



POLITECHNIKA POZNAŃSKA
INSTYTUT TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ
Berdychowo 4, 60-965 Poznań
tel. 61 665-37-16, fax 61 665 36 49
e-mail: lukasz.chrzanowski@put.poznan.pl
prof. dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski
Zakład Chemii Organicznej



Poznań, 24.02.2022

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Janickiego
pt. „Eliminacja i detoksykacja wybranych związków fenolowych oraz jonów metali ciężkich z wykorzystaniem grzyba strzępkowego *Umbelopsis isabellina*”

Oceniana praca doktorska została wykonana w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Wydziału Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Jerzego Długońskiego oraz promotora pomocniczego dr Mariusza Krupińskiego.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzję wykonałem w oparciu o uchwałę Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne z dnia 25 stycznia 2022 roku, a także pisma Przewodniczącej w. w. Komisji Prof. dr hab. Agnieszki Marczak, z dnia 25 stycznia 2022 roku oraz dostarczonego egzemplarza pracy doktorskiej.

Charakterystyka tematyki pracy doktorskiej

Ideę syntetycznych związków, które w sposób niezamierzony mogą przedostać się do organizmów ludzkich i naśladować działanie hormonów przedstawił w 1958 roku Roy Hertz. Choć obecnie w wielu pracach widnieje jako pierwszy, który zwrócił na to uwagę, nie jest to do końca prawdą. Przykładowo już w latach 30-tych Charles Dodds intencjonalnie sprawdzał działanie BPA jako sztucznego estrogeny. Niestety w latach powojennych, kiedy rozwój przemysłu był najważniejszy, nikt z decydentów nie zwracał uwagi na wizjonerskie prognozy jednego naukowca. Zwłaszcza, że techniki i metody analityczne w tamtym okresie nie pozwalały na oznaczanie związków w niskich stężeniach, nie wspominając już o próbkach środowiskowych. Nie dziwi więc fakt, że na propagandowych filmach z tamtych lat można zobaczyć szczęśliwych górników pracujących bez jakichkolwiek zabezpieczeń w kopalniach uranu, otoczonych radioaktywnym kurzem, co z naszego punktu widzenia jest trudne do zrozumienia. Liczyło się tylko tu i teraz, a szybkie tempo zmian technologicznych rozmywało możliwość i potrzebę długoterminowego planowania.

Jednak spora część społeczności naukowej rozumiała, że cokolwiek teraz wprowadzimy do środowiska może negatywnie wpłynąć na zdrowie ludzi i zwierząt w przyszłości. Nie będzie zbyt dużą przesadą stwierdzenie, że lata 60-te to początek formowania ruchów ekologicznych, które początkowo starano się naznaczyć mianem zbuntowanej młodzieży. Dopiero dalszy rozwój technik analitycznych pozwolił w latach 70-tych na zaobserwowanie i powiązanie negatywnego oddziaływania niewielkich dawek wybranych chemikaliów z rzadkimi chorobami nowotworowymi i defektami rozwojowymi. Coś, co biorąc pod uwagę wiedzę zgromadzoną podczas prac nad radioaktywnością, powinno być dość oczywiste.

Pomimo tego, zdobywanie wiedzy na temat substancji, które znacznie później nazwano związkami endokrynnie czynnymi (EDC), następowało niezależnie od rozwoju przemysłu chemicznego. Przełomowym zdarzeniem były eksperymenty wskazujące, że z polimerowych naczynek wirówkowych wymywane są związki, które w widoczny sposób wpływają na hodowane linie komórkowe, zaburzając ich homeostazę a w

konsekwencji prowadzą do zmian nowotworowych. Coś co nie powinno mieć miejsca i czego nikt się nie spodziewał. Od tego momentu nastąpił szybki rozwój wypadków, a EDC na stałe pojawiły się w świecie nauki. Do najlepiej przebadanych EDC należą dietylostilbestrol (DES), dioksyny i inne chlorowane węglowodory, takie jak dichlorodifenylotrichloroetan (DDT) i polichlorowane bifenylole (PCB), polibromowane etery difenylole (PBDE), ftalany i bisfenol A (BPA). Duża część tych związków wykorzystywana była a czasami nadal jest w polimerach jako plastyfikatory, uniemożliwianie, ale także jako podstawowe monomery. Na szczęście presja społeczna była tak duża, że sporo z tych związków zostało wyeliminowanych i zastąpionych przez inne substancje. Niestety wyniki badań i zalecenia wielu organizacji nie przekładają się szybko na normy i przepisy prawne, lub dotyczą tylko wybranych państw skupionych w organizacjach handlowych, w związku z czym tego rodzaju związki nadal przedostają się do środowiska. Obecnie zidentyfikowano ponad 1500 EDC. Wśród nich liczną grupę stanowią alkilowane fenole, które są o tyle niebezpieczne, że stanowią bazę dla dalej modyfikowanych cząsteczek, np. związków powierzchniowo-czynnych. Związki powierzchniowo-czynne, ze względu na swój charakter hydrofilowo-hydrofobowy są trudne do usunięcia i żadna klasyczna oczyszczalnia ścieków nie posiada możliwości całkowitej eliminacji takich zanieczyszczeń wykorzystując typowe etapy oczyszczania. Najlepszym przykładem jest etoksylozony nonylofenol, którego obecność stwierdzono we wszystkich niszach środowiskowych. Do tej grupy związków należą również zaliczyć oktylofenol a także kumylofenol.

