



**Prof. dr hab. inż. Katarzyna Chojnacka**

Katedra Zaawansowanych Technologii Materiałowych

Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław

tel. +4871-3204325, fax. +4871-3203469; e-mail: [katarzyna.chojnacka@pwr.edu.pl](mailto:katarzyna.chojnacka@pwr.edu.pl)

Wrocław, 24.01.2023

## **RECENZJA**

### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Bachosz pt. „Reaktywna konwersja składników biomasy z równoczesną regeneracją kofaktora enzymatycznego”**

*Podstawa opracowania recenzji:*

*Pismo prof. Ewy Kaczorek - Dziekan Wydziału Technologii Chemicznej*

*Politechniki Poznańskiej*

*z dn. 20.12.2022 w sprawie wykonania oceny rozprawy doktorskiej*

#### **1. Ogólna charakterystyka pracy**

Pani mgr inż. Karolina Jarosz wykonała pracę doktorską pod opieką prof. dra hab. inż. Teofila Jesionowskiego i dra hab. inż. Jakuba Zdarty (promotor pomocniczy). Pracę wykonano na Wydziale Technologii Chemicznej PP. Ośrodek naukowy, w którym została zrealizowana praca jest cenionym w Polsce i renomowanym w skali świata miejscem wykonywania badań w obszarze innowacyjnych technologii materiałowych. Praca doktorska została zrealizowana w ramach Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich NanoBioTech. Rozprawa została wykonana w formie przewodnika po publikacjach, co jest zgodne z „Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595)”.

Kandydatka do stopnia naukowego doktora jest współautorką 14 publikacji z listy JCR, 3 rozdziałów w książkach oraz 1 zgłoszenia patentowego. Wygłaszała 11 referatów oraz prezentowała 20 posterów na zjazdach krajowych i międzynarodowych. Ponadto odbyła 4 staże naukowe o długości 6; 3 i 1,5 miesięcy oraz kilku tygodni. Łącznie, wg bazy Scopus, prace Pani Karoliny cytowano 151 razy, a współczynnik H-index wynosi 7. Są to bardzo dobre wskaźniki bibliometryczne bardzo młodego naukowca.

Rozprawę przygotowano w formie zbioru publikacji jednotematycznych, o wiodącym udziale Doktorantki. Jest to zgodne z zapisami „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595). Cykl publikacji jest poświęcony otrzymywaniu, charakterystyce oraz aplikacji układów zawierających koimmobilizowane enzymy. Łączna wartość współczynnika IF tych prac wynosi 26,34 (liczba punktów MEiN 390). Prace te ukazały się w latach 2019-2022. Do rozprawy załączono oświadczenia współautorów, z których wynika, dominujący wkład Doktorantki. We wszystkich 5 publikacjach mgr K. Bachosz jest pierwszym autorem. Artykuły te ukazały się w następujących czasopismach (wszystkie z listy JCR): *Bioorganic Chemistry* (2 prace) (IF 5,307), *Bioresource Technology Reports*, *Journal of Environmental Chemical Engineering* (7,968), *Environmental Technology & Innovation* (7,758). Publikacje te dotyczą następujących zagadnień:

1. Biokonwersja ksylozy do kwasu ksylonowego poprzez koimmobilizowane dehydrogenazy w celu regeneracji sprzężonych kofaktorów.
2. Wysoce efektywne podejście do regeneracji kofaktorów i późniejszego membranowego rozdzielania produktów biokonwersji: parametry kinetyczne i wpływ warunków procesu.
3. Enzymatyczny reaktor membranowy w biokonwersji ksylozy z jednoczesną regeneracją kofaktorów.
4. Nowatorska strategia wykorzystania kwasu lewulinowego z jednoczesną regeneracją NAD<sup>+</sup> i separacją membranową produktów.
5. Multienzymatyczna konwersja monosacharydów z biomasy brzozy po obróbce.

Pomimo, że prace te ukazały się w ostatnich 3 latach, już są cytowane. Odpowiednio: 7, 3, 3, 0, 0 razy, co daje łączną liczbę cytowań: 13.

Tematem, który Doktorantka realizowała, była próba opracowania efektywnej metody enzymatycznej dla waloryzacji odpadów celulozowych oraz hemicelulozowych. Jest to ważne i aktualne zagadnienie, związane z koniecznością odzysku materiałów, zwłaszcza w świetle poważnego kryzysu surowcowego. O ile inne materiały pochodzące z biomasy mogą być z powodzeniem waloryzowane np. na biostymulatory wzrostu roślin, czy nawozy (hydroliza białka do aminokwasów), wobec waloryzacji materiałów celulozowych, które generowane są w ogromnej ilości (jako np. odpady ogrodnicze: liście, gałęzie), brak obecnie ekonomicznie opłacalnej i

