



INSTYTUT KATALIZY I FIZYKOCHEMII POWIERZCHNI im. JERZEGO HABERA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków

Prof. zw. dr hab. inż. **Bogdan Sulikowski**
Kierownik Laboratorium Magnetycznego Rezonansu Jądrowego

Tel.: (12) 6395 159; 6395 219 Faks: (12) 4251 923
Poczta elektroniczna: ncsuliko@cyf-kr.edu.pl

Kraków, 9 września 2017 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Kaliny Dyby

Tytuł rozprawy: „Synteza i charakterystyka mezo- i makroporowatych nośników nieorganicznych do immobilizacji bakterii w biologicznym wytwarzaniu wodoru”

Rozprawa doktorska Pani mgr Kaliny Dyby została wykonana w Zakładzie Kinetyki i Katalizy Wydziału Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem dysertacji jest prof. dr hab. Marek Łaniecki, a promotorem pomocniczym jest dr Mikołaj Stodolny. Rozprawa liczy 185, jest napisana w układzie klasycznym. Obejmuje wstęp, część literaturową, cel pracy, po czym następuje część doświadczalna omawiająca badania własne z podziałem na wiele rozdziałów i podrozdziałów, wnioski, literaturę cytowaną, streszczenie pracy w języku angielskim oraz wykaz dorobku naukowego Autorki.

Zeolity i materiały mezoporowate, zawierające krzem, uzyskały duże znaczenie zarówno w badaniach podstawowych, jak i w praktyce przemysłowej. Zeolity stosowane są w adsorpcji gazów, par i cieczy, a także przede wszystkim w wielu procesach katalitycznych prowadzonych w przemyśle chemicznym. Do tego ostatniego zastosowania wykorzystuje się możliwość wygenerowania w zeolitach centrów kwasowych Brønsteda i Lewisa. Wraz z upływem czasu pojawiają się jednakże nowe wyzwania i podejmowane są badania, których celem jest rozszerzenie dotychczasowych zastosowań materiałów zeolito-podobnych opartych na krzemie. W ostatnich latach obserwuje się znaczące zwiększenie intensywności i zakresu badań nad takimi materiałami, w obszarach takich jak fotochemia, elektronika, zastosowania biologiczne i medyczne.

W części literaturowej swojej rozprawy Autorka rozważa już we wstępie ideę zastosowania wodoru jako nośnika energii oraz opisuje obecnie stosowane metody otrzymywania wodoru oparte na paliwach kopalnych, co wprowadza czytelnika w istotę problemu. W dalszej części następuje szczegółowy opis technik immobilizacji bakterii, stosowanych do tego celu materiałów i ich właściwości. Autorka przekonująco przedstawia obecny stan wiedzy w tym obszarze.



Cel rozprawy doktorskiej został sformułowany na stronach 71-72, tuż po części literaturowej. Autorka uzasadnia tam w czytelny sposób podjęcie badań mających na celu syntezę materiałów przeznaczonych do immobilizacji mikroorganizmów, które byłyby aktywne w biologicznych metodach otrzymywania wodoru. Omawia strategię zrealizowania celu swojej pracy i przedstawia stosowane materiały, a więc krzemowy SBA-15, inne krzemionki makroporowate, a także krzemionki o bimodalnej strukturze porowatej, oraz w końcu tlenek glinu. Doktorantka zastanawia się też w jaki sposób wykonanie szczegółowej charakterystyki materiałów będzie przydatne do ich wykorzystania w roli nieorganicznych immobilizatorów dla bakterii uczestniczących w otrzymywaniu wodoru na drodze mikrobiologicznej. Plan pracy zarysowany jest jasno i przejrzysto. Wynikają z niego logicznie wszystkie zagadnienia omówione w dalszej części tekstu rozprawy. W końcu należy zauważyć, że tematyka rozprawy jest niezwykle interesująca pod względem merytorycznym. Wpisuje się dobrze w zakres studiów prowadzonych na pograniczu chemii krzemianów i biotechnologii przez zespół Pana prof. dr hab. Marka Łanieckiego.

Część eksperymentalna rozprawy przedstawia, w największym skrócie, metody syntezy nośników przeznaczonych do immobilizacji bakterii PNS *Rhodobacter sphaeroides*, a także metody modyfikacji nośników. Opisy materiałów immobilizujących zbudowanych na osnowie tlenku krzemu lub tlenku glinu są szczegółowe i wyczerpujące. Autorka w syntetyczny sposób wprowadza czytelnika w tajniki wykorzystania bakterii fermentujących stosowanych w procesach pozyskiwania wodoru. Część eksperymentalna zawiera ponadto opis metod analitycznych zastosowanych w pracy w celu uzyskania pełnej i przydatnej charakterystyki otrzymanych materiałów.

Po krótkim naszkicowaniu celu i zakresu rozprawy, przystępuję obecnie do szczegółowej oceny merytorycznej. Dysertacja doktorska jest napisana w układzie klasycznym i dzieli się na dwie główne części - literaturową i doświadczalną. Rozprawę doktorską rozpoczyna zwięzły wstęp, gdzie uzasadnia się konieczność zastosowania perspektywicznego źródła odnawialnej energii, czyli biomasy. Biomasa znajduje m.in. zastosowanie w procesach fermentacyjnych jako pożywka dla bakterii anaerobowych. W takich procesach tworzy się również wodór. Dalej omówione są właściwości wodoru, które w pełni uzasadniają uznanie go za *paliwo przyszłości*. Z kolei Autorka zauważa, że znalezienie odpowiedniego nośnika do immobilizacji bakterii pozwoliłoby na znaczne uproszczenie instalacji przemysłowych, i ten problem był jednym z głównych celów doktorantki.

Zagadnienia dotyczące właściwości wodoru i metod otrzymywania wynikają w logiczny sposób ze wstępu i są rozwijane w dalszych rozdziałach. Tekst jest przy tym bogato zilustrowany tabelami i rysunkami. Autorka szkicuje tu nawet historię powstania tego pierwiastka, począwszy od prawybuchu ponad 13 mld lat do chwili obecnej. Taka oś czasowa ujęta w tabelę znakomicie urozmaica tekst rozprawy. Konwencjonalne metody otrzymywania wodoru przedstawione są w jasny, encyklopedyczny sposób w rozdziale 2. Po omówieniu standardowych metod otrzymywania wodoru doktorantka przechodzi do mniej znanych metod biologicznych. Ten fragment pracy jest również podzielony na obszerniejsze podrozdziały z licznymi, dobrze dobranymi referencjami.

Z kolei w rozdziale 3 omówione są zagadnienia dotyczące immobilizacji mikroorganizmów i enzymów, z podziałem na pięć podstawowych metod. Są one klarownie przedstawione i zilustrowane rysunkiem i tabelą. Rozdział kończy krótkie *résumé*, w którym Autorka omawia zalety i wady immobilizacji enzymów i mikroorganizmów. Jedno ze stwierdzeń tam zamieszczonych nasuwa wątpliwości. Czy aby na pewno po immobilizacji enzymów obserwuje się *zawsze* zwiększenie selektywności reakcji katalizowanej przez taki układ?

W następującym rozdziale czwartym omówione są nośniki organiczne, nieorganiczne i hybrydowe stosowane do immobilizacji biomolekuł. Przedstawiono w encyklopedyczny sposób nośniki pochodzenia naturalnego i syntetyczne oraz omówiono ich właściwości. Systematykę nośników doktorantka ujęła w dwóch przejrzystych tabelach. Bardziej szczegółowe informacje dotyczące przepuszczalności światła widzialnego, rodzajów porowatości i systematyki porów pod względem kształtu zostały przedstawione wraz z definicjami i wzorami w kolejnym fragmencie rozprawy.

W ostatnim części rozdziału czwartego Autorka omawia podstawowe zagadnienia dotyczące adsorpcji par azotu, analizy izoterm adsorpcji i ich klasyfikacji według IUPAC. Rozważania dotyczące właściwości nośników ze względu na ich zgodność biologiczną, czyli biokompatybilność, zamykają ten rozdział.

Szczegółowe rozważania dotyczące nośników są rozwinięte w obszernym rozdziale piątym. I tak Autorka nakreśla podstawowe informacje na temat zeolitów. Tu wkraść się błąd – otóż skrót klasy zeolitów typu ZSM pochodzi od ang. *Zeolite Socony Mobil* (a nie „Sonomy Mobile”). Przy omawianiu syntezy zeolitów należałoby też wspomnieć o możliwości prowadzenia krystalizacji także przy niskim pH żelu. Było to zagadnieniem szeroko rozwijanym, m.in. przez zespoły badawcze w Anglii i Francji.

Bardziej szczegółowo napisany rozdział dotyczy materiałów mezoporowatych. Doktorantka zebrała tu sporo informacji nt. klasyfikacji, syntezy i właściwości materiałów FSM i MCM. Wspomina też o materiałach krzemionkowych nieuporządkowanych. W dalszej części omawia tlenki metali o strukturze mezoporowatej. Fragment dotyczący mezoporowatych krzemionek zawiera stwierdzenie: „...dodatkowo, te o mezoporowatej budowie, posiadają amorficzne ściany.” Nie rozwija jednak tej uwagi dalej, i dlatego nie bardzo wiadomo, co Autorka miała na myśli.

