



Katowice, dn. 5 grudnia 2022 r.

dr hab. Tomasz Płociniczak
profesor Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Śląski w Katowicach
e-mail: tomasz.plociniczak@us.edu.pl
tel. +48667125783

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR INŻ. WIKTORII WILMS
PT. INTRODUCTION TO BIOAUGMENTATION WITH MICROORGANISMS CAPABLE OF
DEGRADING HERBICIDES AND HERBICIDAL IONIC LIQUIDS AS A FACTOR
CONDUCTIVE TO HERBICIDE RESISTANCE SPREAD

Obecnie, w związku ze stale rosnącym globalnym zapotrzebowaniem na żywność, ochrona pól, w celu minimalizacji strat związanych m.in. z rozwojem chwastów czy inwazjami szkodników i fitopatogenów jest zadaniem kluczowym. Niepożądane rośliny, konkurując z roślinami uprawnymi o takie zasoby jak składniki odżywcze, wodę, światło słoneczne czy optymalną niszę ekologiczną przyczyniają się do zmniejszenia ilości plonu, a także jego jakości. Historycznie jednym z najskuteczniejszych sposobów zwalczania chwastów z upraw było stosowanie pestycydów zaliczanych do grupy herbicydów. Związki te, pomimo korzyści płynących z ich stosowania wciąż pozostają substancjami potencjalnie toksycznymi dla roślin, ludzi, a także mikroorganizmów glebowych będących jednym z najważniejszych czynników warunkujących żyzność gleby. Ich częste i intensywne stosowanie przyczynia się również do nabywania przez rośliny odporności na te związki. Rozwiązaniem tego problemu może być stosowanie preparatów o krótkim czasie zalegania w glebie i zredukowanej mobilności, która uniemożliwia lub wydłuża ich migrację np. do wód gruntowych. Przykładowo, glifosat (kwas 2-(fosfonometyloamino)octowy) - najczęściej stosowany pestycyd na świecie

1





do niedawna uważany był za bezpieczny w użyciu, jednak badania prowadzone w ostatnich latach zakwestionowały to twierdzenie.

Od 2011 roku strategii walki z chwastami zyskały nowe narzędzie tj. herbicydowe cieczki jonowe (HILs, ang. *herbicide ionic liquids*). Związki te zawierają w swojej strukturze aniony herbicydowe, odpowiedzialne za eliminację niepożądanych roślin oraz kationy o właściwościach powierzchniowo-czynnych. Co istotne, odpowiedni dobór kationu miał w teorii pozwalać na manipulowanie właściwościami takiego preparatu zgodnie z aktualnymi potrzebami aplikacyjnymi. Taka modyfikacja konwencjonalnie stosowanych herbicydów miała umożliwiać wykorzystanie potencjału chwastobójczego tych związków niejako na nowo, a bardzo istotnym aspektem jest brak konieczności stosowania adjuwantów, co jest konieczne w przypadku preparatów komercyjnych. Projektowanie HILs o pożądanych właściwościach umożliwia zmniejszenie dawki stosowanych preparatów, potencjalnie może przyczynić się do zmniejszenia ich toksyczności, np. poprzez zmniejszenie ich mobilności w środowisku i co szczególnie istotne, może skutkować większą podatnością na degradację mikrobiologiczną.

Mając na uwadze powyższe informacje, **temat pracy doktorskiej należy uznać za bardzo istotny i aktualny**, szczególnie, że kompleksowe śledzenie losów środowiskowych HILs, ich integralności po wprowadzeniu do gleby, a także aspekty związane z biodegradacją tych związków są badane najczęściej na podstawowym, wymaganym prawem poziomie. W tego typu badaniach długotrwałe i skomplikowane interakcje w układzie HILs-roślina-mikrobiom gleby/rośliny są zazwyczaj pomijane.

W części przeglądowej Doktorantka, mgr inż. Wiktoria Wilms, opisała cel i skalę stosowania pestycydów komercyjnych, wśród których herbicydy stanowią ponad 50% wszystkich stosowanych środków ochrony roślin. Przykładowo, Polska jest czwartym w Europie krajem pod względem zużycia glifosatu – herbicydu o szerokim spektrum działania, co dodatkowo podkreśla istotność prowadzonych w ramach ocenianej pracy doktorskiej badań. Konieczność aplikacji i korzyści płynące ze stosowania herbicydów są zestawione z zagrożeniami wynikającymi z ich masowego użycia, np. trudne do przewidzenia losy po wprowadzeniu do gleby, czy też interakcje z innymi związkami występującymi w glebie, wreszcie możliwe rozwijanie się odporności u roślin na tego typu związki. Doktorantka zauważa, że zjawisko toksyczności herbicydów jest dodatkowo komplikowane przez zastosowanie adjuwantów, które mają za zadanie polepszenie właściwości





użytkowe herbicydów, ale mogą powodować również wiele efektów ubocznych, które nie są badane w stopniu dostatecznym, porównywalnym do czystych postaci związków aktywnych chwastobójczo. Jako alternatywę dla herbicydów modyfikowanych adjuwantami podano herbicydowe ciecze jonowe.

