POLITECHNIKA POZNAŃSKA

dr hab. inż. Jakub Zdarta
Wydział Technologii Chemicznej
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań
tel. +48 61 665 3720, fax +48 61 665 3649
e-mail: Jakub.Zdarta@put.poznan.pl

Poznań, 21.11.2022r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Darii Świętochowskiej

zatytułowanej

„Monolity krzemionkowe jako nośniki enzymów wykorzystywanych w wybranych procesach biotransformacji"

opracowana na zlecenie Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej (pismo nr RDNCh.512.15.2022 z dn. 21.09.2022 r.)

Rozprawa doktorska mgr inż. Darii Świętochowskiej została zrealizowana w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej, pod kierunkiem dr hab. inż. Katarzyny Szymańskiej, prof. PŚ oraz dr hab. inż. Danuty Gillner, prof. PŚ – uznanych specjalistek w dziedzinie biotechnologii oraz chemii materiałów, w tym w szczególności w zakresie praktycznego wykorzystania enzymów oraz reaktorów enzymatycznych w procesach biotransformacji. Zakres prezentowanej pracy w ogólnym zarysie dotyczy selekcji oraz modyfikacji wybranych materiałów krzemionkowych o zdefiniowanej strukturze i morfologii, jako nośników w procesach immobilizacji i koimmobilizacji wybranych enzymów z różnych grup katalitycznych, a także oceny użyteczności wytworzonych systemów w jedno- i wieloetapowych reakcjach enzymatycznych.

Tematyka badań podjęta w rozprawie doktorskiej przez mgr inż. Darię Świętochowską jest niezwykle aktualna i istotna nie tylko z naukowego, ale także z praktycznego punktu widzenia, a prace związane z immobilizacją enzymów, charakterystyką właściwości wytworzonych układów oraz ich zastosowaniem w reaktorach enzymatycznych są przedmiotem badań wielu renomowanych ośrodków naukowych na całym świecie. Potwierdzeniem tego faktu jest znaczna ilość doniesień literaturowych opublikowanych na przełomie ostatnich lat. W zakresie immobilizacji enzymów, od 2000 roku opublikowano ponad 33 720 prac, podczas gdy publikacji nt. reaktorów enzymatycznych ponad 4 720 (dane z bazy SCOPUS z dn. 14.11.2022 r.). Dane te jednoznacznie potwierdzają duże znaczenie badań prowadzonych nad immobilizacją enzymów i praktycznym wykorzystaniem systemów biokatalitycznych

w reaktorach ciągłych i okresowych, zwłaszcza biorąc pod uwagę fakt złożoności realizowanych procesów oraz możliwość prowadzenia przemian jedno- jak i multienzymatycznych.

Kataliza enzymatyczna, zwana także biokatalizą, obejmuje procesy, w których jako katalizatory wykorzystuje się enzymy, zdolne do znacznego przyspieszenia prowadzonych przemian poprzez obniżenie energii aktywacji. Choć biokatalizatory katalizują reakcje chemiczne zazwyczaj w łagodnych warunkach procesowych, ich niska stabilność w trakcie tych przemian, jak i ograniczona możliwość wielokrotnego wykorzystania powodują, że szerokie wykorzystanie enzymów ciągle stanowi poważne wyzwanie. Wyzwaniem jest także katalizowanie i właściwa kontrola procesów kaskadowych, jak i multienzymatycznych, a więc przemian, w których dwa lub więcej enzymów pracują jednocześnie, a produkty jednej przemiany są zarazem substratami kolejnych reakcji. Rozwiązanie to w znacznym stopniu poprawia wydajność realizowanych procesów, jak i umożliwia ich prowadzenie w przestrzeni jednego reaktora. Celem poprawy sprawności procesów enzymatycznych, obniżenia ich kosztów, a także podniesienia poziomu stosowania enzymów w skali przemysłowej realizuje się ich immobilizację. Jest to proces polegający na związaniu biokatalizatora z nierozpuszczalnym nośnikiem, co skutkuje znaczną poprawą jego cech użytkowych oraz pozwala na szersze wykorzystanie w wielu procesach, w tym związanych z konwersją biomasy, produkcją żywności, farmaceutyków i biopaliw, a także w ochronie środowiska. Stały postęp związany z immobilizacją enzymów, a także możliwość projektowania właściwości oraz morfologii nośników stwarza możliwość konstruowania zaawansowanych systemów jedno- i wieloenzymatycznych do zastosowań w reaktorach. Konsekwencją tego jest dalszy rozwój i coraz powszechniejsze stosowanie reakcji biokatalitycznych. Jednak dobór odpowiedniego nośnika i warunków procesowych zapewniających najwyższe właściwości katalityczne to wyzwania, które muszą zostać wnikliwie przeanalizowane przy projektowaniu wspomnianych procesów.

