

Kraków, 13 sierpnia 2017



UNIwersytet JAGIELLOŃSK  
W KRAKOWIE

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
pani mgr Kaliny Dyby pt. "Synteza i charakterystyka mezo-  
i makroporowatych nośników nieorganicznych do immobilizacji  
bakterii w biologicznym wytwarzaniu wodoru"**

Pani mgr Kalina Dyba wykonywała swoją pracę doktorską, zatytułowaną "Synteza i charakterystyka mezo- i makroporowatych nośników nieorganicznych do immobilizacji bakterii w biologicznym wytwarzaniu wodoru" pod kierunkiem prof. dr hab. Marka Łanieckiego, w Zakładzie Kinytyki i Katalizy Wydziału Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Badania naukowe Zespołu koncentrują się na niekonwencjonalnych metodach generowania wodoru, w tym głównie na fotokatalitycznej produkcji wodoru z wody oraz fotobiologicznej i fermentacyjnej produkcji wodoru przy użyciu ścieków z przemysłu spożywczego. Zespół specjalizuje się również w syntezie, modyfikacji i charakterystyce materiałów mezoporowatych typu MCM-41 i SBA-15. Jako aktywny członek Zespołu, pani Kalina Dyba rozwijała tematykę fotobiologicznej i fermentacyjnej produkcji wodoru, wykorzystując specyficzne "biokatalizatory", w tym przypadku immobilizowane na nośnikach, głównie SBA-15, purpurowe bakterie bezsiarkowe z rodzaju *Rhodobacter sphaeroides*.

Tematyka fotobiologicznej i fermentacyjnej produkcji wodoru, rozwijana w Zespole prof. Łanieckiego, zgodnie z deklaracją umieszczoną na stronie internetowej Zespołu, obejmuje cztery główne nurty badawcze, którymi są (i) optymalizacja warunków produkcji wodoru przez *Rhodobacter sphaeroides*, (ii) optymalizacja warunków procesu ciemnej fermentacji wykorzystującej ścieki z przemysłu spożywczego w charakterze źródła węgla, (iii) immobilizacja bakterii oraz dostosowanie procesu do warunków dynamicznych, jak również (iv) zastosowanie systemów hybrydowych (połączenie ciemnej fermentacji z fotofermentacją). Po lekturze pracy doktorskiej pani Kaliny Dyby można się przekonać, że podczas studiów doktoranckich zajmowała się ona wszystkimi tymi zagadnieniami, a efekty czteroletniej pracy znalazły swoje uwieńczenie nie tylko w postaci recenzowanej przeze mnie pracy doktorskiej, ale również w postaci czterech publikacji oraz 12 komunikatów na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych, z których kilka miałam przyjemność wysłuchać osobiście.

WYDZIAŁ CHEMII

ZAKŁAD CHEMII  
NIEORGANICZNEJ

GRUPA CHEMII ZEOLITÓW

DR HAB. BARBARA GIL

Ul. Gronostajowa 2  
30-387 Kraków  
tel. 12 686 2469  
fax. 12 686 2750  
gil@chemia.uj.edu.pl  
www.chemia.uj.edu.pl

Praca doktorska, napisana w układzie klasycznym, obejmuje 72 strony części literaturowej, opartej na 364 artykułach naukowych, pozycjach książkowych i witrynach internetowych oraz 77 stron części doświadczalnej.

W tym miejscu muszę wspomnieć, że ogromnie spodobało mi się nieco niekonwencjonalne podejście pani Kaliny, która rozpoczyna swoją pracę doktorską od zacytowania jednego z najbardziej znanych wizjonerów XIX wieku i uznanego ojca literatury fantastyczno-naukowej, Juliusza Verne'a. Literatura SF nieczęsto pojawia się w liście pozycji, cytowanych w rozprawach doktorskich, pomimo iż, cytując dra Leszka Będkowskiego, "SF stanowi rodzaj fabularyzowanej nauki, względnie opowieści naukowych, w których strona literacka podporządkowana jest naukowej prawdzie". A jest to więcej, niż obecnie możemy powiedzieć o wielu artykułach naukowych. Ponadto, literatura tego typu stanowić może świetną naukową inspirację.

