



Prof. dr hab. Mieczysław Kozłowski

Poznań 16.09.2019 r.

Zakład Technologii Chemicznej

Wydział Chemii UAM

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8

61-614 Poznań

tel. 61-829-1664

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Hanny Fałtynowicz zatytułowanej:
"Separacja biosurfaktantów na węglach aktywnych"**

Surfaktanty są to bardzo interesujące substancje chemiczne o dużym znaczeniu użytkowym. Ich cechą charakterystyczną jest zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego cieczy, w których się je rozpuszcza. Z tego względu znalazły szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu oraz w życiu codziennym, głównie jako środki myjące, piorące, pianotwórcze, zwilżające itp. Niestety, najczęściej stosowane surfaktanty syntetyczne nie są obojętne dla zdrowia człowieka, a ponadto mają mniej lub bardziej negatywny wpływ na środowisko naturalne. Dlatego w ostatnich latach prowadzi się intensywne badania, których celem jest otrzymanie surfaktantów łagodnych, bardziej biodegradowalnych oraz mniej toksycznych. Warunki te są w dużej mierze spełnione przez biosurfaktanty, które w odróżnieniu od surfaktantów syntetycznych są wytwarzane w procesach biologicznych lub enzymatycznych. Masowa produkcja biosurfaktantów jest jednak ograniczona ze względu na niską wydajność biosyntezy oraz problemy związane z wydzieleniem produktu z mieszaniny poreakcyjnej.

W swojej pracy doktorskiej mgr inż. Hanna Fałtynowicz podjęła ambitną próbę rozwiązania tego drugiego zagadnienia, tzn. opracowania metody wydzielenia jednego z biosurfaktantów z medium poreakcyjnego. W kręgu Jej zainteresowań znalazła się surfaktyna – cykliczny biosurfaktant zaliczany do lipopeptydów. Wybór ten jest jak najbardziej uzasadniony, ponieważ surfaktyna jest jednym z biosurfaktantów o wysokiej aktywności powierzchniowej i interesujących właściwościach. Przewiduje się, iż dzięki tym właściwościom surfaktyna może zostać wykorzystana do produkcji żywności, kosmetyków, detergentów, farmaceutyków, środków ochrony roślin, a także wielu innych wyrobów przemysłowych.



W przedstawionej do recenzji pracy Autorka zaproponowała nową metodę oddzielenia surfaktyny od pozostałych składników płynnego złoża poreakcyjnego, polegającą na adsorpcji tego biosurfaktantu na węglu aktywnym, a następnie jego desorpcji za pomocą ditlenku węgla (z dodatkiem etanolu) w stanie nadkrytycznym. Jest to rozwiązanie bardzo nowatorskie, gdyż doniesienia literaturowe na temat adsorpcji surfaktyny na węglach aktywnych są nieliczne, a prac dotyczących ekstrakcji lipopeptydów za pomocą ditlenku węgla w warunkach nadkrytycznych nie prowadzono jak dotąd w ogóle. Ponadto zastosowanie ditlenku węgla (który jest związkami niepalnym, nietoksycznym i nie powodującym korozji aparatury), zamiast używanych dotąd toksycznych rozpuszczalników organicznych, zgodne jest z wymogami tzw. "zielonej chemii". Ditlenek węgla został także użyty w dalszej części pracy do wydzielenia surfaktyny ze stałego złoża hodowlanego, jakim była śruta rzepakowa. Podobnie jak w przypadku złoża ciekłego, do separacji surfaktyny ze stałego podłoża stosowano jak dotąd wyłącznie rozpuszczalniki organiczne, takie jak metanol, etanol, czy chloroform. Zastosowanie ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym jest zatem istotnym elementem nowości.

