



Dr hab. inż. Anna Trusek-Hołownia, Prof. PWr
Politechnika Wroclawska
Zakład Inżynierii Bioprocessowej i Biomedycznej

Wrocław, 27.01.2015

Recenzja
rozprawy doktorskiej
pt. "Badania procesu biosyntezy kwasu itakonowego z surowców celulozowych"
opracowanej przez mgr inż. Marcina Sobeckiego

1. Istotność tematyki podjętej w doktoracie

Ze względu na wyczerpujące się a tym samym coraz droższe surowce stosowane dotychczas w wielu technologiach chemicznych rośnie zainteresowanie zmianą bazy surowcowej w kierunku surowców odnawialnych, w tym uzyskiwanych w procesie recyklingu. Słuszność tej koncepcji jest bezdyskusyjna, implikuje ona jednak szereg problemów natury badawczej oraz technicznej. Stanowi jednak wyzwanie, które przez współczesną naukę musi zostać podjęte. Sięganie do uboższych surowców, z reguły zanieczyszczonych wieloma innymi składnikami niekorzystnie działającymi na dany proces, powoduje, że dotychczas zabrane doświadczenie i opracowane na tej podstawie metody projektowania procesów stają się zawodne, wymagają uzupełniających danych. Procedury badawcze prowadzące do ich uzyskania muszą uwzględniać specyficzne właściwości tych surowców. Stąd też, pod względem dyscypliny naukowej dotyczą zintegrowanych zagadnień inżynierii chemicznej i procesowej oraz technologii (bio)chemicznej. Przykładem takiej integracji jest recenzowana praca.

Celuloza, jest najbardziej rozpowszechnionym w świecie biopolimerem, którego wykorzystanie jest ciągle dalekie od optymalnego. Cukry proste, będące merami łańcuchów celulozy mogą być surowcami do uzyskiwania na drodze chemicznej i biochemicznej, bardzo szerokiej gamy cennych produktów. Głównym problemem technologicznym jest depolimeryzacja łańcuchów materiału ligninocelulozowego. Celuloza, wszechobecna

w dzisiejszym świecie, może być pozyskiwana do celów przemysłowych bezpośrednio z flory, jak również w procesie recyklingu. Ta druga droga, wykorzystująca celulozę zawartą w zużytym papierze jest przedmiotem badań w rozprawie przedłożonej przez Pana mgr inż. Marcina Sobeckiego. Jej podstawowym celem jest zbadanie możliwości wykorzystania celulozy zawartej w makulaturze do uzyskiwania ważnego półproduktu przemysłu chemicznego jakim jest kwas itakonowy. Mimo, że zagadnienia enzymatycznej hydrolizy celulozy jak i biosyntezy kwasu itakonowego mają bogatą literaturę, tak sformułowany i postawiony temat rozprawy doktorskiej jest interesujący i pozwala na uzyskanie nowych danych zarówno odnośnie zagadnień procesowych jak i aparaturowych.

2. Formalna ocena manuskryptu

Recenzowana praca liczy 237 stron, zawiera 129 rysunków, 23 tabele oraz dodatkowo CD z załącznikami. Bibliografia jest bardzo liczna (233 pozycje). Praca jest, jak widać z tych danych, bardzo obszerna. Zakres prowadzonych prac częściowo usprawiedliwia tę objętość, niemniej szkoda że Doktorant nie podjął próby bardziej syntetycznego opisu.

Rozdział pierwszy definiuje cel i zakres pracy. Doktorant dzieli go na dwa podstawowe etapy tj. badania enzymatycznej degradacji modelowego surowca celulozowego oraz opracowanie koncepcji oraz budowę modelowego reaktora typu airlift do prowadzenia biosyntezy kwasu itakonowego. Lektura pracy wskazuje, że zakres tematyczny jest o wiele szerszy niż wynika z tak krótkiej charakterystyki. Autor logicznie uzasadnia sens prowadzenia poszczególnych badań, które jak już zaznaczono mają charakter inżynierijsko-technologiczny.

Rozdział drugi dotyczy przeglądu literatury. Zawarty jest na 43 stronach i w zasadzie wskazuje na wszystkie istotne elementy dotyczące tematyki rozprawy. Jednak szereg informacji tam podanych można było pominąć, jako że mają one charakter dość elementarny. Zabrakło natomiast informacji dotyczących ilościowego opisu zagadnień biotechnologicznych, zwłaszcza zachodzących reakcji.

