



Politechnika Łódzka

Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska
90-924 Łódź, ul. Wólczańska 213

Prof. dr hab. inż. Liliana Krzystek
Katedra Inżynierii Bioprocessowej

Łódź, dn. 28. 08. 2015

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Agnieszki Gąszczak
z Instytutu Inżynierii Chemicznej
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

**KINETYKA MIKROBIOLOGICZNEGO ROZKŁADU WYBRANYCH
LOTNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH**

Promotor pracy: Prof. dr hab. inż. Grażyna Bartelmus

Charakterystyka pracy

Recenzowana rozprawa została wykonana w Pracowni Bioreaktorów i Procesów Biokatalitycznych w Instytucie Inżynierii Chemicznej Polskiej Akademii Nauk. Tematyka badawcza tej Pracowni od lat jest zogniskowana na zagadnieniach związanych z modelowaniem reaktorów/bioreaktorów trójfazowych ze stałym złożem (ang. trickle-bed reactors). Jednym z zastosowań tych bioreaktorów jest proces oczyszczania powietrza z lotnych związków organicznych.

Od strony formalnej, praca doktorska została opracowana przejrzysto i z typowym podziałem na poszczególne rozdziały. Rozpoczyna się od krótkiego wprowadzenia, po którym przedstawiony jest cel i zakres pracy. Dalej opisane są, będące przedmiotem badań, lotne związki organiczne oraz metodyka selekcji i doboru drobnoustrojów degradujących te związki. W następnych rozdziałach przedstawione są wyniki przeprowadzonych badań doświadczalnych, poprzedzone opisem teoretycznym oraz ich dyskusją. Praca kończy się krótkim podsumowaniem wraz z wnioskami. Wykaz wykorzystanej w pracy literatury poprzedza załączony do pracy załącznik zawierający oznaczenia oraz aneks (zbiór danych uzupełniających). W pracy zawarto łącznie 72 rysunki i 21 tabel oraz wykorzystano 161 pozycji literaturowych (w tym 7 źródeł internetowych). Dokumentacja pracy zawiera 166 stron maszynopisu.

Już we Wprowadzeniu do pracy zdefiniowany został obszar zainteresowań oraz przedstawiono zasadność podjęcia badań nad opracowaniem technologii oczyszczania powietrza z wybranych lotnych związków organicznych. Doktorantka podkreśliła rolę

związków organicznych w zanieczyszczeniu powietrza, scharakteryzowała lotne związki organiczne oraz metody oczyszczania powietrza z tych związków.

Cele pracy zostały zdefiniowane w postaci siedmiu punktów, które omówiono w kolejnych rozdziałach pracy. Opis każdego ze zrealizowanych celów zawierał zwięzły przegląd literatury, charakterystykę stosowanych materiałów i metod, procedury wykonywanych doświadczeń, wykorzystywaną aparaturę, a także uzyskane wyniki przeprowadzonych badań. Prezentacji wyników każdej części badań doświadczalnych towarzyszy ich dyskusja, będąca uzupełnieniem informacji przedstawionych w przeglądzie piśmiennictwa i świadczy o umiejętności ostrożnej, krytycznej analizy i interpretacji wyników badań. Moją uwagę zwróciło konsekwentne stawianie kolejnych logicznych celów, ich dobrze udokumentowana realizacja i krótkie podsumowania, z których wynikały kolejne cele.

Doktorantka zdecydowała się na wybór dwóch lotnych związków organicznych o odmiennej budowie chemicznej (alifatyczny ester – octan winylu i związek aromatyczny – styren). Szczegółowo omówiła zagadnienie rozkładu tych związków przy udziale drobnoustrojów, a następnie przedstawiła procedury selekcji i adaptacji drobnoustrojów degradujących octan winylu i styren. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń dokonała oceny czystości wyizolowanych szczepów, przynależności wybranych szczepów do gatunku, sprawdziła ich zdolność do rozkładu testowanych związków. Zbadała także aktywność enzymów, decydujących o przebiegu szlaku rozkładu octanu winylu i styrenu. Następnie określiła wpływ dostępności składników pokarmowych (zawartości podstawowych pierwiastków), temperatury i pH na degradację badanych lotnych związków organicznych. Przeprowadziła wieloetapową adaptację wybranych szczepów bakterii do środowiska zawierającego octan etylu lub styren.

Przedstawienie rezultatów badań kolejnej części pracy, dotyczącej kinetyki wzrostu drobnoustrojów i zużywania badanych substratów, Doktorantka poprzedziła omówieniem przebiegu wzrostu drobnoustrojów i zużywania substratu w hodowli okresowej, opisem stanowiska badawczego, stosowanych technik analitycznych oraz schematem doświadczeń. W pierwszej kolejności przedstawiła wyniki badań hodowli dwóch wybranych szczepów, degradujących octan winylu: *Pseudomonas* sp. EC3_2001 oraz *Pseudomonas fluorescens* PCM 2123, prowadzonych w bioreaktorach okresowych. Przeanalizowała etapy rozkładu octanu winylu, porównała stopień konwersji substratu, zbadała obecność występujących metabolitów pośrednich, a także dynamikę przeprowadzonych w szerokim zakresie początkowego stężenia octanu winylu procesów okresowych. Podobnie, celem wyznaczenia postaci i stałych równania opisującego szybkość degradacji styrenu przy udziale szczepu bakterii *Pseudomonas* sp. E-93486, przeprowadziła szereg procesów okresowych. Wyznaczyła także współczynniki wydajności wzrostu bakterii w odniesieniu do zużywanego związku organicznego i zbadała wpływ temperatury na ich szybkość wzrostu.

Ostatnia część pracy została poświęcona badaniom hodowli ciągłych. Doktorantka poświęciła wiele miejsca opisowi metodyki określania parametrów przemiany podstawowej. Wyznaczyła parametry kinetyczne hodowli bakterii w obecności octanu winylu oraz styrenu, a także przeprowadziła weryfikację opracowanych modeli kinetycznych.

Najważniejsze osiągnięcia przeprowadzonych badań zostały przedstawione rzeczowo i konkretnie we wnioskach. Pracę zamyka wykaz literatury zawierający głównie pozycje obcojęzyczne. Cytowana literatura w przeważającej części pochodzi z ostatnich 15 lat.

Rozprawa została napisana poprawnym językiem, charakteryzującym się precyzją w formułowaniu myśli. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania cechuje kompleksowość i wieloaspektowe podejście. Zastosowane w pracy metody badawcze oparto na nowoczesnych metodach analitycznych, są one właściwie dobrane oraz

zastosowane, pozwalają na udowodnienie postawionego celu. Praca wykonana jest poprawnie pod względem metodycznym.

Zasadność podjętej tematyki

Działalność człowieka, związana z realizacją jego potrzeb, poza korzyściami gospodarczymi i ekonomicznymi, niesie za sobą systematyczny wzrost ilości zanieczyszczeń emitowanych do powietrza atmosferycznego. Do szczególnie niebezpiecznych substancji należą lotne związki organiczne (LZO), które stanowią dużą grupę związków chemicznych.

Substancje te są substratami lub produktami w wielu technologiach przetwórstwa surowców naturalnych, rafineriach, petrochemiach, w przemyśle produkcji farb i lakierów, farmaceutycznym, elektronicznym, tekstylnym oraz metalurgicznym. Powstają one ponadto w oczyszczalniach ścieków, na składowiskach odpadów komunalnych, są obecne w spalinach emitowanych przez samochody, a także domowe kotłownie. Ze względu na właściwości fizykochemiczne, takie jak wysoka prężność par, łatwo przedostają się do atmosfery i łatwo się rozprzestrzeniają, stanowiąc problem nie tylko w miejscu ich powstawania (halach produkcyjnych, laboratoriach, magazynach), lecz również w znacznym obszarze wokół źródeł emisji.

Istnieje wiele metod usuwania LZO z powietrza, ale najczęstszym kryterium doboru metody oczyszczania powietrza są względy ekonomiczne. Stąd też, coraz więcej uwagi poświęca się metodom biologicznym usuwania LZO, które posiadają wiele zalet: są względnie proste, tanie w eksploatacji, proste w obsłudze i przyjazne dla środowiska.

Do lotnych związków organicznych zalicza się m.in. octan winylu i styren. Są to związki, które przedostają się do powietrza w trakcie cyklu produkcyjnego i mogą być z niego usunięte w wyniku procesów biodegradacji. Oba te związki są powszechnie produkowane i wykorzystywane, zarówno w kraju jak i na świecie.

Zaprezentowane przez Doktorantkę badania nawiązują do przedstawionego kierunku i wnoszą istotne elementy o znaczeniu nie tylko naukowym, ale przede wszystkim praktycznym. Podjęcie badań dotyczących kinetyki degradacji octanu winylu i styrenu przy udziale drobnoustrojów uważam zatem za właściwe i zasadne, tym bardziej że należą one do rzadkości.

Walory poznawcze pracy

Spośród wielu aspektów pracy, istotnych w zakresie podjętej tematyki, na szczególną uwagę zasługuje:

1. Wyselekcjonowanie szczepów bakterii oraz określenie warunków dla ich wzrostu i degradacji badanych lotnych związków organicznych: octanu winylu i styrenu.
2. Wykazanie, że szybkość degradacji styrenu jest dwukrotnie mniejsza niż octanu winylu, a charakter zmian zarówno właściwej szybkości wzrostu wyselekcjonowanych drobnoustrojów degradujących octan winylu i styren jak i właściwej szybkości zużywania tych substratów jest zbliżony.
3. Stwierdzenie, że dynamika przeprowadzonych hodowli okresowych w badanym zakresie początkowego stężenia octanu winylu i styrenu wskazuje na inhibicję substratową wzrostu biomasy bakterii.
4. Wyznaczenie postaci i estymacja parametrów równań opisujących kinetykę wzrostu biomasy drobnoustrojów i zużywania badanych substratów.
5. Wyznaczenie wartości energii aktywacji w równaniu Arrheniusa dla wzrostu szczepu bakterii *Pseudomonas* sp. E-93486 w obecności styrenu.

6. Wykazanie, że zaproponowane modele kinetyczne dobrze opisują dane doświadczalne.
7. Sformułowanie postaci równań stechiometrycznych, opisujących proces wzrostu biomasy bakterii i zużywania octanu winylu i styrenu.

Uwagi

Przedstawiona praca jest napisana starannie, a błędy, czy niezręczności stylistyczne należą do rzadkości. Na uwagę zasługuje poprawny styl i język polski. Jednakże, podczas czytania rozprawy nasunęły mi się następujące uwagi:

1. Zastąpiłabym występujący w pracy termin „utylicacja”: substratów, związków organicznych, substancji organicznych, zanieczyszczeń, odpadów, ścieków, na: „zużywanie” lub „wykorzystanie”, lub też „przetwarzanie”. Albowiem termin „utylicacja” używany jest wyłącznie zgodnie z jego potocznym rozumieniem jako: „zniszczenie”. W odniesieniu do odpadów, ustawa o odpadach z dnia 27 kwietnia 2001 r. (art. 3 ust. 3 pkt 15) zawiera definicję obróbki tlenowej i beztlenowej odpadów, które ulegają rozkładowi biologicznemu w kontrolowanych warunkach przy wykorzystaniu mikroorganizmów, w wyniku której powstaje materia organiczna lub metan, jako recykling organiczny, który (w myśl definicji z art. 3 ust. 3 pkt 14 ustawy) jest "odmianą" odzysku i polega na powtórnym przetwarzaniu substancji lub materiałów zawartych w odpadach w procesie produkcyjnym w celu uzyskania substancji lub materiału o przeznaczeniu pierwotnym lub o innym przeznaczeniu. Zatem: „przetwarzanie odpadów” oraz także: „zużywanie substratów, substancji organicznych” i bez wątpliwości „wykorzystanie energii” (str. 109, wiersz 6 od góry).
2. Zastąpiłabym także występujący w pracy zwrot: „namnażanie komórek, namnażanie bakterii” (str.43, wiersz 12 od dołu; str.47, wiersz 6 od góry) na: „wzrost (przyrost, hodowla) komórek, bakterii”, gdyż wśród biologów termin „namnażanie” jest przyporządkowany wirusom.
3. Str. 61, wiersz 3 od dołu: jest: „wzrost logarytmiczny”, powinno być: „wzrost wykładniczy”. Wzrost logarytmiczny jest nie coraz szybszy, lecz coraz wolniejszy. Wzrost wykładniczy wygodnie jest obserwować na skali logarytmicznej i stąd to nieporozumienie.
4. Str. 75, wiersz 2 od dołu. W pracy obliczano stopień konwersji substratu szkoda, że nie podano według jakiej zależności.
5. Str. 99, wiersz 3 od dołu; str. 102, wiersz 2 od góry; str. 121, wiersz 6 od góry; str. 123 w. 4 od góry; str. 141, tabela 7.1: współczynnik wydajności wzrostu nie jest bezwymiarowy, ponieważ licznik jest składnikiem wytwarzanym, a mianownik innym składnikiem zużywanym: por.: str.92, wiersz 10 od dołu.
6. Str. 120. Dłaczego na rys. 6.9 znajdują się dwa punkty pomiarowe?
7. Szkoda, że w pracy nie podano czasu trwania stanu nieustalonego dla prowadzonych hodowli ciągłych, szczególnie w przypadku wyznaczania maksymalnej szybkości wzrostu *Pseudomonas* sp. E-93486 w obecności styrenu.
8. Prowadzone w pracy procesy okresowe jak i ciągłe w bioreaktorach (obj. robocza ok. 2 dm³) przebiegały w warunkach regulacji temperatury na poziomie 30°C. Czy prowadzone były badania dotyczące odparowania płynu podczas hodowli?
9. Brakuje mi w pracy analizy błędów pomiarowych wykonywanych analiz i przeprowadzonych badań doświadczalnych, dyskusji ich dokładności i powtarzalności oraz rachunku błędów.

10. Na osiach wykresów brakuje jednostek prezentowanych wielkości, a ponadto zamiast absorpcji powinno znaleźć się stężenie biomasy (rys. 5.9, 5.11, 5.15, 5.18, 5.19, 5.22, 5.24, 5.25, 5.26, 5.27, 5.28, 5.30, 6.5; 6.6; 6.9, 6.10, 6.11, 6.14).
11. Rys. 6.14 znajduje się na str. 127 i na str. 128.
12. W pracy nie ma konsekwencji w stawianiu lub nie stawianiu kropki po tytule rozdziału lub podrozdziału.
13. Str. 53, w tytule rys. 4.3 jest: biomas; powinno być: biomasy.
14. Str. 116, rys. 6.4: brakuje oznaczenia osi rzędnych.
15. Szkoda, że występujące w tekście pracy jednoliterowe spójniki i przyimki, które znajdują się na końcu linii tekstu, nie zostały usunięte.


Konkluzja końcowa

Pani mgr inż. Agnieszka Gąszczak wykazała niezbędną wiedzę i umiejętności samodzielnego rozwiązywania postawionych przed Nią zadań i problemów naukowych oraz poprawnego wyciągania wniosków. Przedstawione wyżej uwagi mają charakter dyskusyjny lub porządkowy i nie obniżają wysokiej wartości poznawczej, a przede wszystkim aplikacyjnej recenzowanej pracy doktorskiej.

Pani mgr inż. Agnieszka Gąszczak zaproponowała w pracy kompleksowy program badań, przeprowadziła wnikliwe badania poparte przekonującą analizą, po której przeprowadziła analizę matematyczną uzyskanych wyników z wyznaczeniem parametrów kinetycznych przyjętych modeli. Na podkreślenie zasługuje duży wkład pracy własnej w badaniach laboratoryjnych procesów z udziałem drobnoustrojów.

Recenzowana rozprawa posiada wiele elementów nowości naukowej i poszerza naszą wiedzę z zakresu kinetyki degradacji octanu winylu i styrenu przy udziale drobnoustrojów.

Oceniana praca spełnia wymagania stawiane w Ustawie o stopniach i tytułach naukowych i zgodnie z Artykułem 11 ustęp 1 ustawy może być przedstawiona jako rozprawa doktorska. Dlatego też przedkładam Wysokiej Radzie wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Gąszczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. inż. Liliana Krzystek