We wstępie pani Dyba zapoznaje czytelnika zarówno z historią odkrycia, otrzymywania (w tym metodami biologicznymi) i zastosowania wodoru, oraz zasadami i technikami immobilizacji czynników biologicznych i opisem nośników. Duży fragment pracy poświęcono opisaniu zeolitów, materiałów mezoporowatych oraz hierarchicznych. W tym rozdziale autorka niepotrzebnie utożsamia glinokrzemiany z zeolitami, mam też spore wątpliwości co do nazywania zeolitów tektoglinianami, co sugerowałaby, że są to trójwymiarowe struktury będące pochodnymi tlenowych soli glinu – glinianów. W tej części pracy zabrakło mi bardziej szczegółowego opisu sposobu działania bakterii fermentacyjnych, chociażby tylko na przykładzie używanych przez doktorantkę *Rhodobacter sphaeroides*. Ponadto należałoby może uściślić tytuł rozdziału 5.3 z "Materiały hierarchiczne" na "Materiały o hierarchicznej porowatości", ponieważ nie każde materiały hierarchiczne muszą być porowate (przykładem laminaty), a to o porowatości pisze doktorantka w tym rozdziale.

Doktorantka omawia ponadto metody charakterystyki materiałów porowatych. Tutaj muszę wskazać, że pani Dyba popełniła kilka błędów, z którymi spotykam się zarówno wśród studentów, jak i doktorantów i które usiłuję korygować, będąc nauczycielem. Jednym z nich jest utożsamianie izoterm adsorpcji azotu z izotermą BET (str. 43), chociaż to drugie pojęcie oznacza jeden z matematycznych sposobów opisu przebiegu izoterm. Podobnie, nie należy jednym tchem wymieniać metod BET oraz BJH (str. 64), chociażby ze względu na to, że nie służą one do wyznaczania tych samych parametrów fizycznych. Mówiąc o rozmiarach porów należy używać raczej ich średnicy, a nie promienia (str. 42). Niemniej jednak sam rozdział napisany jest poprawnie i autorka wyciąga poprawne wnioski, co można również wnioskować z późniejszej lektury części doświadczalnej.

Cel pracy został sformułowany bardzo jednoznacznie, jako "zbadanie przydatności metod syntezy nośników nieorganicznych dla mikroorganizmów aktywnych w biologicznych metodach wytwarzania wodoru" i moim zdaniem został w pełni zrealizowany. Autorka zsyntezowała materiał SBA-15 a następnie wykonała szereg modyfikacji tego nośnika – jonami glinu o różnych stężeniach ( $Si/Al = 36, 72, 144$  i  $288$ ), stosując dwa różne prekursory glinu – izopropanolan glinu oraz azotan(V) glinu. W tym miejscu muszę stwierdzić, że brakuje mi nieco ustalenia rzeczywistego stężenia glinu w próbkach, chociażby tak przybliżoną techniką jak XRF. Kolejne modyfikacje dotyczyły wprowadzenia jonów żelaza, niklu i molibdenu, oraz ich par ( $FeMo, FeNi$ ), dwiema metodami – post syntetyczną, stosując wodne roztwory azotanów żelaza(III), niklu(II) oraz molibdenianu(VI) amonu oraz poprzez wprowadzanie jonów metali podczas syntezy, utrzymując za każdym razem  $Si/M = 36$ . Wybór metali doktorantka racjonalizuje twierdząc, że

hydrogenaza żelazowa, hydrogenaza niklowo-żelazowa i nitrogenaza żelazowo-molibdenowa, to podstawowe enzymy zaangażowane w fermentacyjnych procesach wytwarzania wodoru przy udziale medium zawierającego znaczne ilości substancji organicznych (głównie cukrów).

Kolejnym etapem pracy było utworzenie materiałów hybrydowych o charakterze nieorganiczno-organicznym. Wyniki badań wykazały, że we wszystkich przypadkach (prekursory TEMS, MPTMS, AEAPTMS, TMSPU) nastąpiła modyfikacja powierzchni i grupy funkcyjne zostały skutecznie „zakotwiczone” na powierzchni SBA-15. Najbardziej skuteczna okazała się modyfikacja grupami alkilodiamidowymi. Ciekawym fragmentem pracy było osadzanie materiałów SBA-15 na taśmach szklanych oraz otrzymywanie monolitów.

