



Warszawa, dn. 06.12.2022 r.

Dr hab. inż. Lidia Stasiak-Różańska  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Instytut Nauk o Żywności  
Ul. Nowoursynowska 159c  
02-776 Warszawa

### **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Izabeli Urszuli Cieleckiej  
pt. „Modelowanie *in situ* biosyntezy i właściwości fizyko-mechanicznych  
nanocelulozy bakteryjnej”,  
zrealizowanej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej  
pod kierunkiem naukowym Promotora  
Profesora Doktora hab. inż. Stanisława Bieleckiego**

#### **Podstawa wykonania recenzji**

Podstawą formalną wykonania recenzji rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej pt. „Modelowanie *in situ* biosyntezy i właściwości fizyko-mechanicznych nanocelulozy bakteryjnej” było pisemne zawiadomienie z dn. 26.09.2022 r., sporządzone przez Panią Profesor dr hab. inż. Annę Diowsz, Dziekan Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej, zgodnie z Uchwałą nr 75/2021 z dnia 6 lipca 2021 r.

Podstawą prawną wykonania recenzji jest Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789).

#### **Ocena formalna rozprawy doktorskiej**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej obejmuje 252 strony maszynopisu. Doktorantka podzieliła rozprawę na kolejne, typowe dla prac doktorskich rozdziały, obejmujące m.in. stan wiedzy w obszarze podjętej problematyki badawczej, genezę i cel pracy, szczegółowe omówienie publikacji wchodzących w skład dzieła, wnioski końcowe.



Doktorantka jest absolwentką specjalności biotechnologia molekularna i biochemia techniczna na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. Pani mgr inż. Izabela Cielecka poza publikacjami stanowiącymi podstawę do ubiegania się o stopień doktora jest współautorką jednej publikacji naukowej oraz jednego patentu krajowego. Aktywność konferencyjna Doktorantki obejmuje uczestnictwo w trzech konferencjach międzynarodowych, na których przedstawiła cztery postery i dwa doniesienia ustne oraz czterech konferencjach krajowych (dwa postery i dwa doniesienia ustne). Doktorantka podnosiła swoje kwalifikacje biorąc udział w pięciu szkoleniach. Zdaniem recenzentki wartościowym uzupełnieniem życiorysu naukowego Doktorantki, byłoby zrealizowanie stażu w zagranicznej lub krajowej jednostce naukowej, tym bardziej, że całą wyższą edukację Doktorantka związała z jedną uczelnią.

Podstawę do ubiegania się o stopień doktora stanowi pięć spójnych tematycznie publikacji, opatrzonych wspólnym tytułem „Modelowanie *in situ* biosyntezy i właściwości fizyko-mechanicznych nanocelulozy bakteryjnej”. Tytuł został sformułowany poprawnie i w pełni koresponduje z celem, zakresem i treścią pracy. W skład artykułów wchodzi:

1. Cielecka I., Szustak M., Gendaszewska-Darmach E., Kalinowska H., Ryngajłło M., Maniukiewicz W., Bielecki S. Novel bionanocellulose/ $\kappa$ -carrageenan composites for tissue engineering, *Applied Sciences*, 2018, 8(8), 1352, MDPI
2. Cielecka I., Szustak M., Kalinowska H., Gendaszewska-Darmach E., Ryngajłło M., Maniukiewicz W., Bielecki S. Glycerol-plasticized bacterial nanocellulose-based composites with enhanced flexibility and liquid sorption capacity, *Cellulose*, 2019, 26(9), 5409-5426, Springer
3. Cielecka I., Ryngajłło M., Bielecki S. BNC biosynthesis with increased productivity in a newly designed surface air-flow bioreactor, *Applied Sciences*, 2020, 10(11), 3850, MDPI
4. Cielecka I., Ryngajłło M., Maniukiewicz W., Bielecki S. Response Surface methodology-based improvement of the yield and differentiation of properties of bacterial cellulose by metabolic enhancers, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 187, 584-593, Elsevier



5. Cielecka I., Ryngajłto M., Maniukiewicz W., Bielecki S. Highly stretchable bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter hansenii* SI1, *Polymers*, 2021, 13(24), 4455, MDPI

