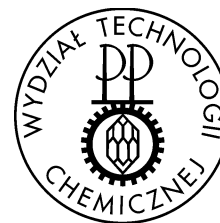




POLITECHNIKA POZNAŃSKA
INSTYTUT TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ
Berdychowo 4, 60-965 Poznań
tel. 61 665-37-16, fax 61 665 36 49
e-mail: lukasz.chrzanowski@put.poznan.pl
dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski
Zakład Chemii Organicznej



Poznań, 22.11.2016

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Arkadiusza Polewcyka
pt. „Ozonowany olej roślinny w procesie bioremediacji środowisk naturalnych zanieczyszczonych olejem napędowym”

Oceniana praca doktorska została wykonana w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej pod kierunkiem promotora prof. PŁ dr hab. Krzysztofa Smigielskiego oraz promotora pomocniczego dr inż. Olgi Marchut – Mikołajczyk.

Podstawa wykonania recenzji

Recenzję wykonałem w oparciu o uchwałę Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej z dnia 31 maja 2016 roku, a także pisma Pani prof. dr hab. Marii Koziółkiewicz, Dziekana Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej z dnia 13 października 2016 roku oraz dostarczonego egzemplarza pracy doktorskiej.

Charakterystyka tematyki pracy doktorskiej

Olej napędowy jest najczęściej wykorzystywanym paliwem w skali całego globu. Popularność zawdzięcza przede wszystkim wyższej sprawności silników wysokoprężnych, stosunkowo łatwemu otrzymaniu z ropy naftowej oraz wysokim temperaturom zapłonu. Przekłada się to na masową produkcję oraz dystrybucję oleju napędowego w całym świecie. W konsekwencji nie jest zaskakującym faktem, że olej napędowy należy do substancji najczęściej zanieczyszczających środowisko naturalne. Z praktycznego oraz mikrobiologicznego punktu widzenia, olej napędowy jest doskonałą pożywką dla szeregu bakterii wykorzystujących węglowodory jako źródło węgla i energii. Stąd też konieczność ochrony magazynowanego paliwa przed atakiem mikrobiologicznym wymusiła stosowanie biocydów, które są integralną domieszką wprowadzaną do paliw na etapie produkcji w petrochemiach. Jednakże ze środowiskowego punktu widzenia najbardziej istotnym składnikiem oleju napędowego są węglowodory aromatyczne, które ze względu na budowę chemiczną posiadają niekorzystne dla zdrowia właściwości. Nic więc dziwnego, że obecność oleju napędowego w środowisku naturalnym jest poważnym problemem, a poszukiwanie skutecznych metod jego eliminacji stanowi przedmiot badań wielu ośrodków naukowych.

Problematyka badawcza podjęta przez Pana mgr inż. Arkadiusza Polewcyka oscyluje wokół zagadnień bioremediacyjnych związanych z mikrobiologicznym rozkładem diesla. W zamyśle autora celowym wydaje się zbadanie wpływu dodatku oleju roślinnego oraz ozonu na efektywność mikrobiologicznego rozkładu oleju napędowego w środowisku wodnym i glebowym. O ile wprowadzenie olejów roślinnych celem intensyfikacji procesów biodegradacyjnych było już przedmiotem badań, o tyle wprowadzenie ozonu w towarzystwie oleju roślinnego stanowi wyraźny element nowości naukowej i posiada duży potencjał aplikacyjny.

Formalna ocena pracy doktorskiej

Praca doktorska rozpoczyna się 5-cio stronicowym spisem treści, który jest odrobinę zbyt szczegółowy. Tak rozbudowany spis treści nie ułatwia szybkiego odszukania konkretnego fragmentu w treści. Następnym elementem jest klasyczny przegląd literaturowy. Na 57 stronach maszynopisu doktorant przedstawił aktualną wiedzę naukową, powołując się na starannie wyselekcjonowane prace naukowe oraz opracowania specjalistyczne. W całej pracy zacytowano 249 pozycji literaturowych. Niestety podczas cytowania doktorant nie utrzymał jednolitego sposobu cytowania, stąd też w treści pracy wstępują wszystkie warianty: Autor **i in.**, Autor **i wsp.**, Autor **et al.**. Recenzent przychyliła się do wersji Autor i wsp., która zdecydowanie bardziej odpowiada idei bycia współautorem pracy naukowej.

W części literaturowej, zdaniem Recenzenta, korzystniej byłoby wyeliminować opis metabolizmu poszczególnych klas węglowodorów – gdyż nie jest on w tak szczegółowej formie potrzebny do zrozumienia późniejszych badań i ich wyników. O wiele cenniejszym byłoby szczegółowe przedstawienie:

- środowiska glebowego, zwłaszcza w kontekście dostępności wody i tlenu w zależności od charakteru gleby i wilgotności,
- fizyko-chemicznej charakterystyki oleju napędowego i oleju roślinnego,
- oddziaływania oleju roślinnego na węglowodory aromatyczne (w tym WWA) w glebie (procesy sorpcji i desorpcji),
- kwestii prawnych ograniczających możliwość wprowadzania substancji hydrofobowych (np. biodiesla) na tereny skażone związkami aromatycznymi, w związku ze zwiększoną migracją tej frakcji. Krajem, który prawnie zakazał takich rozwiązań jest przykładowo Republika Federalna Niemiec.

Rozprawa doktorska napisana jest na ogół poprawnym stylistycznie językiem, jednak zyskałaby po przeprowadzeniu niewielkiej korekty edytorskiej. W przedstawionej do recenzji wersji można odnaleźć drobne uchybienia, przede wszystkim w części literaturowej. Przykładowo *ex-situ* czy *in-situ* piszemy kursywą, natomiast związki powierzchniowo-czynne możemy zapisać bez myślnika jednak w treści należy stosować konsekwentnie tylko jeden sposób zapisu.

Zastosowany w całej pracy sposób zapisu miar jest niejednolity. 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 „... z katalizatorem tlenkiem tytanu ...” – błąd stylistyczny
- str. 12 „... syntetycznych ksenobiotyków ...” – z definicji ksenobiotyki są syntetyczne – patrz str. 64 gdzie autor podaje definicję ksenobiotyku
- str. 12 „Ropa ... może się składać z kilku tysięcy związków chemicznych ...” – składa się z kilkudziesięciu tysięcy związków chemicznych
- str. 15 „700 mln litów”
- str. 17 „opary tworzą swoisty gaz”
- str. 19 „...bezpośrednio powiązane jest z czynnikami nowotworowymi, powodującymi przede wszystkim nowotwór płuc, czy nawet powodować śmierć ...” - błąd stylistyczny
- str. 31 „Finalnie, już jako intermedia, jest kierowany ...” – niezbyt udane tłumaczenie
- str. 41 „degradacji polutantów” – j. w.
- str. 56 „... wykorzystują jedynie z czynnikami fizycznymi ...” – błąd stylistyczny
- str. 65 „łatwym rozkładem zanieczyszczeń uprzednio potraktowanych rozpuszczalnikiem lub biosurfaktantem niż drobnoustrojami” – składnia

Doktorant bardzo wyraźnie sformułował cel pracy, a dodatkowy opis etapów badań sprecyzował jakie zadania badawcze były realizowane. Wszystko to pozwala na bardzo dobre zorientowanie się w strukturze i kolejności prowadzonych badań. Sporym ułatwieniem są również kolorowe strony rozdzielające poszczególne działy.

Pierwszym blokiem badawczym były eksperymenty biodegradacyjne w środowisku wodnym. Podczas wnikliwej analizy tego fragmentu Recenzentowi nasunęły się pewne sugestie oraz pytania.

- Na czym polega niespełnienie przez olej roślinny norm warunkujących jego wykorzystanie do celów spożywczych ?
- Wątpliwości budzi wybór medium hodowlanego. Do badań z węglowodorami najczęściej polecane są media oparte na medium Bushnell-Haas'a, w których jedynym źródłem węgla są węglowodory. Z opisu wynika, że stosowano dodatek glukozy (2g/l) oraz ekstrakt drożdżowy (2g/l) w wyniku czego mikroorganizmy miały zapewnione łatwo przyswajalne źródło węgla. Możliwe również, że wynika to ze złego opisu, gdyż w tekście występują odwołania do nieistniejących rozdziałów.
- Dlaczego eksperymenty prowadzono tylko przez okres 14 dni, a nie wykorzystano bardziej standardowego okresu 28 dni ? Wiąże się to również z dwoma kolejnymi uwagami.
- Czy zdaniem doktoranta właściwie wytypowano stężenie oleju napędowego w hodowlach płynnych jako 10% wagowych ? Przy standardowych protokołach postępowania ze skażeniami, należałoby zastosować metody fizykochemiczne aby zmniejszyć ilość oleju napędowego przynajmniej do poziomu ok 1-2% i dopiero wtedy można by zastosować czynniki biologiczne (biopreparaty czy inne zaszczepki mikroorganizmów). Tym bardziej, że w przypadku rzek i jezior takie działanie jest relatywnie proste, a skażenia mórz i oceanów należy traktować, z racji zasolenia, jako odrębny przypadek.
- Czy zdaniem autora, zastosowany dodatek oleju roślinnego nie jest zbyt duży biorąc pod uwagę, że jest on nadal obecny po zakończeniu eksperymentów ? Nawet gdy jest to „nienadający się do spożycia olej roślinny”, posiada określoną wartość a jego stosowanie w środowisku wiąże się z kosztami transportu, stąd należałoby określić jego minimalną ilość, która wywiera korzystne działanie. Tym bardziej, że sam autor wskazuje na jego preferencyjną degradację w porównaniu do oleju napędowego.
- Opis procedury analitycznej przy oznaczaniu węglowodorów powinien być bardziej dokładny, zwłaszcza na etapie izolacji analitu z hodowli płynnych.
- Olej napędowy jest mieszaniną około 4 tysięcy węglowodorów należących do trzech głównych grup: alkanów (zarówno prostych jak i rozgałęzionych, określanych zbiorczo mianem parafin), alkanów cyklicznych (zwanymi naftenami) oraz węglowodorów nienasyconych, wśród których na uwagę zasługują przede wszystkim węglowodory aromatyczne. W typowym oleju napędowym zawartość węglowodorów aromatycznych wynosi w granicach 20-25% wagowych. Najwięcej jest pochodnych mono-pierścieniowych, następnie dwu-pierścieniowych oraz kolejno trzy-pierścieniowych. W normach jakości paliw podaje się często zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wynoszącą poniżej 11% wagowych, jednak po uwzględnieniu węglowodorów mono-pierścieniowych – całkowita zawartość związków aromatycznych wynosi w granicach wspomnianych 20-25% w zależności od wyjściowego substratu i technologii jego przetwarzania. Czy zdaniem autora nie byłoby celowym, określenie degradacji frakcji aromatycznej jako najniebezpieczniejszego składnika oleju napędowego ?
- Autor używa terminu „konsorcjum” podczas gdy stosuje „kulturę mieszaną”. Zgodnie z definicją: „A mixed culture is produced by combining two or more pure cultures and excluding other microorganisms by using aseptic technique. Mixed cultures are not necessarily microbial communities. If the microorganisms within a mixed culture do not proliferate, survive, and adapt as a unit, then the culture may be inherently unstable, with one or more microorganisms quickly displacing others.” Str. 102 **Cultivation of Microbial Consortia and Communities**, Wolfaardt i wsp., **Manual of Environmental Microbiology**, Third edition, ASM Press, Washington 2007, USA. Ta definicja oraz inne wyjaśnienia w przywołanym tekście źródłowym (strony 101-103) zdecydowanie nie pozwalają nazwać stosowanych układów mikroorganizmów ani społeczności (microbial community) ani konsorcjami (microbial consortia).
- Stosowany przez Autora „stopień biodegradacji” jest niezbyt poprawny. Jest to często spotykany w literaturze polskojęzycznej błąd. Zdecydowanie korzystniej jest stosować sformułowanie:

„efektywność biodegradacji, czy efektywność rozkładu węglowodorów, diesla”. Użycie terminu stopień nasuwa pytanie o jednostkę.

Podsumowując pierwszy blok eksperymentalny można zauważyć, że obejmuje on bardzo dużo eksperymentów. Najciekawszymi z nich są badania, w których wraz z olejem roślinnym wprowadzano ozon. Dzięki tym eksperymentom, udało się doktorantowi ocenić skuteczność zaproponowanej metody. Dojrzałe poprowadzono dyskusję naukową, wskazując na potencjalne mechanizmy działania ozonu. Bardzo dobrym uzupełnieniem badań jest część dotycząca pośredniego wyznaczenia ilości biomasy poprzez analizę stężenia białka.

Drugi blok eksperymentalny dotyczy biodegradacji w środowisku glebowym. Jest on zdecydowanie najbardziej interesującym, z punktu naukowego, wkładem doktoranta w poszerzenie obecnego stanu wiedzy. Eksperymenty zaplanowane są bardzo dobrze. Całość eksperymentów poprzedzono walidacją metody odzysku węglowodorów z gleby. Omówienie i dyskusja wyników prowadzone są w sposób wnikliwy. Dodatkowym elementem jest analiza zmian fitotoksyczności gleby po procesie biodegradacji z wykorzystaniem standardowych roślin wskaźnikowych. Po lekturze tej części Recenzent pragnie podzielić się następującą uwagą:

Przy wyznaczeniu parametrów gleby, niezmiernie istotne jest określenie pojemności polowej. Podana w pracy wilgotność (30%) nie jest parametrem charakteryzującym glebę. Nie wiadomo czy gleba znajduje się w stanie nasycenia wodą. W przypadku przesylenia, bardzo często obserwuje się procesy beztlenowe, które obniżają efektywność biodegradacyjną. Ten parametr powinien być wyznaczony w oparciu o standardowe procedury oznaczania właściwości gleb.

Wniosek końcowy

Analizując niniejszą pracę doktorską pod kątem aktualności i oryginalności podjętych badań można z całą pewnością stwierdzić, że Autor z sukcesem odnalazł swoją niszę badawczą, a zrealizowane przez niego badania w dużym stopniu uzupełnią istniejący stan wiedzy. Z tego punktu widzenia niniejsza praca doktorska jest cennym wkładem w poznanie procesów mikrobiologicznego rozkładu diesla w obecności oleju roślinnego i ozonu.

Reasumując, przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską mgr inż. Arkadiusza Polewczyka pt. **„Ozonowany olej roślinny w procesie bioremediacji środowisk naturalnych zanieczyszczonych olejem napędowym”** 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. Arkadiusza Polewczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



dr hab. inż. Łukasz Chrzanowski