W przypadku tych związków aktywność herbicydowa przypada na anion, podczas gdy zastosowany kation dobiera się w celu osiągnięcia pożądanych cech preparatu, np. odpowiednich właściwości zwilżających, czy osiągnięcia stabilności w środowisku po jego wprowadzeniu. Najczęściej jako kation wykorzystuje się związki o właściwościach powierzchniowo-czynnych, co ma sprzyjać adhezji i penetracji preparatu herbicydowego do wnętrza roślin. Jako część anionową proponuje się pochodne fenoksykwasów, kwasu benzoesowego, sulfonamoczników, kwasu 2-(fosfonometyloamino)octowego, a także aniony pochodzenia naturalnego zwane bio-herbicydami. Możliwe do zastosowania kationy w celu uzyskania HILs o odpowiednich właściwościach przedstawiono na Rys. 7, a także opisano w tekście.

HILs, podobnie jak inne związki wykorzystywane w rolnictwie są rutynowo analizowane pod kątem ich właściwości fizykochemicznych, skuteczności, ale także bezpieczeństwa stosowania i określenia wpływu aplikacji na wybrane parametry środowiskowe. Inne, istotne z punktu widzenia konsekwencji stosowania, parametry takie jak stabilność, mobilność, sorpcja, dostępność dla mikroorganizmów, a także mechanizmy degradacyjne są badane w zdecydowanie mniejszym, a przy tym dalece niezadawalającym stopniu. **Właśnie tę lukę wykorzystwała Doktorantka prowadząc badania często pomijanych, a kluczowych parametrów.** Prowadzone przez Doktorantkę badania dalece wybiegają poza zakres stosowanego obecnie, rutynowego postępowania w celu charakterystyki nowych HILs i obejmują m.in. oznaczenie mineralizacji i degradacji kationów i anionów wchodzących w skład HILs, określenie szlaków rozkładu tych związków, a także określenie ich adsorpcji w glebie. Jako szczególnie przydatną technikę do usuwania HILs ze środowiska Doktorantka wskazała bioaugmentację, czyli wprowadzenie do środowiska o niskim potencjale degradacyjnym wyselekcjonowanych szczepów lub ich społeczności w celu zwiększenia tego potencjału. Selekcja ta polega na wytypowaniu szczepów zdolnych do degradacji związków będących obiektem zainteresowania, a wyizolowanych uprzednio ze środowisk skażonych np. metodą hodowli wzbogacającej.

Większość stosowanej **metodyki** opisana jest w dokładny i precyzyjny sposób. Momentami jednak trzeba poświęcić więcej czasu na poprawne rozszyfrowanie jakich HILs dana analiza dotyczy.





Pomocna w tym momencie jest lektura artykułów naukowych, w których opublikowano wyniki uzyskane przez Doktorantkę do tej pory. W części metodycznej wymieniono testowane herbicydowe ciecze jonowe, sposób ich syntezy, a także znakowania węglem ^{13}C układu $[\text{C}_{12}\text{-BA}^*][\text{MCPA}]/[\text{C}_{12}\text{-BA}][\text{MCPA}^*]$, ($\text{C}_{12}\text{-BA}$ kation benzalkoniowy z 12-węglowym łańcuchem alkilowym, MCPA, kwas 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowy). Struktura uzyskanych związków została zweryfikowana przez analizę widm magnetycznego rezonansu jądrowego. Ponieważ do badań przygotowano aż 26 różnych HILs, poszczególne analizy opisywane w pracy przeprowadzono dla wybranych zestawów tych herbicydów. W toku badań przeprowadzono następujące oznaczenia/izolacje:

- Biodostępność wybranych HILs w glebie;
- Adsorpcję wybranych HILs w glebie;
- Izolację szczepów bakterii zdolnych do degradacji wybranych herbicydów [kwas 2-(fosfonometyloamino)octowy (glifosat), kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D), kwas 3,6-dichlorofenoksybenzoesowy (dikamba), kwas 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowy (MCPA)] z gleby pozakorzeniowej, ryzosfery, powierzchni roślin, a także wnętrza tkanek roślinnych.

