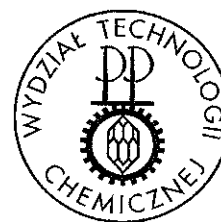




POLITECHNIKA POZNAŃSKA
INSTYTUT TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ
Berdychowo 4, 60-965 Poznań
tel. 61 665-37-16, fax 61 665 36 49
e-mail: lukasz.chrzanowski@put.poznan.pl
dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski
Zakład Chemii Organicznej



Poznań, 10.01.2016

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Doroty Wieczorek
pt. „Mikrobiologiczna degradacja biodiesla w warunkach tlenowych”

Oceniana praca doktorska została wykonana w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Tadeusza Antczaka oraz promotora pomocniczego dr inż. Olgi Marchut – Mikołajczak.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzję wykonałem w oparciu o uchwałę Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej z dnia 15 września 2015 roku, a także pisma Pani prof. dr hab. Marii Koziolkiewicz, Dziekana Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej z dnia 11 listopada 2015 roku W5/530/197/2015 oraz dostarczonego egzemplarza pracy doktorskiej.

Charakterystyka tematyki pracy doktorskiej

Problematyka badawcza podjęta przez Panią mgr inż. Dorotę Wieczorek oscyluje wokół zagadnień bioremediacyjnych związanych z mikrobiologicznym rozkładem biodiesla. To alternatywne paliwo zaczęło nabierać znaczenia od początku lat 90. XX wieku, kiedy Niemcy i Francja rozpoczęły zakrojone na szeroką skalę działania zmierzające do wprowadzenia na komercyjny rynek paliwa pochodzącego ze źródeł odnawialnych. Przez kolejne lata zainteresowanie biodieslem rozprzestrzeniło się w praktyce na wszystkie kraje świata. Maksimum popularności przypada na pierwsze dziesięciolecie XXI wieku. W tym czasie zainteresowanie świata nauki nakierowane było przede wszystkim na techniczne aspekty syntezy oraz na ocenę wpływu biodiesla na funkcjonowanie jednostek napędowych zasilanych tych paliwem. Ostatnie piętnaście lat to okres intensywnych badań nad podatnością biodiesla, a przede wszystkim jego mieszanin z klasycznym, pochodzącym z procesów rafineryjnych olejem napędowym, na procesy biologicznego rozkładu. W tym okresie powstała bardzo duża liczba prac naukowych, z których większość bezkrytycznie powołuje się na nieudowodniony mechanizm stymulacji procesów biodegradacji diesla poprzez obecność biodiesla na drodze kometabolizmu zaprezentowany w pracach:

- **Zhang X., et al., *Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment*, TASAE, 1998, 41, 1423-1430 - „In the presence of REE, the degradation rate of petroleum diesel increased to twice that of petroleum diesel alone.”**
- **Pasqualino J.C., et al., *Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels*, Biomass and Bioenergy, 2006, 30, 874-879 - „... biodiesel enhances the biodegradability of both diesel fuel and gasoline by means of cometabolism.”**

W świetle tych oraz kolejnych badań biodiesel jest w pełni biodegradowany i nie stanowi jakiegokolwiek zagrożenia długoterminowego dla stanu środowiska naturalnego. W ostatnich latach obserwuje się jednak powolne odchodzenie od idei znanego nam biodiesla na rzecz paliw alternatywnych nowej generacji. Z jednej strony wynika to z niezbyt akceptowalnego wykorzystywania potencjalnej żywności, czy pól zdolnych do wytwarzania żywności do produkcji olejów roślinnych przerabianych na biodiesla, a z drugiej, z konieczności

przerobu tych olejów do formy użytkowej. Przekłada się to na wzrost cen żywności oraz na zwiększone koszty wytwarzania biopaliwa. Stąd też obecnie świat nauki zwrócił uwagę na produkcję biodiesla z wykorzystaniem alg czy syntezę z biomasy odpadowej. Niemniej sama idea stosowania biodiesla jest nadal aktualna i realizowana przez zdecydowaną większość państw o wysokiej kulturze technicznej przez wzbogacanie klasycznego oleju napędowego dodatkiem biodiesla w ilości do 10%. Jak widać biodiesel z pewnością szybko nie zniknie z rynku, a przez to nadal będzie pozostawać w kręgu zainteresowania środowiska naukowego. Tym bardziej, że najnowsze prace badawcze niekoniecznie potwierdzają wcześniejsze obserwacje na temat stymulującego wpływu biodiesla w procesach mikrobiologicznego rozkładu paliw mieszanych.

Niniejsza praca doktorska doskonale wpisuje się w nurt prac badawczych, które nie przyjmują za pewnik bezkrytycznie powtarzanych informacji na temat biodiesla. Dzięki temu powstała oryginalna praca badawcza.

