

prof. dr hab. Mariusz Makowski
Katedra Chemii Bionieorganicznej
Kierownik

Gdańsk, 26.08.2021 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr Anny Król-Górniak**,
zatytułowanej

“Nanokompozyty metal-białko; synteza, charakterystyka oraz zastosowanie”.

Rozprawa doktorska mgr Anny Król-Górniak została wykonana pod kierunkiem prof. zw. dr. hab., dr h.c. Bogusława Buszewskiego, czł. koresp. PAN w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika. Opracowanie zostało przygotowane jako tzw. „spinka” sześciu [P1-P6] tematycznych publikacji, współautorstwa doktorantki. Praca [P1] jest pracą przeglądową, natomiast pozostałych pięć, to oryginalne rozwiązania problemów badawczych. Rozprawa składa się z kilku części i zawiera wszystkie elementy wymagane odpowiednimi przepisami w momencie wszczęcia przewodu, w tym streszczenia w językach polskim i angielskim.

Wybrane do dysertacji prace, z bogatego dorobku współautorstwa kandydatki, przeszły już proces fachowej oceny. Ułatwiło to, w sposób znaczący, pracę recenzenta. Układ pracy jest typowy dla tego rodzaju opracowań i składa się z krótkiego *Wprowadzenia*, określenia *Celów badawczych*, *Problemu badawczego* jako wyciągu najważniejszych wyników z prac wraz z załączonymi do tego publikacjami [P1-P6], *Bibliografii*, *Podsumowania i wniosków*, *Streszczeń* wymaganych ustawowo w dwóch językach, *Dorobku naukowego* kandydatki oraz *Oświadczeń* wszystkich współautorów prac. Zgodnie z załączonymi deklaracjami udział mgr A. Król-Górniak w powstaniu prac [P1-P6] był znaczący. Kandydatka brała udział nad

dyskusją koncepcji prac, w planowaniu i realizacji doświadczeń, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. W czterech pracach doktorantka jest pierwszym autorem [P1-P3, P6], a w dwóch pozostałych odpowiednio drugim [P4] i trzecim [P5].

Cała praca jest bardzo obszernym opracowaniem poświęconym poszukiwaniu alternatywy do otrzymywania nanokompozytowego ZnO. Cynk na drugim stopniu utlenienia jest pośrednim kwasem Lewisa i kinetycznie labilnym kationem. W połączeniach kompleksowych, jony cynku wykazują powinowactwo do atomu tlenu grupy karboksylowej oraz fosforanowej, siarki grupy tiolowej, a także azotu z grupy aminowej. Cynk jest niezbędny do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania człowieka, zwierząt i roślin. Pierwiastek ten w połączeniu z białkami pełni rozliczne funkcje w organizmie, tj. katalityczne (tworzy jednordzeniowe i wielordzeniowe centra) czy funkcje strukturalne i regulatorowe (np. palce cynkowe). Cynk znajduje się m.in. w centrum aktywnym dehydrogenazy alkoholowej. Prawidłowe działanie tej oksydorektuazy jest bardzo pożądane z punktu widzenia szybkiego powrotu do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Doktorantka zwraca uwagę, że nanokompozyty tlenków metali (w tym cynku, który jest przedmiotem jej zainteresowań naukowych), są bardzo istotne ze względu na ich wszechstronne działanie i zastosowanie. Znalazły one zainteresowanie badaczy reprezentujących nauki biologiczne, chemiczne, medyczne, inżynierii materiałowej, fizyczne i elektroniczne. Dodatkowo bio-nanokompozyty często wykazują działanie antybakteryjne, są stosowane w dermatologii i mogą być stosowane w leczeniu chorób nowotworowych.

Otrzymywanie nanokompozytów ZnO może być prowadzone na trzy sposoby. Syntezy chemiczne i fizyczne są skuteczne, jednak kosztowne i generujące szkodliwe odpady jako produkty uboczne. Bardzo dobrą alternatywą są, zaproponowane w ocenianej dysertacji, metody biologiczne, które w przeciwieństwie do poprzednich dwóch wykorzystują w pełni naturalne składniki do otrzymania bio-nanokompozytów. Głównym celem pracy doktorskiej

