



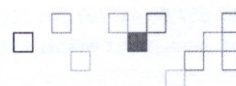
Lublin, 2.09.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Pięłypt. „*Biokatalityczna synteza nanokrzemionki*”wykonanej w Katedrze Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiejpod kierunkiem **dr hab. inż. Magdaleny Klimek-Ochab, prof. uczelni**

W ostatnich latach szczególną uwagę poświęca się cząstkom o wymiarach nano, które mają szeroki zakres zastosowań w przemyśle medycznym, spożywczym, ceramicznym czy też w budownictwie i rolnictwie. Jedną z takich nanocząstek jest nanokrzemionka, której synteza metodami biologicznymi (w porównaniu do metod chemicznych) zyskuje coraz większe zainteresowanie ze względu na ich aspekt ekonomiczny oraz ograniczony wpływ na środowisko naturalne. Szczególnie ciekawą metodą jest pozyskiwanie nanokrzemionki w procesie biotransformacji roślinnych materiałów odpadowych, które są bogate w krzem. Przystąpienie Polski do Unii Europejskiej zainicjowało szereg dynamicznych zmian w przedsiębiorstwach produkcji i przetwórstwa żywności, dotyczących nie tylko standardów jakości oraz bezpieczeństwa zdrowotnego żywności ale również ochrony środowiska, w tym gospodarki odpadami. Znaczna część organicznych odpadów z rolnictwa, nadaje się do zagospodarowania w kierunku pozyskiwania z nich energii. Technologie wykorzystywania odpadów organicznych powstałych w gospodarstwie rolnym i przemyśle rolno-spożywczym cały czas intensywnie się rozwijają i doskonalone są metody pozyskiwania energii zawartej w biomase organicznej, wykorzystania odpadów do użyczenia gleby czy też jako źródło nowych produktów.

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Aleksandry Pięły wpisuje się poszukiwanie nowych metod zagospodarowania odpadów roślinnych, w związku z czym postrzegana może być nie tylko jako aktualna i interesująca ale również bardzo ważna. Przedmiotem badań w ramach tej rozprawy jest biotransformacja bogatej w krzem biomasy roślinnej, z zastosowaniem wybranych gatunków grzybów.

Przedstawiona do oceny praca składa się ze 178 stron, 8 tabel i 44 rysunków. Rozprawa zredagowana została według następującego układu: po *Spisie treści* i *Streszczeniu* (tylko w języku polskim), zamieszczone zostały główne rozdziały dotyczące bezpośrednio dysertacji: *Wstęp*, *Cel pracy*, *Część eksperymentalna*, zawierająca dwa podrozdziały - *Materiały i metody* oraz *Wyniki badań* i kończące tę część pracy dwustronicowe *Podsumowanie*. Uzupełnieniem tych podstawowych rozdziałów jest rozdział *Bibliografia* wymieniający 285 pozycji, związanych z tematyką rozprawy, w tym 228 z ostatnich 10 lat. Ponadto, Doktorantka w pracy umieściła swój dorobek naukowy w formie spisu (1) publikacji naukowych związanych z tematyką pracy, (2) patentów, (3) publikacji powstałych w ramach współpracy w innych obszarach nauki, (4) doniesień konferencyjnych oraz (5) dodatkowej



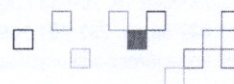


aktywności naukowej związanej z upowszechnianiem nauki. Brak jest w rozprawie doktorskiej streszczenia w języku angielskim, a zgodnie z pkt. 6 art. 13 „Rozprawa doktorska powinna być opatrzona streszczeniem w języku angielskim,” (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki).

Na początku dysertacji zamieszczony został bardzo obszerny *Wstęp* (56 stron) wprowadzający w przystępny sposób w tematykę rozprawy i zakreślający równocześnie obszar badawczy, w ramach którego formułowane mogą być otwarte problemy poznawcze, związane z możliwością zastosowania biotransformacji biomasy roślinnej do syntezy nanokrzemionki. *Wstęp* to opisowa część rozprawy, opierająca się na analizie doniesień z piśmiennictwa naukowego, która została zredagowana w oparciu o podstrukturę obejmującą sekcje poświęcone nanomateriałom, ze szczególnym uwzględnieniem form występowania nanomateriałów oraz charakterystyki i możliwości otrzymywania nanocząstek (z zastosowaniem metod chemicznych, fizykochemicznych i biologicznych). Drugim ważnym elementem tej części opisowej są podrozdziały poświęcone krzemionce i nanokrzemionce, z opisem możliwości otrzymywania nanocząstek krzemionki na drodze biotransformacji biomasy roślinnej z zastosowaniem grzyba *Fusarium oxysporum*.

