

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

dr hab. inż. Paweł Sobieszuk
profesor uczelni
Politechnika Warszawska
Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

Warszawa, 3 stycznia 2022 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Florentyny Akus-Szylberg

pt. „Badanie wpływu wybranych metod obróbki wstępnej na skład chemiczny oraz wydajność hydrolizy enzymatycznej drewna topoli i słomy kukurydzianej”

Promotor: prof. dr hab. Janusz Zawadzki

Promotor pomocniczy: dr hab. inż. Andrzej Antczak

Podstawą oceny jest uchwała Rady Wydziału Technologii Drewna Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 09 kwietnia 2019 roku, która powołała mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy doktorskiej.

Charakterystyka pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Florentyny Akus-Szylberg pt. „Badanie wpływu wybranych metod obróbki wstępnej na skład chemiczny oraz wydajność hydrolizy enzymatycznej drewna topoli i słomy kukurydzianej” dotyczy problemu doboru właściwych metod obróbki wybranej biomasy drzewnej i rolniczej w celu jej hydrolizy i otrzymywania substratów do procesów fermentacji. Praca została napisana pod kierunkiem prof. dr. hab. Janusza Zawadzkiego, promotorem pomocniczym jest dr hab. inż. Andrzej Antczak. Badania, które są podstawą ocenianej rozprawy doktorskiej zostały wykonane w ramach projektu CROPTECH Biostrateg2/298241/10/NCBR/2016 „Inteligentne systemy hodowli i uprawy pszenicy, kukurydzy i topoli dla zoptymalizowanej produkcji biomasy,



biopaliw oraz zmodyfikowanego drewna”. Drewno topolowe pozyskane zostało w projekcie WELCOME 2008/1 Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

Podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora jest spójny tematycznie cykl siedmiu artykułów, opublikowanych w czasopismach naukowych (*BioResources* – 1 artykuł, *Drewno* – 1 artykuł, *Przemysł Chemiczny* – 1 artykuł, *Annals of WULS-SGGW. Forestry and Wood Technology* – 4 artykuły). Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest napisana w języku polskim, obejmuje 64 strony oraz kopie wymienionych wyżej artykułów. We wszystkich wskazanych publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, w pięciu z nich jest wskazana jako autor korespondencyjny. Wszystkie publikacje są wieloautorskie, przy czym liczba autorów w publikacjach jest w zakresie od trzech do sześciu. W załączonym oświadczeniu zarówno promotor jak i promotor pomocniczy pracy stwierdzają, że oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki do jej przedstawienia w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora. Na podstawie tych oświadczeń można wnioskować, że Doktorantka miała znaczący udział w opracowaniu metodyki badań, wykonaniu doświadczeń oraz w analizie uzyskanych wyników, jak również w przygotowaniu przedstawionych publikacji.

Oprócz cyklu artykułów oceniana rozprawa doktorska zawiera oświadczenie promotora pracy, promotora pomocniczego oraz autora pracy (str. 5), streszczenia w języku polskim i angielskim (str. 7-8), wstęp (str. 11-12), syntetyczną część literaturową związaną z tematyką rozprawy doktorskiej (str. 13-24), cel i zakres pracy (str. 25), omówienie stosowanych materiałów badawczych i metodyki pracy (str. 26-33), zwięzłe przedstawienie otrzymanych wyników i wniosków (str. 34-55) oraz spis cytowanej literatury (str. 56-63).

Omówienie rozprawy doktorskiej

Badania stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Florentyny Akus-Szylberg dotyczą obróbki wstępnej drewna 7-letniej topoli *Populus trichocarpa* i słomy kukurydzianej, która jest istotnym etapem pozyskiwania etanolu w biorafineriach lignocelulozowych. Produkt ten jest sprawdzonym i bezpiecznym nośnikiem energii, otrzymywanym na drodze procesów fermentacyjnych z wykorzystaniem różnych mikroorganizmów, głównie drożdży i bakterii. Głównym substratem tych procesów są węglowodany, których źródłem może być materiał lignocelulozowy. Od lat prowadzone są badania w tym kierunku, często pod kątem wyboru odpowiednich, szybko rosnących roślin lub odpadów rolniczych. Wiadomo również, że najtrudniejszym technologicznie procesem jest enzymatyczna hydroliza materiałów lignocelulozowych do cukrów prostych. Proces ten jest

skomplikowany ze względu na złożoną strukturę drewna i obecność ligniny, co utrudnia dostęp enzymów do polisacharydów. Z tego powodu badania i poszukiwanie najlepszej metody obróbki wstępnej biomasy przed hydrolizą są istotne. W literaturze przedmiotu opisanych jest wiele metod, które najczęściej są oceniane poprzez późniejszą ilość otrzymanych po działaniu enzymu cukrów prostych. W ocenianej rozprawie doktorskiej oprócz tego czynnika Doktorantka badała również skład biomasy przed i po obróbce, a przede wszystkim określiła porowatość materiału drzewnego oraz stopień polimeryzacji celulozy. W ten sposób cel i zakres pracy poruszają ważne zagadnienia z punktu widzenia ich praktycznych zastosowań w produkcji etanolu z uwzględnieniem zrównoważonego rozwoju.