Układ rozprawy doktorskiej mgr inż. Hanny Fałtynowicz jest klasyczny. Na początku pracy Autorka umieściła "Indeks skrótów", po czym następuje "Streszczenie" (w języku polskim i angielskim), które dobrze ilustruje doniosłość podjętej tematyki. Dalej pojawia się "Część literaturowa", która została napisana jasnym i zwięzłym językiem i stanowi dobre nawiązanie do pozostałych rozdziałów oraz realizowanej przez Autorkę problematyki. Literatura dotycząca opracowywanego zagadnienia została bardzo precyzyjnie wyselekcjonowana, dobrze opracowana, a w dalszej części pracy wykorzystana w interpretacji uzyskanych przez Autorkę wyników. Mgr inż. Hanna Fałtynowicz przytacza ogromną ilość 452 pozycji literaturowych oraz stron internetowych, które na końcu pracy zostały starannie zebrane, łącznie z numerem DOI, dzięki czemu przegląd cytowanych prac jest bardzo ułatwiony. Rozprawa jest bogato ilustrowana, a dobór materiału jest logiczny i dobrze przemyślany. Autorka rozpoczyna omawianie poszczególnych zagadnień od informacji natury ogólnej, następnie przechodzi do kwestii bardziej szczegółowych, by na koniec skupić się na problematyce związanej bezpośrednio z tematem pracy. Mamy zatem rozdział o surfaktantach, dalej o biosurfaktantach i wreszcie o surfaktynie, która jest głównym celem zainteresowania Autorki. Podobny układ występuje w dalszej części pracy (adsorpcja, desorpcja, ekstrakcja płynami w stanie nadkrytycznym).

Na podstawie obszernego przeglądu literaturowego Autorka jasno sformułowała i uzasadniła "Cel i zakres pracy", natomiast w początkowym podrozdziale "Części doświadczalnej", zatytułowanym "Metodyka badań", przedstawiła szczegółowe opisy procedur stosowanych w pracy. Procedury te zostały

bardzo systematycznie ułożone i wzbogacone w klarowne schematy, co znacznie ułatwia zrozumienie istoty zachodzących procesów. Ta część pracy zawiera także opis metod analitycznych wykorzystywanych do charakterystyki badanych preparatów. Autorka zastosowała w swej pracy nowoczesne metody badawcze takie jak: chromatografia cieczowa (w tym chromatografia cieczowa połączona z tandemową spektrometrią mas), mikroskopia elektronowa (z analizą EDS), analiza tekstury powierzchni oraz adsorpcja, a także desorpcja z udziałem ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Chciałbym podkreślić, iż dobór powyższych metod jest jak najbardziej adekwatny do realizacji zamierzonego celu.

Do badań nad adsorpcją surfaktyny Autorka wyselekcjonowała 11 komercyjnych węgli aktywnych o różnej strukturze porowatej. Wyniki uzyskane dla tej serii węgli (przedstawione w kolejnym rozdziale zatytułowanym "Wyniki i dyskusja") pozwoliły na stwierdzenie, iż na węglach aktywnych, dla których pH wodnej zawiesiny materiału węglowego jest wyższe niż 8, zachodzi hydroliza wiązania laktonowego w cząsteczce surfaktyny, co prowadzi do powstania liniowych analogów surfaktyny. Aby zatem uniknąć tego niekorzystnego procesu, Autorka zmodyfikowała jeden z badanych węgli (firmy Norit), stosując jego demineralizację za pomocą trzech kwasów: azotowego(V), siarkowego (VI) i fosforowego(V). Ponadto w pracy stwierdzono, że kluczowy dla wydajności adsorpcji surfaktyny jest jak największy udział mezoporów w całkowitej objętości porów sorbentu. Z tego względu Autorka (kierując się logiką) spreparowała 6 własnych węgli aktywnych o przewadze mezoporów, stosując aktywację chemiczną peletu z trocin drzew iglastych za pomocą kwasu fosforowego(V). Wszystkie badane węgle zostały poddane dokładnej charakterystyce, ze szczególnym uwzględnieniem ich budowy porowatej.

