

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

Gdańsk, 12.06.2023



## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Weroniki Brzozowskiej pt. „Outsourcing” okrzemek w syntezie 3D ustrukturyzowanej biokrzemionki funkcjonalizowanej nanocząsteczkami metali (Ti, V, Nd, Ag)” wykonanej w Instytucie Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego

Okrzemki są jednym z podstawowych komponentów ekosystemów wodnych. Stanowią ważne źródło materii organicznej i tlenu, należą do organizmów wskaźnikowych, wykorzystywanych zarówno w ocenie stanu środowiska jak i w badaniach paleoekologicznych. Cechą charakterystyczną tych organizmów jest krzemionkowy pancerzyk, który dzięki swoim właściwości znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle i w produkcji innowacyjnych materiałów. Temu ostatniemu aspektowi okrzemek poświęcona jest rozprawa doktorska Pani mgr Weroniki Brzozowskiej wykonana pod opieką dr hab. Myroslava Sprynskiego, prof. UMK oraz dr Przemysława Dąbka. Głównym celem rozprawy było otrzymanie, na bazie okrzemek i ich pancerzyków, nowych kompozytów o właściwościach zwiększających ich aplikacyjny potencjał.

Temat podjęty przez Doktorantkę jest istotny i wpisuje się w dynamicznie rozwijające się technologie oparte na nanomateriałach, zwłaszcza tych, w których wykorzystywane są organizmy lub ich komponenty. Badania zainspirowane były specyficznymi właściwościami pancerzyków okrzemek, o trójwymiarowej strukturze, z regularnym układem porów. Cenną cechą tych pancerzyków jest możliwość metabolicznego domieszkania pancerzyków określonymi pierwiastkami chemicznymi. Nadaje to biokrzemionce pożądane właściwości fizyko-chemiczne, w zależności od przeznaczenia.

Praca ma nietypową strukturę. Po 2,5-stronicowym wstępie jest obszerny (63-stronicowy) rozdział zatytułowany "Część literaturowa". Kolejny rozdział to „Cel pracy”, w którym zawarto hipotezy i krótki opis zadań badawczych. Rozdział zatytułowany „Część eksperymentalna” zawiera zarówno opis organizmu, opis przeprowadzonych doświadczeń i stosowanych metod, a także opis uzyskanych wyników. Zasadnicza część pracy kończy się rozdziałem „Podsumowanie i Wnioski”. O ile można zrozumieć przyczynę połączenia wszystkich elementów dotyczących wykonania eksperymentu (a zatem i wyniki) w jedną całość, to jednak brak wyodrębnionego rozdziału poświęconego na dyskusję wyników uważam za ujemną stroną rozprawy. Elementy dyskusji można znaleźć właściwie we wszystkich wymienionych rozdziałach, co jednak nie pomaga w ocenie oryginalności uzyskanych wyników, ich znaczenia na tle innych prac oraz celowości przeprowadzonych badań.

W pracy Doktorantka wykorzystwała hodowle okrzemki z gatunku *Pseudostaurosira traunorii* (brak informacji, jaki to był szczep) do metabolicznego domieszkania krzemionki tytanem, wanadem i neodymem. W przypadku srebra zastosowała metodę impregnacji biokrzemionki srebrem. Jednym z elementów nowości pracy było zastosowanie tetrbutanolanu tytanu jako źródła Ti. Przed właściwym doświadczeniem zoptymalizowane zostały takie parametry jak wartość pH, stężenie Ti oraz stosunek Ti/Si. Zbadano także kinetykę pobierania przez komórki składników podłoża hodowlanego (krzemiany, azotany, fosforany i Ti). W każdym razie na to wskazuje tytuł podrozdziału 4.5.3 oraz rysunek 18 z opisem „Kinetyka pobierania składników ... przez *Pseudostaurosira traunorii* z medium hodowlanego”. Jednak zarówno z tekstu tego rozdziału jak i rysunku 18 wynika, że w rzeczywistości mierzono zużycie składników podłoża, a nie pobieranie przez komórkę. Oczywiście zmiana zawartości określonych składników w pożywce wynikała głównie z ich pobierania przez komórki. Przy czym Doktorantka dostrzega tu również możliwość wpływu innych procesów. Rozważa je w przypadku azotanów, które do końca trwania eksperymentu nie zostały wyczerpane („wydaliny mikroalg?”, jako dodatkowe źródło azotanów). Jednym z możliwych wyjaśnień, którego Doktorantka nie uwzględniła w interpretacji stężenia azotanów, to ich nadmiar w składzie pożywki. Szkoda, że zmiany przedstawione na rysunku 18 nie zestawiono z krzywą wzrostu hodowli *Pseudostaurosira traunorii*.