Ponieważ rozmiary kanałów w SBA-15 nie były odpowiednie do ich zasiedlenia przez bakterie i wykorzystywano jedynie powierzchnię zewnętrzną aglomeratów, kolejnym zadaniem jakiego podjęła się doktorantka było zastosowanie do immobilizacji mikroorganizmów nośnika, o porach o średnicy odpowiadającej rozmiarom bakterii. Wybór padł na krzemionki 3DOM, syntezowane w oparciu o perełki polistyrenowe, a w kolejnej modyfikacji o nadtopione perełki, co pozwoliło na uzyskanie otworów o średnicach ok. 140 - 210 nm. Niestety, są to rozmiary nadal niewystarczające dla uzyskania efektywnego zasiedlenia wnętrza struktury.

Pani mgr Kalina Dyba zsyntezowała również porowaty tlenek glinu z zastosowaniem makroszablonów takich jak pianka poliuretanowa, cukier oraz skrobia (kukurydziana i ziemniaczana). Interesującym pomysłem było stosowanie dysków cukrowych o tak dobranych parametrach, aby pozostawały one przejrzyste dla promieniowania w zakresie widzialnym, mechanicznie stabilne a jednocześnie można je było zaimpregnować odpowiednią ilością aktywnego zolu soli glinu. Tu chciałam zwrócić uwagę na mały błąd w opisie rysunku 56, gdzie próbka po kalcynacji w 773 K pozostaje biała, a próbki wyprażane w niższych temperaturach są czarne, wydaje mi się, że powinno być odwrotnie.

Powyższe streszczenie pokazuje ogrom pracy eksperymentalnej wykonanej przez doktorantkę. Nie należy zapominać, że wszystkie trzymane próbki zostały następnie scharakteryzowane z zastosowaniem wielu metod a wyniki zinterpretowane. Wymagało to zapanowania na ogromną ilością wyników.

Ostatni rozdział pracy poświęcono mikrobiologicznemu wytwarzaniu wodoru, ograniczając przedstawione wyniki jedynie do opisu fermentacji z udziałem SBA-15 jako nośnika. Doktorantka zaznacza w pracy, że pozostałe materiały będą badane w przyszłości. Pani mgr Dyba zoptymalizowała takie parametry procesu, jak ilość niezbędnego inokulum, temperatura synezy iowosdoru, typ SBA-15 (w znaczeniu rodzaju grup funkcyjnych materiału stosowanego jako nośnik), ilość pożywki. Część materiałów była również zastosowana w procesie fotofermentacji. Doktorantka podsumowuje swoje badania w tym zakresie stwierdzając, że "badania fotofermentacyjnego wytwarzania wodoru (...) nad immobilizacją bakterii winny być kontynuowane, bowiem uzyskiwane wyniki pokazują zawsze wyższą ilość wytwarzanego wodoru w obecności nośnika niż dla procesów prowadzonych jedynie w zawiesinie".

Chciałabym zwrócić uwagę na ostatni punkt w rozdziale podsumowanie, w którym doktorantka stwierdza, że "obecność miejsc zasadowych stabilizuje proces zarówno ciemnej fermentacji, jak i fotofermentacji. Może to być wynikiem kumulacji metabolitów procesu, takich jak lotne kwasy tłuszczowe w mezoporach, poprzez wiązanie kwasów organicznych miejscami zasadowymi, co w konsekwencji stabilizuje układ biologiczny niezwykle czuły na zmiany pH" ponieważ wydaje mi się, że jest to temat, który warto kontynuować, wykorzystując w tym celu

spektroskopię w podczerwieni, która pozwoliłaby na uzyskanie wglądu w typ i sposób wspomnianego oddziaływania, a jest to temat bardzo słabo eksploatowany w literaturze przedmiotu.

