



Prof. dr hab. Hanna Mazur-Marzec
Katedra Biologii Morza i Biotechnologii
Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 2023.09.01

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Golubevej "Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis" wykonanej w Instytucie Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego

Badania nad sposobem pozyskania, modyfikacją i zastosowaniem materiału z okrzemek jako substytutu syntetycznej krzemionki podejmowane są od ponad 30 lat. Wraz z wzrastającym zapotrzebowaniem na biokrzemionkę, jako tańszego i stabilnego materiału, łatwiej poddającego się modyfikacjom mającym na celu optymalizację jego parametrów, badania te prowadzone są w coraz większej liczbie ośrodków badawczych. Temat ten był też przedmiotem rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Golubevej. Wykonała ją pod opieką prof. dr hab. Andrzeja Witkowskiego oraz dr Przemysława Dąbka z Instytutu Nauk o morzu i Środowisku w Uniwersytecie Szczecińskim.

Za nadrzędny cel rozprawy doktorskiej doktorantka przyjęła charakterystykę biokrzemionki pozyskiwanej z kilku szczepów okrzemek oraz ocenę jej przydatności jako materiału do usuwania barwników.

Na rynku dostępnych jest ok. 100 tys. syntetycznych barwników. Ze względu na ich duże zużycie (7×10^5 ton/rok) w takich sektorach jak przemysł tekstylny, spożywczy czy do produkcji wyrobów z tworzyw sztucznych, a także ze względu na dużą wytrzymałość tych związków i powolny proces degradacji, część z nich trafia do środowiska. Istnieje więc konieczność opracowania nowej, bezpiecznej dla ludzi i środowiska metody usuwania tych szkodliwych substancji. Ważnym argumentem przemawiającym za wdrożeniem biokrzemionki do procesu remediacji jest brak toksyczności tego materiału. Przedłożona do oceny praca jest więc odpowiedzią na istniejące

zapotrzebowanie na nowe, innowacyjne materiały, efektywnie wiążące zanieczyszczenia i bezpieczne dla ludzi i organizmów wodnych.

Przedstawiony do oceny cykl publikacji poprzedzony jest interesującym, starannie opracowanym wstępem, który stanowi bardzo dobre wprowadzenie do załączonych prac. Poruszone w nim zostały m.in. takie kwestie jak struktura pancerzyków krzemionkowych okrzemek, sposoby modyfikacji krzemionki oraz możliwości jej wykorzystania. W tej części pracy doktorantka zawarła aż siedem hipotez badawczych. Poprawność niektórych z tych hipotez budzi pewne wątpliwości. Np. w przypadku hipotezy 1: Na jakiej podstawie Doktorantka założyła wartość ponad 500 mg suchej masy w 1 L jako efekt zoptymalizowanej hodowli. Natomiast hipoteza 6 wydaje się czymś oczywistym, nie wymagającym weryfikacji.

Szkoda, że Doktorantka nie umieściła w pracy spisu używanych skrótów, co znacznie ułatwiłoby jej czytanie. Rysunek 12 został źle podpisany. Przedstawia dane dotyczące szczepu SZCZM1454, a nie SZCZM1342.

Na rozprawę doktorską składa się cykl trzech publikacji tematycznie ściśle ze sobą związanych. Wszystkie prace są wieloautorskie (14, 13 i 11 współautorów). Doktorantka jest pierwszą autorką w dwóch publikacjach (udział wynosił odpowiednio 65% i 70%). Udział Doktorantki w powstaniu trzeciej pracy wynosi 20%.

Pierwsza publikacja pt. "A novel effective bio-originated methylene blue absorbent: the porous biosilica from three marine diatom strains of *Nanofrustulum* spp. (Bacillariophyta)" ukazała się w czasopiśmie Scientific Reports w 2023 r. W ramach tej pracy Doktorantka określiła wpływ szeregu czynników (zasolenie, natężenie światła, temperatura, Si, N, P) na wzrost wybranych szczepów okrzemek mierzony przyrostem biomasy. Pozyskana z okrzemek krzemionka została poddana dokładnej charakterystyce z zastosowaniem szeregu metod mikroskopowych i spektroskopowych, które pozwoliły na szczegółowy opis morfologii i składu pierwiastkowego pancerzyków okrzemkowych, opis struktury porów oraz rodzaj grup funkcyjnych obecnych na powierzchni. Analizie poddawano zarówno naturalną biokrzemionkę, jak i jej zmodyfikowane formy. Był to ważny element pracy, gdyż cechy badanego materiału są czynnikiem determinującym możliwość i sposób modyfikacji oraz potencjalne jego zastosowanie. Doktorantka wykazała, że 20 mg porowatej krzemionki, w zależności od szczepu, z którego została pozyskana oraz od pH, usuwa nawet do 99,08% błękitu metylenowego. Mgr Aleksandra Golubeva nie poprzestała jedynie na udowodnieniu

skuteczności biokrzemionki pochodzenia okrzemkowego w usuwaniu błękitu metylenowego. Podjęta się również badań nad mechanizmem i kinetyką tego procesu. Ten element pracy jest szczególnie istotny dla zrozumienia badanych procesów.

Szkoda, że w pracy nie opisano dokładniej szczepy okrzemek, które zastosowano w badaniach. Chodzi o opis z zastosowaniem takich narzędzi (np. molekularnych), które pozwalałyby na badania porównawcze i stwierdzenie, na ile przedstawione cechy pancerzyków dotyczą tylko danego szczepu, a na ile są one wspólne dla gatunku.

Druga praca pt. "Removal of the Basic and Diazo Dyes from Aqueous Solutions by the Frustules of *Halamphora* cf. *salinicola* (Bacillariophyta)" (Marine Drugs 2023) ma podobny charakter. Tym razem Doktorantka skoncentrowała się na jednym szczepie okrzemki i badała efektywności procesu usuwania barwników z zastosowaniem pancerzyków tego mikroorganizmu. Również w tej pracy, celem pozyskania większej biomasy, zoptymalizowano warunki wzrostu organizmu oraz przeprowadzono szczegółową charakterystykę powierzchni pancerzyków, która uczestniczy w wiązaniu barwników. Charakterystyka ta zawierała topografię powierzchni, wielkość i strukturę porów, skład pierwiastkowy, obecność grup funkcyjnych i związany z tym ładunek na powierzchni pancerzyków. Kluczowym elementem tej pracy były badania charakteru oddziaływań między powierzchnią pancerzyków i barwnikami oraz określenie kinetyki procesu sorpcji barwników przez pancerzyki. Skuteczność okrzemkowego materiału w usuwaniu barwników, w zależności od rodzaju barwnika, była wysoka i wynosiła od 74.9% do 99.81% .

Tytuł trzecia publikacji, t.j. "Study on the Biogenic Spindle-Shaped Iron-Oxide Nanoparticles by *Pseudostaurosira trainorii* in Field of Laser Desorption/Ionization Application" (Molecular Sciences, 2022), uważam za niezbyt przystający do jej zawartości. Oczywiście badania przydatności nanocząsteczek powstałych z zastosowaniem okrzemki z rodzaju *Pseudostaurosira* jako nowego typ matrycy w spektrometrii LDI-MS były wykonywane. Jednak większość uzyskanych wyników (6,5 strony opisu wyników) dotyczy sposób syntezy IONPs (Iron-Oxide Nanoparticles), szczegółowej analizy pancerzyków okrzemki po potraktowaniu jonami Fe³⁺ oraz efektywność IONPs w usuwaniu 4-nitrofenolu. Opis wyników analizy niskocząsteczkowych związków z zastosowaniem IONPs jako matrycy w LDI-MS to pół strony, w tym rysunek przedstawiający widmo oraz tylko 3 linijki tekstu. Więcej miejsca temu zagadnieniu poświęcono w Dyskusji. Tu też znajdują się dane, które powinny być zawarte w rozdziale opisującym wyniki.

W części „Dyskusja” (publikacja 3) podana jest wartość stężenia, przy którym związki niskocząsteczkowe analizowane metodą LDI-MS z IONPS jako matrycą były wykrywalne. Wg moich obliczeń były to stężenia w przedziale 25-500 ng/mL, co trudno uznać za dużą czułość. Ponadto, nie wiadomo, co miała Doktorantka na myśli pisząc, że były to stężenia, w których związki były oznaczane. Czy była to granica wykrywalności, oznaczalności czy faktycznie jedynie stężenia, dla których wykonano pomiary.

Analizy TOF-MS prowadzono z zastosowaniem systemu pozwalającego na wyznaczenie dokładniejszej wartości m/z niż przedstawiono w pracy. Dlaczego nie skorzystano z tej możliwości. Określenie dokładnej masy pozwoliłoby na pewniejsze przypisanie wykrytych jonów konkretnym związkom. Inna uwaga dotycząca tych pomiarów: w Dyskusji stwierdzono, że wartość sygnału do szumu była wysoka. Nie podano jednak żadnej wartości. Co więc Doktorantka rozumie pod pojęciem „wysoka wartość stosunku sygnału do szumu”.

Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, na jakiej podstawie uznaje proponowaną przez siebie syntezę IONPs z udziałem okrzemek za „cost-effective”. Czy w takiej ocenie metody uwzględnione były wszystkie etapy procesu: od pozyskania biomasy do otrzymania IONPs? Czy proces ten byłby faktycznie „cost-effective” po przeskalowaniu go na potrzeby komercyjne? W wielu publikacjach na temat biokrzemionki proces jej tworzenia jest określany jako tani. Chciałabym uzyskać informację, czy realne oszacowanie kosztocłonności tego procesu zostało faktycznie przeprowadzone. Proszę też o wyjaśnienie pojęcie „external media” (zewnętrzne pożywki/środowisko?). Czy wynikiem działania IONPs była faktycznie degradacja 4-nitrofenolu, czy jego transformacja, która zmieniała właściwości spektralne związku?

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej chcę podkreślić jej dużą wartość. Wszystkie wyniki i wnioski rozprawy są bardzo dobrze udokumentowane. Cała rozprawa jest przygotowana starannie, ma wyraźnie nowatorski charakter. Poza główną częścią publikacji do pracy dołączony jest bogaty materiał uzupełniający (Supplementary material). W jednym z wniosków zamieszczonych w pracy Doktorantka wskazuje na możliwość wykorzystywania pancerzyków z okrzemek, z których wcześniej pozyskano w celach komercyjnych np. barwniki, kwasy tłuszczowe czy inne związki. Takie podejście jest zgodne z zasadą „zero odpadów” (discardless) promowaną m.in. w akwakulturze.

Poza rozprawą doktorską, Pani Aleksandra Golubeva jest współautorką dwóch innych publikacji. Wyniki swojej pracy reprezentowała na konferencjach międzynarodowych w formie sześciu referatów oraz siedmiu prezentacji posterowych. W siedmiu innych wystąpieniach konferencyjnych była współautorem, co zostało określone jako bierne uczestnictwo w konferencji. Była też wykonawcą w dwóch projektach międzynarodowych i uczestniczyła w dwóch szkołach letnich.

Całość przedstawionych materiałów wskazuje na dużą aktywność mgr Aleksandry Golubev jako młodego naukowca. Zadaniem recenzenta jest krytyczna ocena różnych aspektów pracy i wskazanie na jej wartość. Wymienione przeze mnie uwagi krytyczne odnoszą się do kwestii o mniejszym znaczeniu. Natomiast wartość merytoryczną całej rozprawy doktorskiej oceniam wysoko. Na szczególne podkreślenie zasługuje duża wnikliwość w prowadzonych badaniach, szczegółowa dokumentacja wyników i ich interpretacja oraz staranne opracowanie rozprawy doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa Pani mgr Aleksandry Golubevej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-3 z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Dlatego wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego o dopuszczenie mgr Aleksandry Golubevej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk o Ziemi i środowisku. Wnioskuję również o wyróżnienie rozprawy.

Hanna Mazur-Marzec



Gdańsk, 01-09-2023

Prof. dr hab. Hanna Mazur-Marzec
Katedra Biologii Morza i Biotechnologii
Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 2023.09.01

Dr hab. Inż. Przemysław Śmietana, prof. US
Przewodniczący Rady Naukowej
Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku
Uniwersytet Szczeciński

Szanowny Panie Przewodniczący,

W załączniku przesyłam recenzję rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Golubevei, która została wykonana w Instytucie Nauk o Morzu i Środowisku pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Witkowskiego.

Z poważaniem,

