Politechnika Krakowska
Wydział Inżynierii
i Technologii Chemicznej

Kraków, 2022-11-23

dr hab. inż. Szczepan Bednarz, prof. PK
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej
Politechnika Krakowska
ul. Warszawska 24
31-155 Kraków

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Karoliny Bakalorz pt. „Badania przemysłowe nad otrzymywaniem wybranych chelatów mikroelementowych do zastosowania w rolnictwie"

Recenzja jawna – dotycząca informacji nieobjętych tajemnicą prawnie chronioną

Przedłożona do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Karoliny Bakalorz została wykonana w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej w Gliwicach, pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Nikodema Kuźnika, prof. PŚ. Praca była realizowana w ramach II edycji programu „Doktorat wdrożeniowy" (MNiSW) przy współpracy z firmą Intermag sp. z o.o. z Olkusza. Opiekunem naukowym ze strony przedsiębiorcy był Pan dr inż. Krzysztof Ambroziak, Dyrektor Działu Badań i Rozwoju tej firmy. Recenzowana rozprawa doktorska zawiera informacje prawnie chronione i w związku z tym została utajniona. Z tej przyczyny, niniejsza recenzja dotyczy wyłącznie fragmentów pracy nieobjętych tajemnicą.

Niewłaściwy skład chemiczny gleb, jak również ciągła konieczność uzupełniania pobranych przez rośliny uprawne substancji odżywczych są przyczynami nawożenia. Uzyskanie wysokiego plonu jest uwarunkowane nie tylko dobrym zaopatrzeniem rośliny w wodę oraz w makroskładniki (N, P, K i Mg, S), ale również pokryciem jej zapotrzebowania na mikroelementy (B, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo, Co, Ti). W uprawach niedobory tych składników są często czynnikiem ograniczającym i powodują pogorszenie jakości i ilości plonu. Wchodzą one bowiem w skład enzymów i biorą udział w różnych procesach metabolicznych w roślinie, wpływając na przyswajanie makroelementów (a przez to dawkowanie nawozów NPK) oraz zdrowotność roślin. Rosnące zapotrzebowanie na wysoką wydajność z produkcji roślinnej, rosnąca świadomość na temat niedoborów składników odżywczych

w uprawach oraz obserwowanych szczególnie ostatnio, wzrost cen nawozów sztucznych są czynnikami napędzającymi wzrost popytu na nawozy mikroelementowe. W kontekście nawożenia, powszechnie jest wiadomo, że kompleksowanie pierwiastka mikroelementowego jest zabiegiem korzystnym, zwiększającym jego biodostępność, poprzez zapobieganie tworzeniu się form nierozpuszczalnych w wodzie (np. wraz ze zmianą pH). Metal w formie chelatu nie ulega wiązaniu w glebie oraz nie reaguje z anionami występującymi w roztworze glebowym (fosforanowymi, węglanowymi) czy też zawartymi w preparacie nawozowym.

Problematyka pracy dotyczy opracowania sposobu syntezy ligandów i kompleksów metali Cu, Zn, Mn i Fe, mających służyć jako chelaty do zastosowań rolniczych, wykazujących się stabilnością przy wysokim pH (gleby zasadowe) i biodegradowalnością oraz – co bardzo istotne – możliwych do produkcji w skali przemysłowej (zarówno ze względów technicznych jak i ekonomicznych). Mając na uwadze zarówno aspekty naukowe, jak i aplikacyjne (współpraca z firmą produkcyjną w formule doktoratu wdrożeniowego), wyzwanie badawcze podjęte przez Panią mgr inż. Karolinę Bakalorz uważam za ważne i interesujące.

