

Dr hab. Małgorzata Pawłowska, prof. PL
Wydział Inżynierii Środowiska
Politechnika Lubelska
Ul. Nadbystrzycka 40B
20-618 Lublin

Lublin, dnia 14.07.2016r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Lalak
pt.: „Ocena metod obróbki wstępnej biomasy na jakość i wydajność
biogazu”

1. Podstawy formalne sporządzenia recenzji

Oceny rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Lalak dokonano na zlecenie Dyrektora Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, Pana prof. dr hab. Cezarego Sławińskiego (pismo z dn. 15 czerwca 2016), na podstawie przedłożonego maszynopisu pracy. Główne kryterium dokonanej oceny stanowiły wymogi stawiane rozprawom doktorskim zawarte w Ustawie z dn. 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. 2014 poz. 1852) oraz Rozporządzenia MNiSW z dnia 30 października 2015 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2015, poz. 1842).

2. Ocena trafności wyboru tematyki pracy

W obliczu wzrastającego zapotrzebowania na energię oraz postępujących zmian w środowisku, wywołanych jej pozyskiwaniem z paliw kopalnych intensyfikacja procesów produkcji energii ze źródeł niekonwencjonalnych jest jednym z kluczowych kierunków działań prośrodowiskowych, wyznaczonych przez międzynarodowe gremia zatroskane o los ludzkości i globalnego ekosystemu. Zróżnicowanie warunków klimatycznych, hydrogeologicznych czy geopolitycznych sprawia, że dostępność i opłacalność wykorzystania poszczególnych niekonwencjonalnych źródeł energii w różnych rejonach świata nie jest jednakowa. Jednym z najbardziej uniwersalnych, ze względu na możliwości pozyskania, źródeł energii jest biomasa. Jej produkcja jest możliwa niemal we wszystkich strefach klimatycznych, z wyłączeniem tych najzimniejszych i najbardziej suchych. Energia chemiczna zawarta w związkach organicznych może być zamieniona zarówno w formę energii elektrycznej, cieplnej lub mechanicznej w procesach bezpośredniego spalania biomasy lub też produktów jest przetwarzania, takich jak biogaz, bioetanol, czyste oleje roślinne, czy

biodiesel. Przydatność biomasy do wykorzystania energetycznego zależy w głównej mierze od zawartości i formy chemicznej węgla, która decyduje o wartości kalorycznej biomasy lub jej podatności na rozkład mikrobiologiczny. W tym kontekście podjęte przez Doktorantkę badania nad możliwością zwiększenia stopnia wykorzystania energii zawartej w związkach lignocelulozowych roślin, takich jak móżdga trzcinowata, miskant olbrzymi, perz wydłużony i sorgo na drodze przemian mikrobiologicznych wpisują się w nurt badań priorytetowych w dziedzinach ochrony środowiska i energetyki.

O ważności problematyki poruszonej w pracy świadczy rosnące zainteresowanie tematyką obróbki wstępnej różnego rodzaju materiałów organicznych przeznaczonych do produkcji biopaliw, czego miarodajnym efektem jest rosnąca liczba prac z tego zakresu. I tak, w ostatnim pięcioleciu liczba publikacji dotyczących obróbki wstępnej biomasy, odnotowanych z bazy Science Direct, wzrosła kilkunastokrotnie w porównaniu do pięciolecia 2000-2005. Przedmiotem badań naukowców z różnych rejonów świata jest zarówno biomasa odpadowa, jak również biomasa roślin energetycznych, a ich celem jest, generalnie, poszukiwanie jak najbardziej efektywnej metody hydrolizy złożonej materii organicznej, która zwiększy podatność materiału lignocelulozowego na rozkład mikrobiologiczny i umożliwi zwiększenie produkcji biogazu lub bioetanolu. Mgr inż. Justyna Lalak dołączyła do grona tych badaczy, publikując wyniki swoich badań w jednym z czołowych czasopism naukowych o zasięgu międzynarodowym.

Ponadto, wyniki badań prowadzonych przez Doktorantkę mogą przyczynić się do upowszechnienia wykorzystania w procesie produkcji metanu roślin energetycznych, które do tej pory nie budzą zainteresowania biogazowni. Wskazanie efektywnej metody hydrolizy biomasy traw i sorga może stać się bodźcem do wzrostu zapotrzebowania na tego rodzaju substraty, co prowadzić będzie do poszerzenia areału upraw celowych tych roślin, a w konsekwencji do zwiększenia udziału sektora rolniczego w produkcji energii ze źródeł niekonwencjonalnych.