W tym miejscu chciałem zapytać o przyczynę prowadzenia hodowli wzbogacającej mikroorganizmów ryzosferowych, epifitycznych oraz endofitycznych w pożywce 50% TSB bez czynnika selekcyjnego w postaci herbicydu? Kolejne pytanie dotyczy izolacji epifitów. Czy sposób postępowania, w którym rośliny cięte są na kawałki, a następnie zanurzane i płukanie w wodzie nie umożliwia uwalniania bakterii endofitycznych z wnętrza uszkodzonych cięciem tkanek?

- Mineralizację wybranych HILs bazujących na anionach glifosatu i 2,4D

W doświadczeniach tych wykorzystano bioaugmentację, do której wykorzystano szczepy bakterii pozyskane z hodowli wzbogacających. Czy konieczne było namnażanie bakterii w 100% podłożu TSB? Czy podjęto próby wykorzystania rozcieńzonego podłoża np. 50 lub 10%? Czy w tak bogatym podłożu dodany herbicyd był dostępny dla namnażanych bakterii? Czy według Doktorantki zasadne jest wykonanie w takich oznaczeniach dodatkowej kontroli zawierającej martwą biomasę bakterii równoważną 2 mL zawiesiny żywych komórek? Czy oszacowano liczbę bakterii





wprowadzanych do gleby w czasie inokulacji? Czym podyktowana była stała, relatywnie niska temperatura, w której prowadzono eksperyment tj. 20°C?

W kolejnych doświadczeniach badano:

- Mineralizację znakowanych ^{13}C [$\text{C}_{12}\text{-BA}^*$][MCPA]/[$\text{C}_{12}\text{-BA}$][MCPA*] oraz [$\text{C}_{12}\text{-BA}^*$][Br] w hodowlach płynnych z wykorzystaniem mikroorganizmów wchodzących w skład osadu czynnego;
- Mineralizację znakowanych ^{13}C [$\text{C}_{12}\text{-BA}^*$][MCPA]/[$\text{C}_{12}\text{-BA}$][MCPA*] oraz [$\text{C}_{12}\text{-BA}^*$][Br] w glebie, która w przeszłości miała kontakt z herbicydami;
- Wbudowywanie ^{13}C w strukturę fosfolipidowych kwasów tłuszczowych mikroorganizmów wykorzystanych w doświadczeniach biodegradacyjnych prowadzonych w wodzie i glebie.

Istotnym etapem tego doświadczenia było określenie ilości kationów i anionów w glebie, a także określenie metabolitów powstałych w procesie degradacji zastosowanych HILs.

- Eksperymenty biodegradacyjne w glebie z wykorzystaniem mikroorganizmów wyizolowanych z gleby mającej w przeszłości kontakt z herbicydami w tym:
 - Biodegradację QTS (czwartorzędowych soli tropanowych) z MCPA oraz dikambą;
 - Biodegradację HILs bazujących na glifosacie;
 - Biodegradację HILs bazujących na 2,4-D.

Z opisu w sekcji 3.10.2. punkt c) trudno wywnioskować, co było badane. Część opisu sugeruje, że może to być ekspresja wybranych genów np. „Total bacterial RNA was quantitated...“, natomiast zawarte są również informacje świadczące o tym, że badano liczbę kopii wybranych genów na podstawie wyizolowanego DNA. Ponieważ w opisie metodycznym nie przytoczono zastosowanej techniki izolacji RNA podejrzewam, że chodziło o DNA, a badano liczbę kopii danego genu w środowisku. W przypadku badań metabiomu stosuje się jednak kwantyfikację absolutną. Kwantyfikację relatywną wykorzystującą porównanie ekspresji badanego genu względem genów

5





referencyjnych (np. 16S rRNA) stosuje się dla układów, w których występuje tylko jeden szczep, np. bakterii. Bardzo proszę o wyjaśnienie tej kwestii.

Wszystkie opisane powyżej eksperymenty prowadzono z wykorzystaniem niezbędnych układów kontrolnych, a oznaczenia wykonane z wykorzystaniem chromatografii gazowej i cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas zostały wykonane prawidłowo z zastosowaniem odpowiednich standardów, a także z oznaczeniem odzysku stosowanych HILs w czasie ekstrakcji z gleby lub wody. Podano również wszystkie niezbędne parametry rozdziałów chromatograficznych i analiz ilościowych i jakościowych.