mgr Anny Król-Górniak było określenie mechanizmów tworzenia się nanokompozytowego ZnO w wyniku wiązania się jonów cynku do układów biokoloidalnych: białek bakteryjnych (szczep probiotyczny *Lactobacillus paracasei*), roślinnych (*Medicago sativa*) i owoalbuminy – białka z jaja kurzego. Otrzymane produkty zostały bardzo szczegółowo przebadane pod względem ich właściwości fizykochemicznych, z wykorzystaniem szeregu technik, tj.: spektroskopia FT-IR, dyfrakcja XRD, spektrofotometria, mikroskopie elektronowe TEM i SEM, spektrometrie MALDI TOF-MS, ICP-MS, pomiary potencjału zeta i wielkości nanocząstek. Dodatkowo został również określony w pracy ich potencjał antybakteryjny, a także zbadano ich cytotoksyczność wobec dwóch linii komórkowych. Opisany i zaproponowany został również mechanizm biologicznego wiązania jonów cynku do białek oraz formowania się nanokompozytów tlenku cynku. Dużym atutem prowadzonych badań jest wykorzystanie metod obliczeniowych opartych o metodę funkcjonału gęstości DFT oraz dynamiki molekularnej.

Rozdział zatytułowany *Problem badawczy* jest bardzo dobrym syntetycznym zbiorem i omówieniem najważniejszych wyników prac [P1-P6]. Układ i sposób przedstawienia wyników badań przez mgr Annę Król-Górniak został bardzo dobrze przemyślany. Pozycja [P1] jest pracą o charakterze przeglądowym. W publikacji tej zostały zawarte informacje nt. otrzymywania i zastosowania nanokompozytów ZnO. Tego typu pozycja powinna być w dorobku publikacyjnym każdego doktoranta, ponieważ stanowi przegląd wiedzy dotyczącej stopnia zaawansowania i kierunków przeprowadzonych już badań w zgłębianej tematyce. Dokonanie przeglądu literaturowego w tematyce prowadzonych badań jest bardzo istotne przy organizacji warsztatu badawczego. Kolejne [P2-P6] to już prace oryginalne będące konsekwencją przeprowadzonych przez doktorantkę badań. I tak, w [P2] wykorzystano komórki szczepu probiotycznego *Lactobacillus paracasei* LB3 oraz prekursora do syntezy nanokompozytu ZnO. Jest to przykład wewnątrzkomórkowej biosyntezy mikrobiologicznej. Dla odmiany zewnątrzkomórkowa biosynteza wspomnianego nanokompozytu przeprowadzona



została przy użyciu supernatantu po hodowli szczepu probiotycznego *Lactobacillus paracasei* LC20 wyizolowanego z serwatki – odpad w produkcji sera [P3,P5]. Na uwagę zasługuje również fakt, że ta, nigdzie wcześniej nie opisana procedura, została zgłoszona do Urzędu Patentowego RP. W pracy [P3] zaproponowano, na podstawie przeprowadzonych badań eksperymentalnych i obliczeń MD oraz DFT, mechanizm agregacji *Lactobacillus paracasei* LPC20 pod wpływem różnych rodzajów metali dwuwartościowych (Zn^{2+} , Cu^{2+} i Mg^{2+}). Lucerna siewna (*Medicago sativa*) została również wykorzystana do produkcji nanokompozytu ZnO jako nowa, ekologiczna i nieopisana dotąd metoda [P4]. Wysoka zawartość aminokwasów, minerałów, witamin i metabolitów wtórnych czyni lucernę dobrym źródłem związków biologicznie aktywnych, niezbędnych przy biosyntezie nanokompozytów ZnO. W ostatniej pracy z cyklu [P6] wykorzystano do syntezy nano-ZnO białko jaja kurzego – owoalbuminę. Otrzymane w toku realizacji tej pracy doktorskiej związki wykazują również potencjał farmaceutyczny zarówno antybakteryjny jak i w kierunku badań nowotworowych. Lektura części wynikowej pracy i dołączonych do niej publikacji nasunęła kilka pytań i sugestii. Czy zastanawiano się co może być powodem stosunkowo dużego błędu rozmiaru otrzymanych z równania Scherrera nanokompleksów – $41,21 \pm 12,42$ nm [P6]? Czy do obliczenia całkowitej energii tworzenia połączeń uzyskanych z obliczeń DFT zawarto błąd superpozycji bazy (np. [P3, P6])? Czy próbowano oszacować teoretycznie (DFT) etapy proponowanego na Rysunku 3c [P6] mechanizmu tworzenia nano-ZnO? Wyznaczenie profilu energetycznego reakcji byłoby bardzo ciekawym uzupełnieniem eksperymentu.

