



**OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr inż. Natalii Tyszkiewicz**

*Analiza mikrobiomu anodowego i jego funkcjonalności w układach bioelektrochemicznych wykorzystywanych do biodegradacji zanieczyszczeń hydrofobowych oraz syntezy biosurfaktantów*

wykonanej pod kierunkiem  
dr hab. inż. Grzegorza Pasternaka, prof. uczelni oraz prof. dr hab. Piotra Młynarza

na Politechnice Wrocławskiej  
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne

**1. Celowość podjęcia problemu naukowego**

Zanieczyszczenie środowiska naturalnego związkami ropopochodnymi nadal stanowi istotny problem globalny oraz poważne wyzwanie dla naukowców i technologów zajmujących się ochroną środowiska. Szacuje się, że każdego roku do środowiska wodnego trafiają miliony ton ropy naftowej i produktów ropopochodnych, pochodzących zarówno z awarii tankowców i platform wiertniczych, jak i z codziennej działalności przemysłowej oraz transportowej. Szczególnie niebezpieczne są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), wykazujące właściwości toksyczne, mutagenne i kancerogenne. Znaczącym źródłem skażenia środowiska są również wycieki paliw na terenach przemysłowych, stacjach paliw oraz wzdłuż szlaków komunikacyjnych. Substancje ropopochodne mogą przenikać do gleby i wód gruntowych, powodując długotrwałe zaburzenia funkcjonowania ekosystemów oraz ograniczając aktywność mikroorganizmów odpowiedzialnych za naturalne procesy samooczyszczania środowiska. Pomimo zmniejszenia liczby dużych katastrof związanych z transportem ropy naftowej, osiągniętego dzięki rozwojowi technologii i zaostrzeniu regulacji środowiskowych, problem rozproszonych zanieczyszczeń nadal pozostaje aktualny.

Szczególną grupę zanieczyszczeń stanowią oleje posmażalnicze, których ilość stale wzrasta wraz z rozwojem przemysłu gastronomicznego i spożywczego. Zużyte oleje gastronomiczne stanowią poważne zagrożenie dla środowiska, zwłaszcza w przypadku niewłaściwego postępowania z tym odpadem, np. poprzez odprowadzanie go do kanalizacji lub bezpośrednio do gleby. Oleje posmażalnicze zawierają produkty utleniania tłuszczów, wolne kwasy tłuszczowe oraz toksyczne związki powstające podczas wielokrotnego podgrzewania, takie jak aldehydy czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. Związki te mogą negatywnie wpływać na mikroorganizmy glebowe i organizmy wodne, a ich obecność w ściekach utrudnia procesy biologicznego oczyszczania.

Współczesne badania koncentrują się między innymi na poszukiwaniu skutecznych metod bioremediacji wymienionych trudnorozkładalnych zanieczyszczeń organicznych. Jedną z

najbardziej perspektywicznych i ekologicznych metod oczyszczania środowiska jest wykorzystanie mikroorganizmów zdolnych do degradacji węglowodorów ropopochodnych. Szczególnie interesującym rozwiązaniem są mikrobiologiczne ogniwa paliwowe (MFC – *Microbial Fuel Cells*), umożliwiające jednoczesną biodegradację zanieczyszczeń oraz produkcję energii elektrycznej. Technologia MFC stwarza możliwość tworzenia samowystarczalnych układów bioelektrochemicznych, zdolnych do oczyszczania środowiska bez konieczności dostarczania energii zewnętrznej. Istotnym zagadnieniem badawczym pozostaje jednak poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za transfer elektronów oraz identyfikacja czynników środowiskowych i technologicznych wpływających na zwiększenie efektywności produkcji energii elektrycznej przez mikroorganizmy w układach MFC.

W ostatnich dekadach nastąpił dynamiczny rozwój metod omicznych, takich jak metagenomika i transkryptomika, opartych na analizach molekularnych i bioinformatycznych. Metody te umożliwiają szczegółową charakterystykę struktury i funkcjonalności społeczności mikroorganizmów, w tym identyfikację genów odpowiedzialnych za syntezę enzymów uczestniczących w procesach degradacji związków trudnorozkładalnych. Znajdują one szerokie zastosowanie nie tylko w medycynie czy biologii molekularnej, lecz także w badaniach środowiskowych, pozwalając na ocenę wpływu czynników środowiskowych na selekcję mikrobiomu oraz jego aktywność metaboliczną.

