



prof. zw. dr hab. inż. Teofil Jesionowski
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań, tel. +48 61 665 3720, fax +48 61 665 3649
e-mail: teofil.jesionowski@put.poznan.pl, www.fct.put.poznan.pl

Poznań, 15.08.2016 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Szewczuk-Karpisz

z tytułu

***„Badanie wpływu adsorpcji biopolimerów na stabilność wodnych suspensji
tlenków mineralnych”***

opracowana na zlecenie Dziekana Wydziału Chemii

Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

L.dz. 737/WCHD/16 z dnia 22 czerwca 2016 r.

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Szewczuk-Karpisz została zrealizowana w Zakładzie Radiochemii i Chemii Koloidów Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie pod kierunkiem dr hab. inż. Małgorzaty Wiśniewskiej, prof. nadzw. UMCS.

W obecnym czasie obserwuje się znaczny rozwój technologiczny wynikający z wielu przedsięwzięć innowacyjnych i postępu cywilizacyjnego. Ma to także miejsce w szeroko rozumianym przemyśle chemicznym czy dziedzinach pokrewnych (np. ochrona środowiska), który ukierunkowany jest na nowe rozwiązania, głównie wpisujące się w założenia „zielonej chemii”, czy technologii przyjaznych środowisku. Niewątpliwie ze zintensyfikowaną działalnością człowieka związane jest generowanie substancji niebezpiecznych czy coraz to większej ilości ścieków, stąd konieczne jest opracowywanie nowych koncepcji ich unieszkodliwiania lub zagospodarowywania, wykorzystując substancje przyjazne dla środowiska czy metody mało- lub bezinwazyjne. Przykładowo zastosowanie naturalnych, biodegradowalnych i nietoksycznych związków wielkocząsteczkowych wpisuje się w tę działalność. Drugi aspekt dotyczy wytwarzania materiałów o rozdrobnieniu nanometrycznym, co związane jest z rozwojem nanotechnologii. Jest to w pełni uzasadniony kierunek rozwoju technologicznego, jednakże niekontrolowana emisja nanocząstek w formie stałej czy w układach zdyspergowanych (koloidalnych) może powodować także znaczne

zagrożenie dla środowiska naturalnego czy organizmów żywych. Przykładowo układy nanokoloidalne – mimo ich bardzo zaawansowanych cech użytkowych – często stanowią istotne zagrożenie, zwłaszcza w przypadku braku monitorowania ich transportu (dyfuzji), emisji do układów wodnych etc.

Powszechnie wiadomo, że kluczową rolę w wielu technologiach stanowią nanocząstki krzemionki, tlenku cyrkonu(IV) czy tlenku chromu(III). Ich zastosowanie ma miejsce w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym, podczas produkcji farb i lakierów oraz przy wytwarzaniu licznej grupy zaawansowanych materiałów kompozytowych. Także ich udział w formulacji materiałów medycznych jest istotny, np. implanty, nośniki dostarczania leków, etc. Stąd naukowcy z licznych ośrodków badawczych podejmują intensywne prace nad zachowaniem takich układów w połączeniu z innymi związkami, często pochodzenia naturalnego, np. biopolimerami. Niewątpliwie znaczenie wielkocząsteczkowych związków polimerowych, w szczególności pochodzenia naturalnego oraz nanomateriałów nadal będzie duże. Przykładowo, analizując ilość prac opisujących te zagadnienia (na podstawie bazy SCOPUS z dn. 15.08.2016 r.), można odnotować następujące dane dla poszczególnych zagadnień: *biopolymers* – 223820 rekordów, *nanomaterials* – 192091, *colloidal stability* – 121099, *oxide suspensions* – 100208 oraz dla *adsorption of biopolymers* – 24214. Te wartości liczbowe świadczą o ogromnym zainteresowaniu badaczy na całym świecie wyżej wyspecyfikowanymi obszarami naukowymi. W te aspekty wpisuje się także opiniowana rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Szewczuk-Karpisz, której nadrzędnym celem było zdefiniowanie wpływu adsorpcji biopolimerów (wybranych białek i jednego polisacharydu) na trwałość suspensji tlenków mineralnych (krzemionki, ditlenku cyrkonu oraz tlenku chromu(III)). Do zrealizowania tego zadania koniecznym było przeprowadzenie licznych przedsięwzięć eksperymentalnych tj. wyznaczenie rozmiarów makrocząsteczek biopolimerów w roztworze, określenie wielkości adsorpcji biopolimerów na powierzchni tlenków mineralnych w funkcji pH i siły jonowej roztworu, zdefiniowanie wpływu adsorpcji biopolimerów na właściwości elektrokinetyczne wodnych suspensji tlenków mineralnych (czyli wartości potencjału dzeta oraz gęstości ładunku powierzchniowego cząstek stałych bez i z zaadsorbowanym biopolimerem), wyznaczenie właściwości termicznych wybranego tlenku mineralnego bez i w obecności albuminy, określenie struktury podwójnej warstwy elektrycznej, zbadanie stabilności wodnych suspensji tlenków mineralnych bez i w obecności biopolimerów w funkcji pH roztworu, określenie parametrów charakteryzujących trwałość układów koloidalnych bez i w obecności biopolimeru pochodzenia bakteryjnego. Informacje uzyskane

na podstawie analizy wyników ze zrealizowanych badań mogą stanowić uzupełnienie danych literaturowych czy być wykorzystane w realnych koncepcjach użytkowych.

Oceniana rozprawa doktorska została przedstawiona na 194 stronach maszynopisu, co dowodzi o jej obszerności. Struktura pracy nie jest konwencjonalna. Rozpoczyna się od streszczenia w języku angielskim. Dalej przedstawiono *Spis symboli i skrótów* oraz *Wstęp i cel pracy*. Wstęp pracy napisany jest, wg mojej oceny, niespójnie – zawiera wiele informacji, które nie są ze sobą powiązane i nie wprowadzają czytelnika do meritum zakresu recenzowanej dysertacji. Natomiast cel pracy i jej zakres został w pełni poprawnie zdefiniowany. Bardzo ciekawym pomysłem jest wkomponowanie do tej części dysertacji dorobku naukowego Doktorantki (zarówno bezpośrednio związanego z nurtem pracy, jak i będącego efektem pobocznie realizowanych badań naukowych). Warto nadmienić, że wykracza on znacznie poza obowiązujące standardy. Szczegółowej oceny aktywności naukowej Pani mgr Katarzyny Szewczuk-Karpisz dokonam w dalszej części opinii. Kolejny rozdział pracy to *Część literaturowa*. W opisie teoretycznym Autorka dysertacji scharakteryzowała najważniejsze informacje o biopolimerach, zwracając uwagę na ich strukturę, właściwości oraz poszczególne grupy. Dokładnie zdefiniowała albuminy i lizozymy. Wśród biopolimerów wyszczególniono także polisacharydy, szczegółowo streszczając egzopolisacharydy. Dalsze zagadnienia, jakie przedstawiła Pani mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz, dotyczą adsorpcji białek na powierzchni ciała stałego. Ten fragment pracy uznaję za najciekawszy, gdyż doktorantka zwróciła uwagę na najważniejsze czynniki zewnętrzne (pH roztworu, temperatura, siła jonowa) i wewnętrzne (właściwości adsorpcyjne białek i powierzchniowe ciała stałego) wpływające bezpośrednio na zdolność adsorpcji białek. Opisano także wpływ struktury białek oraz zmiany w ich budowie na mechanizmy oddziaływania ze zróżnicowanymi matrycami. Ciekawie scharakteryzowano także aspekty kinetyczne, rodzaje izoterm czy modele matematyczne związane z adsorpcją biopolimerów (w tym białek) na powierzchni ciała stałego. Nieco mało spójny opis dotyczący znaczenia praktycznego białek w zastosowaniach medycznych, spożywczych i metodach rozdziału opisano w kolejnym podrozdziale przeglądu literaturowego. Bardzo rozbudowany podrozdział dotyczy charakterystyki metod badań adsorpcji białek na powierzchni ciała stałego. Autorka opisała m.in. takie techniki jak: optyczne, spektroskopowe, radioizotopowe i mikroskopowe. Zwróciła także uwagę na metody bazujące na gradiencie stężenia białka w roztworze na skutek oddziaływań z powierzchnią ciała stałego. Również ten element pracy jest bardzo interesująco przedstawiony. Część literaturowa została przedstawiona na 68 stronach maszynopisu, co stanowi 35% całości dysertacji, można więc stwierdzić, że proporcje zostały właściwie zachowane. Po przeczytaniu tej części pracy nasuwają się pewne

sugestie: 1) właściwa nomenklatura dla CO₂ to ditlenek węgla lub tlenek węgla(IV), 2) do tabeli 1 przydałby się dwu- lub trzyzdaniowy komentarz, 3) dla prac redagowanych w języku polskim przy podpisach rysunków i tabel nie daje się kropki na końcu odpowiednich zdań (ta uwaga dotyczy także dalszych podpisów zastosowanych w pracy).