Dysertacja liczy w sumie 202 strony, przy czym jej jawna część, czyli wykaz skrótów, wprowadzenie i cel pracy, a także przegląd literaturowy, jest opisana na 42 stronach. Część poufna, zawiera informacje na temat syntezy ligandów (46 stron), otrzymywania chelatów (21 stron) oraz badań biologicznych tych substancji i analizy ekonomicznej ich produkcji (18 stron). W części niejawnej znajduje się również rozdział opisujący preparatykę syntez (18 stron), jak również zwięzłe podsumowanie całości badań i wnioski. Autorka dysertacji cytuje łącznie 231 pozycji bibliograficznych, związanych tematycznie z pracą, głównie z okresu ostatnich trzydziestu lat, jak również publikacje i patenty starsze, co może świadczyć o przeprowadzeniu rzetelnej analizy danych literaturowych. Ponadto, rozprawę ilustrują 103 rysunki, w tym liczne widma ^{1}H NMR i kilka wysokorozdzielczych widm MS, a także 29 tabel. Układ pracy nie budzi moich zastrzeżeń i odpowiada ogólnie przyjętemu schematowi dla tego typu dokumentów.

Przegląd literaturowy został podzielony trzy rozdziały. Pierwszy dotyczy zagadnienia biodegradowalności – metodom jej wyznaczania oraz sposobom przewidywania podatności na biodegradację substancji chemicznych na podstawie ich struktury. Następnie Doktorantka dokonuje przeglądu najważniejszych ligandów tworzących kompleksy m.in. z metalami bloku *d* (które często pełnią funkcję mikroelementów), którymi są: kwas etylenodiaminotetraoctowy, kwas dietylenotriaminopenta octowy, kwas etylenodiamino-di[(orto-hydroksyfenylo)octowy], kwas N,N'-di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N'-dioctowy), kwas iminodibursztynowy i kwas etylenodiamino-N,N'-dibursztynowy. Nacisk jest położony na omówienie sposobów ich syntezy i

podatności na biodegradację. Ostatni rozdział części literaturowej dotyczy znaczenia mikroelementów (Fe, Zn, Cu, Mn) w uprawie roślin. Doktorantka wyczerpująco opisała aspekty tego zagadnienia, zarówno od strony chemicznej i biochemicznej, jak również biologicznej. Z tego rozdziału można dowiedzieć się na temat specjacji tych pierwiastków w przyrodzie, jak również funkcji biologicznych i efektów ich niedomiaru/nadmiaru u roślin.

Utajniona jest część badawcza pracy, obejmuje zagadnienia planowania syntezy, testowania w skali laboratoryjnej zaproponowanych nowych rozwiązań oraz skalowania procesu otrzymywania ligandów. Interesująco przedstawiają się też wyniki obszernych badań biologicznych na roślinach dla uzyskanych związków. W części chemicznej badań, zastosowano przede wszystkim technikę ^{1}H NMR uzupełnioną o MS, co na potrzeby pracy jest w mojej opinii wystarczające. Jednak do ewentualnego opublikowania tych wyników, wydaje mi się konieczne rozszerzenie tych technik (^{13}C NMR, 2D NMR, FTIR, LC-MS itp.).

Z obowiązku recenzenta chciałbym wskazać nieliczne niedociągnięcia (dotyczące jawnej części - literaturowej):

1. W rozdziale 2 „Omówienie i klasyfikacja poszczególnych ligandów" zabrakło mi dokonania przez Doktorantkę podsumowania - na przykład - w formie rankingu omawianych ligandów (mocne-słabe strony). *Jak Doktorantka ocenia omówione ligandy np. z perspektywy aplikacyjnej?*
2. *Moją ciekawość budzi również, nieomówiony w pracy, wpływ ligandów tworzących chelaty, na fizjologię roślin. Dlatego, chciałbym prosić Panią Doktorantkę o zwięzłe omówienie tej kwestii podczas publicznej obrony.*
3. Recenzowana rozprawa doktorska (część jawna) zawiera nieliczne błędy stylistyczne, których znaczenie można pominąć (np.: na str. 9 *„biodegradowalność powszechnie stosowanych produktów w gospodarstwach rolnych"* – co Autorka miała na myśli?; *„wychwytywany przez bar"* i *„odpowiednio miareczkowany"* str. 12; *„anion chlorowy"* str. 17; *„bo do środowiska reakcji już nie wydzielał się HCN"* str. 20; *„im niższe stężenie tym większy rozkład"* str. 21; *„wspomniana wcześniej firma, ponownie zgłębiła się w sposób syntezy liganda"* oraz *„powstałą cząsteczkę"* str. 23; *„mikroby utleniające"* str. 44).

