



AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA  
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki  
Katedra Biomateriałów

Dr hab. inż. Jadwiga Laska, prof. ndzw. AGH

**Recenzja**  
**rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Sokołowskiej**  
**pt. "Funkcjonalne nośniki polimerowe dla biokatalizatorów do**  
**enzymatycznej hydrolizy celulozy"**

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Sokołowskiej przedstawia badania dotyczące otrzymywania polimerowych podłoży do immobilizacji enzymów oraz możliwości immobilizacji wybranych enzymów mających znaczenie w wielkoskalowych procesach biotechnologicznych. Dobór odpowiednich biokatalizatorów w celu zwiększenia szybkości i efektywności procesów chemicznych, coraz szersze stosowanie enzymów w przemyśle np. spożywczym, browarniczym, w oczyszczalniach ścieków czy procesach degradacji odpadów stałych to problem bardzo aktualny. Doktorantka w swoich badaniach skupiła się na układach biokatalitycznych, które mogłyby znaleźć zastosowanie w procesach biodegradacji celulozy, a w konsekwencji w produkcji biopaliw z odpadów papierniczych.

Praca została wykonana w Zakładzie Technologii Chemicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego we współpracy z Instytutem Chemii Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Przedstawiona rozprawa liczy 175 stron A4, w tym 56 stron części literaturowej oraz 66 stron opisu badań i dyskusji uzyskanych wyników. Autorka podzieliła pracę na 18 rozdziałów, a dodatkowo zamieściła streszczenie, podsumowanie i wnioski, spis cytowanej literatury oraz spisy tabel i rysunków. Niefortunnie w ostatniej części „Omówienie wyników” Autorka rozpoczęła numerację rozdziałów od nowa, co wprowadza pewne zamieszanie przy ewentualnym odnoszeniu się do poszczególnych rozdziałów.

**Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki**  
**Katedra Biomateriałów**

al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,  
tel. +48 12 617 22 39, fax +48 12 617 33 71  
e-mail: [biomat@agh.edu.pl](mailto:biomat@agh.edu.pl), [www.agh.edu.pl](http://www.agh.edu.pl)

Bibliografia zawiera 268 pozycji literaturowych, przede wszystkim odnośników do artykułów w czasopismach naukowych, co dobrze świadczy o przeanalizowaniu przez Doktorantkę aktualnego stanu problematyki, którą podjęła w swojej pracy naukowej.

Cel pracy został sformułowany w jednym i bardzo długim zdaniu, przez co osoba spoza dziedziny może mieć kłopot z jego właściwym zrozumieniem. Dla recenzenta cel pracy oraz skrótowo przedstawiony zakres badań jest jasny, choć brakuje podkreślenia elementu nowości lub postawienia tezy, którą Doktorantka udowodniła badaniami.

W części literaturowej przedstawiono w sposób zwięzły ale wyczerpujący mechanizmy działania enzymów, znaczenie enzymów w procesach biotechnologicznych i wynikającą z tego konieczność ich immobilizacji. Przedstawiono także dane o już stosowanych układach nośnik polimerowy – enzym oraz o polimerowych nośnikach do immobilizacji enzymów. W tekście jest wiele odnośników do aktualnych publikacji ułatwiających czytelnikowi poszerzenie wiedzy w interesującej go tematyce. Dla porządku trzeba jednak dodać, że w tej części pojawia się stosunkowo dużo drobnych błędów edytorskich. Wszystkie zostały zaznaczone w tekście rozprawy i przekazane Autorce. Autorka nie ustrzegła się też niejasnych sformułowań jak np. „nanocząstki magnetyczne alginianu wapnia, ...chitozanu, ...celulozy” str. 23-24, choć żaden z wymienionych polimerów nie ma właściwości magnetycznych. Można domyślać się, że chodzi o nanokompozyty tych biopolimerów zawierające cząstki magnetyczne. Na str. 38 Autorka pisze o inercji zamiast inertności. Są to jednak bardzo nieliczne uchybienia w tekście i wymieniam je bardziej z obowiązku niż ze względu na ich znaczenie dla poprawnego rozumienia tekstu.

Część doświadczalna została podzielona na cztery etapy, co w rozprawie zostało przedstawione w schematycznym planie badawczym.