W dalszej części swojej rozprawy Autorka skupiła się na ustaleniu optymalnych warunków desorpcji surfaktyny z powierzchni węgli aktywnych przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Ponieważ wydajność tego procesu była bardzo mała, Autorka zdecydowała się na zastosowanie polarnego współrozpuszczalnika. Ostatecznie, jako optymalne warunki desorpcji ustalono temperaturę wynoszącą 40°C, ciśnienie 100 bar oraz 15% dodatek etanolu w roli współrozpuszczalnika. Niestety, wydajność desorpcji w tych warunkach wynosiła jedynie 30%. Znacznie lepsze wyniki Autorka otrzymała podczas badań nad desorpcją surfaktyny ze stałego podłoża hodowlanego, którym była śruta rzepakowa. W tym przypadku udało się uzyskać wydajność ekstrakcji na poziomie 91%.

Podsumowując tę część rozprawy chciałbym podkreślić, iż dyskusja wyników została przeprowadzona w sposób bardzo rzetelny, z uwzględnieniem właściwie dobranej literatury przedmiotu, a całość czyta się z przyjemnością. Wyniki zostały zaprezentowane w formie starannie przygotowanych tabel, wykresów,

zdjęć mikroskopowych, chromatogramów itp., dzięki czemu praca robi bardzo dobre wrażenie. Większość danych przedstawiono jako średnią z dwóch lub więcej prób \pm odchylenie standardowe, co raczej rzadko spotyka się w pracach doktorskich. Warto również zaznaczyć, iż proporcje poszczególnych części recenzowanej pracy doktorskiej są prawidłowo zachowane, tzn. około 1/3 rozprawy stanowi część teoretyczna, natomiast 2/3 to część doświadczalna, a w znacznej części badania własne.

Na podstawie uzyskanych wyników Autorka formułuje szereg ciekawych uwag, wniosków i spostrzeżeń, które są zebrane w dwóch kolejnych rozdziałach zatytułowanych odpowiednio "Podsumowanie" oraz "Wnioski". Do najważniejszych osiągnięć pracy można zaliczyć określenie kinetyki adsorpcji surfaktyny na węglach aktywnych, łącznie z przypisaniem danych eksperymentalnych do określonego modelu teoretycznego. Ponadto bardzo wartościowe było ustalenie kryteriów, które są istotne przy doborze węgla aktywnych pod kątem otrzymania wysokiej wydajności adsorpcji. Dużo pracy Autorka poświęciła na zbadanie procesów ubocznych, które mogą przebiegać w trakcie adsorpcji surfaktyny. Ustaliła, iż w niektórych przypadkach zachodzi hydroliza surfaktyny, której jednakże można stosunkowo łatwo zapobiegać stosując węgle o odpowiednich właściwościach kwasowo-zasadowych (pH zawiesiny wodnej zbliżone do obojętnej). Wzbogacona w tę wiedzę, Autorka spreparowała szereg węgla o pożądanych parametrach, co zaowocowało uzyskaniem próbek o pojemności sorpcyjnej ponad 4-krotnie wyższej niż pojemność raportowana dotąd w literaturze. Do nie mniej ważnych osiągnięć pracy można zaliczyć ustalenie optymalnych warunków desorpcji surfaktyny za pomocą ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym, zaadsorbowanej zarówno na węglach aktywnych, jak i na stałym podłożu hodowlanym, którym była śruta rzepakowa. Można zatem stwierdzić, iż uzyskane wyniki mogą mieć duże znaczenie praktyczne, a ponadto znacząco poszerzają wiedzę związaną z tematyką adsorpcyjno-desorpcyjną.