Artykuły zostały opublikowane w latach 2018-2021, sumaryczna wartość współczynnika cytowań (IF) z roku ukazania się poszczególnych pozycji wynosi 21,026, a łączna liczba punktów według wykazu MNiSW z roku ukazania się poszczególnych pozycji wynosi 395. Pani mgr inż. Izabela Cielecka jest pierwszym i jednocześnie korespondencyjnym autorem we wszystkich wymienionych artykułach. Udział Doktorantki w manuskryptach wynosił od 59 do 79% i polegał m.in. na nakreśleniu koncepcji i zakresu badań, doborze odpowiednich metod badawczych i analitycznych, zaplanowaniu części eksperymentalnej, realizacji prac doświadczalnych (w tym również zaprojektowaniu prototypu bioreaktora i nadzorowaniu jego wykonania), analizie i interpretacji wyników, a także pisaniu manuskryptów i pracach nad ich ostateczną korektą. Potwierdzeniem tych informacji są pisemne oświadczenia wszystkich Współautorów zamieszczone w pracy. Można zatem ponad wszelką wątpliwość stwierdzić, że Doktorantka miała znaczący udział w powstaniu manuskryptów. Wszystkie publikacje wchodzące w skład dzieła są opracowaniami oryginalnymi.

Recenzowana rozprawa rozpoczyna się od streszczenia (w języku polskim i angielskim), w którym Doktorantka przybliży charakterystykę celulozy bakteryjnej, zwraca uwagę na znaczenie tego biopolimeru w przemyśle i medycynie, wyjaśnia cel podjętych badań i w sposób syntetyczny przedstawia zrealizowane etapy pracy. Na kolejnych stronach Autorka prezentuje życiorys naukowy oraz wykaz publikacji stanowiących rdzeń rozprawy doktorskiej. Kolejny rozdział, zatytułowany „Stan wiedzy w obszarze badań”, obejmujący 42 strony maszynopisu, stanowi rozbudowane o liczne podrozdziały kompendium wiedzy o nanocelulozie bakteryjnej, mechanizmie jej syntezy, charakterystyce jej parametrów fizycznych i mechanicznych, a także o czynnikach warunkujących wydajność i właściwości tego biopolimeru. Ta część opracowania bardzo dobrze wprowadza w tematykę podjętych badań. Doktorantka wyjaśnia poruszane w pracy aspekty bardzo dokładnie, nie pozostawiając żadnej przestrzeni na wątpliwości co do słuszności podjętych badań. Zdaniem recenzentki jest to bardzo wartościowy materiał,



przydatny zarówno dla celów naukowych, jak również w edukacji akademickiej. Do opracowania tej części rozprawy Doktorantka wykorzystała aż 251 źródeł literaturowych. W dalszej części opracowania Pani mgr inż. Izabela Cielecka szczegółowo opisała genezę pracy i raz jeszcze przedłożyła jej cel. Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego przedstawiono w pięciu podrozdziałach, obejmujących 36 stron maszynopisu, na kolejnych dwóch stronach Doktorantka przedstawiła dziesięć wniosków. Pozostałe strony dzieła stanowią kopie publikacji oraz oświadczenia Współautorów o Ich udziale w powstawaniu manuskryptów.

#### Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej dotyczy w głównej mierze badań nad modelowaniem procesu biosyntezy nanocelulozy bakteryjnej i wpływaniem na jej właściwości fizyko-mechaniczne. Pracę można podzielić na pięć spójnych, logicznie zaplanowanych i tematycznie powiązanych etapów.

W pierwszym etapie badań analizowano wpływ modyfikacji podłoża hodowlanego poprzez dodatek karagenu w formie usieciowanej oraz w postaci uwodnionych agregatów. W wyniku przeprowadzonych hodowli otrzymano celulozę o zmniejszonej (w porównaniu do formy natywnej) zdolności do utrzymywania wody oraz obniżonym stopniu krystaliczności. Jednocześnie wykazano, że zmodyfikowana celuloza miała większą wytrzymałość na rozciąganie i ściskanie. Uprzejmie proszę o wyjaśnienie dlaczego celuloza otrzymana w podłożu z 0,8% dodatkiem karagenu charakteryzowała się niższym współczynnikiem retencji w porównaniu do celulozy natywnej oraz celulozy otrzymanej w pozostałych wariantach podłoży doświadczalnych. Czy dodatek karagenu do podłoża hodowlanego wpływał na intensyfikację biosyntezy celulozy przez komórki *Komagataeibacter xylinus*?

W drugim etapie badań jako czynnik modyfikujący *in situ* zastosowano karboksymetylocelulozę oraz hydroksyetylocelulozę, natomiast *ex-situ* – glicerol. Nie zaobserwowano pozytywnego wpływu związków zastosowanych *in situ* na wydajność i krystaliczność otrzymanej celulozy. Stwierdzono, że modyfikacje *ex-situ* z zastosowaniem glicerolu umożliwiły otrzymanie kompozytów celulozowych o wyższej wytrzymałości



mechanicznej i chłonności medium imitującego wysięk w porównaniu do formy natywnej. W opinii recenzentki dyskusyjne jest twierdzenie, że glicerol wykazuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Uprzejmie proszę o odniesienie się do tej uwagi.

W trzecim etapie badań podjęto próbę skonstruowania bioreaktora z możliwością wymuszenia obiegu powietrza równoległe z przyrostem biocelulozy. Wartościowym uzupełnieniem pracy byłoby umieszczenie zdjęcia tego prototypu. Na podstawie planu eliminacyjnego Placketta-Burmana dokonano oceny istotności wpływu m.in. rozmiarów bioreaktora, czasu hodowli, stężenia glukozy, pH, prędkości przepływu powietrza oraz jego wilgotności na uzysk suchej masy, konwersję glukozy do celulozy oraz gramaturę błon celulozowych. Wykazano, że większość badanych czynników istotnie wpływała na wydajność biosyntezy celulozy. Do czynników, które w największym stopniu przyczyniły się do zwiększenia wydajności otrzymywania celulozy i polepszenia jej wytrzymałości mechanicznej, zaliczono stężenie glukozy w podłożu, czas hodowli a także szybkość przepływu powietrza. Uprzejmie proszę o doprecyzowanie stwierdzenia, że wartość pH środowiska reakcji nie miała w tym przypadku istotnego wpływu na uzysk suchej masy celulozy bakteryjnej. Jak Doktorantka ocenia możliwość przeniesienia procesu z prototypu bioreaktora na większą skalę?

W czwartym etapie badań Doktorantka wypełniła lukę w literaturze naukowej, przedstawiając wyniki wpływu suplementacji podłoża etanolem i kwasem mlekowym na wydajność procesu otrzymywania celulozy bakteryjnej i jej właściwości w hodowli szczepu *K. xylinus* E25. Określono m.in. optymalne stężenia etanolu i kwasu mlekowego, umożliwiające kilkukrotne zwiększenie wydajności procesu w porównaniu do wariantu kontrolnego. Wykazano, że otrzymany polimer w porównaniu do formy natywnej, charakteryzował się wysoką porowatością, znacząco zwiększoną możliwością utrzymywania wody, lepszymi parametrami wytrzymałościowymi i niższym stopniem krystaliczności.

W piątym etapie pracy wyizolowano i zidentyfikowano nowy szczep bakterii octowych – *K. hansenii* SI1 (obecnie *Novacetimonas hansenii* SI1), który wykorzystano do otrzymania nanocelulozy, poddanej następnie szczegółowej charakterystyce. Czy zdaniem Doktorantki nowy szczep *N. hansenii* SI1 może stanowić konkurencję dla szczepu *K. xylinus* E25 i w przyszłości zastąpić go w pozyskiwaniu celulozy bakteryjnej na skalę przemysłową?



Pani mgr inż. Izabela Cielecka podsumowała swoje dzieło przedstawiając dziesięć dobrze sformułowanych, popartych wynikami i niebudzących żadnych zastrzeżeń wniosków, tym samym dowiodła, że cel pracy został osiągnięty. W uzupełnieniu do pracy, zwracam się do Doktorantki z prośbą o podzielenie się opinią czy Doktorantka widzi nowe możliwości przemysłowego zastosowania celulozy bakteryjnej, które do tej pory nie zostały opisane w literaturze naukowej? Jak Doktorantka ocenia szansę zastąpienia celulozy roślinnej jej mikrobiologicznym odpowiednikiem?