W kolejnych etapach badań oznaczano toksyczność wybranych HILs względem wybranych mikroorganizmów i roślin. W tym celu wyznaczano następujące wartości:

- EC_{50} medialne stężenie skuteczne dla glifosatu i 2,4-D

W przypadku tego oznaczenia opis metodyki nie pozwala na stwierdzenie, czy wartość tę wyznaczano jedynie na podstawie różnic lub ich braku w wartości gęstości optycznej hodowli, czy wyniki te potwierdzano poprzez posiew zawiesin na płytki z podłożem mikrobiologicznym.

- MIC (minimalne stężenie hamujące), MBC/MBF (minimalne stężenie bakteriobójcze/grzybobójcze) dla wybranych HILs, tj. QTS z dikamba i MCPA oraz [Bet][2,4-D], [C₁₂Bet][2,4-D] i [CAPBet][2,4-D];
- Wpływ wybranych HILs tj. QTS z dikambą i MCPA oraz [Bet][2,4-D], [C₁₂Bet][2,4-D] i [CAPBet][2,4-D] na kiełkowanie kukurydzy, chabra bławatka oraz jęczmienia zwyczajnego.

W pracy przeprowadzono również analizę struktury zespołów bakterii na podstawie sekwencji fragmentu genu 16S rRNA. Analizy te wykonano dla eksperymentów bioaugmentacyjnych z wykorzystaniem:

- HILs bazujących na glifosacie;





- HILs bazujących na 2,4-D (eksperyment polowy).

Część metodyczną kończy opis doświadczenia szklarniowego i polowego, w którym zastosowano HILs zawierające glifosat w postaci anionu i modyfikowane kationy cholinowe [Chol][Glyph] oraz [C₁₂Chol][Glyph]. W doświadczeniu tym jako roślinę zastosowano rzepak, dodatkowo przeprowadzono bioaugmentację gleby szczepami wykazującymi zdolność do degradacji glifosatu (szczepy wykorzystane wcześniej w doświadczeniu mineralizacyjnym). Metodą sekwencjonowania oznaczono przynależność taksonomiczną bakterii wchodzących w skład inokulum do poszczególnych rodzin. Rośliny uzyskane w ramach realizacji eksperymentu poddano następującym analizom:

- Oznaczenie biomasy;
- Oznaczenie pozostałości stosowanych herbicydów w tkankach;
- Oznaczenie markerów stresu oksydacyjnego (peroksydacji lipidów, wybranych reaktywnych form tlenu) w tkankach.

W doświadczeniu polowym zastosowano kolejny zestaw HILs bazujących na 2,4-D [Bet][2,4-D], [C₁₂Bet][2,4-D] oraz [CAPBet][2,4-D]. W doświadczeniu tym wpływ stosowanych HILs oceniano 4 tygodnie po ich aplikacji.

Podsumowując taka ilość układów badawczych, wykonanych analiz i ich różnorodność i zakres bez wątpienia wybiega ponad zakres badań wykonywanych w ramach realizacji pojedynczej pracy doktorskiej. Z tego powodu samą metodykę trudno jest napisać w sposób zwięzły, szczególnie, że poszczególne HILs zostały zastosowane w różnej liczbie bardzo zróżnicowanych eksperymentów. Fakt ten, a także niespotykana ilość zaprezentowanych wyników utrudnia nieco swobodne poruszanie się w tekście rozprawy.

Uzyskane rezultaty zostały opisane i przedyskutowane w kolejnym rozdziale **wyniki i dyskusja**. Poruszanie się w poszczególnych rozdziałach z tej sekcji ułatwiają schematy blokowe umieszczone na początku każdego podrozdziału tej sekcji. Niestety, kolejność prezentowanych wyników nie pokrywa się z kolejnością opisu metodycznego. Podejrzewam, że zmiana kolejności prezentowanych wyników względem opisów metodycznych miała na celu stworzenie spójnej historii



i kompleksowej analizie uzyskanych wyników. Dodatkowo, imponująca liczba i różnorodność analiz wykonanych dla poszczególnych HILs nie ułatwia tego zadania. Co istotne, poszczególne HILs były poddane różnym, często niepokrywającym się analizom, dlatego stworzenie łatwej w interpretacji analizy wyników jest dodatkowo utrudnione. Być może rozwiązaniem tej sytuacji byłoby zredukowanie danych zaprezentowanych w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej, np. poprzez redukcję liczby opisywanych HILs i wykonanych dla nich doświadczeń i analiz. Na pewno nie spowodowałyby to obniżenia wartości merytorycznej pracy, a ułatwiłoby czytelnikowi jej pełne zrozumienie i swobodniejsze poruszanie się wśród ogromu uzyskanych wyników.