Nic więc dziwnego, że badania wielu ośrodków naukowych skupiły się na środowiskowych losach wskazanych związków oraz poszukiwaniu skutecznych metod ich usuwania ze środowiska. Ze względu na charakter tych związków, najbardziej prawdopodobnym rozwiązaniem będzie połączenie metod fizykochemicznych oraz biologicznych. O ile badania z wykorzystaniem bakterii są stosunkowo zaawansowane, o tyle brakuje informacji na temat zdolności i udziału grzybów w procesach degradacji EDC.

Jak widać z powyższego wprowadzenia, tematyka badawcza podjęta przez Pana mgr Tomasza Janickiego jest bardzo aktualna i dotyczy zagadnienia o globalnym znaczeniu. Doktorant skoncentrował swoją uwagę na grzybie *Umbelopsis isabellina*, który posiada zdolność do metabolizowania wybranych związków, a następnie wnikliwie przeanalizował proces degradacji w obecności typowych dla ścieków metali ciężkich. Ponadto bardzo szeroko zbadał ekotoksyczność pośrednich produktów biotransformacji za pomocą szeregu doskonale wybranych testów. Finalnie dokonał oceny biodegradacji prawdziwego odcieku ze składowiska odpadów niebezpiecznych. Badania podjęte w niniejszej pracy doktorskiej przyczyniają się do lepszego zrozumienia procesów biotransformacji wybranych EDC, a także pozwalają zrozumieć mechanizmy oddziaływania rzeczywistych mieszanin ksenobiotyków, wnosząc wiele elementów nowości naukowej do obecnego stanu wiedzy.

Formalna ocena pracy doktorskiej

Praca doktorska Pana mgr Tomasza Janickiego została zrealizowana i przedstawiona jako cykl trzech spójnych tematycznie prac doświadczalnych, z których dwie zostały opublikowane na łamach doskonale rozpoznawalnych czasopism z listy filadelfijskiej:

- Janicki T., Krupiński M., Długoński J., (2016) Degradation and toxicity reduction of the endocrine disruptors nonylphenol, 4-tert-octylphenol and 4-cumylphenol by the non-ligninolytic fungus *Umbelopsis isabellina*, *Bioresource Technology*, 200, 223-229, IF₂₀₁₆=6,14
[10.1016/j.biortech.2015.10.034](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.034)
- Janicki T., Długoński J., Krupiński M., (2018) Detoxification and simultaneous removal of phenolic xenobiotics and heavy metals with endocrine-disrupting activity by the non-ligninolytic fungus *Umbelopsis isabellina*, *Journal of Hazardous Materials*, 360, 661-669, IF₂₀₁₈=7,97
[10.1016/j.jhazmat.2018.08.047](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.08.047)

Natomiast trzecia praca jest na etapie recenzji w równie dobrze rozpoznawalnym czasopiśmie.

- Janicki T., Długoński A., Felczak A., Długoński J., (2021) Ecotoxicological estimation of 4-cumylphenol, 4-tert-octylphenol, nonylphenol and volatile leachate phenol degradation by the

microscopic fungus *Umbelopsis isabellina* using a battery of biotests,

Wszystkie wymienione czasopisma są doskonale rozpoznawalne w środowisku mikrobiologów, chemików czy analityków zajmujących się zagadnieniami środowiskowymi i cieszą się bardzo dobrą opinią. Na szczególną uwagę zasługują **Bioresource Technology** i **Journal of Hazardous Materials**, które z racji polityki naukowej są bardzo wymagające i zazwyczaj w proces oceny angażują co najmniej 5 recenzentów, dzięki czemu w ostatnich 5 latach osiągnęły IF=10.

Należy zwrócić uwagę na fakt, że we wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem (równocześnie jedynym doktorantem), a to zwyczajowo odpowiada roli osoby wykonującej większość badań laboratoryjnych. Znajduje to pełne potwierdzenie w oświadczeniach współautorów (przedstawionych na stronach 109-111), zgodnie z którymi udział mgr Tomasza Janickiego wynosi odpowiednio 65%, 65% oraz 45%.

