

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

Warszawa, 7 kwietnia 2023 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Katarzyny Czyżewskiej

pt. „*Immobilizacja powierzchniowa i objętościowa enzymów
działających w systemie kaskadowym*”

wykonanej w Katedrze Inżynierii Bioprocessowej, Mikro- i Nanoinżynierii
na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej
pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Anny Trusek

Poniższa recenzja została przygotowana zgodnie z pismem nr RDND05/14/2023 skierowanym w dniu 7 lutego 2023 r. przez Przewodniczącą Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej, Panią prof. dr hab. inż. Grażynę Gryglewicz. Podstawą jest Uchwała nr 254/32/RDND05/2021-2024 Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej z dnia 25 stycznia 2023 r. w sprawie powołania recenzentów w przewodzie doktorskim Pani mgr inż. Katarzyny Czyżewskiej.

1. Tematyka i struktura pracy

Przedmiotem pracy doktorskiej była analiza potencjału praktycznego zastosowania strategii otrzymywania mleka bezlaktozowego, opierającej się na kaskadowym wykorzystaniu aktywności katalitycznej β -galaktozydazy, oksydazy glukozowej i katalazy. Badane białka katalityczne użyto w formie natywnych preparatów, a także niezależnie immobilizowano powierzchniowo na nośnikach membranowych i objętościowo w nośnikach alginianowych, uzyskując preparaty biokatalizatorów o aktywności danego enzymu oraz w zintegrowanych formach co-immobilizowanych na wspólnej membranie i co-enkapsulowanych w alginianie sodu. Stanowiące podstawę części doświadczalnej badania zrealizowano w warunkach niskiej temperatury (tj. $\leq 15^{\circ}\text{C}$), wymaganych w przemyśle mleczarskim. Przedstawione wyniki dotyczące każdego z etapów pracy stanowią wartościowe źródło danych do weryfikacji opisu matematycznego enzymatycznie katalizowanego rozkładu laktozy oraz następczego enzymatycznego neutralizowania glukozy. Sprawia to, że zaprezentowane w pracy doktorskiej wyniki i ich dyskusja to opracowanie nie tylko naukowe, lecz należy dostrzegać w nim również wysoki potencjał praktyczny, a nawet wdrożeniowy. Tym samym podjęty w rozprawie problem badawczy jednoznacznie dotyczy aktualnej tematyki z zakresu inżynierii bioprocessowej, jako istotnego elementu współczesnej inżynierii chemicznej.



dr hab. inż. Maciej Pilarek, profesor uczelni
ul. Waryńskiego 1, 00-645 Warszawa
tel.: 22 234 6272, e-mail: maciej.pilarek@pw.edu.pl
www.ichip.pw.edu.pl

Cel pracy doktorskiej zdefiniowano jednoznacznie i przejrzysto - Autorka postanowiła opracować i matematycznie opisać warunkowany odpowiednią aktywnością katalityczną układ reakcyjny pozwalający na niskotemperaturową biokatalizę prowadzącą do uzyskania mleka bezlaktozowego o obniżonym stężeniu glukozy, w rzeczywistych warunkach i dla przemysłowego substratu, czyli standaryzowanego odtłuszczonego mleka spożywczego. Realizacji celu pracy służyła szczegółowa analiza wartości parametrów kinetycznych równań modelowych, dobór warunków procesowych i zaproponowanie właściwej strategii co-immobilizacji komercyjnie dostępnych białek katalitycznych β -galaktozydazy, oksydazy glukozowej i katalazy. Każdy z badanych enzymów scharakteryzowano zarówno w formie natywnej, jak i immobilizowanej, a biokatalizatory wykorzystane do redukcji słodkości mleka również w układzie kaskady białek katalitycznych co-immobilizowanych powierzchniowo na membranach i objętościowo w nośniku alginianowym. Jako że każdy z wariantów biokatalizy, analizowano z zastosowaniem syntetycznych substratów wzorcowych, jak i z wykorzystaniem przemysłowego substratu mlecznego, to uzyskano w ten sposób bardzo obszerny zestaw danych ilościowych charakteryzujących poszczególne etapy założonej w rozprawie strategii enzymatycznej modyfikacji mleka. Istotną część zakresu pracy stanowiły zagadnienia teoretyczno-obliczeniowe dotyczące opisu, a także weryfikacji modeli kinetycznych analizowanych etapów enzymatycznego rozkładu laktozy oraz następczego enzymatycznego usuwania glukozy z surowca mlecznego.

