

prof. dr hab. inż. Marcin Zieliński
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Geoinżynierii
Katedra Inżynierii Środowiska
ul. Warszawska 117
10-720 Olsztyn
tel. 89 523 41 24, 725 993 010
e-mail: marcin.zielinski@uwm.edu.pl

Olsztyn, 06.09.2023



RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani mgr Aleksandry Golubevej, pt.:
"Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis"

1. PODSTAWA FORMALNA PRZYGOTOWANIA RECENZJI

Podstawę formalną sporządzonej recenzji stanowiła uchwała nr 24/2023 Rady Naukowej Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego, na mocy której zostałem powołany na recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Golubevej pt.: „Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis”.

Zgodnie z Art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne. Rozprawę doktorską może stanowić praca

pisemna, w tym monografia naukowa, zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, praca projektowa, konstrukcyjna, technologiczna, wdrożeniowa lub artystyczna, a także samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej.

W zakres niniejszej recenzji wchodzi ocena, czy rozprawa doktorska spełnia określone w Ustawie kryteria, a także ocena zasadności podjętego tematu, poprawności sformułowanego celu, weryfikacja wykorzystanej metodyki badawczej, zaprezentowanych w pracy wyników badań, sformułowanych wniosków końcowych oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia przez Doktorantkę pracy naukowej.

2. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA I OCENA PRACY

Rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Golubevej pt. „Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis” jest pracą badawczą wykonaną w oparciu o cykl trzech publikacji. Rozprawę doktorską przygotowano w języku angielskim, ze streszczeniem w języku angielskim i polskim. Praca zajmuje łącznie 83 strony oraz zawiera trzy załączniki (przedruki publikacji wraz z oświadczeniami współautorów o zaangażowaniu i udziale w ich powstaniu). Wprowadzenie podzielono na pięć podrozdziałów; w pierwszych trzech przedstawiono kluczowe informacje na temat okrzemek (1.1. Structure of the diatom frustul; 1.2. Diatom frustules morphogenesis; 1.3. Modification of the diatom frustules). Następnie scharakteryzowano Techniques utilized for characterization of the diatom biosilica (1.4) oraz Application of the diatom biosilica (1.5.). Kolejne 7 stron opracowania zajmuje zbiorcza prezentacja metod badawczych. Przedstawiony wstęp pozwolił na sformułowanie celów i hipotez pracy. Na kolejnych 40 stronach referatu Autorka zaprezentowała główne wyniki badań. Na podstawie przedstawionych wyników sformułowano wnioski (dwie strony). W dalszej części pracy, po wnioskach, Autorka zaprezentowała zbiorczą metodykę badań. Taka nietypowa kolejność związana jest z układem narzuconym przez wydawnictwa, w których opublikowano wyniki prac badawczych. W autoreferacie zawarto również spis literatury oraz materiały dodatkowe w postaci zestawień i tabel statystycznych oraz rysunków przedstawiających rozkład porów oraz krzywe kalibracyjne dla analiz barwników.

Zasadniczą, merytoryczną część pracy stanowią trzy wieloautorskie, oryginalne publikacje badawcze, w których Doktorantka jest dwukrotnie pierwszym autorem oraz jednokrotnie drugim autorem. Są to:

- A. **Golubeva, A.**, Roychoudhury, P., Dąbek, P., Pałczyńska, J., Pryshchepa, O., Piszczek, P., Pomastowski, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Feliczak-Guzik, A., Nowak, I., Kurzydłowski, K.J., Buszewski, B., & Witkowski, A. (2023a) A novel effective bio-originated methylene blue adsorbent: the porous biosilica from three marine diatom strains of *Nanofrustulum* spp. (Bacillariophyta). *Scientific Reports*, 13, 9168.

Udział Doktorantki 65%

- B. **Golubeva, A.**, Roychoudhury, P., Dąbek, P., Pryshchepa, O., Pomastowski, P., Pałczyńska, J., Piszczek, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Feliczak-Guzik, A., Nowak, I., Buszewski, B. & Witkowski, A. (2023b) Removal of the basic and diazo dyes from aqueous solution by the frustules of *Halamphora* cf. *salinicola* (Bacillariophyta). *Marine Drugs*, 21, 312.

