



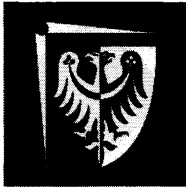
Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny  
prof. dr hab. inż. Piotr Dobryszki

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Czemińskiej „Zdolności flokulacyjne egzopolimerów z *Rhodococcus sp.* oraz ich właściwości fizyko-chemiczne”.

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Czemińskiej „Zdolności flokulacyjne egzopolimerów z *Rhodococcus sp.* oraz ich właściwości fizyko-chemiczne” jest monografią przedstawiającą wyniki badań dotyczących poszukiwania polimerów pochodzenia naturalnego o własnościach sorpcyjnych w stosunku do wybranych jonów metali ciężkich. Przygotowana w laboratorium prof. Anny Jarosz-Wilkołazkiej, przy wydatnej współpracy prof. Aleksandry Szcześ, świadczy o dużym znawstwie zarówno problemów metodycznych jak i badanych obiektów.

Praca składa się z czterech głównych rozdziałów (*Wprowadzenia, Materiałów i Metod, Wyników, Dyskusji*), w których Autorka przedstawiła podstawowe informacje dotyczące zewnątrzkomórkowych polimerów, mikroorganizmów je produkujących, w szczególności *Actinobacteria*, biochemicznych mechanizmów syntezy egzopolimerów i ich zdolności flokulacyjnych i sorpcyjnych. 24-stronicowa całość wstępu solidnie uzasadnia celowość przeprowadzonych badań. Materiały i metody (20 stron) tj. opis 4 używanych szczepów, wraz z uzasadnieniem wyboru dwóch najlepiej rojujących, odczynników, sprzętu, technik oznaczania aktywności flokulacyjnej, stężeń białek i cukrów, stosowanych metod fizykochemicznych (SEM, XPS, SEC, ASA, itp.), a wreszcie opis sposobów analizy wyników w tym kinetyki procesu flokulacji i termodynamiki adsorpcji pokazuje profesjonalizm Autorki, a szczegółowość opisów pozwala je kontrolować i powtarzać bez konieczności zaglądania do materiałów źródłowych. Ogólny cel pracy został określony jako opis fizykochemiczny badanych polimerów, głównie pod kątem ich zdolności flokulacyjnych i sorpcyjnych, a szczegóły zebrano w jasno przedstawionych sześciu punktach. Część dotyczącą wyników własnych (67 stron) Autorka zorganizowała w logiczny ciąg, w którym przedstawiła dane opisujące aktywność flokulacyjną szczepów, zawartości białek i cukrów, optymalizację składu podłoża i warunków hodowli bakterii, optymalizację



Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny  
prof. dr hab. inż. Piotr Dobryczycki

procesu otrzymywania egzopolimerów, ich szczegółową charakterystykę, w tym aktywność flokulacyjną i zdolności sorpcyjne. Dyskusja (22 strony) skupia się na zebraniu otrzymanych wyników m.in. w postaci optymalnego schematu przeprowadzania eksperymentów (Rys. 66), i tabel zbierających warunki wzrostu bakterii i składy podłoży do syntezy egzopolimerów, a także ich właściwości fizykochemiczne w odniesieniu do bogatych danych literaturowych. Szacunek budzi dobór cytowanej literatury tj. 215 pozycji z czego prawie połowa pochodzi z lat 2015-2020.

Mimo, że praca jest dość długa to czyta się ją dobrze, co wynika z poprawności językowej, a zwraca uwagę niezwykle staranna korekta. Praca prawie pozbawiona jest tzw. literówek, co się zdarza niezwykle rzadko.

Wstęp, po wprowadzeniu oczywistych skrótów, może stanowić interesujący artykuł przeglądowy dotyczący egzopolimerów, relacji budowa-własności flokulacyjne i sorpcyjne. Jako osobie zajmującej się białkami w tym związkami struktura-funkcja, oczekiwałbym może trochę więcej informacji, jeżeli takie istnieją, na temat roli białek w tych procesach, a także odpowiedzi na pytanie o znaczenie składu i struktury „drzewka” polisacharydowego dla aktywności flokulacyjnej.

Z drobnych uwag dotyczących tego fragmentu zwróciłbym uwagę na niezręczne określenie na 32 stronie związane z „tolerowaniem metali ciężkich przez egzopolimery”. Zapewne chodzi o przeżywalność/tolerancję szczepów. Również „dawka 20 mg/l jonów” to raczej stężenie, a „akrylamid” to „akryloamid”.