Ponieważ we współczesnym świecie realizacja zaawansowanych badań możliwa jest wyłącznie pod warunkiem posiadania odpowiednich środków finansowych, należy podkreślić rolę dwóch projektów Narodowego Centrum Nauki, które umożliwiły prowadzenie prac badawczych:

- **Mikrobiologiczna degradacja ksenoestrogenów i estrogenów w obecności metali ciężkich i NaCl**, Opus 2011/01/B/NZ9/02898; kierownik - prof. dr hab. Jerzy Długoński
- **Mikrobiologiczna degradacja wybranych ksenobiotyków o właściwościach endokrynych obecnych w produktach codziennego użytku i chemii gospodarczej**, Sonata, 2014/13/D/NZ9/04743; kierownik dr Mariusz Krupiński

Dodatковым źródłem finansowania była: „dotacja celowa na działalność związaną z prowadzeniem badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich” w latach 2014, 2015 oraz 2016.

Należy podkreślić, że pod względem formalnym niniejszy doktorat oparto na bardzo czytelnym zestawie w większości opublikowanych artykułów, który w jednoznaczny sposób pozwala określić zakres prac wykonanych przez Doktoranta. Liczba artykułów również odpowiada średniej liczbie prac włączanych do analogicznych rozpraw doktorskich w międzynarodowym środowisku naukowym i jest ona w 100% adekwatna do specyfiki prowadzonych badań. Pragnę podkreślić, że jest to bardzo dobrze przygotowany doktorat w układzie zbioru publikacji.

Układ pracy jest typowy dla doktoratów tego typu. Całość pracy zawarto na 111 stronach. Po stronie tytułowej oraz stronie z listą używanych skrótów znajduje się spis treści, a także informacje o źródłach finansowania zrealizowanych badań. Na osobnej stronie wyraźnie określono jakie prace stanowią podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora oraz w jakich czasopismach zostały one opublikowane. Podano również wartość współczynnika oddziaływania (IF) oraz punkty ministerialne (MEiN). Nie do końca rozumiem po co podano wartości IF i punkty MEiN z roku 2020 do prac opublikowanych w latach 2016 i 2018, gdyż zarówno **Bioresource Technology** jak i **Journal of Hazardous Materials** należą do najbardziej pożądanых publikacji dla każdego naukowca zajmującego się zagadnieniami środowiskowymi, a IF przekłada się tylko na średnią liczbę cytowań dla statystycznej pracy uzyskaną w analizowanym roku.

Następne dwie strony zajmuje wprowadzenie do tematyki badawczej. Na osobnej stronie autor zestawiał w tabeli podstawowe właściwości fizykochemiczne badanych związków chemicznych, a na kolejnej przedstawił cele pracy, w ramach których trafnie wyodrębniono następujące zadania badawcze:

- określenie zdolności grzyba strzępkowego *U. isabellina* do degradacji ksenobiotyków fenolowych o właściwościach endokrynych: 4-nonylofenolu, 4-*tert*-oktylofenolu oraz 4-kumylofenolu
- analiza potencjału *U. isabellina* do jednoczesnej eliminacji 4-nonylofenolu, 4-*tert*-oktylofenolu, 4-kumylofenolu oraz wybranych jonów metali ciężkich destabilizujących funkcjonowanie układu endokrynnego
- ekotoksykologiczna ocena procesów eliminacji 4-nonylofenolu, 4-*tert*-oktylofenolu, 4-kumylofenolu oraz jonów metali ciężkich przez szczep *U. isabellina* z wykorzystaniem baterii testów toksyczności

- określenie efektywności *U. isabellina* do usuwania i detoksykacji lotnych fenoli zawartych w odciekach ze składowiska odpadów niebezpiecznych.

Następnie Doktorant przedstawił syntetyczne zestawienie technik wykorzystywanych podczas badań. Na kolejnych 12 stronach umieszczono syntetyczne omówienie wyników przedstawionych w opublikowanych artykułach naukowych, po którym przedstawiono 2 stronicowe podsumowanie wraz z wnioskami. W pracy zamieszczono zgodnie z wymogami, dwustronicowe streszczenie w języku polskim i jego odpowiednik w języku angielskim. Następnie Doktorant zestawiał wszystkie publikacje a także doniesienia konferencyjne wraz z kursami i szkoleniami. Strony 33-35 zajmuje zestawienie wykorzystanej w omówieniu literatury.