Uwagi:

- główna uwaga dotycząca *Wstępu* jak i całej rozprawy odnosi się do sposobu cytowania pozycji bibliograficznych, które w większości są umieszczane po kropce zamykającej zdanie, którego dana pozycja dotyczy. Zgodnie z zasadami interpunkcyjnymi obowiązującymi w języku polskim kropka zamyka wypowiedź (tzn. zdanie lub równoważnik zdania). Bardzo trudno jest ocenić czy cytowana pozycja dotyczy zdania zakończonego kropką i poprzedzającego cytowanie, czy też zdania, które rozpoczyna się bezpośrednio po cytowaniu. Kolejna uwaga edytorska dotyczy oddzielania części całkowitej od dziesiętnej w podawanych wartościach liczbowych. Zgodnie z polskimi zwyczajami typograficznymi część dziesiętną od całkowitej oddziela się przecinkiem. Natomiast w tej dysertacji kropki i przecinki są stosowane zamiennie (zarówno we *Wstępie* jak i w *Części eksperymentalnej*).
- informacje przedstawione we *Wstępie* są bardzo różnorodne i część z nich można by było zastosować do dyskusji wyników otrzymanych w ramach tej pracy. Dotyczy to przede wszystkim opisu biomasy roślinnej oraz jej transformacji z zastosowaniem metod chemicznych i biologicznych.
- str. 33 – proszę wyjaśnić skrót „mas.”,
- str. 13 „Feynmana” a nie „Feynamna”,
- str. 14 - proszę wyjaśnić termin „nanonauka”,
- tabela 2 jest nieczytelna; wprowadzenie poprzecznych linii ułatwiłoby analizę informacji dotyczących poszczególnych przykładów.

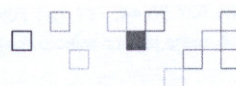




Kolejną częścią pracy jest *Część eksperymentalna*, do której można też zaliczyć *Cel pracy*, opisujący cele ogólne i pięć celów szczegółowych. *Część eksperymentalna* obejmuje wszystkie elementy związane ze stroną doświadczalną pracy doktorskiej, włączając opis zastosowanych materiałów (grzyby, biomasa roślinna, aparatura), przeprowadzonych biotransformacji, metod analitycznych oraz opis otrzymanych wyników badań, które zostały przedstawione w formie tabel i rycin. Ta część pracy zawiera też próby przedyskutowania otrzymanych wyników z danymi opublikowanymi w piśmiennictwie. Wyniki badań zostały już wcześniej opublikowane w dwóch pracach doświadczalnych, których doktorantka jest pierwszym autorem (Bioorg. Chem. 2020, 99, 103773; Fungal Biol. 2018, 122(5), 333-344). Wiele wykresów, które zostały zamieszczone w rozprawie doktorskiej pochodzi właśnie z tych publikacji (25 spośród 39). Informacja ta powinna być umieszczona w sposób jasny i czytelny na początku opisywania otrzymanych wyników lub przy każdym wykresie. Taka informacja jest na stronach 119 i 133. Dlaczego nie wykorzystano szansy przygotowania tej rozprawy jako zbioru publikacji? Myślę, że byłoby to bardziej przejrzyste i nie budziłoby obaw recenzenta.

Uwagi:

- jednym z celów szczegółowych pracy jest „dobór i optymalizacja metod analitycznych pozwalających na ocenę przydatności substratów roślinnych do procesów biokonwersji w kierunku nanokrzemionki”. Proszę wyjaśnić jak przeprowadzono dobór i optymalizację zastosowanych metod analitycznych?
- w pracy podano, że badania przesiewowe będą dotyczyły grzybów pleśniowych. Czy gatunek *Phanerochaete chrysosporium* to grzyb pleśniowy?
- liczne błędy edytorskie, np.:
 - „2 %-owy” czy „2%”?
 - „mL” czy „ml”?
 - „0.05% czy 0,05%”?
 - „H2O” czy „H₂O”?
 - 10.000/mL określająca ilość zarodników, to znaczy, że było ich 10/ml czy też 10 000/ml? W innym miejscu pracy jest 10000/mL (str. 88),
- str. 78 i str. 79 – dlaczego wyników tych badań nie umieszczono w tej pracy (dotyczy krzywych wzrostu badanych grzybów)?
- dlaczego zastosowano wagę mokrej biomasy grzybowej a nie wagę suchej masy?
- przy opisie zastosowanych metod zostały opisane także otrzymane wyniki (np. str. 81),
- w jaki sposób dobierano grzyb i substrat roślinny (tabela 7) i jakie zastosowano kryteria?