Recenzowana rozprawa doktorska pani mgr inż. Natalii Tyszkiewicz wpisuje się w aktualne trendy badawcze z zakresu biotechnologii środowiskowej, mikrobiologii środowiskowej oraz bioelektrochemii. Na szczególne podkreślenie zasługuje wykorzystanie nowoczesnych metod badawczych, w tym metod omicznych, do analizy społeczności mikroorganizmów rozwijających się w układach MFC. Tematyka pracy obejmuje ważne zagadnienia związane z biologiczną degradacją toksycznych i trudnorozkładalnych zanieczyszczeń organicznych, takich jak benzen, ropa naftowa, olej napędowy czy posmażalniczne oleje roślinne. Rozprawa podejmuje również istotny aspekt poznawczy dotyczący identyfikacji czynników środowiskowych i technologicznych wpływających na zwiększenie efektywności produkcji energii elektrycznej przez mikroorganizmy funkcjonujące w układach MFC. Praca wnosi cenny wkład zarówno do badań podstawowych, jak i aplikacyjnych, dostarczając istotnych wyników mogących wspierać dalszy rozwój technologii oczyszczania środowiska z wykorzystaniem mikrobiologicznych ogniw paliwowych.

## 2. Formalna ocena pracy

Praca doktorska stanowi obszerne opracowanie liczące 195 stron maszynopisu. Rozprawa zawiera 18 tabel oraz 62 rysunki obejmujące wykresy, schematy i fotografie SEM, a także spis piśmiennictwa. Do pracy dołączono również streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów i symboli, spisy tabel i rysunków oraz zestawienie dorobku naukowego Doktorantki. Struktura rozprawy odpowiada klasycznemu układowi pracy doktorskiej o charakterze eksperymentalnym, choć zastosowano częściowo niestandardowe rozwiązanie polegające na umieszczeniu fragmentów metodyki bezpośrednio przed opisem poszczególnych eksperymentów w rozdziale „Wyniki i dyskusja”. W mojej opinii zabieg ten ułatwia śledzenie toku badań i zrozumienie różnic pomiędzy eksperymentami. Jednocześnie ogólny opis metod molekularnych, chemicznych i elektrochemicznych został prawidłowo przedstawiony w odrębnym rozdziale metodycznym.

Każdy podrozdział prezentujący wyniki badań został zakończony przejrzystym podsumowaniem oraz sformułowaniem wniosków cząstkowych, co należy ocenić pozytywnie. Taki sposób prezentacji rezultatów ułatwia śledzenie toku badań oraz interpretację uzyskanych wyników. W klasycznym układzie rozpraw doktorskich, oprócz podsumowań zamieszczanych po poszczególnych rozdziałach, na końcu pracy formułowane są również wnioski ogólne odnoszące się do całości badań, a także jednoznacznie wskazuje się, czy postawiona hipoteza badawcza została zweryfikowana. W recenzowanej pracy nie zastosowano takiego rozwiązania. W związku z tym proponowałabym, aby podczas obrony Doktorantka przedstawiła syntetyczne wnioski

ogólne wynikające z przeprowadzonych badań oraz jednoznacznie odniosła się do weryfikacji przyjętej hipotezy badawczej. Choć nie została ona formalnie nazwana hipotezą, to za jej odpowiednik można uznać stwierdzenie zamieszczone na stronie 45: „Przyjęto, że skuteczność degradacji i wydajność bioelektrochemiczna zależą od składu taksonomicznego mikrobiomu anodowego oraz warunków pracy układu, w tym odpowiedniej strategii inokulacji, zastosowania kosubstratów oraz potencjału anody.” W mojej ocenie przeprowadzone badania pozwoliły na potwierdzenie tego założenia, jednak zasadne byłoby jednoznaczne wskazanie tego faktu przez Doktorantkę podczas publicznej obrony rozprawy.

Bibliografia rozprawy obejmuje 304 pozycje literaturowe, wszystkie w języku angielskim. Około 60% cytowanych prac stanowią publikacje z ostatnich dziesięciu lat, co świadczy o bardzo dobrym rozeznaniu Doktorantki w aktualnym stanie wiedzy oraz o właściwym doborze literatury przedmiotu. Na szczególne podkreślenie zasługuje wykorzystanie licznych publikacji o wysokim poziomie merytorycznym pochodzących z renomowanych, międzynarodowych czasopism naukowych, takich jak *Chemical Engineering Journal*, *Chemosphere*, *Green Energy and Environment*, *Environmental Science and Technology*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, *International Biodeterioration and Biodegradation* oraz *Environmental Pollution*.

Część teoretyczna rozprawy stanowi dobrze opracowany i aktualny przegląd literatury, wprowadzający czytelnika w problematykę biodegradacji trudnorozkładalnych zanieczyszczeń pochodzących z przemysłu petrochemicznego i spożywczego z wykorzystaniem mikrobiologicznych ogniw paliwowych (MFC). Omówiono charakterystykę układów bioelektrochemicznych, czynniki wpływające na ich efektywność oraz rolę mikroorganizmów egzoelektrogennych, biofilmów anodowych i mikroorganizmów syntroficznych w procesach degradacji zanieczyszczeń i transferu elektronów. Część przeglądu poświęcono również biosurfaktantom oraz ich znaczeniu w zwiększaniu efektywności biodegradacji związków hydrofobowych w układach MFC. Z przedstawionych treści jasno wynika zasadność podjęcia badań oraz ich aktualność naukowa i aplikacyjna.

Głównym celem pracy doktorskiej było określenie struktury oraz funkcjonalności anodowych społeczności mikroorganizmów rozwijających się w układach MFC, zdolnych do biodegradacji związków ropopochodnych, produkcji biosurfaktantów oraz generowania energii elektrycznej w zróżnicowanych warunkach eksperymentalnych. Postawiony, ambitny i wieloaspektowy cel pracy został sformułowany prawidłowo i, w mojej ocenie, został w pełni zrealizowany, co należy przypisać dużej pracowitości doktorantki, konsekwentnej realizacji kolejnych etapów badań, prawidłowej interpretacji uzyskanych wyników, a także doświadczeniu promotora oraz zespołu badawczego, w którym praca była realizowana.

Doktorantka wyznaczyła również szereg celów szczegółowych, jednak do sformułowania celu czwartego zgłaszam pewne uwagi. Cel ten określono jako: „Przeprowadzenie próby skalowania układów MFC oraz ocena stabilności elektrochemicznej i produkcji biosurfaktantów w czasie długotrwałej eksploatacji wraz z identyfikacją kluczowych taksonów egzoelektrogennych, produkujących biosurfaktanty oraz degradujących związki ropopochodne”. W mojej opinii sformułowanie „przeprowadzenie próby skalowania” nie powinno stanowić celu samego w sobie. Bardziej właściwe byłoby skoncentrowanie celu na ocenie stabilności elektrochemicznej układu i produkcji biosurfaktantów podczas długotrwałej eksploatacji. Ponadto, choć pojęcie „skalowania” nie posiada jednoznacznie określonej dolnej granicy objętościowej, to w praktyce inżynierskiej odnosi się ono najczęściej do przejścia ze skali laboratoryjnej do półtechnicznej lub przemysłowej. W analizowanym przypadku zwiększenie objętości układu z 9 cm<sup>3</sup> do 25 cm<sup>3</sup> należy raczej traktować jako przejście do większej skali laboratoryjnej lub zwiększenie objętości roboczej układu, a nie klasyczne skalowanie procesu. W związku z tym proponowałabym zastąpienie określenia „skalowanie” sformułowaniem: „ocena parametrów procesu przy zwiększeniu objętości roboczej układu” lub „przy przejściu do większej skali laboratoryjnej”. Jednocześnie należy podkreślić, że zagadnienie możliwości późniejszego wdrożenia technologii MFC w większej skali wydaje się bardzo interesujące z inżynierskiego punktu widzenia i stanowi wartościowy kierunek dalszych badań.

Zgodnie z informacją podaną przez Doktorantkę, część badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej została zrealizowana w ramach projektu badawczego OPUS 17 „Mechanizmy transformacji materiałów odpadowych z przemysłu naftowego do biosurfaktantów”, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2019/33/B/NZ9/02774), oraz projektu NAWA STER InterDocSchool „Badania metagenomiczne społeczności drobnoustrojów oparte na sekwencjonowaniu całych metagenomów”, realizowanego na Uniwersytecie w Tartu w Estonii.

Doktorantka przedstawiła w rozprawie również swój dorobek naukowy obejmujący 4 artykuły opublikowane w międzynarodowych czasopismach z listy JCR: *Frontiers in Microbiology* (IF=4.5, 100 pkt MNiSW); *International Biodeterioration and Biodegradation* (IF=4.1, 140 pkt MNiSW); *Journal of Environmental Management* (IF=8.4, 200 pkt MNiSW); praca przeglądowa w *iScience* (IF=5.8, 20 pkt MNiSW), 12 wystąpień naukowych, udział w trzech projektach badawczych oraz liczne nagrody i wyróżnienia. Należy zauważyć, że w jednej z publikacji Doktorantka jest pierwszym autorem.

### 3. Ocena merytoryczna rozprawy

W pierwszym etapie badań oceniono możliwość wykorzystania mikrobiologicznych ogniw paliwowych do biodegradacji benzenu. Zastosowano strategię inokulacji opartą na pięciu czystych szczepach mikroorganizmów, następnie wzbogaconych osadem czynnym, a także przeanalizowano wpływ glukozy jako kosubstratu. Charakterystykę układów przeprowadzono z wykorzystaniem analiz elektrochemicznych, mikrobiologicznych (16S rRNA) oraz metabolomicznych (NMR). Uzyskane wyniki wykazały wysoką efektywność bioelektrochemiczną układów MFC oraz potwierdziły istotną rolę benzenu jako czynnika selekcyjnego sprzyjającego rozwojowi mikroorganizmów zdolnych do degradacji węglowodorów i transferu elektronów.

W kolejnym etapie pracy analizowano wpływ przyłożonego potencjału anody na bioróżnorodność społeczności mikroorganizmów anodowych rozwijających się w układach MFC zasilanych olejem napędowym. Na szczególne podkreślenie zasługuje analiza dynamiki zmian mikrobiomu anodowego prowadzona podczas 18-tygodniowej eksploatacji układu. Uzyskane wyniki wykazały, że odpowiedni dobór potencjału anody ma istotne znaczenie dla optymalnego funkcjonowania układów MFC, zwłaszcza w procesach biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych. Stwierdzono, że ujemna polaryzacja anody (-0,3 V) sprzyjała tworzeniu bardziej złożonych i funkcjonalnie wyspecjalizowanych biofilmów anodowych, co przekładało się na najwyższą efektywność elektrochemiczną układów (maksymalna gęstość mocy: 83 mW/m<sup>2</sup>). Przeprowadzone analizy mikrobiologiczne oraz szczegółowa analiza statystyczna PCA, uwzględniająca rodzaj próbki, czas prowadzenia eksperymentu oraz różnice pomiędzy mikrobiomem planktonicznym i biofilmowym, potwierdziły kluczową rolę potencjału anody w selekcji mikroorganizmów uczestniczących zarówno w degradacji związków ropopochodnych, jak i w procesach transferu elektronów w układach MFC. Wśród dominujących taksonów wskazano między innymi przedstawicieli rodzajów *Comamonas*, *Gordonia*, *Pseudomonas*, *Geobacter* oraz *Rhodococcus*. Na wysoką ocenę zasługuje również sposób interpretacji wyników i ich szerokie odniesienie do aktualnej literatury naukowej. Doktorantka trafnie omówiła rolę poszczególnych grup mikroorganizmów w funkcjonowaniu układów MFC, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów transferu elektronów, zdolności do syntezy biosurfaktantów oraz degradacji węglowodorów. Szczególnie wartościowa była analiza struktury mikrobiomu przedstawiona w postaci map cieplnych, umożliwiających czytelną interpretację zależności pomiędzy składem społeczności mikroorganizmów a ich funkcjami metabolicznymi.

W kolejnym etapie badań oceniono zdolność do biodegradacji ropy naftowej oraz potencjał elektrochemiczny dziewięciu inokulów pochodzących ze zróżnicowanych nisz ekologicznych. Wykazano, że zastosowanie strategii kosubstratowej opartej na suplementacji octanem sodu umożliwiło kilkukrotny wzrost średniej gęstości mocy, osiągając maksymalną wartość 18,3 W/m<sup>3</sup> dla mikroflory wzbogaconej z separatora substancji ropopochodnych.

W trakcie czytania lektury rozprawy nasunęło mi się pytanie dotyczące wpływu stężenia związków ropopochodnych na efektywność procesów elektrochemicznych. W pracy zastosowano roztwory o stężeniach: 0,6% benzenu, 0,1% oleju napędowego oraz 0,07% ropy naftowej. W związku z tym interesujące byłoby wyjaśnienie, jak układy MFC zachowywałyby się przy wyższych stężeniach tych zanieczyszczeń oraz czy możliwe byłoby stopniowe zwiększanie ich stężenia w trakcie prowadzenia procesu, w miarę adaptacji mikrobiomu i stabilizacji układu.

Zaobserwowano również zależność pomiędzy wysoką wydajnością energetyczną a obniżeniem napięcia powierzchniowego anoditów, co wskazuje na aktywną biosyntezę biosurfaktantów zwiększających biodostępność węglowodorów.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje bardzo szeroki zakres przeprowadzonych analiz molekularnych, obejmujących nie tylko charakterystykę bioróżnorodności taksonomicznej mikrobiomu, ale również identyfikację genów funkcjonalnych zaangażowanych w degradację związków ropopochodnych w układach MFC. Wykazanie obecności genów takich jak *nahB*, *tmoF*, *ladA* czy *ahyA* w warunkach bioelektrodegradacji stanowi cenny wkład poznawczy i pozwala lepiej zrozumieć molekularne mechanizmy sprzężenia procesów degradacji węglowodorów z zewnątrzkomórkowym transferem elektronów. Omawiany fragment rozprawy należy uznać za jeden z najbardziej wartościowych pod względem naukowym. Został on opracowany bardzo starannie, z wykorzystaniem zaawansowanych analiz bioinformatycznych i statystycznych, a uzyskane wyniki przedstawiono w sposób przejrzysty i dobrze udokumentowany.

W trakcie lektury tej części pracy pojawiły się jednak pewne pytania i kwestie wymagające dyskusji. Interesujące byłoby wyjaśnienie, dlaczego obecność tych samych rodzajów mikroorganizmów, takich jak *Pseudomonas* (podobnie innych taksonów), w jednych układach przekładała się na wysoką aktywność egzoelektrogenerną, natomiast w innych nie prowadziła do efektywnej produkcji energii elektrycznej. W literaturze przedmiotu, a także w wynikach uzyskanych w ramach samej pracy, obserwuje się często rozbieżności dotyczące aktywności elektrochemicznej tych samych grup drobnoustrojów. Warto byłoby, aby Doktorantka odniosła się do możliwych przyczyn tych różnic, uwzględniając m.in. wpływ warunków środowiskowych, interakcji syntroficznych, struktury biofilmu czy dostępności substratów.

Dodatkowo interesujące wydaje się wyjaśnienie, dlaczego najwyższy potencjał degradacji węglowodorów aromatycznych odnotowano w układzie MFC3 inokulowanym mikroorganizmami pochodzącymi z rzeki polodowcowej, natomiast niższy w przypadku układu MFC8 zaszczipionego mikroorganizmami pochodzącymi z separatora substancji ropopochodnych. Intuicyjnie można byłoby oczekiwać odwrotnej zależności.

Interesujące dla recenzenta byłoby również poznanie opinii Doktorantki na temat efektywności degradacji związków ropopochodnych prowadzonej przez drobnoustroje tlenowe i beztlenowe oraz tego, czy na podstawie uzyskanych wyników (w tym potwierdzonej obecności actinobacterii i metanogenów) możliwe jest jednoznaczne określenie dominującej roli tych grup drobnoustrojów w funkcjonowaniu układów MFC.