Trzy kolejne rozdziały: *Badania procesu enzymatycznej hydrolizy celulozy i graficzne opracowanie wyników*, *Badania enzymatycznej degradacji materiałów celulozowych w modelowym reaktorze*, *Badania bioreaktora typu airlift z regulacją przepływu w rurze wznoszącej* są autonomicznymi częściami rozprawy i prezentują wyniki uzyskane przez Doktoranta. Mają analogiczną strukturę, omawiają stanowisko badawcze, materiały i metody, stosowaną analitykę, po czym prezentują wybrane wyniki. Każdy z tych rozdziałów wieńczy

wnioski, co podkreśla wspomniany już ich autonomiczny charakter. Taki sposób prezentacji nie jest typowy dla tego typu prac doktorskich, ale w pełni akceptowalny. Wynika on z jak należy się domyślać z bardzo szerokiego zakresu podejmowanych zagadnień.

Merytoryczną część rozprawy kończy podsumowanie, zawarte na 6 stronach, które jest w dużej mierze powtórzeniem wcześniej przedstawionych wniosków i spostrzeżeń.

3. Ocena merytoryczna

Część eksperymentalną pracy otwiera rozdział omawiający proces enzymatycznej hydrolizy celulozy. Rozpoczyna się on od opisu stosowanej aparatury, metod pomiarowych i analitycznych. Zagadnienia te przedstawione są z dużą szczegółowością i nie budzą żadnych zastrzeżeń. Doktorant w serii wstępnych badań wybrał właściwą kompozycję enzymów, zakres temperatury i pH oraz dwa rodzaje surowca celulozowego. Przeprowadził również badania wpływu mieszania wykazując (rys. 3.8), że ma ono pomijalnie mały wpływ na końcowy stopień konwersji celulozy (α pomiędzy 0,87 a 0,9). Stwierdzenie to nie konweniuje z przedstawionym wnioskiem i późniejszymi obszernymi badaniami efektu mieszania układu reakcyjnego.

Spośród znanych metod wstępnej obróbki surowca celulozowego mającej na celu rozluźnienie struktury materiału ligninocelulozowego, tak aby był bardziej dostępny dla wielkocząsteczkowego enzymu, Doktorant wybrał działanie promieniowaniem mikrofalowym oraz strumieniem pary nasyconej w 100°C. Uzyskane wyniki przedstawiono na wykresach 3.12-3.17. Uzyskane wyniki wydają się niespójne, a ich wyjaśnienie nie zawiera próby podania przyczyn czy mechanizmów. Np. na rys. 3.12 pokazane jest, że w wyniku promieniowania mikrofalowego nie zmienia się ilość uzyskanych cukrów rozpuszczalnych, a zwiększyła się natomiast ilość cukrów przyswajalnych. Z kolei rys. 3.14 przedstawia wyraźny efekt zmniejszenia ilości cukrów rozpuszczalnych z czasem działania pary wodnej. Jak te spostrzeżenia połączyć, gdyż w obu przypadkach chodzi przecież o podobne zjawisko rozluźnienia struktury? Generalnie można stwierdzić, że zaproponowana przez Doktoranta metoda wstępnej obróbki surowca nie ma zasadniczego znaczenia dla późniejszego przebiegu procesu.

Wykorzystując uzyskane wyniki Doktorant zaproponował dość wyszukaną konstrukcję bioreaktora wyposażonego w dwa mieszadła: zasadnicze, łopatkowe usytuowane w osi mieszalnika oraz ślimakowe, ulokowane w dolnym króćcu reaktora. Takie rozwiązanie

miało na celu sprawniejsze energetycznie wytwarzanie zawiesiny całkowitej. Przeprowadzono pomiary mocy mieszania dla trudnego pod względem reologicznym układu, jakim jest zawiesina skrawków papieru. Dodatkową trudnością jest fakt, że masa fazy stałej wyraźnie maleje wraz z postępem rozpatrywanej reakcji. Badania te przeprowadzono stosując właściwe metody i techniki pomiarowe. Nie sposób jednak nie postawić pytania o rolę mieszania w procesie enzymatycznej hydrolizy surowca ligninocelulozowego. Reakcja zachodzi w układzie heterogenicznym i bez wątpienia efektywne odnawianie powierzchni fazy stałej, tj. strefy reakcji, jest pożądane. Ale z drugiej strony reakcja jest bardzo wolna, prowadzi się ją ok. 24 godzin. Czy w takim przypadku jest wymagane tak intensywne mieszanie? Jakościowe zależności uzyskane przez Doktoranta w wyniku badania procesu mieszania układu w doświadczalnym reaktorze odpowiadają relacjom znanym w literaturze. Nie stwierdzono natomiast istotnej interakcji obu mieszadeł. Odnośnie roli mieszania w procesie enzymatycznej hydrolizy celulozy komentarza wymaga wniosek nr 1 na str. 118. Jego treść nie odpowiada rys. 4.20, który przykładowo tę zależność obrazuje.

Logicznym następstwem silnej zależności mocy mieszania od stężenia surowca celulozowego były badania strategii dozowania surowca. Kilkukrotne dozowanie surowca zmniejszało zapotrzebowanie na moc, skutkowało jednak wyraźnie mniejszym końcowym stopniem konwersji.

Ważne technologicznie zagadnienie odzysku drogiego enzymu i jego powtórnego wykorzystania przedstawiono wrywkowo. Technologia oparta na ponownym wykorzystaniu enzymu wymaga określenia szybkości utraty aktywności w czasie. Być może po 24 h stosowania w pierwszej szarży zachowuje jej np. tylko 30%? Wyniki przedstawione na rys. 4.26 są bardzo zastanawiające – praktycznie trzy przebiegi odpowiadające różnego rodzaju odzyskowi enzymu się pokrywają? Wg sugestii Doktoranta istotna masa enzymu ulega adsorpcji na powierzchni surowca celulozowego. To arbitralne i dość ryzykowne stwierdzenie, które jednak łatwo można było zweryfikować przeprowadzając proste doświadczenie równowagi adsorpcji w roztworze. Stąd z ww. przyczyn do wniosków zawartych na str. 126 należy zdaniem recenzenta podchodzić z ostrożnością.

Wykorzystując wyniki wielu logicznie przeprowadzonych serii eksperymentów (ponad 1500 punktów pomiarowych) Doktorant opracował szczegółowe równania kryterialne dla badanego układu. Pod względem eksperymentalnym jest to niewątpliwie najlepiej przeprowadzona i opracowana część pracy doktorskiej. Do podstawowego równania na moc mieszania wprowadził dwa inwarianty: geometryczny, wiążący średnice mieszadła z jego odległością od dna aparatu oraz stężeniowy, uwzględniający masową zawartość fazy stałej

w układzie. Równania opracowano dla obu badanych kątów natarcia mieszadła, dla różnych zakresów liczb Re_m , Fr_m^* . W uzyskanych korelacjach widoczny jest bardzo silny (zwłaszcza dla kąta natarcia 45°) wpływ inwariantu stężeniowego. Nieco inny od typowych jest wykładnik przy liczbie Reynoldsa. Szkoda, że uzyskanych zależności nie porównano, chociaż szacunkowo, z danymi literaturowymi. Osłabia to możliwość wykorzystania uzyskanych równań do projektowania mieszalników. Nie można bowiem abstrahować od faktu, że przy zachowaniu podstawowych zasad podobieństwa, wartości te uzyskano dla bardzo małego mieszalnika doświadczalnego.

Podrozdział dotyczący kinetyki reakcji enzymatycznej hydrolizy wzbudza wiele wątpliwości. Tutaj najbardziej oddalił się Doktorant od metod ujmowania przez inżynierię chemiczną i procesową zagadnień związanych z reakcją w układzie heterogenicznym. Podstawowa rzecz, to ustalenie reżimu w jakim proces przebiega. Tylko i wyłącznie wtedy, kiedy proces przebiega w reżimie kinetycznym, można go opisywać jako reakcję (bio)chemiczną. W każdym innym przypadku, należy odpowiednio uwzględnić transport masy reagentów do strefy reakcji. Doktorant stwierdził, że mieszanie wpływa na szybkość reakcji, po czym efekt ten ujął w stałej szybkości reakcji I-rzędu, który to rząd przyjął w sposób nie do końca uzasadniony. W ten sposób uzyskał kilkanaście wartości stałej równania kinetycznego dla różnych szybkości mieszania. Taki sposób opisu różni się z podstawowymi, stosowanymi w inżynierii chemicznej i procesowej, modelami opisującymi przebieg reakcji w układach heterogenicznych. Uzyskane równania mogą być jedynie traktowane jako opis przebiegu doświadczeń arbitralnie założoną funkcją.