W ten nurt badawczy doskonale wpisuje się tematyka rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Darii Świętochowskiej, co jednoznacznie wskazują na jej istotność i aktualność, a także na znaczny potencjał aplikacyjny proponowanych w pracy rozwiązań. Celem badań realizowanych w ramach pracy była synteza i modyfikacja monolitów krzemionkowych o hierarchicznej strukturze porów, jako nośników do immobilizacji/koimmobilizacji wybranych enzymów, charakterystyka wytworzonych systemów oraz ich testy użytkowe w procesach biotransformacji. Jako nośniki zastosowano monolity krzemionkowe o zmiennej geometrii (walce, pałki, stożki), które zostały poddane modyfikacji poprzez wprowadzenie grup aminowych, oktylowych i epoksydowych na powierzchnię. Kolejno, różnymi technikami przeprowadzono immobilizację/koimmobilizację wybranych enzymów/grupy enzymów o zdefiniowanym przeznaczeniu. Wykonano:

- immobilizację kowalencyjną lipazy B z *Candida antarctica* do wykorzystania w reakcjach hydrolizy i tranestryfikacji prowadzonych w różnych mediach;

- immobilizację kowalencyjną pirofosforylazy UDP-glukozy z *Thermocrispum agreste* do zastosowania w procesie syntezy trehalozy;
- koimmobilizację kowalencyjną oksydazy D-aminokwasowej z *Rhodotorula gracilis*, katalazy z wątroby bydlęcej oraz transketolazy z *Geobacillus stearothermophilus*.

Wytworzone systemy zostały wnikliwie scharakteryzowane pod kątem oceny ich aktywności oraz stabilności, a także poddano je testom w reaktorach ze złożem stacjonarnym oraz wirującym. W badaniach Autorka wykorzystała szerokie spektrum technik analitycznych do oceny materiałów przed i po modyfikacji, a także po naniesieniu enzymów, jak i do oceny ilości unieruchomionego biokatalizatora. Kluczowa był jednak zaawansowana charakterystyka aktywności katalitycznej immobilizowanych enzymów, jej zmian w zróżnicowanych warunkach procesowych oraz w trakcie przechowywania, a także ocena możliwości wielokrotnego użycia proponowanych systemów, dokonana nie tylko w oparciu o reakcje modelowe, ale także o procesy rzeczywiste.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Świętochowskiej liczy 114 stron, jest napisana w języku polskim i została zilustrowana 57 rysunkami oraz 10 tabelami. Przedkładana dysertacja przygotowana jest w niemal klasycznym układzie i podzielona jest na 10 części, z czego najważniejsze rozdziały to: wprowadzenie i cel pracy (3 strony), przegląd literatury (27 stron), część eksperymentalna (11 stron), omówienie wyników (47 stron), podsumowanie (4 strony). Całość pracy zwieńczona jest dorobkiem naukowym Doktorantki oraz spisem literatury obejmującym 219 pozycji, które w zdecydowanej większości zostały opublikowane w ostatnich 10 latach. Cytowana literatura jest bogata i zróżnicowana, dobrana w odpowiedni sposób, a zaprezentowane przykłady właściwie ilustrują poruszane w pracy zagadnienia. Warto jednak byłoby umieścić w spisie cytowanej w pracy literatury także prace własne związane bezpośrednio z tematyką rozprawy, co byłoby wyraźnym wskazaniem, że wybrane tezy dysertacji zostały już opublikowane.