Doktorantka jest współautorką trzech publikacji (wg *Scopus* 2022-11-14), w tym dwóch, dotyczących zagadnień syntezy ligandów metali: Bakalorz, K., Przypis, Ł., Tomczyk, M.M., Książek, M., Grzesik, R., Kuźnik, N. *Unprecedented water effect as a key element in salicyl-glycine Schiff base synthesis* (**2020**) Molecules, 25 (5), art. no. 1257 (cytowana w pracy doktorskiej); Olesiejuk, M., Bakalorz, K., Krawczyk, T., Kuźnik, N. *Bulky alkylaminophenol chelates with high potential for functionalization* (**2018**) Comptes Rendus Chimie, 21 (9), pp. 831-834; jak również rozdziału w

książce *„Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine"* **(2019)** red. Marek J. Łos, Andrzej Hudecki and Emilia Wiecheć. Nie dysponuję informacjami na temat aktywności konferencyjnej i patentowej Doktorantki, więc nie będę tych kwestii omawiał. W tym miejscu należy zauważyć, że mając na uwadze, że wyniki badań, które Pani mgr inż. Karolina Bakalorz przeprowadziła są prawnie chronione, jest zrozumiałe, że Doktorantka nie mogła ich wszystkich ujawnić np. w formie publikacji. Dodatkowo, należy zwrócić uwagę, że z racji na sposób realizacji doktoratów wdrożeniowych, przedstawiona do recenzji praca doktorska, stanowi efekt prac badawczych, które są kompromisem między celami czysto naukowymi (czyli m.in. poszukiwaniu odpowiedzi na pytania *„Dlaczego?"* i *„W jaki sposób?"*), a celami technologicznymi z ograniczeniami czasowo-ekonomicznymi.

W podsumowaniu, mając na uwadze formułę realizacji doktoratu wdrożeniowego, chciałbym wyrazić moje uznanie dla pracy włożonej przez Doktorantkę w wykonanie badań i przygotowanie rozprawy doktorskiej. Pani mgr inż. Karolina Bakalorz rozpoczęła realizować swój doktorat wdrożeniowy w październiku 2018 r., co oznacza, że na przeprowadzenie badań i przygotowanie dysertacji miała okres 4 lat, wliczając w to trudny czas pandemicznych obostrzeń. Pani mgr inż. Karolina Bakalorz wykazała się umiejętnością pogodzenia aktywności zawodowej z naukową - pracując początkowo na stanowisku laboranta, potem młodszego specjalisty, a obecnie specjalisty ds. badań i rozwoju w firmie Intermag sp z o.o.. Ponadto, znalazła również czas na ukończenie studiów podyplomowych dotyczących zarządzania projektami. Należy podkreślić, że Doktorantka zrealizowała swój cel naukowy, postawiony w części badawczej (utajnionej) i jej wyniki, w mojej opinii, stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego o dużym potencjale praktycznym.

Reasumując, chciałbym stwierdzić, że recenzowana rozprawa spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim przez „Ustawę o tytule i stopniach naukowych" i stawiam wniosek o przyjęcie rozprawy Pani mgr inż. Karoliny Bakalorz i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpisano odręcznie przez autora

Katedra Biotechnologii i Chemii Fizycznej
ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków
tel. +48 12 628 2753, pcbogdal@pk.edu.pl