Pomimo niezwyklej staranności, z jaką wykonana jest cała praca, Autorka nie ustrzegła się mniej lub bardziej istotnych błędów, niejasnych albo niezręcznych sformułowań oraz fragmentów, z którymi można polemizować. Np. na str. 34 Autorka odsyła nas do "rozdziału 0", którego w pracy nie ma. Na tej samej stronie (i w innych miejscach także) znajdujemy sformułowanie: "zdjęcie spod transmisyjnego mikroskopu elektronowego", które jest dość niezręczne. Tak samo niezręczne jest zdanie na str. 36, gdzie Autorka pisze: "Ze względu na swój nieutleniający charakter oraz zdolność rozpuszczania tlenków krzemu i glinokrzemianów (HF) ich zastosowanie umożliwi zredukowanie zawartości popiołu". Na rys. 24 przedstawiono szereg kolorowych wykresów, jednakże bez podania informacji, co dany kolor oznacza.

Autorka w swej pracy badała strukturę porowatą węgla, którą określiła analizując izotermy adsorpcji ditlenku węgla oraz benzenu. Wybór takiej metody jest dla mnie niestety niejasny, ponieważ zastosowanie benzenu jako adsorbentu wiąże się pewnymi ograniczeniami, czego Autorka jest najwyraźniej świadoma pisząc na str. 77: "Powierzchnia BET nie obejmuje powierzchni mikroporów o szerokości poniżej 0,4 nm, gdyż jest liczona wyłącznie na podstawie izotermy adsorpcji benzenu". Skoro tak, to czy nie lepiej byłoby zastosować azot (powierzchnia siadania $N_2 = 0,162 \text{ nm}^2$, benzen = $0,41 \text{ nm}^2$), tym bardziej, że w przytłaczającej większości publikacji traktujących o węglach aktywnych stosuje się właśnie azot?

Nie jest jasne, dlaczego kinetykę adsorpcji surfaktyny mierzono stosując roztwory o różnych stężeniach początkowych (str. 79). Obawiam się, że może to mieć wpływ na uzyskane wyniki.

Na str. 90 i 91 Autorka pisze: " V^a – części lotne analityczne (w przeliczeniu na stan suchy)". Zgodnie z Polskimi Normami stan suchy oznaczamy jako V^d .

Wiele tabel i rysunków (np. tab. 19 i rys. 36a) zawierają te same dane, przedstawione jedynie w inny sposób. Praktycznie wszystkie wydawnictwa naukowe zalecają, aby unikać dublowania wyników.

Na str. 91 Autorka wymiennie stosuje określenia "substancja mineralna" i "popiół". Warto pamiętać, iż to nie są synonimy.

Na str. 93 znajdujemy stwierdzenie: "zawartość popiołu we wszystkich przypadkach zmalała aż 2-krotnie". Chciałbym podkreślić, iż istnieją znacznie skuteczniejsze metody demineralizacji, np. metoda Radmachera i Mohrhauera (HCl+HF).

Na rys. 40 przedstawiono zdjęcia SEM badanych węgli. Szkoda, że zastosowano bardzo małe powiększenia (w większości przypadków skala wzorcowa wynosi $500 \mu\text{m}$). Uważam, iż przy większym powiększeniu można by zaobserwować znacznie więcej szczegółów na powierzchni prezentowanych próbek.

Nieco większe powiększenia zastosowano w przypadku zdjęć SEM przedstawionych na rys. 41 (skala wzorcowa $100\text{-}200 \mu\text{m}$). Jednakże nie sadzę, aby na przedstawionych zdjęciach można było dostrzec "układ dużych mikroporów" (czyli obiektów o rozmiarach poniżej 2 nm), o których Autorka pisze na str. 100.

W swojej pracy Autorka stwierdza, iż w większości przypadków oprócz adsorpcji zachodzi także hydroliza surfaktyny. Zatem krzywe np. na rys. 45, zatytułowanym "Kinetyka adsorpcji surfaktyny ...", tak naprawdę odzwierciedlają kinetykę adsorpcji oraz hydrolizy. Ponieważ w przypadku trzech próbek mamy rzeczywiście do czynienia z czystą adsorpcją, może lepiej byłoby użyć innego, bardziej ogólnego zwrotu, np. zmiana stężenia surfaktyny Z drugiej strony, w przypadku węgla otrzymywanych na drodze aktywacji kwasem fosforowym nie odnalazłem informacji czy hydroliza zachodzi czy nie.

