



Uniwersytet  
Gdański



prof. dr hab. Mariusz Makowski

Gdańsk, 23.08.2023 r.

### Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr. Adriana Gołębiowskiego**,

z tytułem

*"Układy koloidalne oraz ich oddziaływania z wybranymi metalami ciężkimi"*.

Rozprawa doktorska mgr. Adriana Gołębiowskiego została wykonana pod kierunkiem prof. zw. dr. hab., dr h.c. Bogusława Buszewskiego, czł. rzecz. PAN & EASA w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika. Opracowanie przygotowano w postaci tzw. „spinki” pięciu [P1-P5] tematycznych publikacji, współautorstwa Doktoranta. Praca [P1] jest pracą przeglądową, natomiast pozostałe cztery, to oryginalne rozwiązania problemów badawczych. Rozprawa składa się z kilku części i zawiera wszystkie elementy wymagane odpowiednimi przepisami w momencie wszczęcia przewodu, w tym streszczenia w językach polskim i angielskim. Wyniki zawarte w pracach przeszły już proces fachowej oceny podczas procesu publikowania. Ułatwia to, w sposób znaczący, pracę recenzenta.

Układ pracy jest typowy dla tego rodzaju opracowań i składa się z następujących pozycji: *Wykaz skrótów, Wstęp, Cele badawcze pracy, Przedmiot badań oraz komentarz* jako wyciąg najważniejszych wyników z prac [P1-P5], *Podsumowania, Bibliografii, Streszczeń* wymaganych ustawowo w dwóch językach polskim i angielskim, *Słów kluczowych, Dorobku naukowego* Kandydata, *Pełnych wersji publikacji* (forma wydruku z pliku pdf) stanowiących podstawę dysertacji oraz *Oświadczeń* wszystkich współautorów prac [P1-P5]. Zgodnie z załączonymi deklaracjami udział mgr. A. Gołębiowskiego w powstaniu publikacji [P1-P5] był znaczący. Kandydat brał udział nad dyskusją koncepcji prac, w planowaniu i realizacji doświadczeń, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. We wszystkich publikacjach, co jest warte podkreślenia, Doktorant jest pierwszym współautorem.

Przedstawiona do oceny dysertacja to zbiór wyników badań natury oddziaływań zachodzących pomiędzy pektynami,  $\beta$ -laktoglobuliną,  $\alpha$ -laktoalbuminą oraz wybranymi jonami metali: kadmu, miedzi, cynku, srebra. Wspomniane związki należą do ważnych w życiu człowieka. Pomimo, że ich fizykochemia oraz funkcje są dość dobrze rozpoznane, stanowią one ciągle obiekt



Uniwersytet  
Gdański



zainteresowań badaczy w kierunku możliwości ich zastosowania. Ważne przy tym są też niskie koszty pozyskiwania materiału do badań oraz jego powszechna dostępność. Pektyny są wielocukrami występującymi naturalnie w ścianach komórkowych roślin, a pod względem chemicznym związkami łańcuchowymi złożonymi z cząsteczek kwasu D-galakturonowego, zdolnymi do żelowania w środowisku kwasowym. Szacuje się, że  $\alpha$ -laktoalbumina i  $\beta$ -laktoglobulina stanowią łącznie ok. 75 % białka serwatki. Dzięki swoim cennym właściwościom  $\alpha$ -laktoalbumina jest wykorzystywana m.in. w branży spożywczej oraz farmaceutycznej. Białko to zawiera sporą liczbę aminokwasów egzogennych takich jak izoleucyna, leucyna, lizyna i tryptofan (najwięcej spośród wszystkich naturalnych białek, które można spotkać w żywności). Podobnie  $\beta$ -laktoglobulina, która również stanowi bogate źródło aminokwasów egzogennych. Wiąże ona retinol (potrzebny do prawidłowego widzenia) oraz witaminę D, powodując wzrost ich stężenia w organizmie, reguluje poziom „dobrego” i „złego” cholesterolu oraz ułatwia usuwanie toksycznego chlorku rtęci. Ze względu na ich budowę prowadzi się też badania wymienionych związków w kierunku wiązania z jonami metali. W połączeniach kompleksowych, jony metali są kwasami Lewisa i wykazują najczęściej powinowactwo do atomów tlenu grupy karboksylowej oraz fosforanowej, siarki grupy tiolowej, a także azotu z grupy aminowej. Jony metali są niezbędne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania człowieka, zwierząt oraz roślin. W połączeniu z białkami oraz innymi molekułami o znaczeniu biologicznym mogą pełnić rozliczne funkcje w organizmie, tj. katalityczne (tworzą jednordzeniowe i wielordzeniowe centra), funkcje strukturalne i regulatorowe (np. palce cynkowe). Dodatkowo takie metalobiomolekuły często wykazują działanie antybakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, są stosowane w dermatologii i mogą być przydatne w leczeniu chorób nowotworowych.

*Wstęp* został napisany na 8 stronach i ma charakter informacyjny, co jest przedmiotem badań. *Cele badawcze pracy* są przedstawione w postaci jednego zdania: „*Nadrzędnym celem pracy było badanie oddziaływań pomiędzy wybranymi koloidami oraz jonami metali*”, następnie podaje Autor szczegółowo zadania, które zamierza realizować. Pewien niedosyt może budzić brak 1-2 zdań rozwinięcia celu nadrzędnego, dlatego tego rodzaju badania są prowadzone, zwłaszcza, że w każdej z załączonych publikacji takie informacje można znaleźć. Proszę o komentarz podczas publicznej obrony.



Uniwersytet  
Gdański



Publikacje [P1-P5], będące podstawą rozprawy mgr. Adriana Gołębiowskiego zostały już poddane fachowej ocenie i opublikowane w renomowanych periodykach. W przeglądowej pracy [P1] przedstawiono możliwości zastosowania wybranych technik analitycznych do scharakteryzowania różnego rodzaju układów koloidalnych wraz z ich zakresem stosowalności oraz ograniczeniami. Omówiono techniki stosowane do określania rozkładu wielkości cząstek, masy molowej i potencjału zeta, specjacji chemicznej i elementów oddziałujących z koloidami. Indukowane jonami miedzi i kadmu żelowanie pektyn [P2] przeprowadzone za pomocą asymetrycznego frakcjonowania przepływu w polu przepływowym połączonego z detektorem rozproszenia światła o wielu kątach pokazało, iż następują zmiany wielkości oraz konformacji cząstek żelu, a obecność kadmu prowadzi do zmniejszenia wewnątrzcząsteczkowego elektrostatycznego odpychania. Wyzolowana z białka serwatkowego za pomocą chromatografii kolumnowej  $\beta$ -laktoglobulina [P3] została poddana charakterystyce fizykochemicznej (MALDI-TOF/TOF MS; elektroforeza kapilarna z detekcją UV; CD i AF4-MALS). Badania prowadzono też przy zmiennych pH oraz składach soli (wpływ siły jonowej i rodzaju jonu). Autorzy pracy [P3] pokazali między innymi, że skład elektrolityczny roztworu wpływa na stabilność koloidalną białka. Białko wykazuje tendencje do spontanicznego występowania w formach oligomerycznych, których równowaga zależy od pH środowiska oraz również od jego stężenia w roztworze, szczególnie przy pH bliskim punktu izoelektrycznego. Interesujące są wyniki badań możliwości kompleksotwórczych  $\alpha$ -laktoalbuminy z jonami cynku [P4] i srebra [P5] z wykorzystaniem metod fizykochemicznych, obliczeniowych i właściwości biologicznych do możliwych zastosowań w układach *in vivo*. Szczegółowa analiza materiału wykazała odmienny charakter wiązania  $\alpha$ -laktoalbuminy z jonami cynku [P4] i srebra [P5]. Z morfologicznego punktu widzenia kationy cynku zmieniają konformację białka i tworzą kuliste cząsteczki [P4], zaś w obecności jonów srebra tworzy niemal jednorodną strukturę metaliczną na białku [P5]. W kontekście publikacji [P4] chciałbym prosić o odniesienie się do następujących pytań:

- Jak długo prowadzono symulacje MD?
- Jakie były wymiary periodycznych pudełek symulacyjnych? Proszę o podanie liczby cząsteczek wody i wartości siły jonowej (stężenie przeciwjonów).
- Model wody TIP3P jest oczywiście tani w użyciu i dość dobrze odtwarza warunki symulacji. Czy próbowano symulacji z innymi modelami wody np. TIP4P?



Uniwersytet  
Gdański



Tematyka, której podjął się w swojej pracy mgr. Adrian Gołębiowski, jest bardzo aktualna. W pracy (bardziej precyzyjnie w całym komentarzu) zostały zacytowane 73 pozycje literaturowe, z czego zdecydowana większość, poza pracami fundamentalnymi, pochodzi z XXI. wieku. Doktorant wykorzystuje w badaniach szereg technik analitycznych, separacyjnych i obliczeniowych. Podsumowanie jest zebraniem najważniejszych wniosków z przeprowadzonych badań oraz możliwościami dalszego ich wykorzystania.