W rozdziale *Część doświadczalna* zamieszczono informacje o materiałach użytych do badań oraz zastosowane metody i techniki eksperymentalne. Ich różnorodność i użyteczność jest znaczna, niemniej jednak brakuje, wg mojej subiektywnej oceny, użycia technik spektroskopowych czy mikroskopowych. Przypuszczam, że w macierzystej Jednostce istnieje takowa aparatura. Ponadto w części teoretycznej Autorka wskazywała na ich znaczenie. Chciałbym jednak podkreślić, że ilość i jakość przedłożonego materiału eksperymentalnego jest godna podziwu.

Najważniejszy z punktu widzenia każdej pracy doktorskiej (nie pomniejszając wartości pozostałych części rozprawy) rozdział *Wyniki i ich dyskusja* Autorka rozprawy – Pani mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz – podzieliła na dwa zasadnicze elementy, tj. rezultaty związane z pracami eksperymentalnymi z wykorzystaniem wielocukru (egzopolisacharydu syntezowanego przez bakterie *Sinorhizobium meliloti*) oraz wyniki z użyciem wybranych białek (lizozymu, owoalbuminy oraz surowiczej albuminy ludzkiej i wołowej). Oba te kierunki działań obejmowały wiele aspektów naukowych, spośród których można wyróżnić: wyznaczenie parametru pK_a oraz stopnia dysocjacji egzopolisacharydu, zdefiniowanie rozmiarów wielkości makrocząsteczek egzopolisacharydu i stosowanych białek, określenie ładunku powierzchniowego dla tlenku krzemu(IV), ditlenku cyrkonu oraz tlenku chromu(III), określenie aspektów kinetycznych adsorpcji biopolimerów na powierzchni tlenków mineralnych, określenie ilościowe adsorbowanych substancji, wyznaczenie ładunku powierzchniowego oraz potencjału elektrokinetycznego (dzeta) dla tlenkowych układów zdyspergowanych (bez i z udziałem biopolimerów), próby opisu mechanizmów stabilizacji/destabilizacji suspensji tlenków – zarówno przed procesem adsorpcji, jak i bezpośrednio po nim.

Pani mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz na podstawie otrzymanych rezultatów stwierdziła, że zawartość zdysocjowanych grup karboksylowych w makrocząsteczkach egzopolisacharydu (EPS) przekłada się na ich rozmiary w roztworze. Im więcej jest grup –COO⁻ w łańcuchach polimerowych, tym bardziej rozciągnięta jest ich konformacja. Wykazała ponadto, że egzopolisacharyd adsorbuje się na powierzchni tlenku chromu(III), tlenku cyrkonu(IV) i tlenku krzemu(IV) w całym badanym zakresie pH. W przypadku Cr₂O₃ i ZrO₂ wielkość adsorpcji EPS maleje w miarę wzrostu pH roztworu, natomiast dla ditlenku krzemu zależność ta

jest odwrotna. Łańcuchy polimerowe EPS przyjmują bardziej płaską konformację na powierzchni tlenku krzemu(IV) w porównaniu do ich struktury na tlenku chromu(III) i tlenku cyrkonu(IV). Taka struktura biopolimeru na powierzchni krzemionki powoduje wzrost gęstości ładunku powierzchniowego jej cząstek (wiele zdysocjowanych grup karboksylowych ulega bezpośredniemu wiązaniu z powierzchnią ciała stałego). Mniej płaska konformacja EPS na powierzchni tlenku chromu(III) i tlenku cyrkonu(IV) odzwierciedla się w obniżeniu gęstości ładunku powierzchniowego tlenków metali (wiele zdysocjowanych grup funkcyjnych w warstwie przypowierzchniowej jest niezwiązanych z powierzchnią).