W dalszej części pracy oceniono wpływ zwiększenia objętości układu MFC na efektywność elektrochemiczną oraz stabilność jego pracy podczas długotrwałej eksploatacji (365 dni). Do badań wyselekcjonowano trzy najbardziej efektywne konsorcja mikroorganizmów uzyskane w poprzednich etapach eksperymentu. W wyniku trzykrotnego zwiększenia powierzchni anody oraz czterokrotnego wzrostu objętości roboczej reaktora odnotowano istotny wzrost maksymalnej gęstości mocy o 42%, osiągając wartość 26 W/m<sup>3</sup>. Etap ten należy ocenić bardzo wysoko również ze względu na szeroki zakres zastosowanych metod badawczych. Oprócz analiz voltamperometrycznych oraz oceny redukcji ChZT, przeprowadzono oznaczenia stopnia biodegradacji ropy naftowej z wykorzystaniem techniki GC-MS, wykonano analizy metagenomiczne mikrobiomu oraz badania SEM powierzchni elektrod pokrytych biofilmem. Istotnym uzupełnieniem badań było zastosowanie techniki LC-MS/MS do identyfikacji profilu biosurfaktantów (w szczególności ramnolipidów) produkowanych *in situ*. Uzyskane wyniki dostarczyły jednoznacznych dowodów na synergistyczne współistnienie taksonów

egzoelektrogennych (*Geobacter anodireducens*, *Arcobacter faecis*) z mikroorganizmami odpowiedzialnymi za biodegradację węglowodorów i biosyntezę związków powierzchniowo czynnych (*Pseudomonas stutzeri*, *Gordonia terrae*). Dodatkowo przeprowadzono testy emulsyfikacji oraz pomiary napięcia powierzchniowego, które potwierdziły aktywną produkcję biosurfaktantów, co zostało przedstawione w sposób szczegółowy i przekonujący.

W kontekście długotrwałej eksploatacji układu zasadne byłoby wskazanie kierunków dalszych badań materiałowych, szczególnie w odniesieniu do obserwowanego spadku wydajności po stronie katodowej. Wyjaśnienie mechanizmów degradacji katody oraz możliwych strategii jej modyfikacji mogłoby stanowić istotny kierunek dalszego rozwoju tej technologii.

Ostatni etap pracy dotyczył wykorzystania oleju posmażalniczego jako substratu do syntezy biosurfaktantów w układach MFC. Analiza LC-MS/MS umożliwiła identyfikację jedenastu biosurfaktantów należących do grup mono- i diramnilipidów w próbkach anolitu. Analizy metagenomiczne wykazały, że w społeczności anodowej dominował *Pseudomonas aeruginosa*, znany ze zdolności do zewnątrzkomórkowego transferu elektronów oraz syntezy ramnolipidów. Zaobserwowano również większą różnorodność ramnolipidów w porównaniu z układami zasilanymi frakcjami ropopochodnymi, co wskazuje na wysoką przydatność oleju posmażalniczego jako substratu do ich biosyntezy w układach MFC. Uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdzają istnienie zależności pomiędzy aktywnością biosyntezy biosurfaktantów a efektywnością elektrochemicznego transferu elektronów w analizowanych układach.

W trakcie lektury rozprawy doktorskiej zwróciłam również uwagę na kilka sformułowań o charakterze potocznym lub wymagających doprecyzowania terminologicznego, które przedstawiam poniżej. Uwagi te nie umniejszają w żaden sposób wysokich walorów merytorycznych pracy, lecz stanowią jedynie wskazania o charakterze redakcyjno-językowym wynikające z przyjętej przez recenzenta praktyki dydaktycznej i dbałości o precyzję terminologiczną. Uwagi te nie będą przedstawione na publicznej obronie.