Zarówno opis *Materiałów*, jak i *Metod badawczych* nie budzi zastrzeżeń. Pomysł by w tej części w Tabelach 8, 9, 11, 12 zebrać warunki eksperymentów ułatwia ich śledzenie w części eksperymentalnej i wynikowej, a jednocześnie daje obraz ogromnej pracy włożonej w przygotowanie doktoratu. Jedynie zwróciłbym uwagę na fakt, że oznaczanie masy cząsteczkowej egzopolimerów metodą filtracji żelowej (str. 48) jest mało dokładne szczególnie dla cząsteczek o nieglobularnym kształcie, tym bardziej, że używano krzywej standardowej opartej na trzech punktach. Czy Autorka rozważyła użycie spektrometrii mas w wariacie ESI lub MALDI-TOF do pełnej analizy składu cukrowego.



Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny

prof. dr hab. inż. Piotr Dobryszyci

Drobne uwagi:

- 1) Jeżeli podaje się dane dotyczące wirowania w rpm lub obr/min to wypada podać dane rotora, albo po prostu podać wartość *g*
- 2) Metoda *Bradford* to metoda Bradforda (Marion Bradford to mężczyzna)

*Wyniki* stanowią niezwykle obszerny, ale logicznie ułożony, opis „walki” Doktorantki z materią, a w szczególności aktywnością flokulacyjną czterech szczepów wobec najróżniejszych czynników zewnętrznych takich jak temperatura, pH, mieszanie, obecność różnych soli, źródła azotu, węgla itd., na nią wpływających. Na potrzeby recenzji skupiłem się na danych z 7-go dnia hodowli, jak się wydaje najbardziej reprezentatywnych. Badania porównawcze uzasadniają wybór do dalszych analiz szczepów oznaczonych jako 89 i 202, nb. ciekawe jak Doktorantka interpretuje znaczne różnice w aktywności między szczepem nr 1, a 89, wobec ich pokrewieństwa. W dalszej części Doktorantka skupiła się na wybranych dwóch szczepach. Zostały zoptymalizowane warunki hodowli, skład podłoża i pozostałe czynniki decydujące o wydajności procesu otrzymywania egzopolimerów. Co interesujące, szczepy 89 i 202 wyraźnie różnią się aktywnością flokulacyjną płynu hodowlanego w zależności od zastosowanego źródła węgla (89 – głównie glukoza, maltoza, sacharoza, fruktoza, a 202 – tylko glukoza, sacharoza). Czy są jakieś dane eksperymentalne wyjaśniające obserwowane różnice.

Kolejne interesujące rezultaty dotyczą charakterystyki badanych egzopolimerów. Nie mając zastrzeżeń do opisu wyników, zwróciłbym uwagę na niejednoznaczność drugich frakcji (Rys. 34 i 35) otrzymanych po filtracji żelowej. W obu wypadkach należałoby przeprowadzić dodatkowy/e etap oczyszczania, a osobiście nie odważyłbym się podawania ich masy cząsteczkowej (str. 82). Ciekawe, że aktywność flokulacyjna egzopolimeru 89 w zależności od temperatury jest największa w stosunku do jonów żelaza w temperaturze 35°C, podczas gdy EPS – 202 – do jonów sodowych i wapniowych w 45°C. Czy można wyniki te interpretować w odniesieniu do naturalnych miejsc występowania obu szczepów.



Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny

prof. dr hab. inż. Piotr Dobryczycki

Drobne uwagi:

- 1) Uważam, że podawanie stężeń i zawartości % (m.in. str. 80) z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku jest przesadą
- 2) Nieco drażniące jest przyjęcie przez Doktorantkę konwencji (dotyczy to całej pracy) podawania jedynie tytułów w podpisach rysunków. Osobiście wolę system „publikacyjny”, w którym pojawiają się podstawowe dane z części metodycznej
- 3) Łańcuchy acylowe (str. 90) w analizie FTIR to raczej grupy(reszty) acylowe
- 4) Podrozdział *Kinetyka procesu flokulacji ...* raczej nazwałbym *Przebieg procesu flokulacji*. Kinetyka zawsze kojarzy mi się z podaniem stałych szybkości zgodnych z jakimś modelem, ale do interpretacji ciekawych wyników nie mam uwag
- 5) Na str. 110 pojawia się Tabela z podsumowaniem wyników z mylącym numerem podrozdziału i bez bezpośredniego odniesienia w tekście, chociaż oczywiście sens i zawartość są zrozumiałe

Końcowe wyniki bardzo ważnych i interesujących eksperymentów są związane ze zdolnością sorpcyjną wybranych jonów metali ciężkich przez egzopolimry. Zwraca uwagę skuteczność EPS-202 w stosunku do jonów  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i EPS-89 do jonów  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Co}^{2+}$ . Wyniki dotyczące wpływu pH określiłbym raczej jako niejednoznaczne i wymagające dalszych badań, może z wyjątkiem jonów  $\text{Ni}^{2+}$ . Czy Doktorantka ma jakiś pomysł na wyjaśnienie dużych różnic w przebiegu krzywych między jonami niklu i kobaltu (Rys. 63 B, D) i ew. dlaczego jony chromu ulegają sorpcji w bardzo niskim pH (Rys. 63C).

