



Prof. dr hab. Maciej Kozak
Kierownik Zakładu Fizyki Biomedycznej
mkozak@amu.edu.pl

Poznań, 1/08/2022

Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego *Woda hydratacyjna w systemach o znaczeniu biologicznym: wpływ promieniowania elektromagnetycznego z zakresu podczerwieni oraz endogennego pola elektrycznego* oraz pozostałych osiągnięć naukowych w postępowaniu habilitacyjnym doktor Magdaleny Kowacz

Niniejsza ocena osiągnięcia naukowego i dorobku naukowego oraz pozostałej działalności istotnej w postępowaniu habilitacyjnym w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne wykonana została dla wniosku doktor Magdaleny Kowacz zatrudnionej w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Recenzja przygotowana na zlecenie jednostki prowadzącej postępowanie habilitacyjne - Instytutu Nauk Biologicznych, Uniwersytetu im. Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie zgodnie z uchwałą 3/h/2022 z dnia 18 maja 2022 roku.

1. Sylwetka habilitantki

Doktor Magdalena Kowacz ukończyła w roku 2003 studia magisterskie w zakresie oceanologii, na specjalizacji oceanografia fizyczna na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego. Dalszą karierę naukową kontynuowała na Uniwersytecie w Münster (Niemcy), przygotowując tam pod kierunkiem Profesora Andrew Putnisa rozprawę doktorską zatytułowaną *The effect of additives on water structure and solute hydration: Consequences for crystal nucleation, growth and dissolution* i obronioną w roku 2009. Następnie odbyła sześcioletni staż podoktorski (01/2010-12/2015) w Institute of Chemical and Biological Technology António Xavier, New University of Lisbon, Oeiras w Portugalii. Po powrocie do kraju przez niemal 3 lata pracowała na stanowisku adiunkta w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. Następnie od września 2018 przez dwa lata była zatrudniona w Department of Bioengineering, University of Washington (Seattle, USA) na stanowisku *visiting assistant*

professor. Po powrocie do kraju, od lipca 2021 roku dr Kowacz zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie.

2. Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Wyodrębnione osiągnięcie naukowe dr Magdaleny Kowacz opatrzone zostało tytułem *Woda hydratacyjna w systemach o znaczeniu biologicznym: wpływ promieniowania elektromagnetycznego z zakresu podczerwieni oraz endogennego pola elektrycznego*. Warto w tym miejscu odnotować, że pomimo, iż struktura cząsteczki wody jak i schematy jej oddziaływań z innymi cząsteczkami są doskonale opisane jako skutek wieloletnich badań eksperymentalnych jak i teoretycznych to nadal problematyka struktury wody, a szczególnie wody w warstwie hydratacyjnej jest aktualna. Dlatego, w mojej ocenie istotna jest tematyka badań podjęta przez Habilitantkę.

Na przedłożone do oceny osiągnięcie składa się sześć artykułów opublikowanych w dziedzinowych czasopismach naukowych (według danych z bazy Scopus dotyczących cytowalności tych czasopism, trzy z nich plasują się w pierwszym kwartylu (Q1), a trzy kolejne w Q2). Wszystkie prace ukazały się w latach 2017-2020 w różnych periodykach: *ACS Omega*, *Colloids and Interface Science Communications*, *Colloids and Surfaces A*, *Journal of Crystal Growth*, *Journal of Molecular Recognition* oraz *Journal of Physical Chemistry B*, we wszystkich dr Kowacz jest zarazem pierwszym jak i korespondencyjnym autorem. Tylko w jednym przypadku obowiązki autora korespondencyjnego dzieliła z dwójką współautorów (Ana Luísa Carvalho oraz Luís Paulo N. Rebelo). Większość prac jest dwuautorska i tylko w jednym przypadku liczba autorów pracy wynosi siedem. W tym miejscu warto więc przyjrzeć się wkładowi dr Kowacz w oparciu o załączone oświadczenia autorskie. We wszystkich pracach dwuautorskich dr Kowacz deklaruje swój udział jako, zdefiniowanie problemu badawczego, określenie celów badań i zaplanowanie oraz przeprowadzenie wszystkich eksperymentów, a następnie analizę wyników oraz redakcję manuskryptów. Pozostali współautorzy w tych pracach deklarowali udział w interpretacji uzyskanych wyników, ich dyskusji oraz korekcie manuskryptu. W jedynej pracy wieloautorskiej, współautorzy wskazali swój wkład głównie jako udział w niektórych eksperymentach lub dyskusji uzyskanych wyników. Nie mam więc wątpliwości, że dr Kowacz miała dominujący wpływ na powstanie wszystkich tych publikacji.