Formalna ocena pracy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr inż. Doroty Wieczorek pt. „Mikrobiologiczna degradacja biodiesla w warunkach tlenowych” obejmuje 198 stron maszynopisu. Do pracy załączono płytę zawierającą chromatogramy wraz z raportami, a także rozprawę doktorską w formie pliku pdf. Dodatkowo w skład przekazanych dokumentów włączono 32-stronicowy aneks w formie osobnego tomu.

Doktorat ma typowy układ dla prac doświadczalnych, w którym wydzielono wstęp teoretyczny, opis materiałów i metod, opis uzyskanych wyników oraz dyskusję wyników. Pracę zamykają wnioski oraz spis literatury wraz ze spisem rysunków i tabel. W pracy zawarto 57 rysunków oraz 20 tabel.

Praca doktorska rozpoczyna się klasycznym przeglądem literaturowym, który jest wnikliwy i przedstawia obszerny, pełen szczegółów opis biodiesla, niezbędny do właściwego zrozumienia idei badawczej realizowanej przez doktorantkę. Na 50 stronach maszynopisu doktorantka przedstawiła aktualną wiedzę naukową, powołując się na starannie wyselekcjonowane prace, które zacytowała w zwyczajowy sposób. W tym miejscu Recenzent pragnie podzielić się swoim zdaniem. Podawanie odnośników literaturowych w postaci „Olesnik i in., 2012” wydaje się być odrobinę dyskusyjne. Recenzent przychyliła się do wersji Olesnik i wsp. 2012, która zdecydowanie bardziej odpowiada idei bycia współautorem pracy naukowej. W pracy doktorskiej Autorka powołała się na 317 prac naukowych oraz opracowań specjalistycznych.

Rozprawa doktorska napisana jest poprawnym stylistycznie językiem, jednak zdecydowanie zyskałaby po przeprowadzeniu dokładnej korekty edytorskiej. W przedstawionej do recenzji wersji można odnaleźć wiele drobnych uchybień tj. duże i małe litery stosowane naprzemiennie w zestawieniach, brak spacji, przecinków, literówki, a nawet błędną pisownię partykuły „nie” z przymiotnikami.

Zastosowany w pracy sposób zapisu miar jest niejednorodny. W wielu miejscach wartości liczbowej towarzyszy symbol, a w innych miejscach symbol przedzielony jest spacją. Zgodnie z wytycznymi Rady Języka Polskiego powołanej przez Prezydium Polskiej Akademii Nauk uchwałą nr 17/96 z dnia 9 września 1996 r. zalecana jest następująca reguła „zapisu oznaczeń wartości fizycznych i matematycznych: **między wartością liczbową a literowym oznaczeniem miary, czyli skrótem lub skrótowcem, stawiamy spację, natomiast między wartością liczbową a oznaczeniem miary za pomocą symbolu albo połączenia skrótu/skrótowca i symbolu spacji nie stawiamy.** Poprawny zapis to zatem: np. 5 proc., 5 m, 5 s, 20 V, 13 Ω, 7,5 rd, 10,5 rad, 98 Hz oraz 5% (nie: 5 %, choć: 5 proc.), 3‰ (nie: 3 ‰), 10°C (nie: 10 °C ani 10 ° C), 212°F (nie: 212 °F ani 212 ° F), 3' (nie: 3 ´), 35" (nie: 35 ´), 25g (nie: 25 g) itd.”

Wybrane usterki przedstawiono poniżej:

- str. 4 oraz str. 35 „butylowany hydroksyanizol” – zapis kolokwialny
- str. 22 „Pomimo tak negatywnych decyzji rynek biopaliw w Polsce nadal utrzymywał się na wysokim poziomie” – błąd stylistyczny
- str. 28 „Nile tilapia” - brak tłumaczenia
- str. 35 „związek o białej barwie w postaci kryształków” – opis niezbyt chemiczny
- str. 43 „... brak lub nadmiar czynników środowiskowych ...” – niezbyt fortunne sformułowanie

- str. 47, str. 53, str. 66 „n-alkanów” – niepolecany przez IUPAC sposób zapisu prostolańcuchowych węglowodorów
- str. 52 „... kumulują duże ilości metali ciężkich np.: selenu ...” - selen nie jest metalem
- str. 53 „policykliczne węglowodory aromatyczne” – zwyczajowo w języku polskim powinniśmy posługiwać się nazwą wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne
- str. 57 „... gram dodatnie niż na gram ujemne ...” – błędna pisownia – Gram-dodatnie, Gram-ujemne
- str. 58 „... WKT zawierają sztywne zgięcia przy wiązaniach ...” – zdecydowanie wiązania podwójne dzięki hybrydyzacji sp² są sztywne, jednak zapis przedstawiony w pracy jest nazbyt kolokwialny

Cel pracy został jasno nakreślony przez Autorkę, a obszerny opis przeprowadzonych prac sprecyzował jakie zadania badawcze były realizowane. Wszystko to pozwala na bardzo dobre zorientowanie się w strukturze i kolejności prowadzonych badań.

Jedynym wyjątkiem zdaje się być selekcja mikroorganizmów zdolnych do efektywnego usuwania biodiesla lub jego mieszanin z olejem napędowym – czyli zadanie badawcze nr 1. Autorka, w późniejszym opisie materiałów i metod oraz opisie wyników nie do końca przedstawiła kryteria doboru i selekcji użytych szczepów. Ten fragment pracy mógłby być jaśniej opisany. Z tego względu dość trudno prześledzić zamysł i postępowanie Autorki przy wyborze szczepów.

Zadanie badawcze nr 2 stanowi nieodzowny element zaplanowanych badań i jest niezbędne do podjęcia dalszych prac. W gruncie rzeczy są to rutynowe działania, które nie są zbyt interesujące z punktu nowości naukowej jednak nie sposób ich pominąć.

Zdecydowanie należy natomiast zwrócić uwagę na bardzo rozbudowane zadanie badawcze nr 3, którego realizacja pozwala na wnikliwy opis zaobserwowanych zależności. Jednak najbardziej nowatorskim i posiadającym największy element nowości naukowej jest zadanie badawcze nr 4. Zadania badawcze nr 5 i 6 stanowią spójne rozwinięcie uprzednio prowadzonych badań. W konsekwencji wszystkie badania zdają się wzajemnie uzupełniać i stanowić niezerwalną całość prowadzącą do całościowego ujęcia analizowanego zagadnienia.

W kolejnej części pracy przedstawiono opis materiałów i metod. Wnikliwa analiza tego fragmentu pracy skłania Recenzenta do kilku pytań lub komentarzy przedstawionych poniżej:

- Czy przedstawiony na str. 67 profil kwasów tłuszczowych zawartych w biodieslu pozwala na określenie surowca, z którego on powstał ?
- Dlaczego podczas hodowli nie stosowano mediów mineralnych, w których jedynym źródłem węgla byłby biodiesel ewentualnie jego mieszanina z olejem napędowym ? Przedstawione w opisie media charakteryzują się dużą zawartością innych niż docelowe paliwa, źródeł węgla. Czy zdaniem Autorki mogło to mieć wpływ na kinetykę procesu biodegradacji paliw ?
- Jak rozumieć podaną przez Autorkę na str. 71 wilgotność gleby użytej do badań. Czy jest to 10% wagowo na suchą masę ? Czy może jest to 10% stanu nasycenia gleby ?
- str. 73 – Nic do końca można określić izolowaną fazę jako fazę lipidową. Zdecydowanie poprawniej jest opisanie jej jako fazy organicznej, gdyż zawartość paliw zdecydowanie różni ją od klasycznych lipidów. Czy stosując podane warunki nie doprowadzono do przeladowania kolumny ? Wydaje się, że w opisie pominięto split. Opis nie do końca pozwala się zorientować czy i w jaki sposób prowadzono analizę ilościową.

Następnym elementem pracy jest bardzo czytelne i generalnie wnikliwe omówienie wyników. W tym miejscu chciałbym podzielić się kilkoma refleksjami oraz pytaniami, które pojawiły się po analizie omawianego fragmentu:

- Zastosowany przez Autorkę na str. 83 „... stopień wykorzystania biodiesla ...” czy na str. 87 „... stopień rozkładu węglowodorów ...” jest niezbyt poprawny. Jest to często spotykany w literaturze

polskojęzycznej błąd, do którego przyznaje się nawet Recenzent. Zdecydowanie korzystniej jest stosować sformułowanie: „efektywność biodegradacji, czy efektywność rozkładu węglowodorów, biodiesla”. Użycie terminu stopień nasuwa pytanie o jednostkę.

- Zaokrąglanie wyników w tabelach powinno być jednolite. W odniesieniu do oznaczeń biodegradacji jedno miejsce znaczące po przecinku jest w zupełności wystarczające.
- Czy zdaniem Autorki celowym byłoby wyróżnienie biodegradacji frakcji aromatycznej z ogólnej biodegradacji oleju napędowego?
- Czy podczas eksperymentów w środowisku glebowym jako odnośnik zastosowano sterylną glebę, do której wprowadzono wybrane szczepy mikroorganizmów? Pozwoliłoby to na określenie efektu zastosowanej matrycy – czyli specyficznych własności wybranej gleby, a przez to umożliwiłoby pełniejszy opis układu badawczego.
- Wydaje się, że warto przeprowadzić osobne badania nad zdolnością wybranych szczepów do rozkładu wytypowanych przeciwutleniaczy oraz samego metanolu. Ten element byłby niezwykle interesujący w kontekście całościowego ujęcia tematu biodegradacji paliw opartych na biodieslu. W tym miejscu bardzo gorąco zachęcam Autorkę do wykonania takich analiz. Przydadzą się one podczas pisania publikacji naukowej.
- Drobne usterki wychwycone przez Recenzenta:
 - str. 72 „... aktywacji mikroorganizmów zdolnych do biodegradacji mikroorganizmów”
 - str. 84 „... badania prowadzono także na oleju napędowym ...” – zdecydowanie korzystniej byłoby napisać w takiej formie: „badania prowadzono również z wykorzystaniem oleju napędowego”
 - str. 110 „... zróżnicowanej czułości badanych nasion ...” – trudno mówić o czułości nasion
 - zapisy „10 %, 20 % i 30 %”, pamiętając o podanej wyżej regule zapisu symbolu albo połączenia skrótu/skrótowca i symbolu spacji, powinny być zapisane jako „10, 20 i 30%”. Przy zestawieniach, zdecydowanie nie powtarzamy jednostek czy skrótów za każdą liczbą.

Ostatnimi elementami pracy jest dyskusja wyników oraz wnioski końcowe. Autorka bardzo starannie dobrała literaturę, adekwatnie do zakresu badań. Dyskusja prowadzona jest w umiejętny, dojrzały sposób, jest wnikliwa i prowadzi do logicznych wniosków. Podczas lektury dyskusji Recenzentowi nasunęły się jedna refleksja. Autorka na stronie 146 napisała: „Dodatek węgla wapnia hamował obniżanie się pH w glebie, ale jednocześnie przyczyniał się do zmiany jej struktury. Odparowanie wody było utrudnione, gleba stała się kleista, pojawiały się w niej beztlenowe strefy, a po przesuszeniu gleba miała strukturę charakterystyczną dla szaroziemów, co znacznie utrudniało zachodzenie procesu rozkładu biopaliwa.”

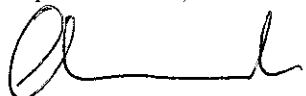
Zdaniem Recenzenta to zagadnienie wymagałoby dogłębniejszej analizy. Zjawiska analogiczne do opisanych, obserwuje się podczas procesów biodegradacyjnych zachodzących w zaolejonych ziemiach bielących, czy gleb skażonych dużymi ilościami olejów roślinnych. W przypadku niniejszej pracy doktorskiej zastosowanie CaCO_3 może przyczyniać się do powstawania trudnorozpuszczalnych soli wapniowych kwasów tłuszczowych. Sole te wykazują własności sprzyjające sklejaniu się minerałów glebotwórczych, co w konsekwencji w skrajnych przypadkach prowadzi do wytworzenia warunków beztlenowych. Zdecydowanie jednak częściej obserwuje się spadek tempa procesów biodegradacyjnych. Stąd też bardziej celowym wydaje się być korekta pH z wykorzystaniem np. węgla sodu. Ewentualnie warto by rozważyć wprowadzenie materiałów strukturotwórczych, analogicznych do tych stosowanych przy bioremediacji gleb skażonych olejami roślinnymi lub odpadami powstającymi przy ich produkcji.

Wniosek końcowy

Analizując niniejszą pracę doktorską pod kątem aktualności i oryginalności podjętych badań można z całą pewnością stwierdzić, że Autorka z sukcesem odnalazła swoją niszę badawczą, a zrealizowane przez nią badania w dużym stopniu uzupełniają istniejący stan wiedzy. Z tego punktu widzenia niniejsza praca doktorska jest cennym wkładem w poznanie procesów mikrobiologicznego rozkładu biodiesla.

Reasumując, przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską mgr inż. Doroty Wieczorek pt. „Mikrobiologiczna degradacja biodiesla w warunkach tlenowych” oceniam pozytywnie oraz stwierdzam, że spełnia ona wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim {określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65/03, poz. 595 i w rozporządzeniu Ministra Edukacji Narodowej i Sportu z dnia 15 stycznia 2004 roku (Dz. U. nr 15/04, poz. 128) oraz rozporządzeniu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 15 grudnia 2005 roku (Dz. U. nr 252/05, poz. 2125) „W sprawie szczegółowego trybu prowadzenia czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora”} i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Doroty Wieczorek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski