



Gdańsk, 2018-05-29

Recenzja

rozprawy doktorskiej autorstwa mgr VIORICI RAILEAN-PLUGARU zatytułowanej

„The biosilver nanocomposites as a safe antimicrobial agent”

Nanotechnologia jest szybko rozwijającą się dziedziną współczesnych badań, szczególnie atrakcyjną i pozwalającą na znalezienie innowacyjnych rozwiązań w obszarach takich jak biomedycyna, czy nowoczesne nośniki leków. Jednym z takich konceptów jest wykorzystanie znanych właściwości przeciwbakteryjnych jonów oraz metali srebra pochodzących z biologicznych materiałów jak rośliny, algi, grzyby i bakterie. Stało się to przedmiotem licznych badań jak również źródłem do poszukiwania i syntezy nowych biomateriałów opartych na nanocząstkach srebra.

Oceniana praca doktorska mgr Viorici Railean-Plugaru wykonana pod kierunkiem wybitnego Naukowca o międzynarodowym uznaniu prof. dr hab. Bogusława Buszewskiego, w Centrum Metod Separacyjnych i Bioanalitycznych „BioSep” Interdyscyplinarnego Centrum Nowoczesnych Technologii oraz w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalityki, Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu jest bardzo dobrym i cennym przykładem kompleksowego podejścia do badań złożonych procesów biologicznych.

Przedstawiona praca jest podsumowaniem badań Autorki nad otrzymywaniem i charakteryzowaniem właściwości fizykochemicznych oraz aktywności przeciwbakteryjnej nowych nanocząstek srebra syntezowanych przez różne szczepy bakterii. Wyniki badań Doktorantki opublikowane zostały w serii sześciu artykułów, z czego pięć w renomowanych czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR) takich jak: *Electrophoresis* (IF = 2,482), *Applied Microbiology and Biotechnology* (IF = 3,402), *Journal of Applied Microbiology* (IF = 2,156), *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* (IF = 2,955) i *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (IF = 3,431) w okresie od 2014 do 2018 roku. Jedna praca ma charakter pracy przeglądowej i została opublikowana w czasopiśmie *Analityka*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (*impact factor*, IF) wszystkich publikacji zgłaszanych jako praca doktorska to ponad 14. Uzyskane wyniki badań zawarte w pracy doktorskiej były także prezentowane na licznych krajowych i międzynarodowych sympozjach specjalistycznych. Dysertacja potwierdza bardzo wysoką wiedzę i umiejętności kandydatki do stopnia naukowego doktora nauk chemicznych.

Jednocześnie, warto odnotować, że całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki to w sumie 14 prac, których sumaryczny współczynnik oddziaływania IF wynosi 36. Mgr Viorici Railean-Plugaru jest także współautorką rozdziału w książce anglojęzycznej *Capillary Electrophoresis*, oraz współautorką jednego krajowego zgłoszenia patentowego.

Rozprawa doktorska mgr mgr Viorici Railean-Plugaru jest napisana w języku angielskim i obejmuje ok. 20 stron przedstawiających w rozszerzonej wersji wstęp, cel pracy jak również problemy badawcze, które w swoich badaniach Autorka starała się podjąć. Podstawowym celem pracy było opracowanie nowych, przyjaznych środowisku, łatwo dostępnych i tanich materiałów kompozytowych jako źródła do syntezy bionanokompleksów srebra wraz z ich fizykochemiczną charakterystyką. Osiągnięcie powyższego celu zostało warunkowane przez zrealizowanie trzynastu zadań począwszy od syntezy bionanokompleksów srebra z zastosowaniem takich szczepów bakterii jak m.in.

Lactococcus lactis, przez ich oczyszczanie i zateżanie aż po badania aktywności przeciwbakteryjnej oraz cytotoksyczności. Do zrealizowania powyższych zadań posłużył zestaw technik instrumentalnych jak spektroskopia fourierowska (*Fourier-transformed infrared spectroscopy*, FTIR), technika dynamicznego rozpraszania światła (*Dynamic Light Scattering*, DLS) czy technika cytometrii przepływowej, liczne metody mikroskopowe jak m.in. skaningowa mikroskopia elektronowa (*Scanning electron microscopy*, SEM), techniki spektrometrii jak MALDI TOF-TOF MS czy ICP-MS oraz technika frakcjonowania przepływowego w polu sił (*Flow-field fractionation*, FFF) sprzężona z detekcją typu wielokątowego lub dynamicznego rozpraszania światła (*Multi-angle Light Scattering* oraz *Dynamic Light Scattering*). Do badania potencjału aplikacyjnego otrzymanych nanocząstek srebra wykorzystano cytometrię przepływową, mikroskopię fluorescencyjną oraz metody posiewowe. Uzyskane wyniki wykazały zależność pomiędzy potencjałem aplikacyjnym a opornością bakterii i toksycznością nanocząstek zależną od ich rozmiaru. Może stanowić to punkt wyjścia do dalszych prac mających na celu wdrożenie nowych kompozytów srebrowych w leczeniu infekcji skórnych czy laryngologicznych.

Pracę doktorską poza wymienionym opisem oraz załączonym zestawem sześciu opublikowanych artykułów uzupełnia podsumowanie wraz z wnioskami końcowymi, piśmiennictwo, oraz streszczenia w języku angielskim i polskim. Do rozprawy dołączone zostały, w postaci osobnego rozdziału, pozostałe osiągnięcia naukowe Doktorantki, w tym inne niż zgłoszone w rozprawie publikacje naukowe, wymieniony został udział w konferencjach naukowych, osiągnięte stypendia oraz zaangażowanie w realizację projektów naukowo-badawczych. Jest to bardzo cenne i przydatne, aby wszelkie informacje o osiągnięciach i działalności naukowej, która ma wpływ na ocenę Kandydatki do stopnie doktora były zebrane w jednym i tym samym opracowaniu jakim jest rozprawa. Rozprawę kończy zestaw oświadczeń dotyczących udziału merytorycznego i wykonawczego Doktorantki w przedstawionych pracach wraz z oświadczeniami pozostałych współautorów. Z treści

dostarczonych oświadczeń wynika niezbicie, że udział p. mgr Viorici Railean-Plugaru w przeprowadzonych badaniach jest znaczący i obejmuje praktycznie wszystkie etapy pracy eksperymentalnej, interpretacje uzyskanych wyników oraz pisanie manuskryptów publikacji.

Do niewątpliwych osiągnięć Doktorantki opisanych w rozprawie oraz w załączonych publikacjach stanowiących podstawę rozprawy należą:

- działanie przeciwbakteryjne kompleksu BioAgNPs syntezowanego ze szczepów *Actinomyces* CGG11n scharakteryzowane za pomocą techniki cytometrii przepływowej (publikacja D2);

- zastosowanie szczepów *Lactococcus lactis* 56KY484989 do otrzymania nanocząstek srebra o właściwościach przeciwbakteryjnych charakteryzowanymi wartościami MIC90 na poziomie 3,125 – 12, 5 µg/mL w stosunku do szczepów bakterii patogennych (jak m.in. *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*) (publikacja D3);

- synteza bionanocząsteczek srebra ze szczepów bakterii *Streptacidiphilus* sp. CGG11n, posiadających silne działanie przeciwbakteryjne (publikacja D4);

- zastosowanie acidofilnych szczepów *Streptacidiphilus durhamensis* HGG16n do syntezy bioaktywnych nanocząstek srebra w tani, przyjazny dla środowiska i nietoksyczny sposób (publikacja D5);

- wykorzystanie techniki asymetrycznego frakcjonowania przepływowego w polu sił wraz ze sprzężonymi technikami detekcji do badania właściwości fizykochemicznych biologicznie syntezowanych nanocząstek (publikacja D6).

Rzetelność recenzji wymaga, aby poza wartościowymi i cennymi aspektami rozprawy, w które praca doktorska mgr Viorici Railean-Plugaru jest bogata, zwrócić również uwagę na ewentualne pojawiające się błędy czy słabe strony opracowania. Niezwykle trudno jest jednak znaleźć takie elementy w recenzowanej pracy. Między innymi dlatego, że wyniki badań zostały już opublikowane w wysoce renomowanych czasopismach, których rygor wydawniczy zakłada rzetelne recenzje od kilku zewnętrznych badaczy. Stąd też nie będę odnosił się do pojedynczych

wyników zamieszczonych w publikacjach a odniosę się do koncepcyjnej strony badań. Pierwsze pytanie jakie pojawia się po przeczytaniu pracy to czym kierowano się przy wyborze szczepów bakteryjnych oraz matryc biologicznych, które syntezowana i następnie analizowano pod kątem właściwości fizykochemicznych oraz aktywności przeciwbakteryjnej. Brakuje mi w rozprawie porównania i odniesienia się do zastosowanych technik instrumentalnych z ewentualnym wskazaniem zalet i wad poszczególnych z nich. Czy i jak w trakcie realizacji badań faktycznie zbadano pozytywny wpływ na dostarczanie substancji czynnej (jak określono na str. 97 'leków') wynikający z obecności depozytów organicznych znajdujących się na/w klastrach srebra?

Powyższe uwagi i pytania nie wpływają na wartość merytoryczną pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Praca doktorska Pani mgr Viorici Railean-Plugaru ma istotne walory oryginalności naukowej. Przygotowanie Doktorantki w zakresie analizy chemicznej, syntezy oraz analizy mikrobiologicznej, jak również umiejętne analiza uzyskanych wyników i wyważona ich interpretacja budzi uznanie. Jednocześnie mając na uwadze liczne publikacje wchodzące w zakres opracowania rozprawy doktorskiej, których sumaryczny IF wynosi ponad 14, jak również wiodącą rolę w ich powstawaniu wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Biorąc powyższe pod uwagę oraz fakt spełnienia wymagań ustawowych wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Viorici Railean-Plugaru do publicznej obrony tej pracy przedstawionych w dysertacji.

KIEROWNIK KATEDRY
Biofarmacji i Farmakodynamiki
prof. dr hab. Michał J. Markuszewski