Przechodząc do oceny osiągnięć przedstawionych w cyklu prac habilitacyjnych, w pierwszej pracy (Kowacz M. i inni (2017) *J. Crystal Growth*, **457**, 362) za cel swoich badań dr Kowacz postawiła sobie określenie wpływu promieniowania w podczerwieni na hydratację i procesy samoorganizacji i porządkowania się cząsteczek białka w roztworze. Interesującym aspektem tych badań było wykorzystanie promieniowania w podczerwieni ($\lambda = 2900$ nm)

emitowanego przez diody LED do indukcji i wzmocnienia kolektywnych oddziaływań (wiązań wodorowych) w warstwie hydratacyjnej cząsteczek białka. W efekcie badane białka (mioglobina, hemoglobina) łatwiej krystalizują nawet w stężeniach niższych niż graniczne stężenia w klasycznych eksperymentach krystalizacyjnych. Szkoda tylko, że autorka bardziej precyzyjnie nie rozwinęła tematu zastosowań wyników swoich badań w krystalografii. W pracy pojawiła się informacja o zdolności dyfrakcyjnej uzyskanych kryształów, jednak bez informacji w jaki sposób zbierano dane XRD. Warto zwrócić uwagę na fakt, że na procesy krystalizacji białek wpływa całe spektrum czynników, a diagram krystalizacji ma charakter wielowymiarowy, ujmując nie tylko stężenia poszczególnych składników (białka, czynników strącających) ale też szereg czynników fizycznych, jak temperatura, ciśnienie czy nawet obecność lub brak grawitacji. Warto również pamiętać, że cząsteczki białka mają w roztworze możliwości do zmian konformacyjnych i w zasadzie uważa się, że mogą przyjmować szereg konformacji definiujących np. stan natywny. Oczywiście nie neguję tu wpływu promieniowania z zakresu podczerwieni, jednak procesy krystalizacji białek mają złożony charakter. Uważam jednak tę pracę za jedną z najciekawszych w cyklu i bardzo wartościową w kontekście opracowywania warunków krystalizacji białek.

W kolejnej pracy (Kowacz M. i Warszzyński P. (2018) *Colloids Surf. A.*, **557**, 94), dr Kowacz podjęła problem oddziaływania białek z powierzchnią ciał stałych. W tej pracy za cel postawiła sobie zbadanie wpływu promieniowania IR na charakter oddziaływań modelowych białek (lizozymu białka jaja kurzego oraz dwie albuminy – z surowicy wołowej (BSA) oraz z jaja kurzego (OVA) z podłożem stałym oraz nanocząstkami krzemionki SiO₂. Zaobserwowała, że ekspozycja badanych próbek na promieniowanie w podczerwieni powoduje stabilizację struktury drugorzędowej badanych białek. Wyniki te są również bardzo interesujące i wskazują potencjalnie ciekawe zastosowania w kontrolowanej immobilizacji powierzchni białkami, co może być wykorzystane na przykład w konstrukcji stabilnych immunosensorów na bazie immobilizowanych przeciwciałami nanocząstek. W ich przypadku taka metoda traktowania immobilizowanych próbek może wpłynąć na trwałość zawiesin nanocząstek. Z drugiej strony pojawia się tu pytanie o rolę powierzchni w tych oddziaływaniach, dr Kowacz zbadła bowiem oddziaływanie wobec modelowego układu krzemionkowego. Warto jednak pamiętać, że oddziaływanie powierzchniowe są uwarunkowane dostępem do reaktywnych grup zlokalizowanych na powierzchni (w przypadku krzemionki grup silanolowych), ich rozmieszczeniem, zagęszczeniem czy defektami struktury. Parametry te mogą znacząco wpływać na stabilizację struktury biomolekuł zaadsorbowanych na powierzchni.

W trzeciej pracy z cyklu habilitacyjnego (Kowacz M., Warszzyński P. (2019) *J. Mol. Recogn.* **32**, e2780) Habilitantka spróbowała odpowiedzieć na pytanie czy promieniowanie z zakresu podczerwieni może modulować aktywnością enzymatyczną białek. Jako obiekt swoich badań ponownie wybrała albuminę wołową i katalizowaną przez nią w reakcję hydrolizy estru

p-nitrofenylowego (p-NP) w obecności promieniowania w podczerwieni (IR). W pracy tej wykazała, że promieniowanie IR pobudza drgania oscylacyjne cząsteczek wody co skutkuje organizacją wody hydratacyjnej. W efekcie to uporządkowanie ma wpływ na przebieg reakcji hydrolizy p-NP. Aktywność enzymatyczna BSA jest nieco dyskusyjna, a w literaturze spotyka się bowiem informacje, że jest to raczej reakcja pseudo-enzymatyczna. Jakkolwiek spojrzymy na ten proces dr Kowacz w swojej pracy wykazała, że światło podczerwone może modulować transfer protonów i wpływać na kinetykę reakcji.

Kolejna praca z cyklu habilitacyjnego (Kowacz M, Pollack G. (2019) *J. Phys. Chem. B*, **123(51)**, 11003) dotyczy badań eksperymentalnych nad znaczeniem dwutlenku węgla w generowaniu ładunku ujemnego w modelowych układach mikrokropki wody. W szczególności skupiła się na wpływie promieniowania elektromagnetycznego z zakresu podczerwieni jako czynnika o pozytywnym wpływie na organizację cząsteczek wody, mobilność protonów i rozdział ładunków i w efekcie zwiększonym ujemnym ładunkiem powierzchniowym. Istotną rolę odgrywa tu także atmosferyczny dwutlenek węgla, który rozpuszczając się tworzy w wodzie aniony wodorowęglanowe (HCO_3^-) i może modulować powstawanie elektrycznego ładunku powierzchniowego.

W piątej pracy (Kowacz M., Pollack G. (2020) *ACS Omega*, **5**, 21024) Habilitantka podjęła problem formowania się napięcia elektrycznego w modelowym układzie hydrożelowym (alginian wapnia) symulującym granicę pomiędzy otoczeniem komórki (roztworem zewnętrznym) a jej wnętrzem (cytozol). Podobnie jak w poprzednich pracach przeanalizowała też wpływ różnicy potencjałów elektrycznych na parametry wody hydratacyjnej. Zaobserwowała, że bariera hydrożelowa jest w stanie utrzymywać różnicę stężeń jonów (sodu i potasu) pomiędzy oddzielanymi roztworami. Co ważne, zaobserwowano powstającą różnicę potencjałów elektrycznych w roztworach odgraniczanych membraną.

Ostatnia praca składająca się na oceniane osiągnięcie naukowe (Kowacz M., Pollack G. (2020) *Colloid Interface Sci. Comm.* **38**, 100307) porusza problem tworzenia tzw. strefy wykluczenia w wodzie powierzchniowej na przykładzie modelowego układu na bazie etanolowego ekstraktu propolisu. Istotną motywacją do tych badań były doniesienia o pomyślnym stosowaniu propolisu w terapii COVID-19. Cenną obserwacją jest wykazanie, że modelowe cząsteczki są skutecznie wykluczane i utrzymywane w mikrometrycznym dystansie od powierzchni, co przełożyło się na propozycję nowego mechanizmu wyjaśniającego właściwości antyseptycznych propolisu. Niewątpliwie to co intryguje podczas lektury strony metodycznej tej pracy to brak szczegółowej charakterystyki chemicznej próbek propolisu oraz fakt, że próbki te miały różne okresy „starzenia” (0 i 3 lata). Propolis zawiera do 50% żywic roślinnych, przez co jego skład jest więc uwarunkowany regionalnie. Uważam jednak pracę za

interesującą i wnoszącą wkład do zrozumienia zdolności propolisu do indukowania warstwy wody EZ.

Na chwilę przygotowywania niemniejszej recenzji prace składające się na rozprawę habilitacyjną cytowane (bez autocytowań) były 26 razy, z czego najwyższą liczbę cytowań (7) osiągnęła praca Kowacz M., Pollack G. (2020) *Colloid Interface Sci. Comm.* **38**, 100307. Nie są to może imponujące wartości bibliometryczne, jednak niewątpliwe prace zostały zauważone przez środowisko naukowe, warto też zauważyć, że prace ukazały się w okresie ostatnich 5 lat.

Podsumowując tą część mojej oceny, chciałbym podkreślić, że w przedłożonym cyklu artykułów naukowych widoczny jest wspólny nurt badań związanych z wpływem promieniowania podczerwonego albo endogennego pola elektrycznego na wodę hydratacyjną w szerokim spektrum obiektów, począwszy od roztworów białek, ich adsorpcji na powierzchniach mineralnych, skończywszy na propolisie. W mojej ocenie przedstawiony zakres badań wyczerpuje wymagania stawiane osiągnięciu naukowemu w procedurze habilitacyjnej.

