

prof. Ing. Daniela Plachá, Ph.D.
VŠB – Technická univerzita Ostrava
CEET, Centrum nanotechnologií
17. listopadu 2172/15
708 00 Ostrava – Poruba

**Oponentský posudek disertační práce Ing. Anety Pospíšilové s názvem
„Methods of poly-3-hydroxybutyrate extraction and their optimization“
vypracované na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně**

Disertační práce paní Ing. Anety Pospíšilové se zabývá optimalizací metod pro získávání polyhydroxybutyrátu (PHB) produkovaného mikroorganismy z různých typů bioodpadů představujících zdroj uhlíku pro tvorbu tohoto polymeru. Ve své práci navazuje na již více než desetiletý výzkum vedený na VUT Brno a klade si za cíl zvýšit výtěžnost izolace PHB z bakteriální biomasy, kdy je v literatuře popsána řada metod, ale přenos výsledků těchto většinou laboratorních experimentů do praxe a velkoobjemové výroby není jednoduchý, zejména z důvodu různorodosti prekursorů pro získávání PHB. Při zpracování tématu spolupracovala s firmou Nafigate Corporation.

Vzhledem k současným strategickým cílům Evropské unie vedoucím ke snížení emisí CO₂ a k rozvoji cirkulární ekonomiky je problematika řešená v disertační práci vysoce aktuální. Spotřeba plastů a polymerů celosvětově neustále roste, přičemž převládá jejich produkce z petrochemických surovin. Postupné vyčerpávání fosilních zdrojů a rovněž zásadní problém biologické nerozložitelnosti většiny polymerních produktů jsou jednou z hlavních výzev současné společnosti. PHB patří mezi alternativní biologicky odbouratelné a ekologicky udržitelné biopolymery, které mají velký potenciál pro nahrazení některých současných polymerů vyráběných z neobnovitelných zdrojů. Hledání ekonomických a environmentálně šetrných způsobů izolace PHB z mikroorganismů, které se podílejí na jeho vzniku, je potřebným krokem pro jeho další využití.

Disertační práce je psaná v anglickém jazyce. Je psaná klasickým způsobem, členěná do 6 hlavních částí zahrnujících Úvod, Teoretickou část, Cíle, Použitý materiál a metody, Výsledky a diskuze a Závěr. Tyto části jsou doplněny seznamem použité literatury a přílohou, která obsahuje FTIR spektra, soubory, které byly získány na základě průzkumu trhu v oblasti kosmetických přípravků obsahujících mikro/nanoplasty, dále CV autorky a seznam autorčiných publikací. Práce je doplněna řadou velmi zdařilých obrázků, které jsou zřejmě dílem autorky.

Teoretická část popisuje tři používané metody pro získávání PHB z biomasy, a sice extrakci, digesci a mechanickou desintegraci, se zaměřením na popis výhod a nevýhod každé z metod a vyhodnocení snadnosti transferu postupu z laboratorního prostředí do praxe. Zaměřila se hlavně na popis použití různých činidel, ať už to jsou různá rozpouštědla pro extrakci, surfaktanty, kyseliny a zásady pro digesci, a výčet jejich výhod a nevýhod. Tyto údaje autorka doplnila rovněž popisem mechanického zpracování, které se jeví jako nejméně výhodné. Rovněž se zaměřila na deriváty PHB – monomery, oligomery a samotný PHB a jejich využití. V kapitole 2 si stanovila cíle disertační práce, a to vyšší výtěžek PHB z biomasy se zaměřením na problematické kroky při extrakci – úpravu biomasy (flokulaci) před vlastní extrakci a při digesci se zaměřuje na srovnání kyselé, bazické digesce a digesce s použitím surfaktantu získaného zmýdlením odpadního kuchyňského oleje. Potenciál využití PHB v kosmetice a pro aditivní technologie byl třetí cíl této práce. V kapitole 3 popisuje použité materiály a metody pro použití v laboratorním měřítku i v pilotních experimentech a použité analytické metody. V kapitole 4 jsou podrobně uvedeny výsledky a jejich diskuze. V Závěru autorka shrnula své poznatky. Literární rešerše

zahrnuje 135 odkazů, řada z nich se vztahuje k předchozím pracím VUT, z čehož vyplývá, že téma je již dobře propracováno a autorka navazuje na zkušenosti svých kolegů.

Práce je napsána velmi přehledně, kapitoly na sebe logicky navazují, anglický psaný text je srozumitelný s minimem gramatických chyb a překlepů. Autorka ve svém CV dokládá 12 zahraničních odborných publikací, z toho 5 je přímo k tématu disertační práce. Dosažené výsledky jsou velmi zajímavé, některé z nich jsou již publikovány. Další publikace k tomuto tématu lze očekávat.

Připomínky a poznámky:

- V závěru kapitoly 1, nebo v příloze, mohla být uvedena tabulka shrnující přehledně všechny tři postupy, podmínky použití, činidla, výhody a nevýhody apod.
- Strana 45: v části 3.1 je uveden obsah PHB v biomase cca 70 %, v části 3.2.1.1 75 %, v 3.3.2.3. je pouze 59,8 %. Čím jsou dány tyto rozdíly? Byly tyto obsahy pravidelně kontrolovány?
- V části 3.2.1.1. - 3.2.1.3 nejsou uvedeny koncentrace použitých kyselin a zásad, rovněž v části 3.3.1.1 není uvedena koncentrace NaOH, přičemž v 3.3.1.2 je vše vzorně popsáno. Totéž lze vytknout v 3.3.2.1, kde nejsou koncentrace použitých kyselin, ale v následujících částech už uvedeny zase jsou. Koncentrace nejsou v textu uváděny jednotně, někde jsou uvedeny v %, někde nejsou uvedeny, jinde jsou uvedeny jako molární koncentrace (M).
- V části 3.5.1 – není jasně napsáno, co bylo metodou GC/FID měřeno, podobně i u dalších analytických metod by mělo být jednoznačně řečeno, k čemu byly použity.
- Strana 47: strohá zmínka o ICP by měla být uvedena řádně – ICP-AES, navíc není v dokumentu uveden seznam zkratk.
- Strana 78 a 83: není zřejmý důvod odkazu [?].
- Proč je na obrázku 4.38 uvedená absorpance a na ostatních FTIR záznamech je transmitance?

Otázky k diskuzi:

1. Chlorovaná rozpouštědla, chlorované methany a ethany, mají pro použití jednu velkou nevýhodu. Může autorka vysvětlit (v práci to částečně uvedeno je), proč je použití chlorovaných uhlovodíků nevhodné, pokud chceme zachovat environmentálně přátelský postup? Které z těchto rozpouštědel by mohla použít?
2. Autorka pro svou práci použila bakteriální biomasu *Cupriavidus necator* H16 (Nafifgate Corp.) vzniklou fermentací odpadního kuchyňského oleje. Mohla by popsat chemicky proces fermentace a jak vzniká PHB? Proč použila zrovna tento bakteriální kmen? Mohla by použít i jiný typ odpadu? Co je pro mikroorganismy zdrojem uhlíku, zde pochopitelně mastné kyseliny a glyceroly (str. 45), avšak jsou to obecně všechny organické látky přítomné v bioodpadu, nebo se jedná o vybraný typ bioodpadu? Může být v případě jiného typu bioodpadu použit stejný mikroorganismus? Jaký typ bioodpadu je využitelný pro produkci PHB?
3. Proč dochází k významné depolymerizaci při použití ethylenkarbonátu?
4. Proč není metoda využívající DMSO vhodná pro širší produkci, když využívá pouze 70 °C na rozdíl od alkylen-karbonátů?
5. Proč při použití kyseliny (pH 6-2) se nic nezměnilo a při použití zásady vznikl gel?

6. Jak se autorka dívá na použití biotechnologických postupů? Nejsou více v souladu s přístupem „environmentally friendly“, používá-li se nižší teplota, pH neutrální apod.?
7. Jak moc ovlivňuje molekulová hmotnost izolovaného polymeru další použití? Jaká by měla být pro použití v kosmetických produktech a v aditivních technologiích? Ovlivní kvalitu produktu?
8. Některé deriváty lze získat petrochemickým způsobem (krotonová kyselina), jaká je budoucnost izolace PHB z biomasy a např. následná výroba monomerních derivátů v rámci dekarbonizace?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená disertační práce Ing. Anety Pospíšilové je kvalitní prací, která přinesla zajímavé výsledky. Autorka splnila cíle, které si v disertační práci stanovila, v plném rozsahu. Práce splňuje požadavky standardně kladené na disertační práce dle § 47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v daném oboru. Studentka prokázala tvůrčí schopnosti v řešené oblasti výzkumu a rovněž schopnost samostatné vědecké práce, což dokládá i doložená publikační aktivita. Vzhledem ke splnění formálních i odborných podmínek doporučuji přijmout práci k obhajobě a po její úspěšné obhajobě udělit akademický titul „doktor“ (PhD.).

V Ostravě, 20. 11. 2022