Zaprezentowany w pracy przegląd literatury obejmuje 27 stron i został podzielony na 4 główne rozdziały i kilka podrozdziałów, w których Autorka w sposób syntetyczny przedstawia zagadnienia związane z tematyką przedstawionej pracy. Zdefiniowano i opisano proces immobilizacji enzymów, a także najpopularniejsze techniki immobilizacji, wraz z ich zaletami i wadami. W dalszych częściach wstępu teoretycznego Doktorantka przybliżyła zagadnienia związanie z selekcją nośników w procesie immobilizacji, ze szczególnym uwzględnieniem matryc krzemionkowych, jak i przedstawiła możliwości praktycznego zastosowania wykorzystanych w pracy enzymów, także w procesach kaskadowych i multienzymatycznych. Ciekawe są w szczególności fragmenty zawierające przegląd literaturowy nt. stosowania nośników krzemionkowych o zdefiniowanej morfologii w procesach immobilizacji, jak i przykłady obrazujące wykorzystanie immobilizowanej lipazy oraz immobilizowanych kaskad enzymatycznych w reakcjach rzeczywistych. Część literaturowa jest interesująca, a opisane tematy są

trafnie dobrane. W tej części pracy pewien niedosyt budzi krótki opis technik immobilizacji (adsorpcyjnej i z wytworzeniem wiązania kowalencyjnego), jak i brak charakterystyki takich technik jak pułapkowanie, sieciowanie czy enkapsulacja, która powinna zostać zaprezentowana również na Rys. 1. Pewne wątpliwości budzi też przedstawiona klasyfikacja materiałów porowatych, bowiem w zależności od źródła, wielkość mezoporów i mikroporów jest różnie definiowana, stąd prośba o klarowne przedstawienie podziału, wraz z odpowiednimi rzędami wielkości dla mezo-, mikro- i makroporów.

Kolejną część pracy stanowi „część eksperymentalna", w której Autorka przedstawiła opis stosowanej metodyki badawczej z uwzględnieniem syntezy materiałów krzemionkowych, ich modyfikacji, a także immobilizacji wybranych enzymów, wraz ze szczegółami związanymi ze zdefiniowaniem aktywności katalitycznej oraz stabilności biokatalizatorów w zmiennych warunkach procesowych. W sposób wyczerpujący, umożliwiający powtórzenie eksperymentów, przybliżono też opis konstrukcji reaktorów oraz przemian w nich prowadzonych. Jedyną wątpliwość w tej części pracy budzi dość skromny opis stosowanych technik analitycznych. Pomimo iż metody te są dość powszechnie znane, warto podać dla nich więcej szczegółów, jak np. rozdzielczość czy ilośc skanów w przypadku stosowania spektroskopii FTIR. Brakuje także jasnych informacji nt. wartości i sposobu prezentacji błędu pomiarowego.

W najobszerniejszej części pracy – „omówienie wyników" – Doktorantka czytelnie przedstawia, jak i omawia oraz interpretuje uzyskane wyniki badań. Część ta przygotowana jest w sposób przejrzysty i dobrze zorganizowany (kolejne etapy prac stanowią swoiste wprowadzenie do dalszych badań) i obejmuje 4 główne zagadnienia:

- syntezę, modyfikację i charakterystykę nośników krzemionkowych;
- immobilizację lipazy *Candida antarctica* B, jej charakterystykę i zastosowanie;
- immobilizację pirofosforylazy UDP-glukozy i jej zastosowanie do produkcji trehalozy;
- koimmobilizację oksydazy D-aminokwasowej, katalazy oraz transketolazy, ich charakterystykę i zastosowanie.

W pierwszym etapie prac, zsyntezowano, jak i efektywnie zmodyfikowano monolity krzemionkowe (MH) w różnej formie oraz mezoporowate pianki komórkowe (MCF). Istotny etap tych badań dotyczył nie tylko potwierdzenia funkcjonalizacji nośników krzemionkowych, ale przede wszystkim określenia najważniejszych parametrów fizykochemicznych oraz morfologicznych uzyskanych materiałów, a także zdefiniowania ilości wprowadzonych grup funkcyjnych, pod kątem zastosowania w procesie immobilizacji enzymów.

W kolejnym etapie prac Doktorantka wykorzystała materiały MH, modyfikowane grupami o różnym charakterze hydrofilowo-hydrofobowym, do immobilizacji lipazy z *Candida antarctica* B. Zaprezentowano wyniki dotyczące ilości unieruchomionego enzymu, jak i wydajności immobilizacji. Warto jednak tutaj wspomnieć, że w części eksperymentalnej brak jest informacji nt. sposobu obliczenia

wydajności immobilizacji, co jest dość istotnym zagadnieniem ze względu na możliwość wykorzystania do tego celu różnych metod. Otrzymane układy poddano następnie testom katalitycznym, których wyniki jednoznacznie wskazują, że są one aktywne zarówno w procesie hydrolizy octanu *p*-nitrofenylu, jak i estryfikacji kwasu lewulinowego. W tej części prac, Doktorantka trafnie i wnikliwie analizuje wpływ sposobu immobilizacji, jak i rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika na wydajność katalizowanych procesów oraz definiuje stabilność systemów enzymatycznych w trakcie katalizowania kolejnych cykli reakcyjnych oraz w trakcie przechowywania w rozpuszczalnikach organicznych.

