

Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz
Katedra Mikrobiologii, Instytut Biologii
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Lwowska 1, 87-100 Toruń
Tel. +48 (56) 611-25-40
E-mail: hrynk@umk.pl

Toruń 30.12.2022

Podstawa formalna opinii

Opinia została sporządzona dla Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne zgodnie z decyzją podjętą na posiedzeniu w dniu 22 listopada 2022 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Marty Nowak-Lange

p.t. „Mikrobiologiczna eliminacja oraz toksyczność środowiskowa metyloizotiazolinonu i chloroksylenolu”

w postępowaniu dotyczącym nadania stopnia naukowego doktora
w dyscyplinie nauki biologiczne

Recenzja została przygotowana w oparciu o wymogi określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce oraz stanowisko recenzenta w sprawie dopuszczenia mgr Marty Nowak-Lange do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

1. Opis ogólny

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Nowak-Lange została napisana pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Lisowskiej (promotor) oraz dr Katarzyny Niedziałkowskiej (promotor pomocniczy) w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Badania naukowe zaprezentowane w rozprawie doktorskiej mgr M. Nowak-Lange zostały sfinansowane z dotacji na działalność polegającą na prowadzeniu badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich, projekt: *Mikrobiologiczna degradacja związków z grupy Personal Care Products (PCPs)* (rok realizacji 2019; kod projektu: B1911000002157.02; kierownik projektu: Marta Nowak-Lange). Swoje badania doktorantka prowadziła przy współpracy z Zakładem Biochemii Medycznej Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Struktura pracy jest zgodna z ogólnymi zasadami i wymogami stawianymi rozprawom doktorskim i składa się z trzech spójnych tematycznie prac naukowych opublikowanych w renomowanych i wysoko punktowanych czasopismach naukowych, które ukazały się w latach 2020-2022: (P-1) *Chemosphere*, 254: 126723 (IF₂₀₂₀ = 7.086; MEiN = 140) [<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126723>]; (P-2) *International Journal of Molecular Science*, 22(9): 4360 (IF₂₀₂₁ = 6.208; MEiN = 140) [<https://doi.org/10.3390/ijms22094360>]; (P-3) *Scientific Reports*, 12: 19068 (IF₂₀₂₁ = 4.997; MEiN = 140) [<https://doi.org/10.1038/s41598-022-22981-9>]. Sumaryczny IF powyższych prac wynosi 18.291, natomiast łączna liczba punktów MEiN 420. W skład rozprawy doktorskiej wchodzi również jeden manuskrypt (P-4), który na dzień złożenia rozprawy doktorskiej znajdował się w trakcie recenzji w czasopiśmie *International Journal of Molecular Science* (IF = 6.208; MEiN = 140), a który w dniu przygotowywania recenzji ma status zaakceptowanej publikacji. We wszystkich tych publikacjach Pani mgr M. Nowak-Lange jest pierwszym autorem, co wskazuje na jej wiodącą rolę w prowadzeniu eksperymentów, analizie danych oraz wyszukiwaniu odpowiedniej literatury i pisaniu manuskryptów. Potwierdzają ten fakt oświadczenia dołączone do pracy doktorskiej.

W rozprawie doktorskiej, poza wymienionymi powyżej pracami naukowymi, zamieszczono dodatkowo takie rozdziały jak: Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników, Wnioski i stwierdzenia końcowe oraz Streszczenia w języku polskim i angielskim. Autorka zamieściła również w rozprawie informacje dotyczące finansowania badań oraz całkowitego dorobku naukowego, co pozwala ocenić ogólny rozwój i ukierunkowanie badań naukowych Doktorantki, jak również spis literatury i oświadczenia współautorów.

Głównym celem pracy doktorskiej była analiza wybranych związków z grupy konserwantów - metyloizotiazolinonu (MIT) i chloroksylenolu (PCMX) - stosowanych w produktach ochrony indywidualnej (ang. *personal care products, PCPs*), pod kątem poszukiwania efektywnych metod ich mikrobiologicznej eliminacji i detoksykacji, jak również ocena ich ryzyka toksykologicznego wobec organizmów wodnych i glebowych. Szczegółowe cele pracy zostały przez Doktorantkę przedstawione w formie pięciu punktów (str. 14), które pozwoliły w sposób jasny i odnoszący się do poszczególnych prac naukowych zawartych w rozprawie, określić zakres badań naukowych podjętych w rozprawie.

W rozdziale poświęconym podsumowaniu metodyki badawczej Doktorantka przygotowała Tabelę, w której wymieniła najważniejsze techniki zastosowane podczas realizacji pracy doktorskiej oraz zakres ich zastosowania w realizacji poszczególnych etapów

doświadczeń (str. 16-17). Wymienione metody badawcze zostały dobrane przez Doktorantkę prawidłowo i prezentują bardzo szeroki wachlarz technik, które pozwoliły na szczegółową analizę i wyjaśnienie podjętego w pracy doktorskiej problemu naukowego, np. (i) chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS, HPLC-MS/MS; (ii) chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas GC-MS; (iii) testy toksykologiczne typu Toxkit; (iv) analizy spektrofotometryczne.

Wstęp do wyników badań stanowi praca przeglądowa opisująca występowanie, toksyczność oraz mikrobiologiczną degradację wybranych konserwantów kosmetycznych. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań opisane zostały szczegółowo i przedyskutowane w 3 publikacjach naukowych.

2. Znaczenie i aktualność zagadnień zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej

W ostatnich latach obserwowany jest masowy wzrost stosowania w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym nowych i potencjalnie niebezpiecznych dla zdrowia ludzi i środowiska substancji organicznych, określanych jako „*contaminants of emerging concern (CECs)*”. Należą do nich m.in. konserwanty, czyli środki przeciwdrobnoustrojowe, wykorzystywane w produktach ochrony indywidualnej (ang. *personal care products, PCPs*), których produkcja znacznie wzrosła w związku np. z pandemią COVID19. Związki te mogą charakteryzować się wysoką aktywnością biologiczną, potencjałem do bioakumulacji w środowisku oraz niską podatnością na degradację. Prowadzone badania wskazują, że niektóre środki konserwujące mogą mieć szkodliwy wpływ nie tylko na zdrowie konsumentów ale również na środowisko. W aspekcie cały czas rosnącego zapotrzebowania na kosmetyki oraz środki stosowane do dezynfekcji, poszukiwanie efektywnych metod eliminacji i detoksykacji tego typu zanieczyszczeń jest jednym z kluczowych problemów nad którym należy się pochylić w badaniach naukowych. Doktorantka w swojej pracy doktorskiej badała dwa związki, które mogą być stosowane w przemyśle jako konserwanty: (1) chloroksylenol (4-chloro-3,5-dimetylofenol; PCMX) - wykorzystywany w takich produktach jak płyny do dezynfekcji, mydła w płynie i roztwory stosowane w szpitalach do odkażania narzędzi chirurgicznych oraz (2) metyloizotiazolinon (2-metylo-4-izotiazolin-3-on, MIT) - powszechnie wykorzystywany w szamponach, odżywkach do włosów oraz żelach pod prysznic i chemii gospodarczej. Warto w tym miejscu podkreślić, że doniesienia literaturowe dotyczące występowania PCMX i MIT w środowisku naturalnym oraz ich mikrobiologicznej degradacji są bardzo ograniczone, co wskazuje na pilną potrzebę podejmowania badań naukowych i działań, które pozwolą ocenić ryzyko ich występowania dla ekosystemów oraz będą zmierzały do zmniejszenia ilości tych zanieczyszczeń w środowisku. Przeprowadzone przez Doktorantkę szeroko zakrojone eksperymenty oraz uzyskane wyniki w istotnym stopniu poszerzają wiedzę naukową w tym temacie, a w przyszłości mogą w znaczącym stopniu wpłynąć na opracowanie nowatorskich technologii związanych z mikrobiologiczną degradacją konserwantów stosowanych w kosmetykach.

3. Najważniejsze wyniki pracy doktorskiej przedstawione w publikacjach naukowych i ich znaczenie

Do najważniejszych osiągnięć zaprezentowanych w pracy doktorskiej Pani mgr M. Nowak-Lange zaliczam:

- i. Przygotowanie doskonałej pracy przeglądowej, która wprowadza do tematu związanego realizacją projektu doktorskiego. W pracy tej przedstawiono rysunki oraz tabele podsumowujące aktualny stan wiedzy w zakresie stosowanych do tej pory konserwantów. Praca oparta została o 168 pozycji literaturowych w tym temacie. Na podstawie tego opracowania naukowego Doktorantka wykazała, że metyloizotiazolinon (MIT) oraz chloroksylenol (PCMX) należą do najmniej poznanych konserwantów stosowanych w przemyśle.
- ii. Wyselekcjonowanie z dostępnej kolekcji szczepu grzyba *Phanerochaete chrysosporium* DSM 1556, który charakteryzował się największą wydajnością w usuwaniu MIT z podłoża wzrostowego oraz potwierdzenie zdolności tego drobnoustroju do eliminacji testowanego ksenobiotyku.
- iii. Wykazanie, że szczepy *Trametes versicolor* IM 373 oraz *Cunninghamella elegans* IM 1785/21GP są zdolne do eliminacji około 75% chloroksylenolu (PCMX) z podłoża wzrostu i określenie mechanizmów biodegradacji PCMX przez te szczepy.
- iv. W pracy doktorskiej po raz pierwszy zidentyfikowano metyloizotiazolinon (MIT) w próbkach ścieków oraz gleb pobranych z różnych regionów w Polsce.
- v. Przeprowadzenie oceny toksyczności chloroksylenolu i jego metabolitów wobec bezkręgowców *Daphnia magna* oraz roślin *Lepidium sativum* i *Sorghum saccharatum*.
- vi. Wykonanie analizy toksyczności środowiskowej metyloizotiazolinonu (MIT) oraz chloroksylenolu (PCMX) wobec bakterii glebowych *Pseudomonas putida* DSM 291, *Pseudomonas moorei* DSM 12647, *Sphingomonas mali* DSM 10565 i *Bacillus subtilis* DSM 3657.

