

Wrocław, 14.04.2026 r.

Profesor dr hab. inż. Marcin Łukaszewicz  
Uniwersytet Wrocławski, Wydział Biotechnologii  
[marcin.lukaszewicz@uwr.edu.pl](mailto:marcin.lukaszewicz@uwr.edu.pl), Tel. 512 344 666

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**mgr inż. Natalii Tyszkiewicz**

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

**Promotorzy:** dr hab. inż. Grzegorz Pasternak, prof. PWR; prof. dr hab. Piotr Młynarz

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska dotyczy aktualnej i ambitnej problematyki związanej z funkcjonowaniem mikrobiologicznych ogniw paliwowych (MFC) wykorzystywanych do biodegradacji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych oraz do biosyntezy biosurfaktantów. Temat pracy lokuje się na pograniczu chemii, bioelektrochemii, mikrobiologii środowiskowej oraz biotechnologii i odpowiada współczesnym kierunkom badań nad układami bioelektrochemicznymi.

Rozprawa ma charakter pracy eksperymentalnej o szerokim zakresie metodycznym. Obejmuje badania prowadzone w pięciu konfiguracjach MFC z wykorzystaniem czterech typów substratów: benzenu, oleju napędowego, ropy naftowej oraz oleju posmażalniczego. Autorka zastosowała rozbudowany zestaw technik badawczych, obejmujący pomiary elektrochemiczne, sekwencjonowanie, metagenomikę typu shotgun, qPCR, NMR, LC-MS/MS, GC-MS czy SEM. Zakres metod świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu warsztatowym Doktorantki i o wysokiej ambicji naukowej pracy.

### **Ocena wyboru tematu i aktualności problemu**

Wybór tematu oceniam pozytywnie. Literatura światowa wskazuje, że choć MFC są intensywnie badane jako platformy do oczyszczania ścieków i generowania energii, to znacznie mniej wiadomo o ich wykorzystaniu do degradacji złożonych, hydrofobowych zanieczyszczeń i do jednoczesnej produkcji biosurfaktantów. Szczególnie słabo rozpoznane pozostają zależności między składem mikrobiomu anodowego, mechanizmami transferu elektronów, biosyntezą surfaktantów a

skutecznością degradacji węglowodorów. Recenzowana rozprawa trafia więc w wyraźną lukę badawczą. Na podkreślenie zasługuje, że Autorka nie ograniczyła się do jednego modelowego substratu, lecz podjęła próbę porównawczą w odniesieniu do kilku typów zanieczyszczeń hydrofobowych, o różnym stopniu złożoności i różnej dostępności biologicznej. Takie podejście zwiększa poznawczą i aplikacyjną wartość rozprawy.

### **Ocena części teoretycznej**

Wstęp teoretyczny jest obszerny i dobrze osadzony w literaturze. Autorka przedstawia źródła i charakterystykę zanieczyszczeń trudnodegradowalnych, podstawy funkcjonowania układów bioelektrochemicznych, rolę mikrobiomu anodowego, mechanizmy zewnątrzkomórkowego transferu elektronów oraz znaczenie biosurfaktantów w degradacji związków hydrofobowych. Układ wprowadzenia jest logiczny i dobrze przygotowuje czytelnika do części eksperymentalnej. Na uznanie zasługuje również to, że w części teoretycznej Autorka nie prezentuje wyłącznie opisowego przeglądu literatury, ale buduje spójny kontekst dla własnych badań, wskazując zarówno znane mechanizmy, jak i obszary słabo rozpoznane. Dzięki temu cele pracy wynikają naturalnie z przeglądu stanu wiedzy.

### **Ocena celu pracy i metodyki**

Cel główny pracy został sformułowany jasno i poprawnie. Cele szczegółowe są dobrze wyodrębnione i odpowiadają kolejnym etapom badań.

Metodykę pracy oceniam wysoko. Jest ona rozbudowana, nowoczesna i adekwatna do postawionych pytań badawczych. Na podkreślenie zasługuje umiejętne połączenie klasycznych pomiarów elektrochemicznych z metodami omicznymi oraz analityką chemiczną wybranych metabolitów. W dyscyplinie nauki chemiczne, zwłaszcza na pograniczu chemii środowiska i bioelektrochemii, jest to podejście w pełni uzasadnione.