W dalszej części pracy (strony 36-108) zamieszczono pełne wersje 3 artykułów naukowych wraz z dodatkowymi danymi (**Supplementary Information**). Całość pracy zamykają 3 strony oświadczeń dotyczących udziału współautorów w artykułach naukowych stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora.

Wprowadzenie oraz omówienie wyników napisane są poprawnym stylistycznie językiem. Zgodnie z zasadą, że język dostosowuje się do specyficznych warunków funkcjonowania w grupie ludzi wykorzystującej obcojęzyczne słownictwo, trzeba zaakceptować dość dużą liczbę słów, które są tzw. kalką językową. Wchodzą one na stałe do zasobu słów wykorzystywanych podczas opisywania uzyskanych wyników i ich interpretacji. O ile nie są one błędne i nie powodują zamieszania, to walka z nimi jest z góry skazana na porażkę, a Rada Języka Polskiego prędzej czy później pozwoli na ich warunkowe stosowanie. W trakcie analizy pracy natknąłem się jednak na kilka zwrotów, które wymagają komentarza:

- „**matryce środowiskowe**” – autor ma na myśli próbki środowiskowe; w sensie analitycznym próbki np. gleby mogą różnić się matrycą, zawierać więcej lub mniej np. materii organicznej. Zgodnie z definicją Encyklopedii PWN online: „matryca [niem. < łac.], w chemii analitycznej termin określający wszystkie składniki próbki analitycznej poza składnikiem oznaczanym, tj. analitem;” Niestety pojawiające się w języku angielskim słowo „matrix” jest równie błędnie wykorzystywane przez wielu autorów prac w zakresie nauk biologicznych.
- Podobnie nie powinno się nazywać mieszaniny mikroorganizmów „**konsorcjami**”, bez udowodnienia wzajemnych zależności, tak kluczowych w przypadku funkcjonowania prawdziwych konsorcjów. Najczęściej są to kultury mieszane lub społeczności bakteryjne.

Przeglądając bardzo uważnie pracę znalazłem nieistotne uchybienia, które podano poniżej:

str. 2 „...detektor masowy...” – raczej detektor mas

str. 25 „...ziarnistości) , które ... – chyba jedyne miejsce w pracy, w którym jest niepotrzebna spacja

str. 26 „Otrzymane w trackie ...” – literówka

Warto również bardziej zwrócić uwagę na sposób zapisu symbolu „%”. Zgodnie z wytycznymi Rady Języka Polskiego powołanej przez Prezydium Polskiej Akademii Nauk uchwałą nr 17/96 z dnia 9 września 1996 r. zalecana jest następująca reguła „zapisu oznaczeń wartości fizycznych i matematycznych: **między wartością liczbową a literowym oznaczeniem miary, czyli skrótem lub skrótowcem, stawiamy spację, natomiast między wartością liczbową a oznaczeniem miary za pomocą symbolu albo połączenia skrótu/skrótowca i symbolu spacji nie stawiamy**. Poprawny zapis to zatem: np. 5 proc., 5 m, 5 s, 20 V, 13 Ω, 7,5 rd, 10,5 rad, 98 Hz oraz 5% (nie: 5 %, choć: 5 proc.), 3‰ (nie: 3 ‰), 10°C (nie: 10 °C ani 10 ° C), 212°F (nie: 212 °F ani 212 ° F), 3' (nie: 3 ') , 35" (nie: 35 ") , 25g (nie: 25 g) itd.”

Ocena merytoryczna pracy doktorskiej

Przystępując do oceny pracy doktorskiej należy zwrócić uwagę na wzorowe rozeznanie Doktoranta w tematyce badawczej. Wśród cytowanych prac znajdują się głównie pozycje pochodzące z ostatnich kilku lat. Dla dokładności, w pierwszej publikacji na 35 pozycji, tylko 1 pozycja została opublikowana przed rokiem 2000. W drugiej publikacji na 60 pozycji nie ma ani jednej sprzed roku 2000, natomiast w trzeciej pracy, tylko jedna pozycja na 55 pochodzi sprzed roku 2000. Większość prac nie ma nawet 10 lat. Jest to także doskonałym potwierdzeniem faktu, że realizowane badania są nowatorskie i wpisują się w tematykę badawczą

realizowaną przez znane międzynarodowe ośrodki badawcze. Wśród autorów prac bez trudu można odnaleźć prominentne nazwiska liderów tego typu badań na świecie. W tym miejscu pragnę zauważyć, że Doktorant dokonał krytycznej selekcji, eliminując prace o nikomej wartości naukowej.