Etap pierwszy obejmował otrzymanie nośników polimerowych umożliwiających immobilizację enzymów celulozowych. Doktorantka wybrała sieciowany poli(N-winyloformamid) otrzymywany w polimeryzacji wolnorodnikowej. Jako czynniki sieciujące zastosowano N,N'-metylenobisakrylamid, dimetakrylan etylenoglikolu oraz diwinylobenzen. Polimeryzację prowadzono w dyspersji w oleju metylosilikonowym. Doktorantka przeprowadziła systematyczne badania wpływu warunków polimeryzacji

na jakość otrzymanego, w formie kulistych granulek, polimeru. Stwierdziła niewielki wpływ parametrów takich jak lepkość dyspersji, szybkość mieszania, temperatura itp. na kształt i wielkość ziaren polimeru oraz rozrzut wielkości, czego, jak twierdzi sama Doktorantka, należało się spodziewać na podstawie ogólnej teorii polimeryzacji suspensyjnej. Można by więc uznać, że część z tych badań została przeprowadzona niepotrzebnie. Gdyby jednak nie zostały przeprowadzone ich brak budziłby zapewne większe wątpliwości. W większości eksperymentów udało się otrzymać wąski rozkład rozmiaru granул polimeru. Wszystkie czynniki sieciujące okazały się skuteczne. Dodatkowo poli(N-winyloformaldehyd) sieciowany diwinylobenzenem poddano hydrolizie, w efekcie której z grup formamidowych otrzymano grupy aminowe ułatwiające immobilizację enzymów poprzez wiązanie z aldehydem glutarowym. Stwierdzono dekarbonylację tylko części grup formamidowych, co prawdopodobnie jest związane utrudnionym kontaktem czynnika hydrolizującego pomiędzy łańcuchy usieciowanego polimeru.

Drugi etap badań obejmował immobilizację wybranych enzymów na otrzymanych nośnikach. Doktorantka zastosowała enzymy dostępne handlowo, co pozwoliło na wykonanie badań porównawczych oraz zapewniło odpowiednią aktywność enzymów. Doktorantka wykorzystwała najprostszą metodę immobilizacji polegającą na wymieszaniu roztworu enzymu z nośnikiem zdyspergowanym w buforze fosforanowym. Zdolność immobilizacji na różnych nośnikach była różna i wynosiła od kilku procent w wypadku poli(N-winyloformamidu) sieciowanego N,N'-metylenobisakryloamidem do 70% w wypadku poli(N-winyloformamidu) sieciowanego dimetakrylanem etylenoglikolu.

Trzeci etap badawczy obejmował hydrolizę celulozy mikrokrystalicznej w obecności otrzymanych biokatalizatorów w celu potwierdzenia ich aktywności katalitycznej. Badania te pozwoliły ocenić zarówno aktywność jak i czas dezaktywacji immobilizowanego enzymu oraz trwałość immobilizacji. Jednocześnie Doktorantka sprawdziła możliwość biodegradacji złożonych surowców drzewnych w obecności otrzymanych układów katalitycznych. Aktywność enzymów oznaczono zgodnie ze znanymi procedurami, wyznaczono stałe Michaelisa, stałe szybkości reakcji hydrolizy i wyniki uzyskane dla enzymów immobilizowanych porównano z aktywnością enzymów

natywnych. We wszystkich przypadkach aktywność enzymu immobilizowanego była niższa niż aktywność enzymu natywnego, co jest zjawiskiem typowym. W związku z założonym aplikacyjnym znaczeniem wyników przedstawionych badań Doktorantka przeprowadziła próby hydrolizy ścieru drzewnego i papieru celulozowego. Badania te dały wyniki pozytywne, co pozwala uznać że wszystkie założone cele zostały osiągnięte. Porównanie trzech rodzajów enzymów i mieszanin enzymatycznych pozwoliły wybrać optymalny układ celulazy (*Aspergillus* sp.) z dowolnym z badanych nośników polimerowych. Te układy katalityczne charakteryzowały się wydajnością katalityczną porównywalną z wydajnością celulazy natywnej. Wszystkie badane układy katalityczne mogły być używane wielokrotnie.

Podsumowując, praca jest wartościowym przyczynkiem do badań enzymów jako katalizatorów w procesach biotechnologicznych. Doktorantka wykonała poprawnie wszystkie niezbędne badania pozwalające otrzymać i scharakteryzować zamierzone biokatalizatory. Wyniki mają potencjalne znaczenie aplikacyjne, a poziom naukowy pracy można uznać za dobry.

Rozprawa spełnia wymogi ustawy o stopniach i tytule naukowym. Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Katarzyny Sokołowskiej do publicznej obrony pracy doktorskiej.

Kraków, dn. 3.11.2016

Jadwiga Laska