### **Najważniejsze wyniki i ich znaczenie naukowe**

Autorka wykazała, że skład inokulum, obecność kosubstratu oraz potencjał anody w sposób istotny kształtują zarówno strukturę mikrobiomu anodowego, jak i wydajność elektrochemiczną MFC. W części dotyczącej benzenu wykazano możliwość selekcji funkcjonalnych społeczności zdolnych do degradacji związku aromatycznego i generowania relatywnie wysokich gęstości mocy. W badaniach nad olejem napędowym pokazano z kolei, że ujemna polaryzacja anody sprzyja rozwojowi bardziej złożonych i wyspecjalizowanych biofilmów anodowych.

Bardzo cenne są wyniki odnoszące się do ropy naftowej. Autorka wykazała wyraźny wpływ pochodzenia inokulum i stosowania kosubstratu na wydajność układu oraz zidentyfikowała geny związane z degradacją węglowodorów. Szczególną wartość ma powiązanie tych danych z analizą biosurfaktantów i zmian napięcia powierzchniowego, co stanowi przekonujące wsparcie dla tezy o sprzężeniu biodegradacji węglowodorów z biosyntezą surfaktantów w układach MFC.

Również część poświęcona olejowi posmażalnierzemu ma dużą wartość poznawczą. Opracowanie protokołu LC-MS/MS do identyfikacji ramnolipidów oraz wykazanie obecności licznych mono- i diramnolipidów wskazuje, że Autorka nie tylko dokumentuje zjawisko, ale rozwija również warsztat analityczny użyteczny dla dalszych badań w tym obszarze.

### **Oryginalność i wkład do dyscypliny**

Za najważniejsze osiągnięcia rozprawy uznaję: (i) kompleksowe, wielopoziomowe scharakteryzowanie mikrobiomu anodowego w MFC pracujących na złożonych substratach hydrofobowych; (ii) wykazanie znaczenia potencjału anody, typu inokulum i kosubstratu dla funkcjonalności biofilmu anodowego; (iii) powiązanie parametrów elektrochemicznych z biosyntezą biosurfaktantów i z potencjałem degradacyjnym mikroorganizmów; (iv) identyfikację genów związanych z degradacją węglowodorów w MFC; (v) próbę skalowania układów i ocenę ich stabilności.

W mojej ocenie praca wnosi istotny i oryginalny wkład do rozwoju nauk chemicznych, w szczególności w obszarze chemii środowiska, bioelektrochemii i technologii remediacyjnych. Oryginalność wynika z całościowej koncepcji badawczej i z integracji kilku poziomów analizy.

### **Uwagi i komentarze**

Moim zdaniem jest kilka kwestii wymagających komentarza lub mogłyby zostać rozwinięte:

1) Zastosowanie kilku konstrukcji MFC i różnych objętości roboczych zwiększa zakres pracy, lecz utrudnia ściśle porównania między wszystkimi układami. W niektórych przypadkach wyraźniejsze oddzielenie wpływu konstrukcji MFC od wpływu inokulum lub substratu ułatwiłoby interpretację wyników.

2) Identyfikacja genów degradacyjnych i określonych taksonów jest bardzo cenna, ale nadal dotyczy przede wszystkim potencjału funkcjonalnego. Dalszym krokiem mogłyby być badania ekspresji genów lub bardziej bezpośrednia walidacja funkcji kluczowych populacji.

3) Dominacja *Pseudomonas aeruginosa* w wybranych wariantach produkcji ramnolipidów jest naukowo interesująca, jednak z punktu widzenia zastosowań środowiskowych i wdrożeniowych warto szerzej odnieść się do kwestii bezpieczeństwa biologicznego i do możliwości zastąpienia tego gatunku innymi producentami biosurfaktantów.

4) Praca bardzo dobrze dokumentuje zachowanie układów laboratoryjnych, lecz w przyszłości warto szerzej dyskutować ograniczenia transferu uzyskanych parametrów do układów przepływowych i półtechnicznych.