Udział Doktorantki 70%

- C. Roychoudhury, P., **Golubeva, A.**, Dąbek, P., Pryshchepa, O., Sagandykova, G., Pomastowski, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Kurzydłowski, K., Buszewski, B. & Witkowski, A. (2022) Study on biogenic spindle-shaped iron-oxide nanoparticles by *Pseudostaurosira trainorii* in field of laser desorption/ionization applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 11713.

Udział Doktorantki 20%

W publikacjach A and B Doktorantka opracowała koncepcję badań, przeprowadziła eksperymenty, zinterpretowała wyniki, przeprowadziła analizę statystyczną i modelowanie matematyczne, przygotowała rysunki i tabele, napisała oryginalny manuskrypt, poprawiła go zgodnie z sugestiami współautorów, kierowała procesem weryfikacji po recenzji naukowej i przedłożyła ostateczną wersję pracy. W pracy C Doktorantka była odpowiedzialna za prowadzenie hodowli szczepu *P. trainorii* i dostarczenie materiału badawczego, brała udział w analizie biokrzemionki i pracowała nad analizą i prezentacją wyników badań.

Wkład Doktorantki w powstanie publikacji uważam za znaczący, świadczący o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

W pracy załączono deklaracje autorów odnośnie udziału procentowego w powstaniu publikacji. Nie ma formalnego wymogu takich oświadczeń. Natomiast jeżeli Doktorantka postanowiła je załączyć, należało konsekwentnie wykazać oświadczenia wszystkich autorów.

Głównym celem badań było określenie potencjału porowatej biokrzemionki pozyskanej z okrzemek morskich *Nanofrustulum wachnickianum* (szczep SZCZCH193), *N. shiloi*

(SZCZM1342), *N. cf. shiloi* (SZCZP1809), *Halamphora cf. salinicola* (SZCZM1454) i *Pseudostaurosira trainorii* (BA170) do usuwania barwników i fenoli z zanieczyszczonych wód.

Aby zrealizować cele badawcze, przyjęty zakres prac obejmował określenie:

- (i) wzrostu wybranych szczepów okrzemek w różnych warunkach hodowli, aby wyznaczyć warunki zapewniające najwyższy uzysk biomasy,
- (ii) charakterystyki porowatości biokrzemionki przy pomocy izoterm adsorpcji/desorpcji azotu w niskiej temperaturze i SEM,
- (iii) zdolności okrzemek do redukcji Fe^{3+} w skali laboratoryjnej,
- (iv) składu elementarnego i struktury molekularnej biokrzemionki niemodyfikowanej oraz wzbogaconej nanocząsteczkami tlenku żelaza za pomocą EDS i FTIR,
- (v) ładunku powierzchniowego biokrzemionki w danym zakresie pH,
- (vi) struktury krystalicznej, stabilności termicznej i czystości biokrzemionki okrzemkowej za pomocą XRD i TGA/DTA,
- (vii) zdolności adsorpcyjnej biokrzemionki wobec barwników kationowych i anionowych,
- (viii) fotokatalitycznej aktywności niemodyfikowanej i modyfikowanej nanocząsteczkami tlenku żelaza biokrzemionki wobec 4-nitrofenolu.

Autorka postawiła następujące hipotezy badawcze:

- (i) W hodowli okrzemek morskich w warunkach laboratoryjnych można uzyskać akumulację biomasy powyżej 500 mg s.m./dm³.
- (ii) Zwiększone stężenie krzemu w pożywce zwiększa uzysk biomasy okrzemek.
- (iii) Pochodzenie geograficzne szczepów okrzemek ma znaczący wpływ na akumulację biomasy w warunkach laboratoryjnych.
- (iv) Biomasa okrzemkowa może redukować jony Fe^{3+} do nanocząsteczek tlenku żelaza w roztworach wodnych.
- (v) Krzemionka okrzemkowa ma wysoki potencjał filtracyjny ze względu na obecność makro-, mezo- i mikroporów na powierzchni pancerzyków.
- (vi) Grupy funkcyjne na powierzchni biokrzemionki okrzemkowej, w tym Si–O–, skutkują jej wyższym powinowactwem do barwników kationowych.
- (vii) Modyfikacja pancerzyków okrzemek nanocząsteczkami tlenku żelaza podwyższa aktywność fotokatalityczną wobec fenoli.

W mojej opinii badania zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane. Przyjęte metody badawcze oraz wykorzystane techniki analityczne pozwoliły na osiągnięcie założonego celu badawczego. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie szerokiego zakresu nowoczesnych zaawansowanych metod analitycznych.

Rozprawa stanowi logiczną całość, co potwierdza umiejętności mgr Aleksandry Golubevej w zakresie formułowania celów badań i planowania procesu badawczego. Praca zawiera wszystkie niezbędne elementy wymagane dla rozpraw doktorskich. Ogólna ocena rozprawy doktorskiej jest wysoka.

3. OCENA WYBORU TEMATU PRACY

Tematyka badań mgr Aleksandry Golubevej wiąże się z poszukiwaniem niekonwencjonalnych biomateriałów o potencjale zastosowania w ochronie środowiska czy zdrowia człowieka. Przykładem takich materiałów może być biokrzemionka okrzemkowa. Badania zostały przeprowadzone wielowątkowo. Dotyczą warunków hodowli okrzemek i kinetyki tego procesu w celu pozyskania dużej ilości biokrzemionki. Badano morfologię biokrzemionki, oceniano strukturę molekularną i krystaliczną, ładunek powierzchniowy, stabilność termiczną i czystość, identyfikowano grupy funkcyjne na powierzchni. Dzięki tak dobranemu zakresowi badań uzyskano ogromną ilość podstawowej wiedzy, wskazującej na potencjał wykorzystania biokrzemionki okrzemkowej znacznie przekraczający prezentowane w pracy zastosowania do usuwania barwników i fenoli ze ścieków. Biokrzemionka okrzemkowa może potencjalnie znaleźć zastosowanie jako system transportu leków. Biomateriał ten ma trójwymiarową strukturę charakteryzującą się naturalną zmiennością struktury powierzchni, bezwładnością chemiczną, biokompatybilnością i nietoksycznością. Powszechnie wiadomo, że biokrzemionka ma właściwości fotoluminescencyjne, które można wzmocnić przez modyfikację metalem, i można ją wykorzystać jako bioczuJNIK do wykrywania docelowej substancji chemicznej. Bardzo szerokie są możliwości wykorzystania biokrzemionki w zakresie remediacji wód. Na przykład, obiecujące i szeroko badane są zdolności biokrzemionki do wiązania metali ciężkich. W pracy doktorskiej, mgr Aleksandra Golubeva skupia się na możliwości wykorzystania okrzemek w usuwaniu barwników (publikacje A i B) oraz na katalitycznej fotodegradacji fenoli z wody (publikacja C).

Tematyka pracy doktorskiej jest aktualna i ważna z uwagi na poszukiwania i opracowywania nowoczesnych, przyjaznych dla środowiska i efektywnych biomateriałów. Prezentowana praca badawcza niewątpliwie wpisuje się w szeroki nurt badawczy związany z wykorzystaniem okrzemek.

Z uwagi na swoje właściwości i potencjał będą one z pewnością znajdowały coraz szersze zastosowanie w wielu aspektach naszego życia. Z tego punktu widzenia, należy podkreślić wysoki potencjał podjętych prac badawczych.

Uważam, że w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej mgr Aleksandry Golubevej temat pracy został wybrany prawidłowo, a sformułowany cel pracy ma znaczący aspekt naukowo-poznawczy i praktyczny.