1. Określenie „usuwanie ChZT” (str. 29) jest stosowane w sposób skrótowy; w terminologii naukowej bardziej precyzyjne byłoby użycie takich sformułowań jak „stopień redukcji ChZT”, „obniżenie wartości ChZT” lub „usuwanie związków organicznych wyrażonych jako ChZT”.
2. Sformułowanie „współhodowla egzoelektrogenów z fermentorami” (str. 35) jest nieprecyzyjne terminologicznie. Określenie „fermentor” odnosi się do urządzenia lub bioreaktora, a nie do grupy mikroorganizmów. W tym kontekście właściwe byłoby zastosowanie określeń takich jak: „bakterie fermentacyjne uczestniczące w degradacji substratu” lub „mikroorganizmy fermentacyjne dostarczające metabolitów dla bakterii egzoelektrogennych”.
3. W przypadku zastosowania 70% roztworu etanolu do dezaktywacji mikroorganizmów na powierzchni polipropylenu (str. 46) bardziej właściwe jest użycie określenia „dezynfekcja” zamiast „sterylizacja”, szczególnie że nie wykazano skuteczności eliminacji wszystkich form drobnoustrojów, w tym przetrwalników.

Na zakończenie pragnę podkreślić wysoką wartość naukową przedstawionych wyników, dotyczących mikrobiologicznych ogniw paliwowych. W pracy zidentyfikowano kluczowe czynniki - rodzaj inokulum, substratu oraz potencjał anody, determinujące przebieg procesów biodegradacji ropopochodnych zanieczyszczeń, produkcji biosurfaktantów oraz generowania energii elektrycznej. Wykazano również wyższą efektywność układów opartych na złożonych, naturalnych konsorcjach mikroorganizmów w porównaniu do systemów wykorzystujących czyste kultury, co stanowi istotne odniesienie do wyników prezentowanych w literaturze przedmiotu.

Najważniejszym walorem naukowym rozprawy jest pogłębione wyjaśnienie mechanizmów funkcjonowania społeczności mikroorganizmów w układach MFC w obecności zanieczyszczeń ropopochodnych, oparte na kompleksowych analizach omicznych i nowoczesnych metodach badawczych. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój bioelektrochemii

środowiskowej, mikrobiologii środowiskowej oraz inżynierii bioprosesowej, poszerzając wiedzę na temat zależności pomiędzy strukturą mikrobiomu a efektywnością procesów degradacji zanieczyszczeń i wytwarzania energii.

Jednocześnie należy podkreślić potencjalne znaczenie technologiczne przeprowadzonych badań, które wskazują na realną możliwość zastosowania mikrobiologicznych ogniw paliwowych w oczyszczaniu środowiska z trudnorozkładalnych zanieczyszczeń organicznych przy jednoczesnym odzysku energii elektrycznej oraz stanowią istotną podstawę do dalszej optymalizacji i skalowania tej technologii w kierunku zastosowań praktycznych.

#### 4. Podsumowanie i wnioski końcowe

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, iż rozprawa doktorska Pani mgr inż. Natalii Tyszkiewicz stanowi oryginalne i wartościowe opracowanie, a uzyskane wyniki istotnie poszerzają stan wiedzy, szczególnie w zakresie mechanizmów funkcjonowania społeczności mikroorganizmów w układach MFC w obecności zanieczyszczeń ropopochodnych. W mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska pt. *„Analiza mikrobiomu anodowego i jego funkcjonalności w układach bioelektrochemicznych wykorzystywanych do biodegradacji zanieczyszczeń hydrofobowych oraz syntezy biosurfaktantów”* spełnia wszystkie wymagania określone w art. 187 ust. 1–2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571).

W związku z powyższym wnioskuję o przyjęcie rozprawy doktorskiej przez Komisję ds. przewodu doktorskiego na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej oraz dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Jednocześnie, ze względu na wysoki poziom merytoryczny badań, ich oryginalność oraz zastosowanie nowoczesnych narzędzi analitycznych obejmujących kompleksowe podejście molekularne, chemiczne i elektrochemiczne, które pozwoliło na identyfikację mechanizmów odpowiedzialnych za efektywne usuwanie zanieczyszczeń ropopochodnych oraz wytwarzanie energii elektrycznej przez mikrobiomy anodowe, a także biorąc pod uwagę dorobek publikacyjny Kandydatki w renomowanych czasopismach indeksowanych w JCR, wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Natalii Tyszkiewicz.

*Beata Gutarowska*