Praca została napisana starannie i przejrzysto. Jednak, jak to zwykle bywa, Autor nie uniknął pewnych błędów o charakterze edytorskim, które nie mają wpływu na merytoryczną wartość pracy. Na przykład na stronie 10 znajduje się bardzo długie i „skomplikowane” zdanie: „(...) Zauważono, że notowane wyższe wartości parametrów podczas analizy wykonywanej przez SEC mogą sprzyjać występowaniu: dysocjacji kompleksów powstałych na drodze słabszych od wiązania kowalencyjnego elektrostatycznego przyciągania, znaczącego efektu adsorpcji cząstek do fazy stacjonarnej, niewytłumaczalnych zmian konformacji jak również tworzenia się produktów częściowej degradacji struktury pierwotnej dla kompleksów niestabilnych [25]. (...)” W tym samym akapicie znaleźć można nieskładną i sprawiającą wrażenie niedokończonej myśl: “(...) Należy również dodać, że zaletą jest również charakteryzowanie w warunkach odpowiadających składowi fazy cieczy nośnej, a przez to implementacje tych warunków jako na przykład fizjologicznych. (...)”. W kilku miejscach na stronach 10-12 używa mgr. Adrian Gołębiowski niewłaściwie rzeczownika “charakteryzacja”. Proszę Autora o wyjaśnienie co to są: “charakteryzowanie koniugacji oligonukleotydu” (str. 10), “charakteryzowanie metali w świecie nauk biologicznych czy środowiskowych” (str. 11), “charakteryzowanie toksyczności metali ciężkich na środowisko” (str. 12), „5. Charakteryzacja przebiegu reakcji” (str. 16). Czy na pewno chciał Doktorant dokonać “charakteryzacji” czy raczej “charakterystyki”? Tekst zawiera nieliczne “literówki” i gdzieś tam brak polskich “ogonków”. Brakuje konsekwencji w zapisie wartości pH. Na stronie 27. jest np. „pH 3.0”, by na stronie kolejnej poprzedzić wartość liczbową pH znakiem równości (np. „pH=4.2”). Pominę fakt, że w języku polskim separatorem liczb dziesiętnych jest przecinek. Mocną stroną pracy są obszernie opisy do zaprezentowanych rysunków, ułatwiające ich analizę.

Sumaryczny dorobek naukowy mgr. Adriana Gołębiowskiego jest bardzo imponujący. Do momentu złożenia pracy doktorskiej był współautorem w 18 publikacjach oraz przedstawił wyniki badań, w których uczestniczył, na 8 konferencjach naukowych w postaci 4 prezentacji ustnych



Uniwersytet  
Gdański



oraz 4 posterów. W ciągu odbywania studiów doktoranckich był wykonawcą w dwóch grantach przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS 14 oraz Sonata 11), ich kierownikami byli odpowiednio dr hab. Paweł Pomastowski, prof. UMK i dr Magdalena Buszewska-Forajta. Obecnie uczestniczy w charakterze wykonawcy w trwającym projekcie naukowym OPUS 18, którym kieruje dr hab. Małgorzata Szultka-Młyńska, prof. UMK. Mgr. A. Gołębiowski uzyskiwał wsparcie finansowe z puli środków Wydziału Chemii UMK w ramach programu Granty Młodych Naukowców w trzech edycjach. Dodatkowo przebywał na dwóch, krótkich stażach naukowych w Wydziale Chemii UAM w Poznaniu oraz w grupie prof. Joanny Szpunar w jednostce IPREM (*Institute of Analytical Sciences and Physico-Chemistry for Environment and Materials*) w Pau we Francji. Ponadto odbył dwa szkolenia z zakresu stosowania techniki asymetrycznego frakcjonowania w polu sił przepływu oraz wielokątowego rozproszenia światła w celu separowania oraz charakteryzowania makrocząsteczek. Doktorant uzyskał wsparcie finansowe na wyjazd na zagraniczną konferencję naukową w konkursie PROM NAWA. Był również członkiem zespołu nagrodzonego zespołową nagrodą Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu III. stopnia, za osiągnięcia w 2021 roku.

Zdecydowana większość prac badawczych dorobku naukowego mgr. Adriana Gołębiowskiego dotyczyła tematyki charakterystyki koloidów oraz oznaczania pierwiastków. Kolejną tematyką było przeprowadzanie syntez, charakterystyki oraz wykonywanie badań nad potencjalnymi aplikacjami nowych kompleksów na bazie jonów metali oraz białka. Koloidami, stanowiącymi obiekt zainteresowań Doktoranta były polisacharydy: pektyny oraz chitozan oraz białka:  $\beta$ -laktoglobulina i  $\alpha$ -laktoalbumina, laktoferyna oraz frakcje ( $\alpha$ S1,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) kazein. Jonami metali, które były oznaczane najczęściej to kadm, miedź, cynk, srebro oraz krzem w różnych postaciach oraz formach. Technikami, które szczególnie często wykorzystywał Doktorant w swoich badaniach, były spektrometria mas z indukcyjnie sprzężoną plazmą oraz laserowa jonizacja/desorpcja wspomagana matrycą oraz technika asymetrycznego frakcjonowania w polu sił przepływu z detekcją wielokątowego rozproszenia światła.

Przedłożona mi do oceny rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu i spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 190 ust. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu



Uniwersytet  
Gdański



o dopuszczenie mgr. Adriana Gołębiowskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk chemicznych w dyscyplinie chemia. Ze względu na wysoki poziom oraz ponadprzeciętny dorobek naukowy, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Adriana Gołębiowskiego. Uzasadnienie mojego wniosku stanowi odrębny dokument.



Signed by /  
Podpisano przez:

Mariusz Makowski  
Uniwersytet  
Gdański

Date / Data:  
2023-08-24 11:54