

Warszawa, 06.07.2020 r.

Prof. dr hab. inż. Jerzy Choma
Instytut Chemii
Wydział Nowych Technologii i Chemii
Wojskowa Akademia Techniczna
ul. gen. S. Kaliskiego 2
00-908 Warszawa
e-mail: jerzy.choma@wat.edu.pl

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Marii ROGOWSKIEJ

**pt. „Badanie zdolności oraz mechanizmów sorpcji układów biokoloidalnych” wykonanej
w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitik Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja
Kopernika w Toruniu.**

Podstawą recenzji rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Marii Rogowskiej było pismo Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu Pana prof. dr hab. Edwarda Szłyka z dnia 26 czerwca 2020 r. z prośbą o przyjęcie przeze mnie funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej.

Pojęcie biokoloid jest pochodną pojęcia koloid. Zgodnie z Encyklopedią PWN nazwę koloid wprowadził w 1861 r. szkocki naukowiec Thomas Graham, który przyjął, że ciała stałe dzielą się na krystaloidy, czyli ciała stałe krystaliczne tworzące po rozpuszczeniu roztwory jednorodne, dyfundujące przez błony półprzepuszczalne i koloidy – w stanie stałym ciała bezpostaciowe, po rozpuszczeniu tworzące roztwory, w których substancja rozpuszczona nie dyfunduje przez błony półprzepuszczalne. Obecnie wiemy, że koloidy można otrzymać także z substancji krystalicznych. Koloidy więc są definiowane jako układy dyspersyjne, składające się z fazy rozpraszającej i fazy rozproszonej. Zazwyczaj pojęcie koloid definiuje się mając na uwadze wielkość cząstek fazy rozproszonej najczęściej od 1 do 200 nm. Biokoloidy są to natomiast submikronowe i mikronowe cząsteczki/cząstki/układy, które klasyfikujemy na dwie główne kategorie. Pierwsza z nich obejmuje naturalną materię organiczną, do której zaliczane są np. białka, węglowodany, DNA czy lipidy. Natomiast drugą kategorię stanowią żywe organizmy takie jak: bakterie, wirusy, drożdże, algi i pierwotniaki. Biokoloidy najczęściej charakteryzują

się heterogeniczną powierzchnią, w tym heterogenicznym rozkładem ładunków powierzchniowych. Stanowią one układ pośredni pomiędzy roztworem rzeczywistym a zawiesiną. Z punktu widzenia oddziaływania z fazą rozpraszającą biokoloidy dzielimy na liofilowe i liofobowe. Okazuje się, że ze względu na właściwości sorpcyjne biokoloidy odgrywają coraz większą rolę w medycynie, przemyśle spożywczym, diagnostyce laboratoryjnej, jak również w wielu innych aspektach działalności i życia człowieka. Dlatego w licznych laboratoriach na świecie prowadzone są szczegółowe badania zmierzające do wyjaśnienia mechanizmów procesów sorpcji najróżniejszych substancji z udziałem biokoloidów.

W ten nurt bardzo aktualnych i niemniej trudnych badań wpisuje się też przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Rogowskiej. Praca została wykonana w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalityki Wydziału Chemii UMK w Toruniu. Promotorem pracy jest Pan prof. zw. dr hab., dr h.c. Bogusław Buszewski, członek korespondent PAN.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi jeszcze ciągle rzadko spotykane opracowanie, gdyż w treść rozprawy Doktorantka włączyła artykuły naukowe, których jest współautorem. Rozprawa liczy sobie 235 stronic, jest więc opracowaniem bardzo obszernym. Zawiera ona: Wykaz skrótów, Wprowadzenie, Problem badawczy, na który składają się: biokoloidy, proces biosorpcji, identyfikacja mikroorganizmów, badanie mechanizmów biosorpcji związków niskocząsteczkowych przez komórki mikroorganizmów, badanie mechanizmów biosorpcji związków niskocząsteczkowych na powierzchni biologicznie syntezowanych nanocząstek srebra, Bibliografię, Cele badawcze pracy, Publikacje naukowe:

- D1. **A. Rogowska**, P. Pomastowski, M. Złoch, V. Railean-Plugaru, A. Król, K. Rafińska, M. Szultka-Młyńska, B. Buszewski, The influence of different pH on the electrophoretic behavior of *Saccharomyces cerevisiae* modified by calcium ions, *Scientific Reports*, 2018, 8:7261, Impact Factor (IF) = 4,609, Punkty MNiSW (PM) = 100.
- D2. B. Buszewski, **A. Rogowska**, V. Railean-Plugaru, M. Złoch, J. Walczak-Skierska, P. Pomastowski, The influence of different form of silver on selected pathogenic bacteria, *Materials*, 2020, 13(10), 2403, IF = 2,972, PM = 100.
- D3. **A. Rogowska**, K. Rafińska, P. Pomastowski, J. Walczak, V. Railean-Plugaru, M. Buszewska-Forajta, B. Buszewski, Silver nanoparticles functionalized with ampicillin, *Electrophoresis*, 2017, 8(21), 2757, IF = 2,754, PM = 70.
- D4. M. Złoch, **A. Rogowska**, P. Pomastowski, V. Railean-Plugaru, J. Walczak-Skierska, J. Rudnicka, B. Buszewski, Use of *Lactobacillus paracasei* strain for zearalenone binding and metabolism, *Toxicon*, 2020, 181, 9, IF = 2,611, PM = 100.

- D5. **A. Rogowska**, P. Pomastowski, K. Rafińska, V. Railean-Plugaru, M. Złoch, J. Walczak, B. Buszewski, A study of zearalenone biosorption and metabolism by prokaryotic and eukaryotic cells, *Toxicon*, 2019, 169, 81, IF = 2,611, PM = 100.
- D6. **A. Rogowska**, P. Pomastowski, J. Walczak, V. Railean-Plugaru, J. Rudnicka, B. Buszewski, Investigation of zearalenone adsorption and biotransformation by microorganisms cultured under cellular stress conditions, *Toxins*, 2019, 11, 463, IF = 3,895, PM = 100.
- D7. B. Buszewski, **A. Rogowska**, P. Pomastowski, M. Złoch, V. Railean-Plugaru, Identification of microorganisms by modern analytical techniques, *Journal of AOAC International*, 2017, 100(6), 1607, IF = 1,102, PM = 40.
- D8. **A. Rogowska**, P. Pomastowski, G. Sagandykova, B. Buszewski, Zearalenone and its metabolites: Effect on human health, metabolism and neutralisation methods, *Toxicon*, 2019, 162, 45, IF = 2,611, PM = 100.

Dalej Podsumowanie i wnioski, Streszczenie, Abstract, Dorobek naukowy, a w nim publikacje naukowe, konferencje naukowe, granty, staże, nagrody i osiągnięcia, udział w innych projektach oraz towarzystwach naukowych, następnie są Oświadczenia współautorów publikacji.

Oryginalność tej rozprawy doktorskiej polega na tym, że jest ona przygotowana w oparciu o osiem artykułów naukowych opublikowanych w specjalistycznych czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR). Są to bardzo dobre i dobre czasopisma naukowe. Z oświadczeń współautorów tych publikacji jednoznacznie wynika, że Doktorantka miała decydujący udział w ich powstaniu. Najczęściej udział ten polegał na dyskusji ogólnej koncepcji pracy, zaplanowania i realizacji doświadczeń, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptów. Nie mam więc najmniejszych wątpliwości, że Doktorantka mogła włączyć te artykuły do rozprawy doktorskiej.