Doktorantka na podstawie pomiarów wykonanych z zastosowaniem metody ELS (ang. *electrophoretic light scattering*), wykazała, że adsorpcja łańcuchów polimerowych EPS powoduje przede wszystkim obniżenie potencjału elektrokinetycznego cząstek tlenków mineralnych, za co odpowiedzialny jest głównie efekt odsunięcia płaszczyzny poślizgu przez makrocząsteczki związane z powierzchnią ciała stałego. Udowodniła ponadto, że zmiany gęstości ładunku powierzchniowego oraz potencjału dzeta w obecności EPS są największe dla cząstek tlenku chromu(III). Jest to wynikiem najwyższej wielkości adsorpcji biopolimeru na powierzchni tego ciała stałego spośród wszystkich badanych adsorbentów. Ważnym stwierdzeniem z punktu widzenia użytkowego jest to, że egzopolisacharyd wykazuje właściwości flokulujące względem tlenku chromu(III) i tlenku cyrkonu(IV) w pH 9. W tych warunkach tworzą się mostki polimerowe, których obecność skutkuje powiększeniem rozmiarów powstających agregatów ciała stałego. Inne zachowania dyspersyjne wykazuje natomiast ditlenek krzemu (przy analogicznym pH układu).

Mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz udowodniła także, że albuminy adsorbują się na powierzchni wszystkich tlenków mineralnych w całym badanym zakresie pH. Ilość zaadsorbowanych makrocząsteczek tych białek zależy głównie od ich konformacji, a także charakteru oddziaływań elektrostatycznych adsorbent – adsorbat. Z kolei lizozym adsorbuje się na powierzchni wybranych tlenków mineralnych wyłącznie pod nieobecność odpychających sił elektrostatycznych pomiędzy jego makrocząsteczkami i powierzchnią ciała stałego. Na podstawie dalszych badań, Doktorantka wysnuła wniosek, że zarówno surowicza albumina ludzka, jak i lizozym, w wyniku adsorpcji pokrywają całą powierzchnię ciała stałego. Wykazała, także, że obecność białek w układzie wpływa na gęstość ładunku powierzchniowego ciała stałego. W zależności od rodzaju aminokwasów znajdujących się najbliżej powierzchni adsorbentu dochodzi do obniżenia lub podwyższenia wartości ładunku w stosunku do układu niezawierającego biopolimeru, a dodatek białek do suspensji tlenków mineralnych powoduje zmianę ich trwałości, która zależy od pH roztworu oraz rodzaju białka.

Mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz wykazała również, że adsorpcja albumin przyczynia się głównie do podniesienia stabilności suspensji tlenków mineralnych (z wyjątkiem pH 4,6 dla ZrO_2 i SiO_2 , w którym zaobserwowano obniżenie trwałości układów). Wzrost trwałości suspensji związany jest z mechanizmem stabilizacji elektrosterycznej. Obecność lizozymu powoduje przede wszystkim wzrost trwałości suspensji tlenku chromu(III) i tlenku cyrkonu(IV) (z wyjątkiem pH 9, w którym dochodzi do pogorszenia trwałości suspensji tlenków metali, czego przyczyną jest neutralizacja ładunku powierzchniowego adsorbentu). W przypadku testów zdyspergowanej w układzie wodnym krzemionki wykazano, że dodatek lizozymu przyczynia się głównie do obniżenia jej trwałości, ponieważ w wyniku adsorpcji lizozymu dochodzi do neutralizacji ładunku powierzchniowego ciała stałego.

Po analizie rezultatów otrzymanych przez Panią mgr Katarzynę Szewczuk-Karpisz oraz wysnutych wnioskach nasuwa się kilka komentarzy:

1. Ustalanie się równowagi adsorpcji dla badanych układów biopolimerów jest niekorzystne z punktu widzenia użytkowego. Dla egzopolisachrydu oszacowano czas na ok. 14 h, natomiast dla białek zawiera się on w przedziale 5-8 h. Czy można wpłynąć na zmianę tego zjawiska, a jeżeli tak to w jaki sposób?
2. Proszę o wyjaśnienie kryterium czy kryteriów doboru tlenków mineralnych. Największą moją uwagę budzi tlenek chromu(III). Uważam, że w zastosowaniach medycznych znacznie większą rolę odgrywają tlenek cynku i ditlenek tytanu. Owszem tlenek chromu(III) jest znanym składnikiem wielu produktów ale jego znaczenie praktyczne, wg mojej wiedzy, maleje z roku na rok. Tlenek chromu(III) jest znanym komponentem farb i lakierów, lecz również jest wypierany przez inne związki barwiące, np. barwniki organiczne.
3. Doktorantka oszacowała wiele ważnych parametrów decydujących o oddziaływaniach adsorbat – adsorbent. Wg mojej wiedzy, istotne znaczenie ma także udział powierzchniowych grup hydroksylowych adsorbentów. Czy znana jest ich ilość w odniesieniu do powierzchni testowanych nośników tlenkowych (OH/nm^2)? Ciekawe byłoby skorelowanie otrzymanych wyników z tym parametrem. Pomocna w ich wyznaczaniu może być termograwimetria, którą stosowano w badaniach.
4. Na str. 138 dysertacji, Autorka rozprawy napisała, że obserwowano dynamiczne procesy w trakcie pomiarów stabilności (opadanie części frakcji cząstek na dno fiolki). Czy zatem wyznaczone rezultaty są wiarygodne?
5. Uważam, że podczas przygotowywania dalszych prac do opublikowania (choć nie wiem czy jest to planowane zważywszy na ilość już wydanych prac) warto byłoby dokonać