możliwej do wdrożenia metody waloryzacji tych surowców. Z tego powodu badania przedstawione w rozprawie doktorskiej stanowią aktualne i nowatorskie rozwiązanie. W tym celu wybrano enzymy dehydrogenazy (glukozy, ksylozy) wraz z kofaktorami, których rola polega na wspomaganie reakcji poprzez przenoszenie elektronów w układzie enzym - substrat. Ze względu na wysokie koszty procesów enzymatycznych oraz potrzebę uzupełniania kofaktorów, w pracy doktorskiej podjęto nową tematykę regeneracji kofaktorów w połączeniu z immobilizacją enzymów. W pracy wykorzystano dehydrogenazy koimmobilizowane z wykorzystaniem nieorganicznych nośników, z zastosowaniem membran filtracyjnych. Dzięki temu uzyskano efekt jednoczesnej konwersji substratów i regeneracji kofaktora na wybranym nośniku. Dobrano parametry prowadzonego procesu immobilizacji, dokonano wyboru nośnika, potwierdzono jego efektywność. Uzyskane w ten sposób biokatalizatory poddano weryfikacji poprzez biokonwersję monocukrów przy regeneracji kofaktora (dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego). Dokonano separacji produktów reakcji enzymatycznej przy użyciu membran oraz scharakteryzowano potencjalną utratę aktywności enzymu w kolejnych cyklach. Wartością pracy jest prowadzenie konwersji w roztworach rzeczywistych.

Przedłożona do oceny praca wnosi nowy i istotny wkład w praktyczne aspekty aplikacji technik bazujących na zastosowaniu biokatalizatorów w konwersji biomasy i jej składników. Stwierdzam, że zgodnie z wymogiem Ustawy, przedłożone publikacje stanowią monotematyczny i jednolity cykl publikacji naukowych, a Doktorantka jest wiodącym autorem.

## **2. Ocena formalna i merytoryczna pracy**

Przedstawiona do oceny rozprawa składa się łącznie z 218 stron. Pierwsze strony to lista publikacji oraz streszczenie pracy w j. polskim i angielskim. Pracę rozpoczyna przegląd piśmiennictwa, następnie sformułowano cel, zakres oraz hipotezy pracy. Wprowadzenie teoretyczne to obszerny rozdział obejmujący 40 stron, w którym Autorka opisuje w sposób wyczerpujący stan wiedzy w obszarze konwersji biomasy lignocelulozowej, immobilizacji enzymów, selekcji nośnika i efektywności immobilizacji enzymów. Zawiera opis koimmobilizacji enzymów, kofaktorów enzymatycznych. Kolejny rozdział, napisany zresztą w bardzo interesujący sposób to „Idea poznawcza i cel pracy”. Autorka wskazuje na lukę w aktualnym stanie wiedzy i definiuje, w jaki sposób tę lukę wypełnić. Doprowadziło to w sposób logiczny do

sformułowania celu oraz szczegółowo opisanego zakresu pracy. **Rozdział ten może być wzorem dla innych prac doktorskich.** Następną sekcję poświęcono opisowi i dyskusji wyników. Autorka kolejno charakteryzuje osiągnięcia naukowe kolejnych 5 publikacji. Pracę kończy rozdział „Podsumowanie i wnioski”, w którym streszczono uzyskane wyniki. I tu drobna uwaga: sugerowałabym na przyszłość oddzielne przedstawienie wniosków. **Kolejnym ważnym i potrzebnym rozdziałem, który w przyszłości powinien stać się standardem w rozprawach doktorskich są „Perspektywy rozwoju badań”, w którym Doktorantka przedstawia plany badawcze i kierunki rozwoju opracowanej techniki, która zmierzałaby do aplikacji w przyszłości.** Na końcu rozprawy zamieszczono spis publikacji stanowiących jednolity i monotematyczny cykl.

**Nowość** rozprawy doktorskiej polega na tym, że otrzymano układy enzymatyczne z grupy oksydoreduktaz (dehydrogenazy), które poddano koimmobilizacji na nieorganicznych nośnikach oraz membranach. Dzięki temu uzyskano efekt jednoczesnej konwersji komponentów biomasy oraz regeneracji kofaktora enzymu. Zaproponowano metodę konwersji odpadowej biomasy lignocelulozowej do produktów użytkowych: monosacharydów (glukozy i ksylozy), które mogą być surowcem do otrzymywania związków chemicznych. *Jest to podejście użyteczne dla nowo rozwijanej koncepcji biorafinerii, czyli rafinerii przyszłości. W biorafineriach surowcem byłaby biomasa (w odróżnieniu od ropy naftowej) i z udziałem różnorodnych procesów jednostkowych zlokalizowanych na terenie jednego zakładu mogłoby być możliwe uzyskanie szerokiej gamy produktów chemicznych i biochemicznych, stanowiących surowiec dla gospodarki. Temat pracy idealnie wpisuje się w tę koncepcję.*