Wnikliwe studia literaturowe są kluczem do zaplanowania własnych badań w sposób umożliwiający opublikowanie przyszłych wyników w bardzo dobrych czasopismach. Badania nie mogą być odtwórcze i nie mogą bazować na znanych i opisanych już zależnościach. Szanse na publikację wyników w czasopismach takich jak *Bioresource Technology* czy *Journal of Hazardous Materials* mają tylko prace, które wnoszą elementy nowości naukowej, pozwalają na lepsze i pełniejsze zrozumienie analizowanych zagadnień naukowych. Muszą być także uniwersalne i pokazywać informacje ważne dla międzynarodowego środowiska naukowego. Aby to osiągnąć, prace powinny opierać się na bieżącym stanie wiedzy w danej tematyce wraz ze wskazaniem konkretnej niszy badawczej i uzasadnieniem dlaczego należy tę niszę eksplorować. Muszą w jasny sposób informować czytelnika co wiemy i co jeszcze należy przebadać. Wszystko to jest możliwe do zrealizowania pod warunkiem wnikliwych studiów literaturowych. Liczba cytowań opublikowanych prac w najlepszy sposób potwierdza, że Doktorant wraz z współautorami bardzo dobrze spełnił oczekiwania edytora i recenzentów, a prace zostały pozytywnie przyjęte przez międzynarodowe środowisko naukowe. Ponieważ trzecia praca wysłana do recenzji jest jakby naturalną kontynuacją zagadnień poruszonych w dwóch pierwszych publikacjach, nie powinno być większego problemu z opublikowaniem uzyskanych wyników.

Doktorant mając do dyspozycji bogato wyposażony warsztat badawczy, zaproponował wykorzystanie nowoczesnych technik do analizy procesu degradacji alkilofenoli przez wybrany szczep grzyba, również w obecności wybranych metali ciężkich. Ponadto wnikliwie opisał toksyczność produktów degradacji względem różnych organizmów referencyjnych. Co równie istotne, podjął próbę degradacji prawdziwych zanieczyszczeń w formie odcieku ze składowiska odpadów niebezpiecznych, przez co od badań modelowych o znaczeniu naukowym przeszedł do badań o znaczeniu praktycznym.

Podany w doktoracie cel badań jest czytelny i bardzo dobrze koresponduje z obecnym stanem wiedzy. Całościowo badania charakteryzują się wieloma elementami nowości naukowej, a analizy degradacji związków organicznych w obecności metali ciężkich posiadają znamiona nowatorstwa. Opis degradacji alkilofenoli, toksyczności powstałych związków pośrednich, włączenie metali ciężkich oraz końcowe eksperymenty z realnym zanieczyszczeniem wyraźnie pokazują, że badania są całościowo spójne. Nie jest to zbiór przypadkowych eksperymentów, ale zestaw dobrze zaplanowanych długoterminowych badań, które składają się na komplementarną wiedzę uzyskaną przez Doktoranta i zaprezentowaną w postaci publikacji.

Szczegółowa analiza załączonych prac badawczych wraz z autorskim komentarzem Doktoranta, nasunęła Recenzentowi pewne komentarze, sugestie i pytania:

- Strona 7 – „Fizykochemiczne metody usuwania i rozkładu ksenobiotyków charakteryzują się przeważnie wysokimi kosztami, generują toksyczne produkty uboczne oraz często prowadzą do powstawania intermediatów charakteryzujących się wyższą toksycznością od związków macierzystych (Oluwanasu, 2018).” – trudno zgodzić się z takim uproszczeniem, które niestety pojawia się bardzo często w publikacjach. Po pierwsze metody biologiczne są nieskuteczne w przypadku dużych stężeń ksenobiotyków i dlatego pierwszym etapem oczyszczania jest fizykochemiczna obróbka terenów czy wód, aby doprowadzić do zmniejszenia stężenia ksenobiotyków do poziomu optymalnego do prowadzenia dalszych procesów biologicznych. Dlatego też większość procesów bioremediacyjnych podzielona jest na procesy fizykochemiczne, a dopiero w drugiej części wykorzystuje się procesy biologiczne. Najlepszym przykładem jest oczyszczenie ścieków komunalnych. Jeżeli metody fizykochemiczne są drogie i nieskuteczne to dlaczego nikt ich nie wyeliminował? Archeolodzy do dziś pozyskują artefakty ze średniowiecznych latryn, gdzie nagromadzenie materii organicznej spowodowało, że wolne procesy beztlenowe przyczyniły się do świetnego zachowania wyrobów drewnianych, skórzanych, które w innych warunkach nie miałyby szansy przetrwania do naszych czasów. Analogicznie duże stężenia ksenobiotyków hamują tak bardzo tempo procesów biologicznych, że w cywilizacji nastawionej na szybkie efekty i generowanie zysków, oczekiwanie setek lat na oczyszczenie terenów po stacji benzynowej w centrum miasta nie ma sensu. Dlatego też łączy się metody, aby większość ksenobiotyków pozyskać za pomocą szybkich metod fizykochemicznych, które jednak nie pozwalają na całkowite wyeliminowanie ksenobiotyków przy zachowaniu dobrego stosunku ceny do wydajności. Im mniejsze stężenie ksenobiotyku, tym