Przedstawione w pracy doktorskiej wprowadzenie i podsumowanie najważniejszych wyników zostało napisane w sposób zwięzły i niezwykle interesujący. Doktorantka wskazała najważniejsze problemy, które skłoniły ją do podjęcia badań naukowych w tym kierunku oraz podsumowała swoje najważniejsze osiągnięcia, odnosząc je do dostępnych danych literaturowych. Liczba pozycji literaturowych wykorzystana do przygotowania wstępu i podsumowania uzyskanych w rozprawie wyników nie jest długa, liczy 25 pozycji, jednak perfekcyjnie dopasowana do podjętego tematu badawczego i aktualna. Większość cytowanych prac została opublikowana niedawno, w uznanych specjalistycznych czasopismach naukowych.

4. Ogólny dorobek naukowy Doktorantki

Poza publikacjami stanowiącymi część rozprawy doktorskiej, Doktorantka była współautorką czterech innych prac naukowych opublikowanych w renomowanych i wysoko punktowanych czasopismach. Podsumowanie dokonane w pracy doktorskiej wskazuje, że ogólny dorobek naukowy Doktorantki na dzień złożenia pracy wynosi: $IF_{\Sigma} = 46,917$, $h = 4$, $MEiN = 1040$, przy liczbie cytowań 37. Pani mgr M. Nowak-Lange była również współautorką 18 doniesień konferencyjnych i uczestniczyła w organizacji 3 konferencji naukowych. Była współorganizatorką licznych warsztatów popularyzujących naukę, zaś od roku 2017 jest opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Biotechnologiczno–Mikrobiologicznego „Bio-Mik”. Ogromny zakres prac badawczych opisanych w rozprawie oraz udział Doktorantki w dodatkowych aktywnościach wskazuje na jej ogromne zaangażowanie w podejmowaniu nowych wyzwań naukowych.

5. Podsumowanie

Podsumowując, praca doktorska mgr M. Nowak-Lange stanowi zbiór oryginalnych prac przedstawiających niezwykle ważny i aktualny problem naukowy związany z występowaniem w środowisku trudno biodegradowalnych konserwantów stosowanych w produkcji kosmetyków. Zaplanowane w trakcie realizacji projektu doktorskiego eksperymenty przeprowadzono przy użyciu zróżnicowanych technik, które pozwoliły na uzyskanie niezwykle precyzyjnych i wartościowych wyników badań, które zostały bardzo dokładnie przeanalizowane i omówione w publikacjach naukowych stanowiących część pracy doktorskiej. Przegląd aktualnej literatury naukowej w tym temacie został zaprezentowany w pracy przeglądowej stanowiącej doskonale wprowadzenie do tematu badań. Rozprawa doktorska została poprawnie przygotowana pod względem redakcyjnym.

6. Uwagi i pytania

- (i) W polskim opracowaniu pracy nie przedstawiono głównych hipotez. W mojej opinii jest to ważny element pozwalający podsumować wszystkie części składowe prac badawczych zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej. Czy wszystkie pierwotne założenia zostały zrealizowane?
- (ii) Jakie kryteria zostały zastosowane w doborze szczepów bakterii glebowych *Pseudomonas putida* (DSM 291), *Pseudomonas moorei* (DSM 12647), *Sphingomonas mali* (DSM 10565) and *Bacillus subtilis* (DSM 3657) wykorzystanych do oceny toksyczności środowiskowej metyloizotiazolinonu (MIT) i chloroksylenolu (PCMX)?
- (iii) Czy wyselekcjonowane i zbadane w pracy grzyby zdolne do rozkładu MIT i PCMX mogą być zastosowane w technologiach umożliwiających degradację konserwantów występujących w środowisku?
- (iv) Czy na podstawie otrzymanych wyników, które pozwoliły oznaczyć występowanie konserwantów w środowisku oraz badań wskazujących na możliwość mikrobiologicznej degradacji tych związków można wskazać dalsze perspektywy związane z potencjalnym zagrożeniem środowiskowym związanym z akumulacją konserwantów?

1. Wnioski

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Marty Nowak-Lange przedstawia szeroko zakrojone i doskonale zaprezentowane wyniki badań, co wpływa na jej ogólny bardzo wysoki poziom merytoryczny. Liczba moich uwag jest niewielka (ma charakter pytań, które warto uwzględnić podczas dyskusji) i nie wpływa na ogólną **bardzo dobrą** ocenę pracy. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Wnioskuje do Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Marty Nowak-Lange do dalszych etapów postępowania o

nadanie jej stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie, zwracam się do Członków Komisji o wyróżnienie pracy doktorskiej za wyróżniający się poziom merytoryczny i jakość badań oraz szeroki warsztat narzędzi badawczych wykorzystanych podczas realizacji doświadczeń, które dostarczyły bardzo szczegółowych danych, a w efekcie w sposób istotny pogłębiły wiedzę w zakresie roli mikroorganizmów w rozkładzie konserwantów stosowanych w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz

Handwritten signature of Katarzyna Hrynkiewicz in blue ink.