Stosując zoptymalizowane warunki procesu inkorporacji Ti do struktury pancerzyka okrzemek, Doktorantka przeprowadziła właściwe doświadczenia uzyskując trzy typy kompozytów. Była to

biomasa okrzemek i biokrzemionki domieszkowane nanocząsteczkami Ti, które prawdopodobnie były częściowo wbudowane w strukturę pancerzyka okrzemkowego, bez widocznej zmiany tej struktury. Drugi rodzaj otrzymanego produktu to hybrydowy kompozyt pirolizowanej biomasy okrzemek domieszkowanej nanocząsteczkami  $\text{TiO}_2$  i pokryty epitaksjalną warstwą nanocząsteczek Ag ( $\text{Ag/TiO}_2$ ). Kompozyt ten otrzymano w złożonym procesie polegającym na metabolicznym domieszkowaniu tytanem oraz włączenia Ag w strukturę pirolizowanej biomasy okrzemek na drodze reakcji chemicznej, działając azotanem srebra ( $\text{AgNO}_3$ ) oraz nadtlakiem wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Trzeci z otrzymanych kompozytów to pirolizowana biomasa okrzemek domieszkowana nanocząsteczkami wanadanu neodymu ( $\text{NdVO}_4$ ). Również w tym przypadku zastosowano metaboliczne domieszkowanie neodymem ( $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3$ ) i wanadem ( $\text{VCl}_3$ ).

Dla tych kompozytów przeprowadzono szereg analiz pozwalających na szczegółową charakterystykę struktury, składu, właściwości fizyko-chemicznych (np. stabilności termicznej) oraz aktywności antybakteryjnej. Doktorantka wykonała imponującą ilość badań i w moim przekonaniu część opisująca je stanowi najcenniejszy element pracy. Wykonanie tych analiz wymagało szerokiej wiedzy i doświadczenia z zakresu między innymi takich technik jak skaningowa i transmisyjna mikroskopia elektronowa, rentgenowska dyfraktometria proszkowa czy spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera. Przy czym ważna była nie tylko umiejętność wykonania pomiarów, ale również biegłość we właściwej interpretacji wyników. Szkoda że Doktorantka marginalnie potraktowała znaczenie wykazanych parametrów syntezowanych kompozytów. Jakie praktyczne znaczenie mają potwierdzone pomiarami właściwości powstałych kompozytów. W tym zakresie temat został bardziej rozwinięty i poparty doświadczeniem tylko w przypadku kompozytów zawierających srebro. Właściwości antybakteryjne Ag znane są od dawna. Podejmowane są też prace nad wykorzystaniem okrzemek w produkcji substancji antybakteryjnych zawierających Ag. Zastanawiające jest, dlaczego oba nanokompozyty działały z dokładnie takim samym efektem (tu wyrażonym przez wartość MIC) na bakterie gram-ujemne i gram-dodatnie. Odmienne efekty Doktorantka odnotowała jedynie w przypadku *Klebsiella pneumoniae*. W przypadku testu na żywym materiale jest to dość zaskakujący wynik.

Wyniki badań prowadzone przez Doktorantkę są interesujące, dobrze udokumentowane i mają potencjał aplikacyjny. Uważam to za mocne strony rozprawy doktorskiej.

Mniej pozytywnie oceniam natomiast sam tekst rozprawy. O nietypowej formie wspominałam już w pierwszej części recenzji. Tu chciałabym zwrócić uwagę na niezbyt staranny język i styl tekstu. Miejscami odniosłam wrażenie, jakby angielski tekst został przetłumaczony przez komputerowego tłumacza. Spis wszystkich niepoprawnych zwrotów lub braków zająłby z pewnością kilka stron recenzji. Powtarzają się w pracy takie zwroty jak frustule (zamiast pancerzyków), algi (zamiast glony), h (zamiast godz.), cela (zamiast kuweta (pomiarowa)), hodowla biomasy (zamiast hodowla glonów (w celu pozyskania biomasy)). Nie wiadomo kto jest autorem zdjęć zamieszczonych w pracy; brakuje spisu skrótów; w tekście niektóre skróty są stosowane bez wyjaśnienia (np. ROS, LOD), jeżeli rys. 13 i 14 pochodzą z publikacji, ich źródło powinno być podane w podpisie tych rysunków;