takie oczyszczanie będzie droższe. Stąd też na poziomie niskich stężeń, najlepiej sprawdzają się metody biologiczne, które są tanie i szybkie – jednak co należy jeszcze raz podkreślić – stężenie ksenobiotyku musi być niskie. Optymalnym rozwiązaniem jest połączenie metod fizykochemicznych i biologicznych. To są rutynowe procedury stosowane przez wszystkie firmy zajmujące się oczyszczeniem środowiska. Niemożliwe i niewłaściwe jest więc porównywanie obu metod, bo każda z nich ma inny przedział skutecznego działania.

- Praca 1. Świetny wybór mikroorganizmu, gdyż większość publikacji podejmuje zagadnienie biodegradacji alkilofenoli przez szczepy bakterii. W rzeczywistości mikroorganizmy występujące w większości opisywanych nisz środowiskowych to nie tylko bakterie ale także grzyby. Taki wybór to jeden z elementów, które wnoszą nowość naukową i przyciągają uwagę naukowców do prac Doktoranta oraz pozwalają na wnikliwszy opis losów EDC w środowisku.
- Praca 1; Bardzo dobry tytuł i bardzo czytelny abstrakt. Wszystkie metody są doskonale opisane i pozwalają na pełne zaznajomienie się z realizacją badań. Zastanawiam się nad wykorzystaniem technicznego nonylofenolu w połączeniu z 97% 4-*tert*-oktylofenolem oraz 99% 4-kumylofenolem. Produkty techniczne to najczęściej frakcje technologiczne, stosowane w przemyśle, natomiast w przemyśle zajmującym się syntezą związków określanych jako **bulk chemicals**, rzadko stosuje się czyste substraty. W konsekwencji autor stosuje komercyjną mieszaninę różnych związków i porównuje ją do czystych związków. Nie jest to problem, ale warto było odnieść się do tej kwestii w dyskusji wyników wskazując wszelkie możliwe ograniczenia czy wyjaśniając ewentualny wpływ na uzyskane wyniki.
- Praca 1; Zdaniem recenzenta warto stosować zwroty takie jak „primary biodegradation”, biotransformation, mineralization. Autor pisząc: „*Study of the tested EDC's showed complete degradation of xenobiotics...*” wskazuje na fakt, że wyjściowy związek uległ całkowitej przemianie i nie obserwowano obecności tego związku w medium hodowlanym. Natomiast badania toksyczności pokazują, że powstały mniej toksyczne metabolity, ale nadal obserwowano ich wpływ: „*The biotests indicated that the biodegradation of all used pollutants by the fungus led to the formation of less-toxic derivatives*”. Gdyby związek uległ całkowitej biodegradacji, nie można by oznaczyć żadnej toksyczności, ponieważ „ultimate biodegradation” to w zasadzie „mineralization”, czyli pełna konwersja do CO₂. Dlatego takie zwroty są nie do końca precyzyjne. Ponadto nie należy zamiennie stosować terminów degradacja, biodegradacja ponieważ w wielu pracach degradacja jest zarezerwowana dla procesów fizykochemicznych, a biodegradacja dla procesów biologicznych. Najlepszym rozwiązaniem jest stosowanie jednorodnego słownictwa.
- Praca 1; Czy zastosowane stężenia EDC mają uzasadnienie środowiskowe czy raczej wynika one ze zdolności biodegradacyjnych wybranego mikroorganizmu? Jakie jest typowe stężenie wybranych EDC w osadach dennych a jakie w wodach powierzchniowych? Prosiłbym o rozwinięcie tej kwestii.
- Praca 1; Zdaniem Recenzenta warto byłoby przeprowadzić bilans masowy dla analizowanych EDC i wszystkich metabolitów pośrednich oraz wyznaczyć dla nich połowiczny okres biodegradacji. Tego typu dane pozwalają na ciekawe porównania zdolności badanego grzyba z innymi mikroorganizmami. Rozumiem doskonale, że idealnie całkowite zbilansowanie byłoby bardzo trudne i w zasadzie należałoby zastosować znakowane izotopowo związki, ale nawet prosta analiza intensywności sygnałów metabolitów w czasie pozwoliłaby na stwierdzenie, który metabolit jest najtrudniej rozkładany. Pozwoliło by to na zaproponowanie szlaku metabolicznego w postaci czytelnego rysunku, dzięki czemu opublikowane dane stały by się idealnym i łatwo czytelnym odnośnikiem dla innych badaczy, znacząco wpływając na cytowanie prac.
- Praca 2; Również bardzo dobry tytuł i bardzo czytelny abstrakt. Wszystkie metody są doskonale opisane i pozwalają na pełne zaznajomienie się z realizacją badań. Autorzy nie powielają typowego błędu jakim jest wprowadzanie specyficznych nazw własnych szczepów, które nie wnoszą dla międzynarodowego czytelnika nic, a mogą nawet powodować rozbawienie. Z punktu widzenia topowych czasopism, najważniejszą zaletą jest przeprowadzenie badań w układzie EDC i metale