Problemem, jaki Doktorantka podjęła się rozwiązać w niniejszej pracy, a stanowi obecnie barierę dla aplikacji procesów enzymatycznych w praktyce jest obniżenie aktywności katalitycznej enzymów i stabilności mechanicznej, co prowadzi do zmniejszenia możliwości ponownego wykorzystania enzymów. Ograniczeniem jest również konieczność stosowania kofaktorów, których rola polega na zwiększeniu aktywności katalitycznej, a które zużywają się, co istotnie zmniejsza efektywność ekonomiczną procesu. **Efektom nowości**, uzyskanym w ocenianej pracy doktorskiej jest zwiększenie potencjału użytkowego enzymów poprzez ich immobilizację i koimmobilizację. To właśnie stanowiło hipotezę tej pracy: koimmobilizowane enzymy mogą w sposób efektywny prowadzić konwersję biomasy i dzięki temu możliwe jest

uzyskanie użytkowej formy produktu. A zrealizowane jest to dzięki jednoczesnej regeneracji enzymu i kofaktora. Istotną luką, którą wypełnia ta praca jest obecny brak rozwiązań praktycznych, które zwiększyłyby sprawność operacyjną i stabilizację enzymu, jak również podnosiłyby efektywność przemian. W pracy scharakteryzowano możliwość równoczesnej konwersji składników biomasy oraz regeneracji kofaktora enzymów. Należy przy tym podkreślić, że w dostępnej literaturze brak jest doniesień naukowych o koimmobilizacji białek oraz zastosowaniu ich w konwersji.

O bardzo dobrej znajomości tematu świadczy publikacja przeglądowa, która ukaże się w kwietniu 2023 w czasopiśmie *Science of The Total Environment* (868, 2023, 161630) *Review Enzymatic cofactor regeneration systems: A new perspective on efficiency assessment*, Karolina Bachosz, Jakub Zdarta, Muhammad Bilal, Anne S.Meyer, Teofil Jesionowski, w której Doktorantka jest pierwszym Autorem. Praca ta stanowi świetne uzupełnienie rozprawy.

### 3. Uwagi ogólne i szczegółowe

Praca jest napisana bardzo starannie. Warsztat naukowo-badawczy oraz poziom naukowy wyników został już wcześniej oceniony przy okazji publikowania prac w renomowanych czasopismach. Bardzo podoba mi się Tabela 11, w której Autorka w sposób usystematyzowany porównuje wyniki uzyskane w 5 pracach stanowiących rozprawę.

Mam 3 bardzo drobne uwagi, które w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości tej pracy i raczej stanowią uwagi na przyszłość.

1. Sugeruję rozdzielenie rozdziału „Podsumowanie i wnioski”.
2. Zdarzyło się kilka niezręcznych sformułowań, np. „Jednakowoż”.
3. Zapytanie do dyskusji na obronę: w jakim stopniu opracowana metoda może w przyszłości znaleźć zastosowanie praktyczne? Czy Autorka podjęła próbę oszacowania kosztów prowadzenia tego procesu i opłacalności ekonomicznej całego przedsięwzięcia? Oczywiście przychodem byłyby opłaty za odbiór odpadów i wytworzone komercyjnie użyteczne produkty (monosacharydy). Czy koszty procesu (enzym, kofaktor), skompensują te przychody?

Przedstawione powyżej uwagi i zapytania nie podważają **ogólnej bardzo pozytywnej oceny pracy**. Stanowią zagadnienia związane z dalszym kierunkiem wykorzystania rezultatów opisanych w rozprawie i ich użyteczności dla gospodarki.

Mgr inż. Karolina Bachosz podjęła w swej rozprawie ważne zagadnienia w zakresie zwiększenia użyteczności procesów enzymatycznych w waloryzacji odpadów lignocelulozowych na monosacharydy. Szczególną uwagę poświęcono immobilizacji enzymów i regeneracji kofaktora. Przedstawione w pracy wyniki doświadczalne stanowią użyteczny materiał, który może zmierzać do zastosowań również w biorafineriach. Niniejsza praca stanowi również modelowe i wzorcowe podejście do pracy doktorskiej, w której szczegółowo przedstawiono luki i potrzeby do przeprowadzenia badań, co stało się podstawą do sformułowania hipotez badawczych. Tematyka dysertacji jest aktualna, gdyż obecnie poszukuje się surowców alternatywnych, odnawialnych i technologii zużywających niewielkie ilości energii.

#### **4. Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę zakres badań, przyjętą metodologię oraz sposób opracowania wyników mgr inż. Karoliny Bachosz pt. „Reaktywna konwersja składników biomasy z równoczesną regeneracją kofaktora enzymatycznego”, stwierdzam że Doktorantka wykazała się umiejętnościami samodzielnego planowania i wykonywania badań. Korzystała przy tym z nowoczesnych technik badawczych. Badania te dały podstawę do opracowania nowego podejścia do procesów enzymatycznych stosowanych w waloryzacji odpadowej biomasy i z pewnością przyczynią się do zwiększenia ich opłacalności.

**Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia ustawowe wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora, określone Ustawą o stopniach i tytułach naukowych – uwzględnione w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Poznańskiej o nadanie Pani mgr inż. Karolinie Bachosz stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne. Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzając wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę. Podjęta tematyka jest aktualna i ma potencjał aplikacyjny. Ponadto biorąc pod uwagę**

dorobek Kandydatki oraz bardzo wysoką jakość naukową przedłożonej do oceny rozprawy, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Krzysztof Chyba