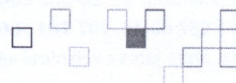




- 1.4.4.1.4 – dlaczego zastosowano wodę do procesu biotransformacji a nie bufor? Czy sprawdzano wartość pH roztworu także po skończonej biotransformacji? Gdzie znajdują się wyniki dotyczące wpływu wartości pH środowiska na proces biotransformacji?
- 1.4.4.2.2.2. – dlaczego zastosowano takie właśnie stężenia w doświadczeniach z białkami zewnątrz- i wewnątrzkomórkowymi? Czy sprawdzano jakąkolwiek aktywność enzymatyczną w roztworach tych białek?
- str. 96 – proszę wyjaśnić termin „wydajność formowania biomasy”?
- str. 97 – w której części pracy została opisana metodyka dotycząca modyfikacji podłoża hodowlanych?
- str. 98 – „amon” – co to za źródło azotu?
- str. 99 – na czym polegała preinkubacja biokatalizatorów?
- str. 99 – proszę wytłumaczyć wpływ sterylizacji biomasy roślinnej na proces jej biotransformacji? Na czym ma polegać „rozluźnienie” struktury (str. 122)?
- tabela 8 – jest bardzo nieczytelna, wprowadzenie linii poziomych oddzielających poszczególne substraty na pewno ułatwiłoby analizę wyników,
- rys. 11, rys. 26 – to samo powiększenie dla 1A, 2A i 3A ułatwiłoby analizę zdjęć,
- str. 106 – czy analizowano sorpcję krzemu przez grzybnię?
- jak można wytłumaczyć zmiany w stężeniu krzemionki w kontrolnych płynach biotransformacyjnych (bez biomasy grzybowej)?
- rys. 28 z rozprawy doktorskiej to Fig. 5 z pracy Bioorg. Chem. (2020) 99, 103773. Proszę wytłumaczyć dlaczego się różnią?
- rys. 32 – czym się różnią zdjęcia B i C?
- str. 118 i str. 133 – zastosowano tutaj inny sposób cytowania niż w całej rozprawie,
- str. 139 – jakie białka wewnątrzkomórkowe mogą brać udział w degradacji łusek ryżowych? Czy są jakieś doniesienia naukowe?

Bardzo ważnym wynikiem przeprowadzonych doświadczeń jest powiększenie skali biotransformacji i uzyskanie 14 mg nanokrzemionki na litr mieszaniny transformacyjnej. Warto by było to przeliczyć na ilość zastosowanej biomasy (wyrażonej jako sucha masa) i zestawić np. w formie tabeli z danymi literaturowymi.

Ponieważ w rozprawie brakuje odrębnego rozdziału dotyczącego dyskusji otrzymanych wyników, warto by było podsumowanie uzupełnić dodatkowym schematem czy też tabelą, w których zebrano by i podsumowano otrzymane wyniki dla badanych grzybów i badanego





materiału roślinnego. Dyskusja otrzymanych wyników z wynikami opisanymi w literaturze w przedstawionej pracy jest bardzo uboga. Sprzyja temu między innymi jej połączenie z opisem wyników badań w jednym rozdziale *Wyniki badań*. Piśmiennictwo dotyczące otrzymywania nanokrzemionki z biomasy roślinnej na drodze biotransformacji jest bardzo bogate, dlatego też warto by było przygotować specjalnie temu poświęcony rozdział *Dyskusja*.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Aleksandry Pięły „*Biokatalityczna synteza nanokrzemionki*” stanowi opracowanie naukowe, poruszające zagadnienia możliwości otrzymywania nanokrzemionki w procesie biotransformacji grzybowej odpadów roślinnych. Czytając tę rozprawę odnosi się wrażenie, że zabrakło trochę czasu aby ponownie ją przeczytać i poprawić.

Rozprawa doktorska przedstawiona przez mgr inż. Aleksandrę Pięłą spełnia wymogi formalne i warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późniejszymi zmianami). Na tej podstawie zwracam się do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej z wnioskiem o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr inż. Aleksandry Pięły do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.

prof. dr hab. Anna Jarosz-Wilkolazka