Ostatnia część badań zaprezentowanych w rozprawie dotyczy bioreaktora airlift. Konstrukcja reaktora, stosowane materiały i metody badawcze zostały starannie opisane. Odnośnie konstrukcji bioreaktora zastosowano oryginalne rozwiązanie, polegające na wbudowaniu u wylotu rury centralnej dławika ograniczającego szybkość cyrkulacji. Opracowano równania korelacyjne na stopień zatrzymania gazu w rurze wznoszącej. Przy pomiarze szybkości przepływu cieczy zastosowano metodą znacznikową, a jako czas cyrkulacji przyjęto okres pomiędzy kolejnymi ekstremami wartości stężenia znacznika. Taka metoda jest w pełni poprawna dla przepływu tłokowego. Z rys. 5.11 wynika, że nie był to przepływ tłokowy. Rozmycie piku jest stosunkowo duże i można się nawet pokusić o oszacowanie liczby Pe . Opracowano równania do obliczeń szybkości przepływu cieczy uwzględniające efekt dławienia, który okazał się korzystny dla natleniania cieczy w tej strefie.

Wyznaczono objętościowy współczynnik przenikania tlenu oraz zastępczą powierzchniowo-objętościową średnicę pęcherzy powietrza. Wielkości te skorelowano

względem szybkości przepływu gazu oraz położenia dławika. Taki wybór argumentów osłabia użyteczność tych równań, jako że dotyczą one tylko tej konkretnej konstrukcji reaktora. Mimo wspomnianej, ograniczonej dla danej konstrukcji ważności tych równań szkoda że chociaż ilościowo nie porównano uzyskanych wartości z danymi literaturowymi.

Po doborze rodzaju drożdży oraz pożywki przeprowadzono badania biosyntezy kwasu itakonowego w skonstruowanym bioreaktorze. Przebiegi przedstawione na rys. 5.41 i 5.42 są praktycznie identyczne, co posłużyło Doktorantowi do sformułowania wniosków przedstawionych na str. 196. Niemniej przebieg syntezy zależy od efektywności natleniania układu i do tego parametru powinno się go odnosić, a nie do geometrycznego położenia dławika (wniosek 4). Między innymi po to był wyznaczamy stopień zatrzymania gazu, współczynnik przenikania tlenu, wartość średnicy pęcherzy powietrza i szybkość cyrkulacji cieczy.

Przedstawione powyżej krytyczne uwagi nie oznaczają, że praca nie zawiera interesujących, poznawczych aspektów, których oczekuje się od rozpraw doktorskich. W dużej mierze są one skutkiem zbyt szerokiego sformułowania celu pracy, który poniekąd zmuszał Doktoranta do mniej wnikliwego rozpatrywania poszczególnych zagadnień oraz mieszanej technologiczno-procesowej konwencji prezentowania wyników. Przedstawione powyżej uwagi powinny stanowić przedmiot dyskusji podczas publicznej obrony.

4. Ocena edytorska

Pod względem edytorskim praca napisana i zredagowana jest logicznie, jej lektura nie nastęrcza najmniejszych trudności. Bardzo ładna jest szata graficzna. Niestety, Doktorant nie uniknął pewnych błędów i niewłaściwych sformułowań.

Z recenzenckiego obowiązku poniżej przytaczam najistotniejsze z nich:

- a) niepoprawny jest wielokrotnie używany termin ułamek (udział) wagowy;
- b) Autor wielokrotnie używa terminu "optymalny" (zakres, wartość). Aby uznać, że dana wartość jest optymalna należy najpierw sformułować kryterium optymalności;
- c) Autor myli pojęcia szybkość i prędkość;
- d) rys. 3.13 jest identyczny z rys. 3.15;
- e) niezrozumiałe jest stosowanie na szeregu wykresach ekstensywnej wartości jaką jest masa zamiast intensywnej jaką jest stężenie ;

f) występuje to wielokrotnie, ale w równaniach 5.16 i 5.17 jest najbardziej widoczne. Liczba miejsc znaczących w stałych równania w naukach technicznych nie jest dowolna.

5. Reasumując stwierdzam, że wyniki przedstawione przez Pana mgr inż. Marcina Sobeckiego z rozprawie doktorskiej poszerzają wiedzę na temat procesowych i aparaturowych aspektów wykorzystania uzyskiwanego z recyklingu surowca celulozowego. Tematyka rozprawy jest bardzo szeroka (chyba nawet zbyt szeroka na jedną pracę doktorską) i wymagała uwzględnienia wielu aspektów opracowywanego zagadnienia. Doktorant wykazał się odpowiednią wiedzą i mimo pewnych uwag krytycznych uważam, że osiągnął zamierzony cel. Stwierdzam, że recenzowana praca odpowiada ustawowym wymaganiom i wnoszę o dopuszczenie Pana mgr inż. Marcina Sobeckiego do jej publicznej obrony.

Andrzej Kosiński