ciężkie. Dzięki temu badania w większym stopniu odpowiadają rzeczywistej sytuacji środowiskowej, kiedy w ściekach jest wszystko, a nie tylko wybrany modelowy ksenobiotyk.

- Praca 2; „*In comparison to the results in the control medium, Pb(II) was the metal adsorbed by the mycelium in the highest proportion. ... was removed by chelation on the cell surface ... The strong biosorptive capability can be mostly assigned to the cationic properties Pb(II). In comparison to other heavy metals, the covalent index value of Pb(II) indicates its greater potential to form covalent bonds with biological functional groups present on the cell surface.*” – rozumiem informację jaką chce przekazać Doktorant ale ta kwestia wymaga jednak pewnego uściślenia. Bardzo często do badań autorzy prac biologicznych wybierają ołów w postaci soli zawierających rozpuszczalne kationy Pb^{2+} i porównują wyniki do innych metali ciężkich takich jak Ni czy Zn, Cu itp. Właściwości ołowiu powodują, że jego mobilność jest bardzo mała. Jest najmniejsza ze wszystkich typowych metali ciężkich. Widać to po kilkusetletnich hałdach kopalnianych, z których wymywane są różne metale. O ile związki arsenu, miedzi, cynku mogą dość swobodnie się przemieszczać, o tyle związki ołowiu wykazują dużo mniejszą mobilność. Przede wszystkim ołów wiąże się z nieorganicznymi elementami gleby takimi jak glinokrzemiany, tlenki żelaza, manganu czy glinu ale również z materią organiczną. Chelatowanie dotyczy związków organicznych, które muszą odpowiednimi grupami otoczyć kation metalu. Zaprezentowany opis oddziaływania Pb na badany układ jest nie do końca jasny, jakby autor chciał za dużo informacji skumulować w jednym miejscu, przez co nakłada się kompleksowanie z tworzeniem nierozpuszczalnych soli organicznych. Oczywiście wszystkie te mechanizmy mogą się nakładać, ale opisane powinny być osobno. Dopiero na końcu opisu można dokonać podsumowania.
- Praca 2; Zakładając, że wybrane EDC są alkilofenolami, wykazują właściwości kwasowe jako zdolność do odszczepiania protonu i stabilizację wytworzonych anionów poprzez odpowiednie alkilofenolany. Istnieje zatem możliwość tworzenia odpowiednich soli z kationami metali ciężkich. Czy zdaniem Doktoranta możliwe jest wytworzenie w ten sposób nierozpuszczalnej soli ołowiu? W ten sposób doszłoby do równoczesnego spadku stężenia ołowiu i odpowiedniego alkilofenolu. Podobny mechanizm opisano w odniesieniu do jonów Cu w pracy: Copper interacts with nonylphenol to cancel the effect of nonylphenol on fish chemosensory behavior, *Aquatic Toxicology*, 2013, <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.08.010> Proszę o przedyskutowanie tego zagadnienia.
- Praca 3; Bardzo czytelny abstrakt. Nie do końca jestem przekonany czy zwrot „*battery of biotests*” w tytule jest najlepszym wyborem, gdyż nie jest to typowy zwrot wykorzystywany w języku angielskim, a bardziej wyrażenie funkcjonujące w niewielkim stopniu w międzynarodowym środowisku naukowym. Pragnę jednak podkreślić, że nie będąc zagorzałym fanem tego typu testów, dostrzegam, że są zaplanowane w bardzo komplementarny sposób przez co pozyskana finalnie informacja jest bardzo wnikliwa i posiada istotne walory poznawcze. Niestety najczęściej autorzy innych prac wybierają 2-3 testy i zakładają, że uzyskane wyniki są wartościowe i ostatecznie zamykają wszystkie kwestie, a w rzeczywistości nie pokazują nic. Dlatego bardzo doceniam, że zaplanowane w tej pracy testy są spójne i wzajemnie się uzupełniają. Dostrzegam w tym element pozytywnie zwiększający szanse na opublikowanie niniejszej pracy w wiodącym czasopiśmie naukowym.
- Praca 3; Drugim elementem w pływającym na wartość poznawczą publikacji są badania dotyczące zdolności analizowanego grzyba do wzrostu w rzeczywistych układach zanieczyszczeń. Można prowadzić wiele badań stosując układy modelowe ale dopiero wykorzystanie prawdziwych próbek ścieków pozwala na wstępną weryfikację potencjalnych zdolności mikroorganizmów do komercyjnych zastosowań. Oczywiście jest to dopiero pierwszy krok, ale z punktu widzenia komplementarności przedstawionych w niniejszym doktoracie badań, niezmiernie istotny. Wybrana próbka jest optymalnie dobrana i aż prosi się o kontynuację badań w skali pół-technicznej.
- Prace 1, 2 i 3; Warto podkreślić, że Doktorant prowadzi dojrzałą dyskusję naukową opierając się wyłącznie na faktach. W żadnym momencie nie spekuluje i nie wykazuje tendencji do nadinterpretowania uzyskanych danych. Liczą się tylko fakty potwierdzone naukowo. Chciałbym w szczególności sposób zasygnalizować ten fakt, gdyż zasługuje on na wyróżnienie.