Autorka dołożyła dużej staranności w powstanie tej pracy. Czyta się ją bardzo dobrze. Jednak, jak to zwykle bywa, nie uniknęła pewnych błędów o charakterze edytorskim, które nie mają wpływu na merytoryczną wartość pracy. Wymienię tylko kilka. Brakuje konsekwencji w zapisie wartości pH. Na stronach 9., 10. jest odpowiednio „pH=8”, „pH=10” by na stronie 12. w tej samej linii napisać „pH 7-9” i „pH=9”, a na 13 „pH 4-7”. Na stronie 13.,



odpowiednio 5 i 3 linie od dołu, należałoby napisać bardziej precyzyjnie, że połączenie następuje do łańcucha bocznego reszty aminokwasowej. Na stronie 19 autorka odniosła się do pracy [P5]. Praca o tym tytule została oznaczona jako [P6] w spisie dysertacji. Te i kilka „literówek” nie wpływają na moją wysoką ocenę pracy.

Sumaryczny dorobek naukowy mgr Anny Król-Górniak jest bardzo imponujący. Wynosi on 14 artykułów naukowych w czasopismach o znaczącym współczynniku wpływu, w tym jednego w recenzji w dniu złożenia pracy oraz dwóch rozdziałów w monografiach, 14 wystąpień podczas konferencji naukowych w kraju i zagranicą, w tym 8 w formie ustnej. Dodatkowo mgr A. Król-Górniak jest współautorką dwóch krajowych zgłoszeń patentowych. Ponadto, przedstawione do oceny wyniki badań zostały sfinansowane z dwóch grantów przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programów ETIUDA 7, którego kierowniczką była mgr A. Król-Górniak i OPUS 14 (wykonawczyni) oraz przyznanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w programie BIOSTRATEG2 (wykonawczyni). Kierowniczą rolę w dwóch ostatnich projektach pełnił promotor rozprawy prof. dr hab. Bogusław Buszewski. Dodatkowo, uzyskane wyniki w toku realizacji pracy doktorskiej były finansowane z pozyskanych przez kandydatkę funduszy w ramach dwóch Grantów Młodych ze środków Wydziału Chemii UMK. Oprócz wyżej wymienionych już projektów pani mgr A. Król-Górniak była wykonawczynią w trzech grantach NCN (OPUS, 2 razy PRELUDIUM) oraz mikrograntu INCOOP finansowanego przez Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości. Kandydatka do stopnia doktora w przeszłości odbyła krótkoterminowy staż w Uniwersytecie Masaryka w Brnie (Czechy – 2 miesiące, 2018 rok). Obecnie przebywa ona na stażu (od 01.07. do 1.10.2021 roku) w Centrum Helmholtza w Monachium (Niemcy). W latach 2017 i 2019 roku była członkinią nagrodzonego przez Rektora UMK zespołu badawczego. Jej trzy wystąpienia konferencyjne zyskały uznanie i zostały nagrodzone. Ponadto, w ramach programu PROM mgr A. Król-Górniak otrzymała finansowanie zagranicznej



konferencji naukowej (2019 r.) oraz trzytygodniowego udziału w zagranicznym stażu. Dwukrotne prowadzenie warsztatów w ramach Toruńskiego Festiwalu Nauki i Sztuki w 2018 i 2019 roku oraz udział w organizacji konferencji naukowej w Przysieku w 2018 roku wydają się być naturalną konsekwencją ponadprzeciętnej aktywności naukowej i organizacyjnej mgr A. Król-Górniak.

Tematyka, której podjęła się w swojej pracy mgr Anny Król-Górniak, jest bardzo aktualna. W pracy zostało zacytowanych 87 pozycji literaturowych, z czego tylko pięć pochodzi z lat 90-tych poprzedniego stulecia, a zdecydowana większość pozycji nie jest starsza niż 5 lat. Podsumowanie jest zebraniem najważniejszych wniosków z przeprowadzonych badań oraz możliwościami dalszego ich wykorzystania.

Przedłożona mi do oceny rozprawa stanowi oryginalne rozwiązane postawionego problemu i spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Anny Król-Górniak do dalszych etapów postępowania o nadanie jej stopnia doktora nauk chemicznych w dyscyplinie chemia. Ze względu na wysoki poziom oraz ponadprzeciętny dorobek naukowy, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Anny Król-Górniak. Uzasadnienie mojego wniosku stanowi odrębny dokument.

KIEROWNIK
Katedra Chemii Bionieorganicznej

prof. dr hab. Mariusz Makowski