W następnym etapie badań nad immobilizacją enzymów przeprowadzono prace związane z unieruchomieniem pirofosforylazy UDP-glukozy (TaGalU) i jej zastosowaniem w reakcji otrzymywania trehalozy. Badania rozpoczęto od wnikliwej analizy wpływu zmiennych procesu immobilizacji TaGalU na aktywność i stabilność unieruchomionego enzymu. Jako nośnik wykorzystano funkcjonalizowane materiały typu MCF. Przeanalizowano wpływ rodzaju grup funkcyjnych oraz pH immobilizacji celem doboru najkorzystniejszych wartości tych parametrów dla otrzymania wysokiej aktywności TaGalU. Uzyskane rezultaty jednoznacznie wskazują na znaczną poprawę stabilności i zwiększenie optimum operacyjnego unieruchomionego enzymu, w porównaniu z jego natywną formą. Kluczowy etap tych badań stanowiło jednak opracowanie koncepcji mikroreaktora z unieruchomionymi enzymami, celem ciągłej produkcji trehalozy, gdzie na jednym z etapów wykorzystywane jest TaGalU. Zaproponowano dwie koncepcje, w których TaGalU była koimmobilizowana z transferazą trehalozy, lub stanowiła pierwszy z etapów reakcji kaskadowej. Zebrane dane wskazują, że znaczny wpływ na efektywność procesu ma szybkość przepływu mieszaniny reakcyjnej, a unieruchomiona TaGalU odznacza się znaczną stabilnością operacyjną. Istotne było także zaproponowanie metody okresowego przemywania reaktora celem wydłużenia jego sprawności. Najskuteczniejszym do tego celu odczynnikiem okazał się azydek sodu, a analiza długoterminowego wpływu tego związku na aktywność enzymu nie wykazała znacznych zmian w jego parametrach katalitycznych.

Ostatni etap prac związany był z opracowaniem wydajnego systemu immobilizowanych/koimmobilizowanych enzymów do produkcji L-erytrulozy (L-era) w procesie okresowym prowadzonym w reaktorze stacjonarnym. Jako nośnik do immobilizacji wykorzystano monolity krzemionkowe modyfikowane grupami aminowymi, a immobilizacji poddano oksydazę D-aminokwasową (DAAORg), katalazę (KAT) oraz transketolazę (TKgst). Przeprowadzone testy stabilności termicznej wykazały, że unieruchomione DAAORg i TKgst odznaczają się znacznym wydłużeniem aktywności w czasie, co predysponuje je jako obiecujące enzymy do zastosowania w procesach okresowych. Najistotniejszy element tych badań stanowiło jednak opracowanie najskuteczniejszego podejścia do immobilizacji/koimmobilizacji wszystkich enzymów celem uzyskania jak najwyższej efektywności produkcji L-ery. Zaproponowano 3 warianty: immobilizację każdego enzymu osobno; koimmobilizację

DAAORg i KAT oraz osobną immobilizację TKgst, jak i jednoczesną koimmobilizację wszystkich biokatalizatorów. Uzyskane zależności jasno wskazują, że koimmobilizowane enzymy wykazują znaczną przewagę nad enzymami unieruchomiony oddzielnie, choć najbardziej efektywny okazał się układ, gdzie wspólnie unieruchomione były DAAORg i KAT, a na osobnym nośniku osadzono TKgst. Pomimo że analiza wyników badań dowiodła znacznej stabilności wytworzonych układów ograniczona była możliwość ich wielokrotnego użycia. Doktorantka zaproponowała jednak dodatek świeżo koimmobilizowanych DAAOrg i KAT, jako potencjalne rozwiązanie tego problemu.