Podkreślam jednocześnie, że powyższe uwagi nie podważają wysokiej wartości rozprawy, raczej wskazują naturalne kierunki jej dalszego rozwijania.

### **Pytania do Doktorantki**

1) Który z analizowanych czynników: rodzaj inokulum, potencjał anody, obecność kosubstratu, konstrukcja bioreaktora itp., uważa Pani za najbardziej krytyczny dla długoterminowej stabilności MFC i dlaczego?

2) W jakim stopniu wykryte geny degradacyjne można, Pani zdaniem, traktować jako markery prognostyczne wydajności MFC, a w jakim wymagają one dalszej walidacji funkcjonalnej?

3) Jak ocenia Pani możliwość zastąpienia *Pseudomonas aeruginosa* innym producentem ramnolipidów lub innym typem biosurfaktantu w kontekście przyszłych zastosowań technologicznych?

4) W rozprawie przedstawiono wyniki uzyskane w kilku różnych konstrukcjach mikrobiologicznych ogniw paliwowych, różniących się m.in. geometrią, objętością roboczą czy powierzchnią elektrod. Z jednej strony można to rozumieć jako naturalną konsekwencję ewolucji i ulepszania systemu badawczego w toku realizacji doktoratu, co samo w sobie jest zrozumiałe. Z drugiej jednak strony tak istotna zmienność konstrukcyjna utrudnia bezpośrednie porównanie innych parametrów procesu i ogranicza jednoznaczność interpretacji wyników. Proszę zatem wyjaśnić: (i) jakie były merytoryczne przesłanki stosowania kolejnych konstrukcji, (ii) które zmiany miały charakter optymalizacyjny, a które wynikały z innych potrzeb eksperymentalnych, oraz (iii) czy może Pani syntetycznie porównać efektywność zastosowanych wariantów i wskazać ogólne, przekrojowe wnioski konstrukcyjne wynikające z całej pracy?

5. Dobra praca naukowa często inicjuje więcej pytań niż dostarcza ostatecznych odpowiedzi i w mojej ocenie tak jest również w tym przypadku. W kilku eksperymentach można odnieść wrażenie,

że sprawność układów rosła wraz z czasem, natomiast doświadczenia kończono przed stabilizacją lub załamaniem parametrów pracy. Proszę wyjaśnić, dlaczego doświadczenia przerwano właśnie na tym etapie?

6. Kontynuując pytanie dotyczące ciekawości badawczej chciałbym zapytać czy w badaniach wykryto wyłącznie glikolipidy, czy też skupiono się analitycznie wyłącznie na tej grupie. Zwykle w konsorcjach mieszanych występuje większa różnorodność biosurfaktantów dobrze opisanych we wstępie.

7. Wyniki doktoratu zostały już opublikowane w renomowanych, recenzowanych czasopismach anglojęzycznych, co niewątpliwie wzmacnia rangę naukową pracy. Myślę, że to było głównym powodem podzielenia wyników na prezentowane podrozdziały testujące różne substraty, ale różniące się również doбором metod badawczych, a w konsekwencji inną prezentacją wyników nie tylko graficznie, ale też merytorycznie. Moim zdaniem warto byłoby dokonać syntezy jakie podejście eksperymentalne do prowadzenia podobnych badań byłoby na obecnym stanie wiedzy rekomendowane.

### **Podsumowanie i wnioski**

Po wnikliwym zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr inż. Natalii Tyszkiewicz stwierdzam, że przedstawiona dysertacja prezentuje bardzo dobrą wiedzę teoretyczną Autorki w dyscyplinie nauki chemiczne, potwierdza jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Tym samym rozprawa spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571). Wnoszę zatem o dopuszczenie mgr inż. Natalii Tyszkiewicz do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki chemiczne. Ze względu na wysoki poziom naukowy pracy, szeroki zakres metod, dojrzałość interpretacji oraz wyraźny wkład do rozwoju bioelektrochemii środowiskowej, uważam rozprawę za bardzo wartościową. W związku z tym, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Marcin Łukasiewicz