4. ROZWIĄZANE ZAGADNIENIA NAUKOWE

Za najważniejsze i oryginalne zagadnienia stanowiące nowość naukową w pracy mgr Aleksandry Golubevej należy uznać:

- (i) Grupy funkcyjne Si–O, N–H, C–H i O–H, obecne na powierzchni pancerzyków okrzemek, odpowiadają za ładunek ujemny powierzchni. Zdolność adsorpcyjna biokrzemionki okrzemkowej była wyższa wobec barwników kationowych (MB, CV, i MG) ze względu na tworzenie silnego wiązania elektrostatycznego, podczas gdy barwnik anionowy był odpychany przez ładunek ujemny na powierzchni pancerzyków.
- (ii) Obecność nanocząsteczek żelaza na powierzchni pancerzyków *P. trainorii* (BA170), ujawniona w analizie SEM i EDS, a także redukcja jonów Fe^{3+} przez grupy Si–O– lub O–H– na powierzchni pancerzyków, określona w analizie FTIR.
- (iii) Fotokatalityczna aktywność biokrzemionki okrzemkowej wobec 4-nitrofenolu znacząco zwiększona (z 40% do 95% usuwania po 180 min ekspozycji) na skutek wzbogacenia powierzchni nanocząsteczkami tlenku żelaza.

Moim zdaniem, wyniki dotyczące wielkości produkcji biomasy okrzemek z uwagi na niewielką laboratoryjną skalę przeprowadzonego doświadczenia można uznać za mniej znaczące. W pracy nie przedstawiono szczegółowo wyników produkcji biomasy w fotobioreaktorze o objętości 70 dm³. Wraz ze zwiększaniem skali produkcji biomasy pojawia się szereg trudności i ograniczeń, nie spotykanych w warunkach laboratoryjnych (np. prześwietlenie reaktora, równomierność temperatury).

Wyzwanie badawcze, którego podjęła się mgr Aleksandra Golubeva, było zadaniem złożonym. Przeprowadzono szereg eksperymentów, a sposób ich zaplanowania i realizacji wskazuje na przemyślaną i konsekwentnie realizowaną procedurę badawczą. Zaprezentowane prace eksperymentalne i treść rozprawy potwierdzają bardzo dobrą znajomość Doktorantki dotyczącą

zagadnień związanych z morfologią i fizjologią okrzemek. Nie stwierdzam istotnych uchybień i oceniam znajomość przedmiotu zagadnienia pozytywnie.

1. UWAGI / PYTANIA

W trakcie lektury rozprawy doktorskiej zwróciłem uwagę na następujące zagadnienia:

- (i) W jakim celu przeprowadzono badania nad hodowlą okrzemek pochodzących z różnych stref klimatycznych w różnych warunkach temperaturowych? Można było oczekiwać, że szczepy pochodzące z wód ciepłych będą lepiej funkcjonować w wyższej temperaturze hodowli, a pochodzące z wód zimnych będą preferować niższe temperatury.
- (ii) Jaka była najkorzystniejsza dawka krzemu w pożywce? Skoro stwierdzono dodatnią korelację między stężeniem krzemu w pożywce a wielkością przyrostu biomasy, dlaczego nie zwiększano dawki do uzyskania wartości nieistotnej dla dalszego zwiększania przyrostu biomasy?
- (iii) Doktorantka pisze „Water pollution is recognized to have an enormous impact on public health, and the discharge from dye-based industries serves as a major source of contamination: up to 15% of the total dyes used in the textile industry remain untreated and are lost in emissions” (publikacja B – Introduction). Pierwsza część tego zdania jest oczywiście prawdziwa, ale druga niedokładnie. Przemysł barwników jest szkodliwy dla środowiska, ale nie można go uznać za największe zagrożenie, szczególnie w Europie, gdzie praktycznie już nie występuje. Czy Doktorantka ma informacje na temat aktualnej skali zanieczyszczeń związanych ze ściekami barwnymi? Dane z roku 1999, na które się powołano w pracy, wydają się być mocno nieaktualne.
- (iv) Czy stężenia barwników, przy których przeprowadzono badania sorpcji, odpowiadają stężeniom obserwowanym w rzeczywistych ściekach?
- (v) Ile wykonano powtórzeń badań sorpcji? Jak Doktorantka tłumaczy brak zależności pomiędzy stężeniem początkowym barwnika a efektywnością sorpcji błękitu metylenowego (MB) dla różnych szczepów okrzemek (rys. 6c, aneks 1)? Jak sprawność usuwania barwnika MB dla szczepów SZCZM1342 *N. shiloi* i SZCZP1809 *N. cf. shiloi* przekładała się na pojemność sorpcyjną?
- (vi) Opis hodowli okrzemek w fotobioreaktorze o pojemności 70 dm³ przedstawiono w pracy skrótowo. Jakie były parametry hodowli, jak odnosiły się one do badań w skali laboratoryjnej?