3. Ocena dorobku naukowego

Łączny dorobek naukowy przedstawiony przez doktor Magdalenę Kowacz jest raczej umiarkowany objętościowo, liczy bowiem 24 pozycje, ale przyzwoity jakościowo. Składa się na niego 17 publikacji opublikowanych po doktoracie (liczonych łącznie z 6 artykułami przedstawionymi jako osiągnięcie habilitacyjne) oraz 7 prac opublikowanych przed doktoratem. Publikacje te ukazały się głównie w uznanych dziedzinowych periodykach naukowych, indeksowanych w bazach Scopus czy Web of Sciences.

W momencie przygotowywania niniejszej recenzji prace te cytowane były 533 razy (bez autocytowań), co daje średni wskaźnik ponad 22 cytowań na publikację, natomiast indeks h wynosi 11. Takie wartości parametrów bibliometrycznych dla kandydata do stopnia naukowego doktora habilitowanego można uznać za bardzo dobre.

Skupiając się na tematyce badawczej poruszanej przez dr Kowacz w publikacjach z poza cyklu habilitacyjnego można zauważyć jej zainteresowanie szerokim spektrum badań dotyczących między innymi zastosowań cieczy jonowych w krystalizacji białek czy procesach emulsyfikacji. Inne aspekty jej publikowanych badań dotyczą procesów krystalizacji kalcytu. Reasumując tę część recenzji chciałbym stwierdzić, że prace dr Kowacz wymienione w dorobku z poza cyklu habilitacyjnego są istotne w ramach dyscypliny nauki biologiczne w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych.



4. Ocena pozostałych osiągnięć mających wpływ na ocenę wniosku

Analizując dokonania dr Magdaleny Kowacz w kontekście przedłożonego przez nią osiągnięcia naukowego nie należy zapominać o jej działalności w zakresie pozyskiwania środków na badania oraz współpracy zagranicznej. W świetle przedstawionego w dokumentacji zestawienia projektów, którymi kierowała, stwierdzić należy, że jej aktywność w tym obszarze jest ponadprzeciętna. Kierowała bowiem trzema projektami zagranicznymi finansowanymi zarówno z funduszy portugalskich (Portuguese Foundation for Science and Technology) jak i europejskich (European Research Council) oraz dwoma krajowymi projektami fundowanymi przez Narodowe Centrum Nauki (ETIUDA i SONATA BIS). Warto zauważyć, że pozyskanie funduszy w ramach wspomnianego projektu SONATA BIS pozwolić jej może w macierzystej jednostce na rozwinięcie własnej grupy badawczej.

Istotny wpływ na rozwój naukowy dr Kowacz miała współpraca zagraniczna, począwszy od doktoratu zrealizowanego w grupie Prof. Andrew Putnis'a na Uniwersytecie w Münster, poprzez długoterminowy staż podoktorski w New University of Lisbon (Portugalia) skończywszy na dwuletnim pobycie w Uniwersytecie Waszyngtońskim w Seattle (USA). Doświadczenia te niewątpliwie ukształtowały ją jako samodzielnego badacza, o czym między innymi świadczą sukcesy w pozyskiwaniu funduszy na badania. Warto też odnotować, cztery wykłady na zaproszenie oraz szereg komunikatów prezentowanych na konferencjach zagranicznych.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Cykl sześciu prac przedłożony przez dr Magdalenę Kowacz w pełni spełnia wymogi stawiane osiągnięciom naukowym w procedurze habilitacyjnej. Przeprowadzone przez nią badania pozwoliły na określenie wpływu promieniowania z zakresu podczerwieni na konformację i właściwości badanych białek oraz umożliwiły wykazać zależności między parametrami fizykochemicznymi powierzchni, polem elektrycznym oraz wodą hydratacyjną. Prace uznaję za wartościowe, interesujące i ważne. Wniosek dr Kowacz wspiera również wykaz osiągnięć naukowych po doktoracie oraz jej wysoka aktywność grantowa.

W podsumowaniu stwierdzam, że w mojej ocenie, spełnione zostały wymagania określone w art. 219 Ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późniejszymi zmianami) stawiane kandydatom do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. W związku z tym moja rekomendacja wniosku habilitacyjnego przedłożonego przez dr Magdalenę Kowacz jest jednoznacznie pozytywna.