Ponieważ zdecydowana większość prezentowanych w niniejszej pracy wyników jest już opublikowana w renomowanych czasopismach naukowych, a więc przeszła proces recenzji oraz modyfikacji zgodnie z sugestiami recenzentów moja rola ogranicza się do ich podsumowania. Wyniki zaprezentowano w postaci licznych tabel, wykresów i schematów, co niewątpliwie ułatwia ich analizę. Uzupełnieniem tekstu zawartego w tym rozdziale są materiały dodatkowe umieszczone na dołączonej do pracy płycie CD. Znajdują się na niej widma, schematy oraz szczegółowe opisy metodycznie uzupełniające opisy metodyczne z poprzedniego rozdziału pracy. Prezentowane wyniki są od razu dyskutowane, a wysuwane wnioski są poparte bardzo mocnymi dowodami w postaci wyników analiz. Co istotne, tekst tej części pracy charakteryzuje się zwięzłością i przystępnością. Autorka podchodzi do uzyskanych rezultatów w sposób krytyczny, prezentując duży obiektywizm podczas ich analizy. Nie próbuje wykazać zalet stosowanych HILs, a rzetelnie analizuje uzyskane informacje, które momentami skłaniają ją do kwestionowania skuteczności testowanych związków.

Szpecially ciekawe z punktu widzenia biologa są rezultaty polegające na śledzeniu metabolitów powstałych w procesie degradacji mikrobiologicznej i stwierdzenie, że powstałe struktury mogą wykazywać toksyczność względem mikroorganizmów, przez co dalsze procesy biodegradacyjne zostają zahamowane. Udowodnienie, że mikroorganizmy są zdolne do wbudowywania węgla ^{13}C pochodzącego ze znakowanej cieczy jonowej w strukturę fosfolipidowych kwasów tłuszczowych jest analizą dalece wybiegająca poza zakres badań degradacyjnych opisywany w większości prac. Badania degradacyjne prowadzone w środowisku wodnym i glebowym wykazały, że HILs degradowane są w odmienny sposób, zależny od środowiska, w którym odbywa się biodegradacja. Dodatkowo wykazano, że część kationowa i anionowa herbicydowej cieczy jonowej jest degradowana oddzielnie i w odmienny sposób. Niezwykle ciekawym wynikiem jest wykazanie,



że HILs po wprowadzeniu do gleby nie występują w niej jako pary jonowe, a raczej jako mieszaniny poszczególnych jonów.

Nie jest zadaniem łatwym lub nawet możliwym do wykonania podsumowanie ogromu uzyskanych wyników poprzez odniesienie się do każdego z nich, w ramach recenzji pracy doktorskiej, jednak zastosowana metodyka badawcza, stosowanie licznych kontroli, wreszcie skrupulanta analiza i przystępne przedstawienie wyników sprawiają, że recenzent nie ma wątpliwości odnośnie ich bardzo wysokiej naukowej wartości. Jak wspomniano wartość ta została także potwierdzona poprzez publikację artykułów naukowych, w których mgr inż. Wiktoria Wilms wymieniona została jako pierwszy lub kolejny autor.

Końcowymi rozdziałami zasadniczej części pracy jest **podsumowanie** wraz z zaproponowanymi **wnioskami**, a także **sugestie dalszych kierunków badań**. Autorka pracy zauważa, że zaproponowane podejście badawcze, a także wykonane analizy wypełniają lukę w badaniach nad HILs. Z tym niewątpliwie należy się zgodzić. Rozległą wiedzę na temat HILs mgr inż. Wiktoria Wilms udowodniła przygotowując artykuł przeglądowy *Herbicidal ionic liquids: a promising future for old herbicides? Review on synthesis, toxicity, biodegradation, and efficacy studies*, w którym jest pierwszym autorem. Co więcej, kompleksowy przegląd literatury pozwolił na zaproponowanie tematu badawczego związanego z biodegradacją i losami środowiskowymi HILs, który jest oryginalny, nowy i gwarantuje zainteresowanie środowiska naukowego. W pracy badano m.in. możliwość zastosowania jako komponentów kationowych pochodnych tropanowych, których czwartorzędowe sole wykazują właściwości powierzchniowo-czynne. Kationy te wykorzystano w połączeniu z lotnymi anionami wykazującymi właściwości herbicydowe takimi jak: MCPA i dikamba. Takie podejście miało w założeniu wyeliminować konieczność stosowania adjuwantów. W rzeczywistości wykazano, że takie połączenie zmniejsza podatność części anionowej na degradację mikrobiologiczną, najpewniej poprzez zwiększenie toksyczności względem mikroorganizmów. W przypadku HILs nietoksyczne aniony w połączeniu z kationami o właściwościach powierzchniowo-czynnych powodują powstanie układów o zwiększonej toksyczności względem mikroorganizmów. Wyniki opisane w niniejszej pracy nakazują zatem zachowanie większej ostrożności w projektowaniu i aplikacji HILs, a na pewno jednoznacznie wskazują na potrzebę prowadzenia kompleksowych badań środowiskowych polegających na śledzeniu losów wprowadzanych układów. Najdobitniej konieczność ta została udowodniona w badaniach wykorzystujących znakowanie cieczy jonowych





węgłem ^{13}C . Autorka podkreśla, że w czasie publikowania pracy *Quantifying the mineralization of ^{13}C -labeled cations and anions reveals differences in microbial biodegradation of herbicidal ionic liquids between water and soil* było to pierwsze doniesienie z tematyki HILs, w którym wykorzystano tę technikę. Wyniki badań wykazały, że poszczególne składowe HILs ulegają degradacji z różną efektywnością w zależności od środowiska (wodne lub glebowe), a także kwestionują integralność stosowanych HILs w środowisku. Wykazano, że kationy o właściwościach powierzchniowo-czynnych były degradowane efektywniej w środowisku wodnym, podczas gdy herbicydowe aniony w środowisku glebowym. Istotnym dowodem potwierdzającym mikrobiologiczną degradację było określenie związków powstających w procesie degradacyjnym, a także potwierdzenie wbudowywania węgla ^{13}C pochodzącego ze znakowanej HIL w strukturę fosfolipidowych kwasów tłuszczowych mikroorganizmów. Kolejnym istotnym wynikiem było podważenie integralności HILs w środowisku, co oznaczono poprzez badanie sorpcji poszczególnych komponentów HILs oraz oznaczenie toksyczności względem roślin i mikroorganizmów. Wykazano, że kationy i aniony wchodzące w skład HILs występują w środowisku samodzielnie, a kation nie wpływał na mobilność anionu, co jest zaprzeczeniem jednej z głównych korzyści wymienianych w literaturze przy okazji omawiania zalet HILs. Co więcej, hydrofobowe kationy powodowały zwiększoną toksyczność HILs. Uzyskane wyniki wskazują, że przynajmniej wybrane do eksperymentów HILs, po wprowadzeniu do środowiska są tylko roztworem kationów i anionów, które działają niezależnie od siebie. Jest to istotny dowód kwestionujący ideę towarzyszącą HILs jako projektowalnym związkom i wskazujący na konieczność prowadzenia szerszych badań przed wprowadzeniem HILs na rynek preparatów komercyjnych.

Przechodząc do wniosku końcowego należy podkreślić, że cel prowadzonych badań został osiągnięty, a hipotezy badawcze zostały zweryfikowane doświadczalnie. Dobór metodyki badawczej, sposób analizy i przedstawienia wyników, a także ich dyskusji niewątpliwie świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki. Na podkreślenie zasługują również wysokie wartości współczynnika *Impact Factor* czasopism, w których opublikowano pracę przeglądową oraz wyniki uzyskane do tej pory (cztery prace o sumarycznym $IF = 25.9$).

WNIOSEK KOŃCOWY





Reasumując, po zapoznaniu się z otrzymanymi materiałami jestem przekonany, że przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Wiktorii Wilms spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.). **Zgłaszam zatem formalny wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne, Wydziału Technologii Chemicznej, Politechniki Poznańskiej o dopuszczenie mgr inż. Wiktorii Wilms do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych i dyscyplinie nauki chemiczne.**

Mając na uwadze bardzo szeroki zakres prowadzonych badań, wysoką jakość uzyskanych wyników oraz fakt, że w dużej części zostały już opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych wnioskuję również o wyróżnienie przedstawionej do recenzji pracy.