2. WNIOSKI KOŃCOWE

Mgr Aleksandra Golubeva zainteresowała się ważnymi zagadnieniami związanymi z pozyskiwaniem, badaniami i wykorzystaniem innowacyjnego biomateriału – biokrzemionki. Podjęła się interesujących i trudnych prac badawczych, które prowadzą w kierunku rozwoju i poszerzeniu zastosowań tego biomateriału. Przedstawione przez Doktorantkę wyniki badań należy uważać za cenne i aktualne. Doktorantka zaprezentowała umiejętność samodzielnego formułowania problemów naukowych oraz zaplanowania badań prowadzących do ich rozwiązania, wraz z przedstawieniem wyników i ich interpretacją.

Uważam, że przedłożona do oceny praca doktorska mgr Aleksandry Golubevej praca spełnia wymagania stawiane rozprawie doktorskiej określone w art. 187 ust.1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce i tym samym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

Mariusz Dzielinski

Prof. Dr. Hab. Eng. Marcin Zieliński
University of Warmia and Mazury in Olsztyn
Faculty of Geoengineering
Department of Environmental Engineering
Warszawska St. 117
10-720 Olsztyn
phone: 89 523 41 24, 725 993 010
e-mail: marcin.zielinski@uwm.edu.pl

Olsztyn, 6.09.2023

REVIEW

The doctoral dissertation of Aleksandra Golubeva, M.Sc., entitled:
"Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured
biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis"

1. FORMAL BASIS FOR THE PREPARATION OF THE REVIEW

The formal basis for the review was Resolution No. 24/2023 of the Scientific Council of the Institute of Marine and Environmental Sciences of the University of Szczecin, under which I was appointed as a reviewer in the doctoral dissertation of M.Sc. Aleksandra Golubeva, entitled: „Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis”.

According to Art. 187 of the Act of July 20, 2018, Law on Higher Education and Science, the doctoral dissertation presents the candidate's general theoretical knowledge in the discipline or disciplines and the ability to independently conduct scientific or artistic work. The subject of the doctoral dissertation is an original solution to a scientific problem, an original solution to apply the results of one's own research in the economic or social sphere, or an original artistic achievement. A doctoral dissertation may be a written work, including a scientific monograph, a collection of

published and thematically related scientific articles, a design, construction, technological, implementation or artistic work, as well as an independent and separate part of a collective work.

The scope of this review includes the assessment of whether the doctoral dissertation meets the criteria set out in the Act, as well as the assessment of the relevance of the topic undertaken, the correctness of the formulated goal, verification of the research methodology used, research results presented in the work, final conclusions formulated and the ability of the PhD student to independently conduct scientific work.

2. GENERAL CHARACTERISTICS AND EVALUATION OF DISSERTATION

M.Sc. Aleksandra Golubeva's doctoral dissertation entitled "Optimization of diatom culture conditions for the growth of 3D structured biosilica applied in wastewater treatment and nanoparticle synthesis " is a research work based on a series of three publications. The doctoral dissertation was prepared in English, with an abstract in English and Polish. The work takes up 83 pages in total, and additionally three attachments (reprints of publications with statements of co-authors about their involvement and participation in their creation). The introduction is divided into five subchapters, the first three present key information on diatoms (1.1. Structure of the diatom frustul; 1.2. Diatom frustules morphogenesis; 1.3. Modification of the diatom frustules). Then, "Techniques utilized for characterization of the diatom biosilica" (1.4) and finally "Application of the diatom biosilica" (1.5.) were characterized. The next 7 pages of the study are occupied by a collective presentation of research methods. The presented introduction allowed for the formulation of aims and hypotheses of the thesis. On the next 40 pages of the paper, the author presented the main results of the research. Based on the presented results, conclusions (two pages) were formulated. In the further part of the work, after the conclusions, the author presents the collective methodology of the research. Such an unusual order is related to the arrangement imposed by the publishing houses in which the results of research work were published. The self-report also contains a list of literature and additional materials in the form of summaries and statistical tables as well as drawings showing the distribution of pores and calibration curves for dye analyses.

The essential, substantive part of the work consists of three multi-author, original, research publications, in which the PhD student is the first author twice and the second author once. They are:

- A. **Golubeva, A.**, Roychoudhury, P., Dąbek P., Pałczyńska, J., Pryshchepa, O., Piszczek, P., Pomastowski, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Feliczak-Guzik, A., Nowak, I., Kurzydłowski, K.J., Buszewski, B., & Witkowski, A. (2023a) A novel effective bio-originated methylene

blue adsorbent: the porous biosilica from three marine diatom strains of *Nanofrustulum* spp. (Bacillariophyta). *Scientific Reports*, 13, 9168.

PhD student participation: 65%

- B. **Golubeva, A.**, Roychoudhury, P., Dąbek, P., Pryshchepa, O., Pomastowski, P., Pałczyńska, J., Piszczek, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Feliczak-Guzik, A., Nowak, I., Buszewski, B. & Witkowski, A. (2023b) Removal of the basic and diazo dyes from aqueous solution by the frustules of *Halamphora* cf. *salinicola* (Bacillariophyta). *Marine Drugs*, 21, 312.

PhD student participation: 70%

- C. Roychoudhury, P., **Golubeva, A.**, Dąbek, P., Pryshchepa, O., Sagandykova, G., Pomastowski, P., Gloc, M., Dobrucka, R., Kurzydłowski, K., Buszewski, B. & Witkowski, A. (2022) Study on biogenic spindle-shaped iron-oxide nanoparticles by *Pseudostaurosira trainorii* in field of laser desorption/ionization applications. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 11713.

PhD student participation: 20%

In the publications A and B, the Ph.D. student conceptualized the study, performed the experiments, interpreted the data, performed statistical analysis and mathematical modeling, prepared figures and tables, drafted the original manuscript, revised it following co-authors' suggestions, led the revision process after the peer review, and submitted the final version. In the publication C, the PhD student cultivated a *P. trainorii* strain and provided live biomass and the clean frustules for the research, took part in investigations of the morphology, elemental and functional analysis of the IONPs decorated frustules and control frustules, and preliminary LDI-MS investigation of IONPs, performed the zeta potential measurements of IONPs, and helped to obtain, analyze, and illustrate the data.

I consider the doctoral student's contribution to the publication to be significant, demonstrating the ability to independently conduct scientific work.

The paper includes the authors' declarations regarding the percentage share in the creation of the publication. There is no formal requirement for such declarations. However, if the PhD student decided to attach them, the statements of all authors had to be consistently demonstrated.

The main objective of the study was to investigate the potential of the porous diatom biosilica extracted from marine diatoms *Nanofrustulum wachnickianum* Ch.-L Li, Witkowski & Ashworth (strain SZCZCH193), *N. shiloi* (Lee, Reimer & McEnery) Round, Hallsteinsen & Paasche (SZCZM1342), *N. cf. shiloi* (Lee, Reimer & McEnery) Round, Hallsteinsen & Paasche (SZCZP1809), *Halamphora cf. salinicola* Levkov & Diaz (SZCZM1454), and *Pseudostaurosira trainorii* Morales (BA170) in the field of environmental remediation and dye removal.

Achievement of the main research objective planned through the implementation of the following studies:

- (i) the growth of each strain under various culturing conditions in a laboratory setting for higher biomass yield,
- (ii) the porous nature of the diatom biosilica by SEM and the low temperature nitrogen adsorption/desorption analyses,
- (iii) a Fe^{3+} reduction capacity of diatom biomass at the laboratory scale,
- (iv) the elemental composition and molecular structure of the intact and loaded with iron oxide nanoparticles biosilica by EDS and FTIR spectroscopy,
- (v) the charge of the biosilica surface under a range of pH,
- (vi) the crystalline structure, thermal stability, and purity of the diatom biosilica using XRD and TGA/DTA,
- (vii) adsorption efficiency of the biosilica against the cationic (MB, CV, MG) and the anionic (CR) dyes,
- (viii) photocatalytic activity of the intact and decorated with iron oxide biosilica against 4-nitrophenol.

The author proposed seven following hypotheses:

1. Marine diatoms cultivated under laboratory conditions could accumulate more than 500 mg DW biomass in 1 L of culture.
2. Increased silicon concentration in a culture medium enhances the biomass yield of diatoms.
3. The geographical origin of the diatom strains has a significant impact on their biomass accumulation under laboratory settings.
4. Diatom biomass could reduce Fe^{3+} ions to iron oxide nanoparticles from water solution.
5. The diatom biosilica has high filtration potential due to the presence of macropores (areolae), meso- and micropores on the frustules surface.

6. The various functional groups, including Si–O–, on the surface of the diatom biosilica make it an anionic material with a higher affinity to cationic dyes.
7. The diatom frustules decorated with iron oxide nanoparticles exhibit a higher photocatalytic activity against phenols.

In my opinion, the research was properly planned and carried out. The adopted research methods and the analytical techniques used allowed to achieve the assumed research goal. It is worth emphasizing that the wide range of modern, advanced analytical methods were used.

The dissertation is a logical whole, which is confirmed by M.Sc. Aleksandra Golubeva's ability to formulate research goals and plan the research process. The thesis contains all the necessary elements required for doctoral dissertations. The overall assessment of the doctoral dissertation is high.

3. EVALUATION OF SELECTION THE DISSERTATION SUBJECT

The subject of M.Sc. Aleksandra Golubeva's research is related to the search for unconventional biomaterials with potential applications in environmental protection or human health. Diatom biosilica is an example of such biomaterials. The research was carried out in many ways. It concerns the conditions of diatom cultivation and the kinetics of this process in order to obtain a large amount of biosilica. The cleaned biosilica's morphology, its elemental composition, functional groups on the biosilica surface, the band gap of the samples and the point zero charge were investigated with advanced methods such as SEM, EDS, ATR-FTIR, and UV-vis spectroscopy. Thanks to such a selected scope of research, a huge amount of basic knowledge was obtained about the potential for use far exceeding the applications presented in the work for the removal of dyes and phenols from wastewater. The diatom biosilica can be potentially used as a drug delivery system. This biomaterial has three-dimensional structures with natural variability of surface architecture, chemical inertia, biocompatibility, and nontoxicity. The biosilica is well known to have photoluminescent capabilities, which could be enhanced by the metal modification, and used as a biosensor for the detection of the target chemical substance. The possibilities of using biosilica in the field of water remediation are very wide. For example, biosilica's ability to bind heavy metals is very promising and widely studied. In her doctoral thesis, M.Sc. Aleksandra Golubeva focuses on the possibility of using diatoms in the removal of dyes (publications A and B) and on the catalytic photodegradation of phenols from water (publication C).

The subject of the doctoral thesis is current and important due to the searching and development of modern, environmentally friendly and effective biomaterials. Undoubtedly, the presented research work is a part of a broad research trend related to the use of diatoms. Due to their properties and potential, they will certainly be increasingly used in many aspects of our lives. From this point of view, the potential of the research work undertaken should be noted.

In my opinion, in the doctoral thesis of M.Sc. Aleksandra Golubeva presented for the review, the topic of the work was chosen correctly, and the formulated purpose of the work has a significant scientific, cognitive and practical aspect.

4. SOLVED SCIENTIFIC ISSUES

The most important and original issues constituting a scientific novelty of the dissertation of M.Sc. Aleksandra Golubeva are:

- The Si–O, N–H, C–H, and O–H functional groups, present on the diatom frustule surface, are accountable for the negative charge on the surface. The adsorption efficiency of the diatom biosilica was higher against the cationic dyes (MB, CV, and MG) due to the formation of a strong electrostatic bond, while the anionic dye was repulsed by the negative charge on the surface of the frustule.
- The presence of iron particles on the surface of the frustule of *P. trainorii* (BA170), which was revealed via SEM images as well as EDS study. Moreover, the reduction of Fe³⁺ ions by Si–O– or O–H–groups on the frustule surface, which was revealed in the FTIR study.
- The photocatalytic activity of the diatom biosilica against 4-nitrophenol significantly increased (from 40% to 95% removal after 180 min of exposure) after the decoration of their surface with iron oxide nanoparticle.

In my opinion, the results regarding the volume of diatom biomass production, due to the small laboratory scale of the experiment, can be considered less significant. The paper does not present in detail the results of biomass production in a 70 L photobioreactor. With increasing the scale of biomass production, there are a number of difficulties and limitations not encountered in laboratory conditions (e.g., reactor overexposure, temperature uniformity).

The research undertaken by M.Sc. Aleksandra Golubeva was a complex task. A number of experiments were carried out, and the way they were planned and implemented indicates a well-thought-out and consistently implemented research procedure. The presented experimental work

confirms the PhD student's very good knowledge of issues related to the morphology and physiology of diatoms. The content of the dissertation proves that it is well placed in the subject matter. I do not find any significant shortcomings and I assess the knowledge of the subject matter positively.

5. COMMENTS / QUESTIONS

While reading the dissertation, I noticed the following issues:

- What was the purpose of the research on the cultivation of diatoms from different climatic zones in different temperature conditions? It could have been expected that warm water strains would perform better at higher culture temperatures and cold water strains would prefer lower temperatures.
- What was the most favorable dose of silica in the medium? Since there was a positive correlation between the concentration of silica in the medium and the biomass increase, why was the dose not increased until its increase was not significant for biomass growth.
- PhD student states "Water pollution is recognized to have an enormous impact on public health, and the discharge from dye-based industries serves as a major source of contamination: up to 15% of the total dyes used in the textile industry remain untreated and are lost in emissions" (Publication B – Introduction). The first part of this sentence is obviously true, but the second part is not entirely true. The dye industry is dangerous, but it cannot be considered the greatest threat, especially in Europe, where it is practically nonexistent. Does the PhD student have information on the current scale of pollution related to colored wastewater? The data he refers to from 1999 seem to be very outdated.
- Do the concentrations of dyes at which sorption tests were performed correspond to the concentrations observed in real wastewater?
- How many repetitions of sorption tests have been made? How does the PhD student explain the lack of dependence between the initial concentration of the dye and the sorption efficiency of methylene blue (MB) for different strains of diatoms (Fig 6c appendix 1)? How was the MB dye removal efficiency for strains SZCZM1342 N. shiloi, and SZCZP1809 N. cf. shiloi translated into sorption capacity?

- The paper presents a brief description of the cultivation of diatoms in a photobioreactor with a capacity of 70 L. What were the culture parameters, how did they relate to the flask studies?

6. CONCLUSIONS

M.Sc. Aleksandra Golubeva became interested in important issues related to the acquisition, research and use of the innovative biosilicate biomaterial. She undertook interesting and difficult research work that leads to the development and expansion of its applications. The research results presented by her should be considered valuable and up-to-date. She demonstrated the ability to independently formulate scientific problems and plan research leading to their solution, together with the presentation of results and their interpretation.

In my opinion, the doctoral thesis submitted for evaluation by Aleksandra Golubeva, MA, meets the requirements for a doctoral dissertation specified in Art. 187 sections 1-3 of the Act of July 20, 2018, Law on Higher Education and Science, and therefore I apply to the Council of the Institute of Marine and Environmental Sciences of the University of Szczecin for admission to public defence.

Marcin Zieliński