2. Ocena formalna pracy doktorskiej

Przygotowana przez Panią mgr inż. Katarzynę Czyżewską dysertacja to rozprawa naukowa, której obszerny manuskrypt liczy 186 stron i zawiera liczne rysunki (łącznie 84 numerowane pozycje: 50 wykresów prezentujących uzyskane wyniki i 34 rysunki przybliżające dane literaturowe oraz prezentujące przyjętą w pracy metodykę badawczą), a także 22 tabele. Manuskrypt zredagowano w formie 5 rozdziałów uzupełnionych o streszczenia przygotowane w języku polskim i angielskim, spis stosowanych skrótów, bibliografię oraz spis zamieszczonych w rozprawie tabel i rysunków, a także syntetyczny spis dorobku naukowego Autorki.

Przegląd literatury został przygotowany w pierwszym rozdziale i pełni on rolę wstępu, którym Autorka udanie wprowadza czytelnika w tematykę swojej pracy doktorskiej. Rozdział ten obejmuje 37 stron, co stanowi około 25% zasadniczej części manuskryptu. W zwięzły i spójny sposób przedstawiono w nim uzasadnione tematem pracy doktorskiej zagadnienia dotyczące nietolerancji laktozy i rynku produktów bezlaktozowych, w tym przemysłowych strategii produkcji mleka bezlaktozowego wykorzystujących enzymy. W dalszej części szczegółowo omówiono zagadnienia dotyczące przemysłowej biokatalizy opartej na immobilizowanych biokatalizatorach oraz potencjału kaskad wieloenzymatycznych, w tym przykładów wykorzystywanych przemysłowo enzymów co-immobilizowanych. Pozostając w zgodzie z tematyką i zakresem rozprawy, Autorka słusznie położyła wyraźny nacisk na przedyskutowanie strategii tworzenia układów wieloenzymatycznych, opartych na biokatalizatorach immobilizowanych wykorzystywanych kaskadowo, wspólnie lub w formie preparatów co-immobilizowanych na tej samej membranie lub we wspólnym nośniku hydrożelowym.

W pełni uzasadnionym, czy nawet koniecznym, było przedstawienie dostępnych technik powierzchniowej i objętościowej immobilizacji enzymów. Autorka sprawnie opisała metody immobilizacji białek katalitycznych dyskutując zalety, ograniczenia i wydajności porównywanych strategii unieruchamiania enzymów. Zwięzłe, ale wyczerpująco przedstawione zostały również organiczne i nieorganiczne nośniki używane do wydajnej immobilizacji enzymów. Zagadnienia zaprezentowane w przeglądzie literatury to opis krytyczny i odzwierciedlający złożoność problematyki ukierunkowanego projektowania i realizacji strategii immobilizacji oraz co-immobilizacji enzymów. Do większości materiału zgromadzonego w tej części rozprawy Autorka odnosi się i odwołuje w dalszych częściach manuskryptu, słusznie traktując go jako podstawę do dyskusji wyników uzyskanych w badaniach doświadczalnych.

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej ujęto redakcyjnie w rozdziałach od 2. do 5., które cechuje zróżnicowana objętość tekstu:

- Rozdział 2. to jednoznaczne i precyzyjne sformułowanie celu pracy oraz zdefiniowanie zakresu przeprowadzonych badań, uzupełnione o czytelną graficzną prezentację etapów podjętych badań doświadczalnych;
- Rozdział 3. to syntetyczne przedstawienie wykorzystanych materiałów, aparatury i przyjętych metod analizy chemicznej oraz licznych procedur definiujących metodykę badań doświadczalnych, w tym immobilizacji powierzchniowej na wybranych membranach i immobilizacji objętościowej w drodze enkapsulacji, a także charakterystyki wykorzystanych w badaniach enzymów, tj. β -galaktozydazy, oksydazy glukozowej i katalazy;
- Rozdział 4. to obszerna i szczegółowa prezentacja wyników badań doświadczalnych służących uzyskaniu danych ilościowych dotyczących aktywności katalitycznej trzech badanych enzymów w formach roztworów białek natywnych oraz preparatów biokatalizatorów immobilizowanych i co-immobilizowanych powierzchniowo na membranach z regenerowanej celulozy i aktywowanego poliamidu oraz objętościowo enkapsulowanych i co-immobilizowanych w alginianie sodu (czystym i dodatkowo sieciowanym), badanych w warunkach procesowych wymaganych w przemyśle mleczarskim, wraz z prezentacją proponowanego opisu matematycznego kinetyki działania badanych enzymów uwzględniającego efekty inhibicji i aktywacji składnikami mieszaniny reakcyjnej;
- Rozdział 5. to dyskusja danych eksperymentalnych służąca porównaniu efektów ukierunkowanej aktywności enzymatycznej modyfikacji surowca mlecznego przeprowadzonej zgodnie z przyjętymi w rozprawie strategiami biokatalizy, zakończona zwięzłym podsumowaniem wyników wykonanych doświadczeń zawierającym wydzielone w osobną część zestawienie wybranych przez Autorkę najistotniejszych osiągnięć podsumowujących całość rozprawy.

Powyższy podział manuskryptu jest uzasadniony i ułatwia orientację w tekście.

W rozprawie zacytowano 277 pozycje bibliograficzne, których dobór jest zasadny i dokonany zgodnie z zakresem pracy. Prawie całość cytowanej literatury to pozycje naukowe opublikowane w języku angielskim, jako artykuły naukowe (ponad 90% wszystkich wykorzystanych materiałów źródłowych) lub w formie monografii. Publikacje polskojęzyczne stanowią znikomy odsetek bibliografii i głównie są to pozycje książkowe. O rzetelności i aktualności wykonanego przez Autorkę przeglądu literatury związanej z tematem pracy, świadczy wysoki odsetek cytowanych materiałów źródłowych, które ukazały się w ostatnich 5 latach sięgający 30% bibliografii.

Zamieszczone w manuskrypcie obiekty graficzne zostały przygotowane starannie i opisano je w przejrzysty sposób. Uwagę zwraca spójny graficznie format rysunków prezentowanych w części literaturowej. Tabele zredagowano czytelnie, przyjmując ich jednolity format. Rysunki przedstawiające schematy ułatwiają zrozumienie omawianych zagadnień. Wykresy prezentujące graficzne interpretacje wyników przygotowano i opisano prawidłowo w sposób ułatwiający identyfikację danych przez czytelnika.

Narracja manuskryptu rozprawy została poprowadzona sprawnie. Opisy wyników doświadczalnych są rzeczowe i przygotowano je stosując konsekwentnie jeden ugruntowany schemat opisu, a to przekłada się na wydajniejsze zrozumienie treści przedstawionej przez Autorkę. W tekście pracy użyto w uprawniony sposób szeregu anglicyzmów, lub terminów pochodzących bezpośrednio z języka angielskiego (np. układ *one-pot*, co-immobilizacja, enkapsulacja), co jest efektem postępującej internacjonalizacji nauki oraz oczywistego opóźnienia we wprowadzaniu do języka polskiego terminologii naukowej oryginalnie definiowanej w anglojęzycznych źródłach naukowych. Korekta tekstu została wykonana starannie i kompleksowo. Zapoznając się z manuskrypcem dostrzegalne były naprawdę nieliczne błędy edytorskie. Jedynym bardziej istotnym niedociągnięciem edycyjnym manuskryptu jest niepełny spis użytych w rozprawie skrótów i symboli, w którym nie zostały uwzględnione niektóre ze skrótów używanych w manuskrypcie rozprawy (np. CLE, CLEA, CLEC, DNS, GRAS, HEPES, WHO), co przytaczam wyłącznie z poczucia obowiązku recenzenta.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Procedury doświadczalne i metodyka przeprowadzonych badań, które zostały przedstawione w obejmującym 15 podrozdziałów rozdziale 3. (Materiały i metody), pozwalają stwierdzić, że zrealizowane planem badań doświadczalnych eksperymenty zaplanowano poprawnie i z użyciem zestawu referencyjnych odczynników. Wybrane do badań komercyjnie dostępne preparaty enzymatyczne zostały właściwie scharakteryzowane. Każdy z biokatalizatorów poddany został niezależnej ocenie aplikacyjności obejmującej analizę kinetyki reakcji katalizowanych przez natywne białka katalityczne, jak i biokatalizatory immobilizowane powierzchniowo czy objętościowo. Charakterystyka aplikacyjności β -galaktozydazy NOLA Fit 5500 objęła studia nad powtarzanym zastosowaniem enzymu immobilizowanego, jak i określeniem stabilności enzymu kapsułkowanego w nośniku alginianowym. Kompleksowe podejście charakteryzujące β -galaktozydazę uzupełnione zostało procedurą badania stabilności enzymu w obecności kationów Ca^{2+} oraz identyfikacji oporów dyfuzyjnych podczas biokatalizy wykorzystującej kapsułkowaną laktazę.