Świetnie Autorka poradziła sobie z interpretacją izoterm adsorpcji (Rys 64; Tab. 23, 24) i dopasowaniem danych eksperymentalnych do modeli Freundlicha i Langmuira zwracając uwagę na różnice dla poszczególnych jonów i rozsądnie odrzucając wyniki nie spełniające odpowiednich kryteriów statystycznych.



Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny  
prof. dr hab. inż. Piotr Dobryszycy

Zasadniczą część pracy zamyka Dyskusja, która podsumowuje najważniejsze osiągnięcia rozprawy w odniesieniu do bogatej literatury, w której opisywano skuteczność flokulacyjną i sorpcyjną innych mikroorganizmów. Odpowiednie dane zebrano w tabelach 25 i 26, które bardzo ułatwiają porównania, a jednocześnie dowodzą, że przyjęto właściwy kierunek badań. Doktorantka słusznie zwraca uwagę na możliwość wykorzystania tzw. konsorcjów bakteryjnych i konieczność podjęcia ich kontynuacji na ściekach przemysłowych. Ze swojej strony podpowiedziałbym zwrócenie uwagi na frakcję białkową i odpowiedź na pytania o jakie białka konkretnie chodzi i ich wpływ na badane procesy. Dobrze byłoby w tym kontekście odnieść się do porównań proteomów bakterii, jeżeli są znane. Również bliższe przyjrzenie się budowie polimeru sacharydowego, o czym wspomniałem wcześniej, a nie tylko jego składowi cukrowemu, byłoby bardzo interesujące i być może wskazało kierunek dalszych badań. Wreszcie można by i domyślać się, że podjęto, narzucające się, próby analiz w roztworach zawierających mieszaniny jonów, a nie zaprezentowano ze względu na ogrom materiału eksperymentalnego rozprawy.

Na zakończenie wypada mi zwrócić uwagę na znakomity dorobek naukowy Doktorantki tj. trzy publikacje o łącznym IF = 12,074 (w dwóch Doktorantka jest pierwszą autorką) + 6 kolejnych o mniejszej „wadze”, a także trzech prac z listy JCS (IF = 6,426) z tematyki nie bezpośrednio związanej z doktoratem i dwóch „bez impaktowych”. Co więcej Doktorantka napisała 4 rozdziały w krajowych wydawnictwach pokonferencyjnych. Wreszcie, kierowała trzema uczelnianymi grantami, a była współwykonawczynią grantu OPUS i czynną uczestniczką 13 konferencji.

Badania zaprezentowane w przedstawionej do recenzji pracy pokazują, że pani mgr Magdalena Czemińska opanowała bardzo wiele metod biofizycznych, że potrafi je stosować i interpretować. Praca być może nie odkrywa nowych mechanizmów czy praw przyrody, ale jest przykładem niezwykle szczegółowego opisu możliwości flokulacyjnych i sorpcyjnych świadomie wybranych szczepów bakterii. Prace takie mają ogromne praktyczne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów ich działania m.in. w kontekście oczyszczania ścieków.

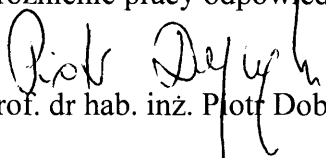


Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny  
prof. dr hab. inż. Piotr Dobryczycki

Drobne uwagi recenzenta nie obniżają bardzo wysokiej oceny pracy, a jedynie mają uściślić moje wątpliwości i poszerzyć ubogą wiedzę. Mam nadzieję, że pomogą doktorantce w dalszej pracy naukowej.

Pani mgr Czemińska okazała się sprawną eksperymentatorką, która przedstawiła wiarygodne wyniki, które stanowią zamkniętą całość.

Podsumowując mogę stwierdzić, że rozprawa doktorska mgr Magdaleny Czemińskiej spełnia wymagania zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym, stanowi oryginalne rozwiązanie naukowe, wykazuje wiedzę teoretyczną Autorki i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, w związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie mgr Magdaleny Czemińskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego w dziedzinie nauk *Ścisłych i Przyrodniczych* w dyscyplinie *Nauki Biologiczne*. Jednocześnie, doceniając ogrom interesujących wyników, jakość materiału naukowego i samej rozprawy, a także dorobek naukowy, wnoszę o wyróżnienie pracy odpowiednią nagrodą.

  
prof. dr hab. inż. Piotr Dobryczycki