#### Uwagi edytorskie, językowe i inne

Praca zawiera nieliczne błędy edytorskie i stylistyczne, których nie sposób uniknąć w tego typu opracowaniach, np. pisanie o bakteriach „odpornych” na antybiotyki, używanie terminu „spada” dla określenia zmniejszenia zdolności lub zmniejszenia stężenia, stosowanie terminu „ilość” dla określenia liczby rzeczowników policzalnych. Zabrakło również informacji czy Doktorantka umieszczając w opracowaniu rysunki z publikacji innych autorów uzyskała odpowiednie zgody. Jednocześnie zaznaczam, że te nieliczne błędy nie umniejszają w żadnym stopniu wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej, która pozostaje na bardzo wysokim poziomie.

#### Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej pt. „Modelowanie *in situ* biosyntezy i właściwości fizyko-mechanicznych nanocelulozy bakteryjnej” dotyczyła wyznaczenia czynników, które w sposób istotny i pozytywny wpływają na szeroko pojętą biosyntezę celulozy bakteryjnej oraz zwiększają możliwości aplikacji tego biopolimeru w przemyśle i medycynie. Na szczególne uznanie zasługuje zaprojektowanie i skonstruowanie przez Doktorantkę i Współpracowników prototypu bioreaktora oraz udowodnienie skuteczności jego zastosowania w procesie otrzymywania celulozy bakteryjnej. Należy również wyeksponować fakt przeprowadzenia szeregu badań z zastosowaniem nowego szczepu *N. hansenii* SII1, co zdecydowanie wzbogaca wiedzę o taksonomii i fizjologii bakterii octowych. Doktorantka udowodniła, że ma szeroką i pogłębioną wiedzę z zakresu podjętej



problematyki badawczej i potrafi nakreślić odpowiedni cel badań. Posiada również umiejętność logicznego planowania kolejnych etapów eksperymentalnych. Z lektury dysertacji jasno wynika, że Pani mgr inż. Izabela Cielecka nie obawiała się konfrontacji merytorycznej z otrzymanymi wynikami, które bywały czasami zaskakujące i trudne do przewidzenia. Doktorantka bardzo dobrze poradziła sobie w konstruktywnej dyskusji otrzymanych wyników, nie pozostawiając żadnych wątpliwości co do ich interpretacji. Uznanie budzi również umiejętność trafnego formułowania wniosków. Na szczególną pochwałę zasługuje bardzo szeroki zakres pracy, w którym Doktorantka wykazała się pracowitością, ciekawością naukową i uporem w dążeniu do celu godnymi dobrego naukowca.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej stanowi wartościowy wkład naukowy w rozwój badań nad procesami biotechnologicznego pozyskiwania celulozy bakteryjnej, a także poszerza możliwości aplikacyjne tego polimeru w wielu obszarach przemysłu i medycyny.

Niniejszym wnioskuję do Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej w dyscyplinie technologia żywności i żywienia o dopuszczenie Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, dn. 06.12.2022 r.

Dr hab. inż. Lidia Stasiak-Róžańska  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Instytut Nauk o Żywności  
Ul. Nowoursynowska 159c  
02-776 Warszawa

### WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Izabeli Urszuli Cieleckiej  
pt. „Modelowanie *in situ* biosyntezy i właściwości fizyko-mechanicznych  
nanocelulozy bakteryjnej”,  
zrealizowanej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej  
pod kierunkiem naukowym Promotora  
Profesora Doktora hab. inż. Stanisława Bieleckiego

Niniejszym zwracam się do Wysokiej Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Izabeli Cieleckiej. Zgodnie z moją opinią wyrażoną i uzasadnioną w recenzji ww. rozprawy podtrzymuję, że praca wyróżnia się szerokim zakresem przeprowadzonych prac, zawiera wiele nowatorskich elementów i stanowi istotny wkład w rozwój metod biotechnologicznego pozyskiwania celulozy bakteryjnej oraz poszerza możliwości aplikacyjne tego biopolimeru.