Po wnikliwym zapoznaniu się z pracą doktorską należy wyróżnić bardzo duży wkład własnej pracy Doktoranta. Należy podkreślić, że jest to praca przemyślana, wymagająca umiejętności praktycznych, oraz doskonale zinterpretowana. Jest to również bardzo dobra praca doktorska zrealizowana w formie zbioru publikacji opatrzonej komentarzem autorskim. Pomimo pewnych uwag i sugestii bardzo wysoko oceniam ją pod względem merytorycznym i wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o jej wyróżnienie.

Uzasadnienie wyróżnienia

W niniejszej pracy doktorskiej należy w sposób szczególny zwrócić uwagę na następujące kwestie:

- doskonałe przygotowanie merytoryczne Doktoranta w obrębie tematyki badawczej i zaangażowanie w prowadzenie eksperymentów, czego dowodem jest pozycja Doktoranta jako pierwszego autora we wszystkich pracach. Ponadto 2 prace zostały opublikowane w wiodących czasopismach tj. *Bioresource Technology* i *Journal of Hazardous Materials*
- celny wybór celu pracy wraz z późniejszym wykorzystaniem nowoczesnych technik badawczych co przekłada się na wiele elementów nowości naukowej oraz w pewnym zakresie również nowatorstwa; Nie ma szans aby w wymienionych wyżej czasopismach przyjęto prace, które opierałyby się na starych metodach badawczych i/lub prezentowały powszechnie znane fakty i ogólnie dostępną wiedzę.
- merytoryczna i dojrzała dyskusja naukowa poparta we wzorowy sposób własnymi wynikami badań, czego dowodem jest bardzo dobre przyjęcie opublikowanych prac przez międzynarodowe środowisko naukowe i widoczne cytowanie obu prac
- komplementarność wszystkich prac wchodzących w zakres doktoratu, dzięki czemu doktorant rozwinął się naukowo, rozwinął warsztat badawczy. Doktorant rozumie i płynnie porusza się w problematyce będącej przedmiotem badań. Wykorzystuje specjalistyczne i aktualne źródła informacji, potrafi planować i prowadzić badania naukowe. Posiada zdolność do interpretacji uzyskanych wyników oraz krytycznej analizy. Bez tych elementów, prace byłyby niespójne a czasem nawet wewnętrznie sprzeczne.

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe aspekty, które składają się na bardzo dobrą, nowoczesną pracę doktorską, wnoszącą dużo elementów nowości naukowej do nauk biologicznych, wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy.

Wniosek końcowy

Analizując niniejszą pracę doktorską pod kątem aktualności i oryginalności podjętych badań można z całą pewnością stwierdzić, że Autor z sukcesem odnalazł swoją niszę badawczą, a zrealizowane przez Niego badania będą interesujące dla szeregu naukowców zainteresowanych biodegradacją EDC.

Reasumując, przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską mgr Tomasza Janickiego pt. „**Eliminacja i detoksykacja wybranych związków fenolowych oraz jonów metali ciężkich z wykorzystaniem grzyba strzępkowego *Umbelopsis isabellina***” oceniam bardzo pozytywnie oraz stwierdzam, że spełnia ona wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim procedowanym na podstawie Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U z 2003 r., Nr 65 poz. 595 z późn. zm.). Ponadto, praca stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego oraz wykazuje niezbędną ogólną wiedzę teoretyczną Autora i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej dlatego wnoszę o dopuszczenie mgr Tomasza Janickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



prof. dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski