

dr hab. inż. Teresa Krzyśko-Łupicka, prof. UO  
Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej  
Wydział Przyrodniczo-Techniczny  
Uniwersytet Opolski w Opolu.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kurnik pt. ” „Biomasa odpadowa pochodzenia roślinnego jako źródło peroksydaz na potrzeby bioremediacji ścieków skażonych związkami fenolowymi”

Skażenie środowiska niebezpiecznymi substancjami, w tym związkami fenolowymi, stanowi jeden z najpoważniejszych problemów ekologicznych współczesnego świata i skłania do poszukiwania rozwiązań ograniczających drastyczne i długotrwałe zmiany zachodzące w ekosystemach, pozwalających jednocześnie na ich skuteczną utylizację. Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują na wykorzystanie w procesach biodegradacji tych skażeń nie tylko potencjału metabolicznego mikroorganizmów ale i samych enzymów w formie preparatów. Preparaty te mogą zawierać kompleksy enzymatyczne bądź pojedyncze biokatalizatory zdolne do modyfikacji struktury, zniesienia toksycznego charakteru skażeń lub w szczególnych przypadkach, do przeprowadzenia całkowitej mineralizacji związków organicznych do nieszkodliwych, nieorganicznych produktów końcowych. Jednak drobnoustroje, mimo ewolucji, w obecności dużej ilości różnych ksenobiotyków w środowisku, nie mają możliwości wykształcenia tak wielu szlaków metabolicznych umożliwiających szerokie wykorzystywanie ksenobiotyków, więc nie zawsze są w pełni skuteczne w ochronie biosfery, a ponadto stosowanie ich do utylizacji skażeń jest nadal kosztownym procesem.

Stale rosnące wymagania dotyczące czystości środowiska przyrodniczego zachęcają do poszukiwań nowych, efektywnych i ekonomicznie atrakcyjnych technologii jego oczyszczania. Z tego też względu rosnącą popularnością cieszą się próby zastosowania w tym celu roślin lub enzymów roślinnych m.in. peroksydaz. Chociaż peroksydazy są szeroko rozpowszechnione w królestwie roślin, jednak izolacja z takiego materiału jest kosztowna, dlatego ważne jest znalezienie alternatywnych źródeł jej pozyskiwania. Ogólnodostępnym i tanim materiałem do izolacji tych enzymów, mogą być odpady przemysłu rolno-spożywczego. Badania w tym zakresie prowadzone są przez różne ośrodki naukowo-badawcze i ukierunkowane zwłaszcza na otrzymywanie czystych peroksydaz; na przykład w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Biochemii IHAR-PIB w Boninie opracowano i opatentowano sposób otrzymywania

zwycierki ziemniaczanej peroksydaz o dużej trwałości w warunkach chłodniczych i wysokiej aktywności.

Nowatorskim ujęciem są badania nad możliwością wykorzystania surowców odpadowych pochodzenia roślinnego jako źródła peroksydaz w procesach biotechnologicznych, ale jednym z warunków zastosowania na dużą skalę peroksydaz roślinnych jest dostępność dużych ilości taniego materiału zawierającego wysoce aktywny, wytrzymały i odporny na inaktywację enzym.

W związku z powyższym podjęte przez Doktorantkę badania w kierunku bezpośredniego wykorzystania wycierki ziemniaczanej i młota jęczmiennego jako źródeł peroksydaz, uważam za niezwykle istotne, zwłaszcza w kontekście poszukiwania alternatywnych rozwiązań w oczyszczaniu ścieków skażonych związkami fenolowymi i możliwościami równoczesnej utylizacji odpadów przemysłu rolno-spożywczego.

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Kurnik jest przedstawiona w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów oraz komentarza będącego formą przewodnika po cyklu prac. Oceny dokonano na podstawie dokumentacji dostarczonej w zwartej formie drukowanej zawierającej następujące załączniki:

1. wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz ich naukometryczne parametry (Impact Factor, punkty MNiSW);
2. komentarz autorski obejmujący wprowadzenie i cel badań, materiał i metody badawcze, omówienie wyników, wnioski, streszczenie i abstract oraz piśmiennictwo;
3. kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe;
4. oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstawanie poszczególnych prac.

Podstawę doktoratu stanowią 3 monotematyczne publikacje naukowe pod wspólnym tytułem „Biomasa odpadowa pochodzenia roślinnego jako źródło peroksydaz na potrzeby bioremediacji ścieków skażonych związkami fenolowymi”. Na cykl publikacji przedstawionych jako osiągnięcie naukowe składają się następujące prace:

1. **Kurnik K., Treder K., Skorupa-Kłaput M., Tretyn A., Tyburski J.** 2015. *Removal of phenol from synthetic and industrial wastewater by potato pulp peroxidases*. Water Air Soil Pollut., 226:254;
2. **Kurnik K., Treder K., Twarużek M., Grajewski J., Tretyn A., Tyburski J.** 2018. *Potato pulp as the peroxidase source for 2,4-dichlorophenol removal*. Waste Biomass Valor., 9, 1061-1071;

**3. Kurnik K., Krzyżyński M., Treder K., Tyburski J. 2017. *Study on utilizing solid food industry waste with brewers' spent grain and potato pulp as possible peroxidase sources* J. Food Biochem., 42: e12446.**

Wszystkie prace są współautorskie, ale Doktorantka jest pierwszym autorem tych publikacji i ma znaczący udział w ich powstaniu (60 do 65%) obejmujący: współudział w planowaniu prac, wykonawstwo większości lub wszystkich eksperymentów, analizę wyników i przygotowanie publikacji do druku. Współautorzy prac potwierdzili dominujący udział Doktorantki w przygotowaniu wymienionych publikacji, poprzez określenie charakteru i procentowego udziału ich wkładu własnego (Deklaracje). Ten fakt wskazuje na dużą samodzielność naukową mgr Katarzyny Kurnik.

Łączny 5-letni IF tych publikacji wynosi 4,406, a łączna punktacja wg listy MNiSW - 65 punktów. Na uznanie zasługuje wybór czasopism, w których artykuły zostały opublikowane oraz aktualność podjętej tematyki.

Publikacje dotyczą wielokierunkowych badań obejmujących izolację i charakterystykę peroksydaz wycierki ziemniaczanej i młóta jęczmiennego, ocenę efektywności usuwania związków fenolowych przez peroksydazy wycierki ziemniaczanej oraz ocenę toksyczności mieszanin poreakcyjnych. Jednakże zaproponowana kolejność publikacji jest zastanawiająca, ponieważ nie jest to kryterium daty ukazania się artykułów, ani kolejności ich omawiania w Komentarzu autorskim.

Komentarz autorski rozpoczyna rozdział 1. *Wprowadzenie*, w którym Doktorantka w oparciu o zebrane piśmiennictwo, w sposób zwięzły przedstawiła: źródła skażenia ścieków związkami fenolowymi i problemy z ich utylizacją, charakterystykę peroksydaz oraz materiałów roślinnych będących źródłem tych enzymów i ich rolę w biodegradacji związków fenolowych, a także alternatywne źródła peroksydaz - odpady przemysłu rolno-spożywczego (wycierka ziemniaczana i młóto browarniane). W odrębnym podrozdziale przedstawiono cel pracy oraz zakres badań obejmujący pięć zadań cząstkowych. Doktorantka podała, że celem pracy była eksperymentalna weryfikacja dwóch hipotez: w wycierce ziemniaczanej i młócie jęczmienny obecne są peroksydazy, które zachowały wysoka aktywność enzymatyczną po zakończeniu procesów technologicznych, których produktami są w/w materiały oraz aktywność peroksydazową wycierki ziemniaczanej można wykorzystać do usuwania związków fenolowych z roztworów i obniżania ich toksyczności wynikającej z obecności tych substancji.

Proponuję aby cel zawrzeć w jednym zdaniu np. Celem badań była ocena aktywności peroksydazowej wycierki ziemniaczanej i młóta jęczmiennego oraz możliwości

bezpośredniego ich wykorzystania do utylizacji i obniżania toksyczności związków fenolowych skażających ścieki.

W rozdziale 2. *Materiał i metody badawcze* przedstawiono charakterystykę materiału badawczego i rozwiązania metodyczne, które pozwoliły na realizację założonego celu badań. Metody zostały dobrane bardzo starannie, tak aby badania były prowadzone w logicznej kolejności, a ich opis jest dokładny i przejrzysty. Bardzo dobrze zostały dobrane kryteria porównawcze i kontrolne oraz metody analizy danych. Świadczy to o dużych zdolnościach warsztatowych Doktorantki, które zasługują na specjalne podkreślenie.

Wyniki z cząstkowych zadań badawczych zostały przedstawione i omówione szczegółowo we wskazanych publikacjach, które wraz z odrębnym posumowaniem wyników i dyskusją stanowią rozdział 3, który należałoby jednak zatytułować: *Omówienie i dyskusja wyników*. Sposób omówienia wyników badań własnych i ich interpretacja w odniesieniu do danych literaturowych, świadczą o bardzo dobrej znajomości tematu.

Natomiast najważniejsze osiągnięcia, zawarte w tych publikacjach, przedstawiono w formie trzech wniosków w rozdziale 4.

Moim zdaniem najważniejszymi osiągnięciami Doktorantki było:

- wykazanie obecności peroksydaz w młocie jęczmiennym;
- ustalenie, że peroksydazy wycierki ziemniaczanej i młota jęczmiennego, zachowują wysoką aktywność i stabilność podczas długotrwałego przechowywania;
- wykazanie, możliwości bezpośredniego wykorzystania peroksydaz wycierki ziemniaczanej do utylizacji i obniżania toksyczności związków fenolowych skażających ścieki, z bardzo dużą wydajnością w szerokim zakresie pH i temperatury (rozwiązanie jak najbardziej do zastosowania *in situ*).

Przedstawiona praca ma dużą wartość poznawczą i stanowi podwaliny dla wykorzystania aplikacyjnego np. opracowania nowoczesnej, nowatorskiej linii technologicznej oczyszczania ścieków skażonych związkami fenolowymi.


Komentarz autorski napisany jest poprawną polszczyzną, ale pojawiają się drobne błędy redakcyjne (np. stylistyczne, błędne zapisy cytowań (w tekście - Laine i Jorgensen 1996, a w spisie Minna Laine i Jorgensen 1996; brak w spisie – np. Bhatnager i Minocha 2009), które nie mają istotnego wpływu na wysoki poziom tego opracowania.

Wszystkie zamieszczone w recenzji uwagi i sugestie nie wpływają na ostateczną, wysoką ocenę pracy. Uważam ją za bardzo wartościową, bogatą metodycznie, z nowym podejściem do podjętej problematyki; ważną ze względów merytorycznych i aplikacyjnych, do wykorzystania w ochronie środowiska.

W związku z tym, że temat został zaprojektowany i przeprowadzony wzorcowo, a wyniki mogą posłużyć za tło i punkt wyjścia, do projektowania dalszych badań specjalistycznych i interdyscyplinarnych, **proponuję wyróżnienie pracy.**

**W podsumowaniu, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie pani mgr Katarzyny Kurnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Opole, 28 sierpień 2018r.

  
dr hab. inż. Teresa Krzyško-Łupicka, prof. UO