W kontekście omówionych wyżej osiągnięć chciałbym podkreślić, że recenzowana praca traktuje nie tylko o skutecznej immobilizacji enzymów na materiałach krzemionkowych, ale także stanowi pogłębione studium nad możliwościami wykorzystania systemów unieruchomionych enzymów. Przedstawiony materiał, zarówno teoretyczny, jak i doświadczalny jest bogaty i zasługuje na wyróżnienie. Postawione cele badawcze zostały zrealizowane, a uzyskane zależności wnoszą istotny element nowości naukowej. Zrealizowane prace odznaczają się nie tylko oryginalnością, ale także znacznym potencjałem użytkowym. Do najważniejszych osiągnięć rozprawy zaliczam:

- opracowanie skutecznych warunków immobilizacji enzymów z różnych grup na powierzchni modyfikowanych materiałów krzemionkowych;
- zdefiniowanie wpływu rodzaju grup funkcyjnych nośnika oraz użytego rozpuszczalnika na rodzaj katalizowanej reakcji oraz aktywność immobilizowanych lipaz;
- przeprowadzenie charakterystyki pirofosforylazy UDP-glukozy i opracowanie koncepcji immobilizacji/koimmobilizacji tego enzymu z transferazą trehalozy do produkcji trehalozy;
- opracowanie koncepcji kaskady enzymatycznej opartej na koimmobilizowanej oksydazie D-aminokwasowej, katalazie oraz transketolazie do produkcji L-erytrulozy w reaktorze okresowym.

Obowiązkiem recenzenta jest także wskazanie pewnych niedokładności, nieścisłości, bądź nieprecyzyjnych sformułowań oraz ocena merytoryczna, która ma wskazać pewne niejasności czy sugestie. Chciałbym podkreślić, że praca jest napisana bardzo starannie, poprawnie językowo i stylistycznie, wyróżnia się ponadto niezwykle estetyczną szatą graficzną. Choć Autorka nie ustrzegła się kilku błędów językowych i edytorskich trudno mówić, by utrudniały one odbiór pracy. Mam jednak kilka uwag i pytań, które nasunęły mi się w trakcie lektury pracy, i które stawiam w celu doprecyzowania pewnych fragmentów:

1. Czym się kierowano w doborze poszczególnych nośników? Czy próbowano dobrać stężenie początkowe enzymu do tych nośników? Czy rozważano wykorzystanie materiału SBA-15 jako nośnika?
2. Czy obliczono stopień pokrycia nośników enzymami? W pracy brakuje szczegółowych informacji na temat np. masy cząsteczkowej, rozmiaru cząstek, itp. immobilizowanych enzymów. Pozwoliłoby to

dobrać w taki sposób ilość nośnika, ilość grup funkcyjnych oraz warunki immobilizacji, aby doprowadzić do uwięzienia enzymu i jednoczesnego ustabilizowania go w połączeniu z nośnikiem.

3. Zgodnie z częścią eksperymentalną, w badaniach nad aktywnością lipazy stosowano zawsze taką samą ilość systemu po immobilizacji (0,14 g dla reakcji z octanem *p*-nirofenylu i 1 g dla reakcji estryfikacji). Podczas gdy w części „omówienie wyników" (str. 57) jest informacja, że ilość nośnika z enzymem przeliczano każdorazowo względem N435, aby zastosować taką samą ilość enzymu w reakcji. Budzi to pewne wątpliwości, ponieważ zgodnie z Tabelą 7, na nośnikach modyfikowanych różnymi grupami funkcyjnymi osadzono różne ilości lipazy. Stąd zastosowanie takich samych ilości biokatalizatora (nośnik z enzymem) skutkuje użyciem innych ilości białka. Prosiłbym o rozwinięcie tej kwestii.
4. Prosiłbym o wyjaśnienie dlaczego jako próbę kontrolną/odniesienia w procesach z unieruchomioną lipazą, wykorzystano komercyjnie dostępny produkt Novozym 435, podczas gdy zdecydowanie lepszym rozwiązaniem wydaje się zastosowanie wolnego enzymu i/lub zastosowanie lipazy unieruchomionej na niemodyfikowanej krzemionce.
5. Czy w trakcie badań Doktorantka definiowała też wartości zachowanej aktywności (activity recovery) unieruchomionych enzymów względem ich wolnych form? Wartości zachowanej aktywności katalitycznej są niezwykle przydatne przy charakterystyce immobilizowanych enzymów.
6. W pracy Doktorantka jasno wykazuje, że badania związane z opracowaniem kaskady enzymatycznej celem otrzymania trehalozy realizowane były w szeroko zakrojonej współpracy. Na szczególną uwagę zasługuje zwłaszcza etap badań realizowanych we współpracy z Panią mgr inż. Martą Przypis. O ile badania realizowane we współpracy dają możliwość większego zgłębienia analizowanej tematyki, o tyle prace prowadzone w bardzo bliskiej współpracy, których rezultaty są wykorzystywane w różnych rozprawach doktorskich mogą budzić pewne wątpliwości. Stąd moja prośba o przybliżenie, który etap prac realizowany był przez konkretną osobę i jasne przedstawienie różnic w zagadnieniach badawczych.