Najważniejszym celem prezentowanej rozprawy doktorskiej było określenie wpływu powierzchniowego ładunku elektrycznego oraz sorpcji kationów metali i związków niskocząsteczkowych na właściwości fizykochemiczne wybranych biokoloidów. Celem było również wyjaśnienie mechanizmów procesów sorpcji analitów przebiegających na powierzchni biokoloidów takich jak komórki mikroorganizmów i biologicznie otrzymane nanocząstki srebra.

Zdaniem recenzenta cele te zostały w pełni zrealizowane w wyniku wykonania takich badań jak:

- 1) Izolacja i identyfikacja mikroorganizmów z produktów spożywczych.

- 2) Fizykochemiczna charakteryzacja właściwości powierzchniowych wybranych biokolloidów.
- 3) Wybór i ocena przydatności modeli kinetycznych takich jak: zerowego rzędu (ang. Zero-Order, ZO), pseudo-pierwszego rzędu (ang. Pseudo-First-Order, PFO), pseudo-drugiego rzędu (ang. Pseudo-Second-Order, PSO) oraz model wewnątrz-cząsteczkowej dyfuzji Webera-Morrisa.
- 4) Określenie warunków badania procesów sorpcyjnych dla wytypowanych biokolloidów.
- 5) Zbadanie wpływu pH środowiska na efektywność wiązania analitu oraz stabilność biokolloidów.
- 6) Zastosowanie w badaniach fizykochemicznych bardzo licznych i nowoczesnych technik instrumentalnych takich jak: spektrometria mas z laserową jonizacją/desorpcją próbki wspomagana matrycą z tandemowym analizatorem czasu przelotu, wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrem mas, spektrometria mas z plazmą wzbudzaną indukcyjnie, chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas, spektroskopia w zakresie podczerwieni z transformacją Fouriera, strefowa elektroforeza kapilarna, mikroskopia fluorescencyjna, cytometria przepływowa, mikrobiologiczne metody posiewowe.
- 7) Wykorzystanie wymienionych metod do identyfikacji, interpretacji i opisu mechanizmów procesów biosorpcji, a także do porównania natury mechanizmów sorpcyjnych przebiegających na powierzchni badanych biokolloidów.
- 8) Zastosowanie spektrometrii mas z laserową jonizacją wspomaganą matrycą z analizatorem czasu przelotu (MALDI-TOF MS) do analizy metabolizmu mikroorganizmów w efekcie procesu biosorpcji.
- 9) Propozycja wykorzystania zjawisk sorpcyjnych przebiegających na powierzchni biokolloidów do detoksykacji oraz otrzymywania układów o właściwościach antyseptycznych.

Moim zdaniem do najważniejszych, oryginalnych osiągnięć Doktorantki zliczyć należy:

- 1) Wykazanie, że agregacja komórek drożdży pod wpływem kationów wapnia związana jest z tworzeniem się mostków kationowych przy udziale tych kationów pomiędzy zdeprotonowanymi grupami karboksylowymi obecnymi na powierzchni tych komórek.
- 2) Udowodnienie, że opracowana metoda przygotowania i zateżniania materiału mikrobiologicznego może być stosowana do identyfikacji dzikich szczepów mikroorganizmów w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej.

- 3) Potwierdzenie dużego potencjału neutralizacji mykotoksyn przez komórki probiotycznych mikroorganizmów wyizolowanych z produktów spożywczych. Takie wnioski wyciągnięto badając biosorpcję zearalenonu.
- 4) Wykazanie, że hodowla drobnoustrojów w obecności nanocząstek srebra wywołuje trwałe zmiany w molekularnych profilach białkowych.
- 5) Wykazanie, że mechanizm sorpcji antybiotyków na powierzchniach biologicznie otrzymanych nanocząstek srebra jest procesem zależnym od rodzaju antybiotyku oraz zastosowanych nanocząstek. Ponadto udowodniono, na podstawie pomiarów potencjału zeta, że adsorpcja antybiotyku na powierzchni nanocząstek srebra nie wpływa negatywnie na ich stabilność.
- 6) Udowodnienie, że obserwowane zmiany w profilach białkowych i lipidowych bakterii, na które oddziaływano różnymi rodzajami bionanocząstek, wskazują zarówno na aktywację mechanizmów obronnych bakterii jak i na występowanie licznych uszkodzeń tych komórek.

