wyników. Praca cechuje się spójnością koncepcyjną, a zaproponowane kierunki aplikacyjne – zarówno w syntezie związków chiralnych, jak i w bioremediacji oraz odzysku metali – są uzasadnione i dobrze osadzone w aktualnych trendach badawczych

Po lekturze rozprawy nasunęło mi się kilka pytań i kwestii, które – w mojej ocenie – mogłyby zostać interesująco rozwinięte przez Doktorantkę w trakcie publicznej obrony:

1. W części teoretycznej rozprawy Autorka wielokrotnie podkreśla wysoki potencjał biokatalizy szczepów z rodzaju *Cunninghamella*, a w szczególności *C. elegans*, co znajduje potwierdzenie w przytoczonych przykładach literaturowych oraz w wynikach badań własnych. Jak wiadomo, mikroorganizmy te są często traktowane jako modele metaboliczne ze względu na rozbudowany aparat enzymatyczny, w tym układy monooksygenazowe, wykazujące analogie do metabolizmu ssaków. Czy Doktorantce wiadomo, w jakim stopniu szczepy *Cunninghamella* są obecnie wykorzystywane lub rozważane jako platformy do wstępnego screeningu związków aromatycznych (np. zawierających fosfor lub inne heteroatomy) pod kątem ich metabolizmu i potencjalnej toksyczności, jako alternatywa lub uzupełnienie badań na zwierzętach laboratoryjnych? Czy widzi Pani możliwość szerszego wykorzystania tych mikroorganizmów w takim kontekście i mogłaby szerzej odnieść się do tego zagadnienia?

2. W przedstawionych badaniach procesy biotransformacji i biodegradacji 2-fenyletanolu analizowane były w horyzoncie czasowym obejmującym kilka dni, przy czym w wielu przypadkach już po 24 godzinach obserwowano bardzo wysoki stopień przereagowania substratu, sięgający ponad 99% (w zależności od szczepu i układu eksperymentalnego). Czy Autorka prowadziła lub rozważała prowadzenie bardziej szczegółowych badań kinetycznych w pierwszych 24 godzinach procesu, na przykład w ramach badań wstępnych? Pytanie to wynika z bardzo wysokiego potencjału biodegradacyjnego prezentowanego w pracy i dotyczy rozróżnienia pomiędzy rzeczywistą, szybką biodegradacją substratu a innymi możliwymi zjawiskami, takimi jak sorpcja fizyczna 2-fenyletanolu na strzępkach grzybni lub nośnikach stosowanych do immobilizacji. Czy w tym początkowym etapie procesu mogły powstawać przejściowe produkty przemian, które ulegały dalszej, szybkiej degradacji i nie były uchwycone w zaprezentowanym profilu czasowym?

3. Na stronie 160 rozprawy przedstawiono wyniki analizy chromatograficznej próbek po biotransformacji z udziałem mikroalgi *G. sulphuraria*, gdzie widoczne jest wyraźne przesunięcie piku względem substratu wyjściowego w analizie GC. Czy Autorka może wyjaśnić, dlaczego w tym



przypadku nie wykonano dodatkowej analizy strukturalnej z wykorzystaniem technik sprzężonych, takich jak GC–MS lub HPLC–MS, które mogłyby ułatwić identyfikację powstającego produktu? Mimo, że napisałem wcześniej, iż nie wyciąga Pani w pracy zbyt daleko idących wniosków na podstawie wykonanych analiz (i dobrze!) chciałbym poprosić o rozwinięcie tego tematu. Jakiego typu modyfikacji strukturalnych podobnych związków aromatycznych do 2-fenyletanolu są najczęściej opisywane w literaturze dotyczącej biotransformacji i biokonwersji prowadzonych z udziałem mikroalg?

Pomimo kilku kwestii, które wzbudziły moją naukową ciekawość i stały się pretekstem do sformułowania dodatkowych pytań, chciałbym wyraźnie podkreślić wysoki poziom merytoryczny i eksperymentalny przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej. Praca ta ma charakter interdyscyplinarny – łączy w sobie chemię, biokatalizę i mikrobiologię, prezentując jednocześnie kompleksowe podejście do zagadnień biotransformacji związków aromatycznych.

Podsumowanie

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej stanowi wartościowy wkład w rozwój nauk chemicznych, w szczególności w obszarze biokatalizy oraz biotechnologii środowiskowej. Praca opiera się na dobrze zaplanowanych i konsekwentnie przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych, a sposób analizy i interpretacji wyników świadczy o dojrzałym podejściu badawczym Autorki. Zaproponowane rozwiązania są spójne z aktualnymi kierunkami rozwoju zielonej chemii oraz zagadnieniami związanymi z biodegradacją i zrównoważonym wykorzystaniem biomasy. Autorka wykazała się dobrą znajomością podejmowanej tematyki, umiejętnością krytycznego odniesienia się do literatury oraz samodzielnością w planowaniu i realizacji badań. Uzyskane wyniki mają zarówno znaczenie poznawcze, jak i potencjał aplikacyjny, co znajduje odzwierciedlenie w dorobku publikacyjnym i zgłoszeniach patentowych związanych z tematyką pracy.

Spełnia ona również wszystkie warunki określone w art. 187 ust. 1–2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571), w związku z czym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki chemiczne Politechniki Wrocławskiej o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Raczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Maciej Guzik
Kierownik Laboratorium Rozwoju Bioprocusów