Charakterystyka oksydazy glukozowej objęła analizę wpływu temperatury na aktywność natywnego enzymu oraz termostabilności w niskiej wartości temperatury roboczej. Określony został także wpływ chemicznych dodatków alkalizujących środowisko reakcji. W opisie katalazy uwzględniono wpływ temperatury oraz wartości odczynu pH środowiska reakcji na białko katalityczne. Zakres charakterystyki parametrów procesowych biokatalizy należy uznać za prawidłowo określony i wystarczający do zgromadzenia istotnych danych ilościowych. Również zakres badań zrealizowanych w celu ilościowej charakterystyki preparatów oksydazy glukozowej i katalazy immobilizowanych powierzchniowo na membranach celulozowych i poliamidowych, jak i membran, służących wspólnemu osadzeniu cząsteczek białek katalitycznych może zostać uznany za wystarczający i wyczerpujący. Podobnie właściwie zaplanowano zakres części eksperymentalnej dotyczącej enzymów immobilizowanych i co-immobilizowanych objętościowo w nośnikach alginianowych.

Zakres wyników przeprowadzonych badań doświadczalnych, które Autorka przedstawiła w rozdziale 4., jest merytorycznie spójny z zakresem procedur i metodyki wprowadzonej w rozdziale 3. Skala przeprowadzonych badań doświadczalnych jest obszerna, jednak dobór nośników do powierzchniowej i objętościowej immobilizacji enzymów był ściśle przemyślany. Wyniki charakteryzujące wszystkie zbadane enzymy słusznie dotyczą warunków niskotemperaturowych wymaganych w przemyśle mleczarskim i pozwalających na realizację hydrolizy laktozy w trakcie transportu lub przechowywania mleka. Autorka dokonała oceny aplikacyjności dwóch rodzajów immobilizowanych preparatów β -galaktozydazy NOLA Fit 5500, z których korzystniejszym rozwiązaniem wydaje się kapsułkowanie w alginianie. Analizując wyznaczone wartości modułu Thielego, Autorka trafnie zinterpretowała, że w zbadanym zakresie średnic kapsułek biokatalizatora, hydrolityczny rozkład laktozy katalizowany przez β -galaktozydazę unieruchomioną w nośniku alginianowym przebiega w reżimie kinetycznym. Dostrzeżenia wymaga ilościowo zidentyfikowany w przypadku β -galaktozydazy NOLA Fit 5500 wpływ glukozy i galaktozy na aktywność enzymu, które to wyniki dostarczyły cennej informacji o zróżnicowanym wpływie produktów reakcji hydrolizy laktozy na białko enzymatyczne – zidentyfikowany aktywujący laktazę wpływ glukozy należy traktować jako aspekt nowatorski o wysokim potencjale publikacyjnym. Zaproponowany autorski opis kinetyczny rozkładu laktozy uwzględniający kompetycyjny mechanizm inhibicji galaktozą i jednoczesną kompetycyjną inhibicję oraz aktywację glukożą nie budzi zastrzeżeń. Kolejnym rozważanym przez Autorkę problemem badawczym był enzymatyczny sposób eliminacji glukozy z mleka poddanego uprzedniemu hydrolitycznemu usunięciu laktozy. Zaproponowany został w tym celu dobrze opisany literaturowo dwuenzymatyczny układ oksydaza glukozowa – katalaza. Nowatorskim podejściem jest zastosowanie tego układu w zakresie temperatur korzystnych do realizacji przemysłowego procesu przetwórczego mleka. Autorka dokonała właściwej analizy wydajności wiązania cząsteczek obu enzymów na membranach i wykluczyła aplikacyjność membran celulozowych oraz poliamidowych do otrzymania membran katalitycznych z co-immobilizowanymi powierzchniowo oksydazą glukozową i katalazą. Prezentując dalsze wyniki, dowiedziona została zasadność objętościowej co-immobilizacji badanych enzymów w hydrożelowych nośnikach alginianowych dodatkowo sieciowanych glutaraldehydem i karboimidem. Autorka prawidłowo zinterpretowała wyniki oznaczenia początkowych szybkości reakcji