Jak w większości recenzowanych prac doktorskich, także i w tej można doszukać się pewnych niewielkich uchybień i nieścisłości. Zadaniem recenzenta jest je znaleźć, przedstawić Doktorantce i oczekiwać wyjaśnień.

- 1) W rozprawie nie znalazłem opisu poświęconego ciepłu biosorpcji np. zearalenanu. Proszę o wypowiedź w tej sprawie podczas publicznej obrony.
- 2) Mam zastrzeżenia do niektórych sformułowań i błędów:
 Np. na str. 10 zamiast zastosowanie jonów metali, precyzyjniej byłoby użyć zastosowanie kationów metali
 Str. 11 zamiast oraz opisu badanych zjawisk sorpcyjnych wykorzystane zostało złożone podejście, lepiej oraz opisu badanych zjawisk sorpcyjnych wykorzystano złożone podejście
 Str. 12 zamiast na ośmiu publikacja naukowych opublikowanych, lepiej na ośmiu artykułach naukowych opublikowanych
 Str. 13 jest natomiast drugie odpychają ośrodek dyspersyjny. Czy biokoloid może odpychać ośrodek?
 Str. 14 zamiast: W komórkach drożdży strukturę tą budują Moim zdaniem powinno być: W komórkach drożdży strukturę tę budują
 Podobnie na str. 15 jest: Komponenty budujące tą warstwę, winno być: Komponenty budujące tę warstwę

Str. 14/15 jest: Zrozumienie mechanizmu za pomocą, którego biokoloidy prowadzą sorpcję metali. Mamy tu do czynienia z nieuzasadnioną personifikacją biokoloidów.

Str. 19 jest: w badaniach nad sorpcją Pb^{2+} , lepiej: w badaniach sorpcji Pb^{2+}

Podobnie na str. 19 jest: badania nad złożonymi mechanizmami biosorpcji, lepiej: badania złożonych mechanizmów biosorpcji

Str. 24 jest: Brunauer, Emmet i Teller, winno być: Brunauer, Emmett i Teller

Str. 30 jest: duch etapów, winno być: dwóch etapów

Oczywiście ranga tych uchybień nie jest jakaś szczególnie znacząca.

Na zakończenie tej recenzji chciałbym zwrócić uwagę na dorobek publikacyjny Doktorantki. Łącznie w latach 2016-2020 opublikowała ona 10 artykułów w czasopismach znajdujących się w bazie JCR oraz wzięła udział w 14 konferencjach naukowych prezentując komunikaty ustne oraz postery. Ponadto była kierownikiem lub wykonawcą aż 7 grantów, a wśród nich projektu ETIUDA z Narodowego Centrum Nauki pt. „Badania zdolności oraz mechanizmów sorpcyjnych układów biokoloidalnych” (01.10.2019 r. – 30.09.2020 r.). Projekt ten, jak wynika to choćby z jego tytułu, istotnie wpłynął na efekty badań opisanych w rozprawie doktorskiej. Doktorantka za efekty swojej pracy naukowej została wyróżniona łącznie 7 nagrodami, niektórymi bardzo prestiżowymi, np. była finalistką konkursu „Złoty Medal Chemii 2018” organizowanego pod patronatem Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że w świetle obowiązujących przepisów (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*) przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr **Agnieszki Marii ROGOWSKIEJ** do dalszych etapów postępowania celem nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Jednocześnie biorąc pod uwagę bardzo dobrą rozprawę doktorską i bardzo znaczący dorobek publikacyjny wnioskuję o wyróżnienie tej rozprawy.