analiz spektroskopowych i mikroskopowych, o ich przydatności Doktorantka anonsowała w *Części teoretycznej* ocenianej rozprawy.

Wszystkie uwagi, pytania czy komentarze wynikają z obowiązku recenzenta, jakim jest ich wskazanie czy zaznaczenie i nie pomniejszają one wysokiej wartości merytorycznej ocenianej rozprawy.

Chciałbym wyraźnie podkreślić bardzo wysoką wartość naukową zrealizowanej pracy, co jednoznacznie potwierdzają osiągnięcia publikacyjne Doktorantki. Pani mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz jest współautorką 17 oryginalnych publikacji, w tym 9 prac jest bezpośrednio związanych z zakresem dysertacji (nie wliczam artykułu przesłanego do recenzji). Wszystkie czasopisma, w jakich zamieściła swoje rezultaty Doktorantka, są notowane na liście *Thomson Reuters JCR*. Wśród nich można wyróżnić: *Soft Materials*; *Water, Air and Soil Pollutions*; *International Journal of Environmental Science and Technology*; *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*; *Applied Surface Science* (3 prace); *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (3 artykuły); *Adsorption Science and Technology*; *Fluid Phase Equilibria*; *Microporous and Mesoporous Materials*; *Journal of Nanoparticle Research*; *Environmental Science and Pollution Research*; *Adsorption* oraz *Materials Science*. Biorąc pod uwagę trudności, jakie obecnie są związane z procesem publikowania jest to wynik imponujący. Pani mgr Katarzyna Szewczyk-Karpisz jest także współautorką 27 rozdziałów w monografiach. Należy także podkreślić ponadprzeciętną aktywność konferencyjną Doktorantki.

Oceniając pracę w ujęciu edytorskim stwierdzam, że jest ona zredagowana poprawnie językowo i stylistycznie. Doktorantka nie ustrzegła się jednak pewnych błędów czy nieprawidłowości ale są one nieliczne. Ponadto ich ranga jest tak mała, że nie uwzględniam ich w przygotowanej opinii.

Należy podkreślić znaczny wkład Doktorantki w rozwój chemii i dziedzin pokrewnych. Sposób zaplanowania eksperymentów, realizowania badań, jak i forma przedstawienia wyników oraz ich wnikliwa i rzeczowa analiza, świadczą o niekwestionowanych kompetencjach naukowo-badawczych Autorki rozprawy i są dowodem bardzo wysokiego poziomu przygotowania do prowadzenia badań naukowych czy realizacji pracy w tzw. przemyśle. Jestem w pełni przekonany, że Pani mgr Katarzyna Szewczuk-Karpisz jest wyróżniającą się osobowością i godnie reprezentuje młodych naukowców na arenie międzynarodowej. Każdy z potencjalnych promotorów czy liderów grup badawczych chciałby współpracować z tak kompetentną osobą.

Na podstawie oceny pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Szewczuk-Karpisz „Badanie wpływu adsorpcji biopolimerów na stabilność wodnych suspensji tlenków mineralnych” oraz zawartej w dysertacji aktywności naukowej jednoznacznie stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia z naddatkiem wszystkie wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65, poz. 595 z 16.04.2003 r., wraz z późniejszymi zmianami), wnioskuję ponadto do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o przyjęcie pracy i przeprowadzenie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę zakres, poziom i niepodważalne znaczenie wykonanych badań dla rozwoju dyscypliny naukowej, które moim zdaniem znacznie przekraczają zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim oraz bardzo dużą, a co najistotniejsze wartościową, aktywność naukową Doktorantki, wnoszę o wyróżnienie pracy.