enzymatycznie katalizowanej eliminacji glukozy z użyciem co-immobilizowanych objętościowo oksydazy glukozowej i katalazy i zaproponowała opis tego procesu przy pomocy kinetyki pierwszego rzędu. Proponując układ następczo działających białek katalitycznych oksydazy glukozowej i katalazy, Autorka trafnie zidentyfikowała ograniczenia procesowe wynikające z kwasowego charakteru jednego z produktów konwersji glukozy - glukonianu, oraz silnego limitowania szybkości tej reakcji dostępnością drugiego z zużywanych w niej substratów jakim jest tlen. W przemyślny sposób zaproponowano chemiczną neutralizację generowanego glukonianu na drodze zobojętniania do postaci soli sodowej w wyniku chronicznej suplementacji mleka roztworem ługu sodowego. Natomiast jako rozwiązanie intensyfikujące dostępność tlenu w mleku zaproponowane zostało jego napowietrzanie. Wydaje się, że takie podejście wymaga jednak rozszerzenia dyskusji poza zakres omówienia wyników zaprezentowany w rozprawie.

W ostatnim, 5. rozdziale Autorka podsumowała obszernie przeprowadzone studia nad aplikacyjnością proponowanego układu trójenzymatycznego do kaskadowego usuwania laktozy i następczego redukcji słodkości mleka. Zaproponowane wnioski końcowe w pełni znajdują odzwierciedlenie w obszernym zestawie wyników badań eksperymentalnych zamieszczonych w rozprawie doktorskiej. Wszystko to sprawia, że recenzowana dysertacja jest kompleksowym i bardzo wartościowym uzupełnieniem danych literaturowych wypełniającym lukę dotyczącą porównawczego zestawienia danych doświadczalnych dotyczących niskotemperaturowego zastosowania preparatów unieruchomionych enzymów o potencjale przemysłowego wykorzystania w mleczarstwie. Zostało to jednoznacznie potwierdzone dotychczasowymi publikacjami Autorki, w których zaprezentowała wyniki cząstkowe prac prowadzących do niniejszej dysertacji, zamieszczonymi w bibliografii, tzn. [63] *Polish Journal of Chemical Technology* 2018, [64] *Desalination and Water Treatment* 2018 oraz [161] *Catalysts* 2021. Artykuły te sprawiają, że Autorka niniejszej rozprawy, jako członek grupy badawczej Profesor Anny Trusek staje się rozpoznawalna w kręgu literatury naukowej z zakresu inżynierii bioprocessowej i przemysłowej katalizy enzymatycznej.

Poniżej przedstawiam uwagi mające charakter dyskusyjny, ale w mojej opinii wymagające komentarza. Jako recenzent pozostawiam je uwadze Autorki rozprawy, wraz z prośbą o ich wyjaśnienie podczas publicznej obrony pracy doktorskiej:

- Jako sposób zwiększenia wydajności usuwania glukozy z mleka poddawanego enzymatycznej degradacji laktozy, zaproponowane zostało napowietrzanie substratu. W rozprawie nie zostały jednak przedyskutowane potencjalne negatywne efekty wynikające ze zwiększonego stężenia tlenu w mleku.
- Czy CaCO_3 oraz 1M roztwór NaOH wykorzystane do regulacji zobojętniania kwasu glukonowego powstającego w reakcji katalizowanej przez oksydazę glukozową mogą wpływać negatywnie na składniki mleka?
- Wykresy 1-5 prezentujące krzywe standardowe (krzywe wzorcowe) dotyczące analitów oznaczanych w części doświadczalnej pozbawione są informacji o wartościach współczynnika determinacji R^2 . Informacje o wartościach R^2 charakteryzujących jakość sporządzonych krzywych standardowych nie towarzyszą również równaniom (str. 53-55).

- Dlaczego do charakterystyki użytych w rozprawie enzymów nie wykorzystano jednostek aktywności enzymatycznej?
- Dane naukowe wskazują, że stężenie laktozy w surowym mleku krowim (np. Gille *et al.*, *International Dairy Journal* 83 (2018) 17-19) osiąga wartości 45-48 g/L i taką wartość wskazuje Autorka we wstępie do rozprawy (str. 8). Natomiast w części eksperymentalnej, doświadczenia przeprowadzone zostały z wykorzystaniem roztworów laktozy o różnych stężeniach, np. preparat NOLA FIT 5500 po enkapsulacji charakteryzowano wykorzystując roztwór laktozy o stężeniu 39,39 g/L, a po immobilizacji powierzchniowej wykorzystując roztwór laktozy o stężeniu 55 g/L (a nawet wyższym), pozostawiając to bez komentarza.
- W rozdziale 4.4.8 wskazano na konieczność zastosowania mechanicznego gaszenia piany powstającej w trakcie napowietrzania mleka (str. 138-139), proponując w tym celu prototypowe rozwiązania (Rysunek 23), które pozostawiono bez opisu ich funkcjonalności.

4. Wniosek końcowy

Recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Czyżewskiej nie budzi żadnych istotnych zastrzeżeń formalnych ani merytorycznych. Manuskrypt został zredagowany poprawnie z zachowaniem wymogów zasad ochrony własności intelektualnej i przepisów prawa autorskiego. Sformułowane przez Autorkę cele pracy zostały spełnione. Zaprojektowanie, przygotowanie i realizacja szeroko zakrojonych badań doświadczalnych, wraz z wykonaną interpretacją uzyskanych wyników, a także weryfikacja zaproponowanego opisu matematycznego enzymatycznej hydrolizy laktozy i usuwania glukozy są znaczącymi osiągnięciami Autorki. Dostrzeżenia wymaga również fakt opublikowania wyników cząstkowych stanowiących elementy rozprawy w trzech artykułach, które ukazały się na łamach renomowanych czasopism naukowych z zakresu tematycznego inżynierii chemicznej (tj. *Polish Journal of Chemical Technology, Desalination and Water Treatment, Catalysts*), co potwierdza wysoki poziom merytoryczny przeprowadzonych studiów.

Reasumując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska prezentuje wysoki poziom naukowy i zawiera oryginalne i wartościowe elementy istotnie poszerzające wiedzę z zakresu inżynierii chemicznej. Zgodnie z powyższym jednoznacznie stwierdzam, że Pani mgr inż. Katarzyna Czyżewska dowiodła umiejętności samodzielnego planowania i rozwiązywania problemów badawczych dotyczących złożonych zjawisk z zakresu inżynierii chemicznej, a tym samym wykazała się wiedzą oczekiwaną od kandydata na stopień naukowy doktora w dyscyplinie naukowej inżynieria chemiczna.

Z pełnym przekonaniem uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Czyżewskiej spełnia wszystkie kryteria stawiane formalnie i zwyczajowo pracom doktorskim, w szczególności warunki określone w art. 13 ustawy z dn. 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tj. Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.) oraz wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Czyżewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie mając na uwadze znaczenie naukowe i praktyczne zaprezentowanych wyników składam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.