Inne wybrane uwagi:

Str. 16: połówki pancerzyka pasują do siebie jak „wieczko do pudełka” – zamiast „jak wieczko do denka”;

Str. 28: Zdanie zaczyna się od „Związki chemiczne...” po czym, jako przykład podaje się pierwiastki (N, Si, P);

Str. 29: Tabela 2 Zarówno tytuł tabeli (powinien być precyzyjniejszy; chodzi o pożywkę dla okrzemek), jak i nagłówki kolumn „Roztwór”/” Składnik” należałoby zmienić;

Str. 31: Co Doktorantka rozumie przez „podanie okresowych impulsów azotowych”;

Str. 37: „zebranie w całości plonu” - Na koniec hodowli zbieramy biomasę glonów, a nie plony.

Str. 41: „komórki zaczynają rosnać jedna na drugiej”; „Faza spowolnionego wzrostu – w tej fazie współczynnik podziału maleje, głównie ze względu na zmniejszoną ilość światła wpadającego do powstałej zawiesiny...” - Ilość światła „wpadającego” jest taka sama. Następuje tylko efekt zacieniania, ze względu na zwiększoną gęstość hodowli. „...jakość komórek może ulec pogorszeniu” – Co oznacza „jakość komórek”; „wyczerpanie materiału magazynowego” – chyba materiału zapasowego;

Str. 42: „Zbieranie biomasy okrzemek ...zależy od ... ładunku powierzchniowego”. O jaki ładunek powierzchniowy tu chodzi; „zanim okrzemki osiągną stacjonarną fazę wzrostu” - fazy wzrostu osiąga hodowla; „Diatomit składa się w 70-90% z dwutlenku krzemu (rozłożone komórki okrzemek)” - raczej chodzi o pancerzyki okrzemek, nie całe komórki;

Str. 46: W krótkim rozdziale pt. „Zastosowanie okrzemek w biodegradacji zanieczyszczeń” znalazł się akapit dot. zielenic, nazwanych tu „zielonymi algami”;

Str. 47: Mikroglony nie są uprawiane, tylko hodowane; „Naturalnie okrzemki produkują nowatorskie związki bioaktywne”?

Str. 49: Co Doktorantka rozumie przez „szereg pancerzyków frustratów okrzemek”

Str. 50: „Te wewnątrzrurowe pory wydają się mieć jednolitą średnicę”?; Co Doktorantka rozumie przez „względną objętość chemiczną”?

Str. 54: W rozdziale „Komputery z okrzemek” nie jest jasne, kiedy Doktorantka ma na myśli komórki okrzemek, a kiedy pancerzyki okrzemek;

Str. 55: „pierwotny model pancerzyka jest tworzony między 3 a 4 minutami..” o jakie minuty chodzi?

Str. 57: „Coraz to nowsze badania donoszą...”; „Niezwykle ekscytującą propozycją modyfikacji biokrzemionki jest jej redukcja”

Str. 81: O jakie „resztki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>” Doktorantce chodzi?

Str 86-87: „Przygotowane stężenia zmieszano..” – zmieszano roztwory, nie stężenia; „.. do każdego dołka dodano...” – brak informacji, że chodzi o dołek (studzienkę) w mikro płytce; „Každy eksperyment został wykonany w trzech egzemplarzach”;

Str. 103: „analiza pierwiastkowa” – chyba chodzi o analizę elementarną?

Str.135: „gatunki ROS są dominującym mechanizmem zwiększania aktywności przeciwdrobnoustrojowej”. Chyba chodzi Doktorantce o różne formy reaktywnego tlenu?

W przypadku prezentacji wyników badań w języku polskim sugeruję Doktorantce większą dbałość o poprawność i precyzję wypowiedzi.

Wymienione tu uwagi pomniejszają wartość pracy, jednak nie przekreślają znaczenia uzyskanych wyników. Praca ma charakter nowatorski i z pewnością będzie podstawą do dalszych badań nad wykorzystaniem biokrzemionki w syntezie innowacyjnych nanomateriałów. Podsumowując: rozprawa spełnia warunki określone w art.187 ust. 1-3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Dlatego wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego o dopuszczenie mgr Weroniki Brzozowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk o Ziemi i środowisku

Hanna Mazur-Marzec



Gdańsk, 12-06-2023