W dalszej części omówione są materiały hierarchiczne, zawierające równocześnie pory o różnej średnicy, czyli mikro-, mezo- i makropory. Na rys. 18 zestawione są metody otrzymywania takich materiałów – syntezy omówione są obszernie w kolejnych podrozdziałach. Metody modyfikacji materiałów tlenkowych zamykają ten fragment pracy.

W krótkim podrozdziale 5.6 zebrane są informacje nt. metod stosowanych do charakterystyki materiałów porowatych. Autorka omawia kolejno: XRD, adsorpcję/desorpcję gazów, termogravimetrię, kalorymetrię skaningową oraz mikroskopię transmisyjną i skaningową. Metody te są scharakteryzowane dość lakonicznie, szczególnie w świetle

ostatnio publikowanych prac z zakresu termogravimetrii i adsorpcji gazów. Nieco obszerniej potraktowana jest spektroskopia w podczerwieni, szczególnie w odniesieniu do centrów kwasowych. Pasma adsorpcji pirydyny są zebrane w Tabeli 7, jednak w tym podrozdziale nie zamieszczono żadnego przykładowego widma IR.

Rozdział 6 dotyczy zastosowania ditlenku krzemu do immobilizacji bakterii, jest jednakże zatytułowany „Tlenek krzemu jako nośnik...”. Zebrane są tu bardziej szczegółowe dane odnośnie materiału [Si]-SBA-15, który stanowił jeden z głównych badanych nośników.

Część literaturowa rozprawy liczy w sumie 56 stron i obejmuje szeroką panoramę zagadnień. Jest napisana dość barwnym, poprawnym i komunikatywnym językiem, co znacznie ułatwia czytelnikowi śledzenie wywodów Autorki.

Część doświadczalna zawiera szczegółowe opisy syntez nośników stosowanych w dalszej części rozprawy, a więc: SBA-15, krzemionki typu 3DOM, tlenku glinu 3DOM i bimodalnej krzemionki monolitycznej. Wszystkie te nośniki były modyfikowane na wiele sposobów. W dalszej części rozdziału 8 opisany jest protokół doświadczalny mikrobiologicznego wytwarzania wodoru. Dokładne opisy metod badań poprzedzają listę stosowanych odczynników oraz wykaz skrótów.

Rozdział 9, zawierający opis i analizę otrzymanych wyników, liczy 60 stron. W części dotyczącej opisu uzyskanych wyników Autorka znaczący fragment pracy poświęciła materiałom na osnowie mezoporowatej krzemionce SBA-15. Dotyczy to zarówno syntezy, modyfikacji oraz analizy technikami instrumentalnymi, jak również przeprowadzonych badań mikrobiologicznych w celu otrzymywania wodoru metodą zarówno tzw. *fermentacji ciemnej*, jak i *fotof fermentacji*. Część dotycząca mezoporowatego materiału SBA-15, a także synteza i analiza makroporowatych nośników (immobilizatorów) z ditlenku krzemu lub tlenku glinu odmiennymi metodami z wykorzystaniem szablonów organicznych (np. polistyrenu czy skrobi ziemniaczanej), wskazuje na dużą dojrzałość eksperymentalną Autorki oraz na jej wnikliwą wiedzę odnośnie interpretacji zaobserwowanych zjawisk.

Zasadnicza część rozprawy doktorskiej Pani Kaliny Dyby jest zakończona prawidłowo wyciągniętymi wnioskami. Są one sformułowane jasno i starannie, Autorka omawia w nich swoje najważniejsze uzyskane wyniki.

Rozprawa doktorska mgr Kaliny Dyby zawiera jednakże nieliczne nieścisłości i błędy różnej natury. Niektóre z nich, niezależnie od pozytywnej oceny całości rozprawy, z obowiązku recenzenta wymieniam poniżej:

- a) na stronie 75 użyto nazwy „kwas solny”;
- b) jak należy rozumieć „powierzchnię geometryczną” nośnika (str. 115);
- c) w kilku miejscach użyto słowa „pokazały” w sensie „wykazały”;
- d) w tekście występują jedynie pojedyncze literówki (np. na str. 75 – „wkoplono”);
- e) brak oznaczeń a), b), c)..., które występują w legendzie, na rysunkach 69 i 70.

Układ pracy:

- a) Niektóre rozdziały nie są zamieszczone w logicznym następstwie. Z korzyścią dla pracy byłoby np. połączenie podrozdziału 4.2.2 (Porowatość, str. 41) z rozdziałem 5.6 (Metody charakterystyki właściwości fizykochemicznych materiałów porowatych, str. 63). Z kolei rozdział nt. syntezy materiałów tlenkowych mógłby być zamieszczony bezpośrednio po rozdziale dot. tlenków.
- b) opis metod badawczych stosowanych w pracy jest nieco lakoniczny (str. 63);
- c) zdanie „Analiza ilości...(Tabela 23).” na str. 143 posiada obcy szyk.

Spis referencji literaturowych jest bardzo obszerny i zawiera aż 364 pozycje literaturowe. Jest to około dwukrotnie więcej w stosunku do innych rozpraw doktorskich. Fakt ten świadczy o znakomitej orientacji Autorki w literaturze rozległego przedmiotu badań. Spis jest zredagowany poprawnie. W końcu należy podkreślić, że cytowane są w nim także (co jest incydentalne w dysertacjach doktorskich) pełne, oryginalne tytuły publikacji.

Podsumowując, należy podkreślić staranną i przemyślaną redakcję całości tekstu rozprawy doktorskiej, uzupełnioną przejrzystą szatą graficzną rysunków i tabel.

Za najważniejsze osiągnięcia tej pracy należy uznać zbadanie wpływu powierzchniowych właściwości kwasowo-zasadowych otrzymanych materiałów mezoporowatych typu SBA-15 na ich aktywność i stabilność w procesie mikrobiologicznego wytwarzania wodoru. Negatywne działanie powierzchniowych centrów kwasowych, zwłaszcza typu Brønsteda, całkowicie eliminuje materiały o takich właściwościach do zastosowania w roli nośników dla bakterii w procesach fermentacji zarówno *ciemnej*, jak i *jasnej*.

Eksperymenty dotyczące syntezy krzemionki z użyciem szablonów polistyrenowych lub uzyskanych ze skrobi, jako czynników wpływających na makroporowatość końcowego materiału, wykazały ich niezwykłą przydatność dla wytworzenia nośników o porowatości pozwalającej na zagnieżdżenie się bakterii w nośniku, bez konieczności ich zamykania w procesie syntezy. Wykorzystanie pianki poliuretanowej o określonej strukturze porowatej lub cukru o zróżnicowanym uziarnieniu podczas syntezy mikroporowatych struktur tlenku glinu jest kolejnym przykładem możliwości przygotowania takich nośników dla bakterii, które posiadają zdefiniowane kształty geometryczne, odpowiadające np. konstrukcji fotobioreaktorów działających w systemie ciągłym. Jest to niezwykle istotne, biorąc pod uwagę możliwość pracy takich bioreaktorów w systemach działających w skali większej niż laboratoryjna.

Stwierdzam, że poza wyżej wymienionymi usterkami rozprawa jest zredagowana poprawnie. Wymienione powyżej usterki nie zmniejszają zawartości merytorycznej dysertacji doktorskiej. Należy podkreślić, że doktorantka zaplanowała i zrealizowała szeroki program badawczy, poczynszy od syntezy i charakterystyki wielu materiałów o różnej naturze chemicznej i porowatości, poprzez określenie ich właściwości fizykochemicznych przy użyciu wielu metod, a skończywszy na przeprowadzeniu eksperymentów mających na celu zbadanie mikrobiologicznego wydzielania wodoru, z użyciem zarówno osadu pofermentacyjnego

w przypadku fermentacji ciemnej, jak i bakterii *Rhodobacter sphaeroides* w przypadku fotofermentacji.

Wyniki badań doprowadziły do sformułowania interesujących wniosków, stanowiących w znacznej części nowość naukową w zakresie fizykochemii układów mikro-, mezo- i makroporowatych przydatnych do immobilizacji bakterii wytwarzających wodór. Mgr Kalina Dyba jest współautorką artykułu opublikowanego w *International Journal of Hydrogen Energy* XXX (19367-19372) 2016, a także autorką lub współautorką 12 doniesień na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Podsumowując stwierdzam, że założone cele pracy doktorskiej zostały w pełni zrealizowane. Przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska Pani mgr Kaliny Dyby zatytułowana „**Synteza i charakterystyka mezo- i makroporowatych nośników nieorganicznych do immobilizacji bakterii w biologicznym wytwarzaniu wodoru**” spełnia wszelkie wymagania odnośnie rozpraw doktorskich określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz.U. nr 65 z 14.03.2003 r., poz. 595, oraz Dz.U. nr 164 z 27.07.2005 r., poz. 1365, wraz z późniejszymi zmianami w Dz.U. nr 84, poz. 455 z 18.03.2011 r.).

W związku z powyższym **wnioskuję o dopuszczenie** Pani mgr Kaliny Dyby do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. zw. dr hab. inż. Bogdan Sulikowski