Na chromatogramie roztworu surfaktyny przed adsorpcją występuje kilka pików (rys. 46). Oznacza to, że użyta do badań próbka surfaktyny cyklicznej składa się z kilku homologów. Szkoda, iż nie zostało to zaznaczone w części eksperymentalnej dotyczącej stosowanych odczynników (być może producent podaje udział i rodzaj poszczególnych składników?).

W pracy pojawia się kilka niekonsekwencji. Na str. 112 Autorka pisze: *"w przypadku CarboActiv adsorpcja zachodziła na tyle szybko, że niemożliwe jest stwierdzenie, czy poprzedziła ją częściowa hydroliza surfaktyny, czy też nie"*. Z kolei na str. 123 znajdujemy stwierdzenie: *"węglem aktywnym, który nie powodował hydrolizy surfaktyny podczas adsorpcji był CarboActiv"*. A zatem jak jest naprawdę?

Autorka w swojej pracy wielokrotnie pisze o ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych (np. opis rys. 76). Tymczasem w większości eksperymentów stosowano temperaturę poniżej temperatury krytycznej. Zatem mamy tutaj do czynienia z ekstrakcją w warunkach subkrytycznych. Autorka jest tego świadoma (str. 151) i czasami rozgranicza te dwa procesy, jednakże w większości przypadków tak się nie dzieje.

Na str. 142-143 pojawia się stwierdzenie: *"Wydaje się zatem, że aby zwiększyć wydajność desorpcji surfaktyny z węgla aktywnego należałoby użyć bardziej mezoporowatego sorbentu"*. No to dlaczego nie użyto?

Przedstawione powyżej zastrzeżenia oraz uwagi krytyczne i polemiczne psują nieco estetykę prezentowanej pracy, jednakże nie umniejszają znacząco jej wartości naukowej i poznawczej, którą oceniam bardzo wysoko. Chciałbym zaznaczyć, iż cel pracy został osiągnięty, a zastosowanie nowoczesnych technik badawczych oraz szczegółowa dyskusja wyników wywierają bardzo korzystne wrażenie i świadczą o dobrym przygotowaniu Autorki do prowadzenia pracy naukowej. Podjęty temat był bardzo ambitny, praca zawiera istotne elementy nowości naukowej, a Autorka wykazała się dużym talentem eksperymentatorskim. Otrzymane wyniki mają dużą wartość poznawczą, a także znaczny potencjał aplikacyjny, gdyż mogą przyczynić się do opracowania nowego, bardziej ekonomicznego i proekologicznego niż dotychczas sposobu produkcji surfaktyny. Na podkreślenie zasługuje także fakt, że znaczna część rezultatów zamieszczonych w pracy została już opublikowana, jak również była prezentowana na prestiżowych konferencjach naukowych. Ponadto Autorka brała czynny udział w pracach, które nie były bezpośrednio związane z tematyką jej rozprawy doktorskiej. Całkowity dorobek mgr inż. Hanny Fałtynowicz jest znaczny i obejmuje 15 prac opublikowanych lub przyjętych do druku, 26 prezentacji na konferencjach krajowych oraz międzynarodowych, a także 2 zgłoszenia patentowe. Powyższe dane świadczą o dużej aktywności badawczej Autorki.



W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Hanny Fałtynowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy pracy doktorskiej, elementy nowości w niej zawarte oraz jej potencjał aplikacyjny, wnioskuję do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o wyróżnienie przedstawionej do recenzji dysertacji.

Prof. dr hab. Mieczysław Kozłowski