Niestety muszę stwierdzić, że niektóre ze sformułowań użytych przez panią Kalinę Dybę nie są dla mnie do końca zrozumiałe. Przykładem może być zdanie ze str. 48: *"Wprowadzenie grup atomów na powierzchnię materiału, determinuje jego właściwości jonowymienne i katalityczne. W związku z tym, materiał uzyskuje zdolność oddziaływania z atomami, cząsteczkami lub jonami w całej swojej objętości, stając się przedmiotem zainteresowań poznawczych i technologicznych"*. Nie bardzo rozumiem, jak funkcjonalizacja powierzchni wpływa na zdolność oddziaływania z cząstkami w objętości tego materiału. Być może jest to niezrozumiały dla mnie skrót myślowy. Podobnie niejednoznacznie używa doktorantka określenia "struktura regularna". Raz jest to (str. 51) regularna struktura porowata, w znaczeniu cyklicznie powtarzającego się wzoru – tu systemu porów w układzie plastra miodu w materiale MCM-41, innym razem (str. 52) odnosi się raczej do symetrii regularnej, tu w przypadku materiału MCM-48, a nawet może dotyczyć krystalicznej budowy *per se* – w kontekście krystalicznej lub amorficznej budowy ścian (str. 51).

Prosiłabym też o wyjaśnienie sformułowania ze str. 69 dotyczącego "zwiększenia rozrzutu objętości porów do ich promienia" w kontekście stabilności struktury SBA-15 oraz zapytać, dlaczego to wycinalne grupy silanolowe, obecne na powierzchni krzemionek (str. 69) zostały uznane za aktywne.

Z obowiązku recenzenta chciałabym wskazać niektóre drobne uchybienia językowe – ZSM to nie akronim pochodzący od słów "Zeolite Sonomy Mobile" a "Zeolite Socony Mobil" – nazwa pochodzi od dwóch połączonych firm: Socony i Mobil, z których jedynie Mobil istnieje w chwili obecnej. Kolejnym, podobnym błędem jest rozszyfrowanie anglojęzycznego skrótu materiału FSM jako "Folder Sheets Material" zamiast "Folded Sheets Material" (tu podejrzewam podstępna działalność autokorekty edytora tekstu). Na stronie 52 autorka wskazuje na istnienie laminarnej a nie lamelarnej (właściwie należałoby powiedzieć warstwowej) struktury MCM-50. W tytule rozdziału 5.5.2 czeski błąd spowodował pojawienie się "unieporządkowanej struktury". Niektóre ryciny mają podpisy niezgodne z treścią samego rysunku, przykładem może być tu rys. 23. Czytającemu zajmuje chwilę domyślenie się, która z krzywych odpowiada któremu preparatowi i jakie skróty zostały zastosowane.

Wszystkie wspomniane przeze mnie pomyłki nie wpływają na wartość naukową pracy doktorskiej pani mgr Kaliny Dyby, a wspominam je pełniąc tu podwójną rolę – recenzenta, którego zadaniem jest wyszukiwanie błędów i niedociągnięć, oraz nauczyciela akademickiego, dla którego celem jest nauczanie młodszego pokolenia naukowców, cytując dr Sokołowską "by pracować z kimś, kto zmieni się (...). Nauczyciele nie pracują tylko na tu i teraz. Nauczycielski trud procentuje też na przyszłość".

Ponieważ chciałabym, żeby na koniec słuchacze odnieśli wrażenie, że recenzja jest jednak pozytywna, chciałabym jeszcze raz podkreślić największe osiągnięcia pani mgr Kaliny Dyby. Są nimi dopracowanie metodyki syntezy i przede wszystkim funkcjonalizacji powierzchniowej krzemionki SBA-15. Ciekawym wątkiem, zdecydowanie wartym kontynuacji, jest zastosowanie szablonów: polistyrenowego, z pianki poliuretanowej, cukru, skrobi ziemniaczanej czy kukurydzianej podczas syntezy, pozwalających na "zagnieżdzenie" się bakterii w strukturze nośnika. Co prawda bezpośrednim celem pracy nie było badanie samego procesu wytwarzania biowodoru ani jego optymalizacja, ale za największy sukces uważam utworzenie biofilmu na

nośniku z SBA-15, co jednoznacznie wskazywało na możliwość zastosowania tego typu krzemionki jako właściwego nośnika dla wybranego szczepu bakterii. Utworzenie stabilnego biofilmu z kolei wpłynęło pozytywnie na stabilizację procesu mikrobiologicznego wytwarzania wodoru.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska pani mgr Kaliny Dyby spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 4 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. Ustaw nr 65 poz. 595 z późn. zm.) i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Barbara Gę