Na koniec należy podkreślić, iż nie tylko recenzowana praca jest wartościowym materiałem badawczym, ale i dorobek naukowy Pani mgr inż. Darii Świętochowskiej zasługuje na podkreślenie. Doktorantka jest współautorką 4 opublikowanych artykułów naukowych w renomowanych czasopismach międzynarodowych i współautorką jednego artykułu poddanego ewaluacji, a także współautorką 2 zgłoszeń patentowych. Autorka wzięła także udział w 16 konferencjach naukowych prezentując zarówno referaty, jak i postery. Na szczególne podkreślenie zasługuje udział Doktorantki, jako wykonawcy, w 6 projektach naukowych o zróżnicowanym charakterze. Pani mgr inż. Daria Świętochowska brała także czynny udział w szkoleniach naukowych i odbyła 2 krótkoterminowe

zagraniczne staże naukowe w renomowanych placówkach badawczych. Jest także laureatką 3 nagród bezpośrednio związanych z jej działalnością naukową.

Recenzowana rozprawa reprezentuje bardzo dobry poziom naukowy, zawiera elementy nowości naukowej, a wymienione powyżej uwagi polemiczne i pytania nie umniejszają bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy. Doktorantka uzyskała szereg ciekawych rezultatów, które zostały już opublikowane. Na uwagę w szczególności zasługuje szeroki zakres zrealizowanej pracy doświadczalnej. Autorka wykazała się zdolnością prowadzenia studiów literaturowych, opracowania własnych metod służących do rozwiązania postawionego problemu i krytycznej oceny faktów, interpretacji wyników badań oraz formułowania wniosków.

Na podstawie oceny rozprawy doktorskiej autorstwa Pani mgr inż. Darii Świętochowskiej zatytułowanej „Monolity krzemionkowe jako nośniki enzymów wykorzystywanych w wybranych procesach biotransformacji" oraz zawartej w dysertacji aktywności naukowej jednoznacznie stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia wszystkie wymogi ustawowe i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim. Wnioskuję zatem do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o przyjęcie pracy i przeprowadzenie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom recenzowanej pracy doktorskiej, aktualność podjętej tematyki badawczej, zakres pracy eksperymentalnej, jakość wniosków i ich wkład w istniejący stan wiedzy, wnioskuję ponadto do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. inż. Darii Świętochowskiej. Uzasadniając ten wniosek, chciałbym zwrócić szczególną uwagę na ambitne podejście Autorki do opracowania i charakterystyki nowej grupy zaawansowanych systemów jedno- jak i wieloenzymatycznych do praktycznych zastosowań biokatalitycznych, co może okazać się skuteczną metodą prowadzącą do podniesienia efektywności procesów realizowanych z ich zastosowaniem. Tematyka immobilizacji enzymów jest dość obszernie zaprezentowana w literaturze, dlatego wpisanie się w ten nurt badań, a dodatkowo zaproponowanie innowacyjnych rozwiązań, w moim odczuciu, wydaje się być istotnym osiągnięciem. Dodatkowo, testy praktyczne wytworzonych układów w bioreaktorach o różnej konfiguracji, wsparte ich zaawansowaną charakterystyką, w istotny sposób mogą ułatwić projektowanie tego typu rozwiązań. Ten element rozprawy uważam za bardzo nowatorski i utylitarny, wskazujący ponadto na istotny potencjał aplikacyjny zaprojektowanych systemów. Wymiernym potwierdzeniem interdyscyplinarnego podejścia Doktorantki oraz jakości uzyskanych zależności eksperymentalnych jest także ranga czasopism, w których opublikowano prace związane bezpośrednio z tematyką przedkładanej rozprawy.

Podpisane odręcznie przez autora