Sformułowane postawione w rozprawie doktorskiej cele obejmowały dwa podstawowe etapy:

- a) obróbka wstępna dwóch różnych rodzajów biomasy z wykorzystaniem metody działania gorącą wodą (metoda LHW)
- b) obróbka wstępna dwóch różnych rodzajów biomasy z wykorzystaniem wodnego roztworu amoniaku (metoda SAA)

W części poświęconej wynikom wyróżniono cztery części. W każdej z nich w sposób podobny omówiono wyniki badań obróbki wstępnej biomasy topoli i słomy kukurydzianej przy wykorzystaniu metod LHW i SAA.

1) Wpływ traktowania gorącą wodą biomasy topoli przedstawiono w Publikacjach 2 i 5 (numery publikacji na podstawie kolejności ich wymienienia na stronie 10 autoreferatu). Przedstawiono jak zmienia się skład chemiczny drewna oraz zawartość ligniny i potencjalnych inhibitorów hydrolizy we frakcji ciekłej. Nie jest jednak jasne w jakim celu analizowano zawartość inhibitorów hydrolizy we frakcji ciekłej (prośba o dyskusję tej kwestii zostanie przedstawiona w zbiorczych uwagach do rozprawy). Następnie zaprezentowano wartościowe wyniki hydrolizy enzymatycznej biomasy otrzymanej po obróbce wstępnej. Metodę LHW prowadzono w czterech temperaturach i następnie otrzymana biomasa była hydrolizowana. W hydrolizatach analizowano zawartość fermentowalnych cukrów prostych, która wyraźnie rosła po proponowanej metodzie obróbki wstępnej w porównaniu do surowca natywnego. Uzyskane wyniki mają również odzwierciedlenie w doniesieniach literaturowych. Wartościowym elementem analizy drewna topoli po obróbce wstępnej metodą LHW są przedstawione w Publikacji 5 zmiany objętości właściwej porów. Cenną obserwacją jest trzykrotne zwiększenie dostępnej objętości największych porów tj. o średnicy powyżej 5 nm, gdy porównano drewno

natywne z biomasaą po traktowaniu wodą o temperaturze 190°C. Efekt ten jest oczywiście korzystny z punktu widzenia dostępności polisacharydów dla enzymów hydrolitycznych.

2) Wpływ traktowania roztworami amoniaku biomasy topoli przedstawiono w Publikacji 1. Zaprezentowano skład drewna natywnego oraz po traktowaniu drewna 15 % i 20 % roztworem amoniaku w temperaturach 50°C i 90°C. Biomasaę poddano również hydrolizie. Pokazano, że zawartość cukrów, a w szczególności glukozy jest dużo mniejsza w porównaniu do hydrolizy biomasy po obróbce gorącą wodą. W tym przypadku wykonano również pomiar średniej wartości stopnia polimeryzacji oraz polidispersji celulozy i zaobserwowano obniżenie tych wartości. Wykonana również analiza dostępnej właściwej objętości porów wykazała dwukrotne zwiększenie objętości właściwej porów o promieniu większym od 5 nm przy zastosowaniu najwyższych wartości temperatury i stężeń amoniaku.

3) Wpływ traktowania gorącą wodą biomasy słomy kukurydzianej przedstawiono w Publikacjach 3 i 6. Potwierdzono doniesienia literaturowe dotyczące zmiany składu badanej biomasy po procesie LHW. Analiza zawartości cukrów po procesie hydrolizy wskazała na obecność ksylozy, co nie koresponduje z wcześniej przeprowadzoną analizą składu biomasy i brakiem hemicelulozy. Doktorantka zauważa, że może to wynikać z pewnych niedoskonałości metody wyznaczania zawartości hemiceluloz. Podobnie jak w przypadku stosowania drewna topoli tu również oznaczano zawartość w fazie ciekłej substancji inhibitujących hydrolizę polisacharydów. Stwierdzono również dosyć znaczącą zawartość glukozy, ksylozy i celobiozy w fazie ciekłej uzyskanej po obróbce wstępnej. Brakuje tu pewnej dyskusji wykorzystania również tych cukrów w procesach fermentacyjnych. Tym razem stwierdzono również obecność inhibitorów w fazie stałej, niestety nie podano stężeń tych substancji.

4) Wpływ traktowania roztworami amoniaku biomasy słomy kukurydzianej przedstawiono w Publikacji 4. W tej części rozprawy ponownie przedstawiono wpływ obróbki SAA na skład biomasy oraz efektywność jej enzymatycznej hydrolizy. Niestety nie jest jasne dlaczego stosowano tylko 15 % roztwór amoniaku. Doktorantka w tym punkcie pracy formułuje interesujące wnioski, iż metoda SAA jest skutecznym procesem delignifikującym dla słomy kukurydzianej. Ponadto stwierdzono, że obróbka SAA jest bardziej odpowiednia do stosowania w przypadku surowców pochodzenia rolniczego niż dla biomasy drzewnej. Obserwacja ta została również poparta doniesieniami literaturowymi.

Na zakończenie omówienia wyników Doktorantka informuje o prowadzonych badaniach hydrolizy biomasy po obróbce wstępnej w układzie przepływowym, w odróżnieniu od stosowanych w całej części doświadczalnej rozprawy doktorskiej aparatach okresowych.

Uzyskane w pracy wyniki są bardzo obszerne. Doktorantka stosowała wiele skomplikowanych metod analitycznych. Zaowocowało to pomiarem licznych parametrów podczas zarówno obróbki wstępnej jak i hydrolizy biomasy. Zdecydowanie widać, że prezentowana rozprawa doktorska wymagała bardzo dużej pracowitości i doświadczenia w pracy laboratoryjnej. Autorka ma szeroką wiedzę nie tylko z zakresu technologii drewna, ale również z zakresu metod analitycznych. Wnioski są poprawne i korespondują z uzyskanymi wynikami doświadczalnymi. Doktorantka słusznie wskazuje, że słoma kukurydziana wymaga innej obróbki niż materiał drzewny.

Ze względu na fakt, iż cztery części wykonanej pracy doświadczalnej są podobne i pewne sugestie dotyczące przedstawionego materiału by się powtarzały, poniżej przedstawiono uwagi i zapytania jakie nasunęły się podczas lektury autoreferatu rozprawy doktorskiej, oprócz specyficznych uwag wymienionych wcześniej:

1. Podczas omawiania uzyskanych wyników Doktorantka w wielu miejscach stwierdza, że podane rezultaty mają swoje odzwierciedlenie w literaturze. Jednocześnie zabrakło wyraźnego podkreślenia, które elementy Doktorantka uważa za nowatorskie.
2. Należy wyjaśnić w jakim celu analizowano zawartość inhibitorów procesu hydrolizy w fazie ciekłej, gdy głównym źródłem cukrów i materiałem poddawanym hydrolizie jest faza stała.
3. Strona 14, dlaczego wg Doktorantki wykorzystanie biomasy I generacji, a nie biomasy II generacji, do produkcji etanolu charakteryzuje się emisją większej ilości gazów cieplarnianych.
4. Na stronie 23 w pierwszym wersie stwierdzono, że hydrolizę prowadzi się w zakresie temperatur od 50°C do 60°C, a poniżej ten zakres to już od 45°C do 50°C.
5. Strona 26, Cellic CTec2 nie jest enzymem, tylko preparatem enzymatycznym.
6. Strona 28, nie jest jasne dlaczego użyto 0,1 g preparatu enzymatycznego na 0,1 g celulozy. Czy według Doktorantki ta ilość nie jest zbyt duża, czy sprawdzano jak na stopień hydrolizy wpływa użycie mniejszej ilości preparatu enzymatycznego?
7. Strona 29, w równaniach kalibracyjnych nie podano jednostek, poza tym można dojść do błędnego wniosku, że postać krzywej kalibracyjnej oznaczania cukrów zależy od tego jaki materiał był hydrolizowany. Należało doprecyzować, że kalibrację powtarzano

- ze względu na przywiązywanie dużej wagi do wykonywanych analiz, a nie ze względu na zmianę surowca.
8. Należy skomentować dlaczego w Tabelach 2, 3, 5 i 6 skład chemiczny surowców nie sumuje się do 100 %.
 9. Należy skomentować, dlaczego nie dla wszystkich badanych próbek wykonywano pomiary porowatości biomasy i stopnia polimeryzacji celulozy.
 10. Na stronie 53 Doktorantka stwierdziła, że wykonane badania pozwoliły na wyznaczenie optymalnych warunków obróbki wstępnej surowca. Niestety nie sformułowano ostatecznie jakie są optymalne warunki procesów wstępnej obróbki drewna topoli i słomy kukurydzianej. Ponadto trudno określać optymalne warunki procesu bez zdefiniowania funkcji celu.
 11. Strona 24, powinno być „*Saccharomyces cerevisiae*”.
 12. Strona 27, jak Doktorantka rozumie kontrolowanie roztworu amoniaku przy użyciu miareczkowania i roztworu NaOH?

Praca napisana jest poprawnym językiem, choć Doktorantka zbyt często używa określenia „generalnie”.

Wniosek końcowy

Zawarte w recenzji uwagi i pytania, są przyczynkiem do dyskusji naukowej podczas publicznej obrony i nie wpływają na pozytywną ocenę pracy. W konkluzji stwierdzam, że rozprawa mgr inż. Florentyny Akus-Szylberg pt. „Badanie wpływu wybranych metod obróbki wstępnej na skład chemiczny oraz wydajność hydrolizy enzymatycznej drewna topoli i słomy kukurydzianej” spełnia wymagania stawiane w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. z 2003. Nr 65, poz 595, z późn. zm.) oraz Rozporządzeniu Ministra Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. poz. 1383).

Wobec powyższego przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Leśne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Florentyny Akus-Szylberg do dalszych etapów przewodu doktorskiego, tj. do publicznej obrony przedstawionej rozprawy.