3. Ocena struktury pracy

Recenzowana praca doktorska liczy 162 strony. Generalnie, jej układ jest zgodny z jednym z najczęściej stosowanych schematów rozpraw naukowych o charakterze eksperymentalnym, w którym po przeglądzie literatury przedstawia się cel i zakres badań, metody badawcze, a następnie wyniki badań, ich dyskusję oraz wnioski. Dodatkowo, przed spisem treści zamieszczono streszczenia oraz słowa kluczowe w języku polskim oraz angielskim. Pracy podzielona jest na 7 rozdziałów.

Rozdział 1, zatytułowany **Przegląd literatury** zawiera się na 22 stronach (co stanowi ok. 16% objętości pracy). Przedstawiono w nim podstawy procesu produkcji metanu, nawiązując do etapów przemian i czynników wpływających na przebieg i efektywność fermentacji, następnie w sposób szczegółowy, ale przystępny opisano budowę poszczególnych jednostek strukturalnych lignocelulozy: celulozy, hemiceluloz i ligniny oraz

pokróćce opisano enzymy je degradujące. Ostatni paragraf tego rozdziału stanowi opis metod fizycznych, chemicznych i biologicznych stosowanych do obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej.

Uzasadnienie podjęcia tematu oraz sformułowanie jej celu przedstawiono w rozdziale 2 noszącym tytuł: „**Cel, hipotezy badawcze i zakres pracy**”. W rozdziale tym, jako ostatni, umieszczono paragraf „Schemat doświadczenia”, który powinien znaleźć się w rozdziale 3 zatytułowanym „**Materiały i metody**”. Rozdział 3 rozpoczyna opis wytypowanych do badań gatunków roślin oraz źródła ich pozyskania. Następnie przedstawiono metodykę prowadzenia obróbki mechanicznej, ultradźwiękowej i biologicznej oraz testów porcjowych fermentacji metanowej. Rozdział kończy opis metod analitycznych, obliczeniowych i statystycznych wykorzystanych w pracy.

W rozdziale 4, który stanowi ok. 50% objętości pracy zaprezentowano **wyniki badań oraz przeprowadzono ich dyskusję**. Rozdział podzielony jest na 3 podrozdziały dotyczące kolejno opisu wyników badań właściwości chemicznych biomasy roślin, badań biomasy poddanej obróbce wstępnej oraz badań procesu fermentacji metanowej. W rozdziale tym zastosowano aż pięciostopniową strukturę podziału, choć można było tego uniknąć modyfikując kryterium podziału, na poziomie podrozdziału 4.2, nadając mu tytuł „Wpływ obróbki wstępnej na właściwości biomasy” i wydzielając kolejno paragrafy: 4.2.1. Wpływ obróbki mechanicznej na właściwości chemiczne, 4.2.2 Wpływ dezintegracji na właściwości chemiczne, 4.2.3. Wpływ obróbki biologicznej na właściwości chemicznej, 4.2.4. Wpływ obróbki biologicznej na aktywność enzymatyczną (dalszy podział tego paragrafu zgodny z tym przedstawionym w pracy na poziomie piątym).

Podsumowanie pracy oraz wnioski z badań przedstawione zostały w trzystronicowym rozdziale 5, a **Spis literatury**, obejmujący 257 pozycji, ułożonych w kolejności alfabetycznej został przedstawiony w rozdziale 6. Pracę kończy rozdział 7, w którym zestawiono tytuły rysunków, tabel i wykresów zawartych w pracy wraz z podaniem numeru stron, na których się znajdują.

4. Ocena merytoryczna

Przedmiotem badań, będących podstawą do przygotowania rozprawy były metody obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej czterech gatunków roślin zielnych potencjalnie przydatnych do produkcji biogazu. Badania dotyczyły oceny wpływu stopnia rozdrobnienia mechanicznego, warunków operacyjnych pracy dezintegratora ultradźwiękowego oraz zaszczerpienia różnymi szczepami grzybów białej zgnilizny na zmiany składu lignocelulozy w biomacie. Skuteczność działania obróbki wstępnej biomasy pod kątem zwiększenia jej przydatności do produkcji metanu oceniono w testach porcjowych prowadzonych w bioreaktorach o objętości czynnej 0,7 dm³, w warunkach mezofilowych, w fermentacji mokrej.

Według Autorki „Celem głównym pracy są badania eksperymentalne zmierzające do określenia wpływu metod obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej (...) na jakość

i wydajność biogazu. Aby sformułowanie celu było poprawne konieczne jest wprowadzenie niewielkiej korekty, polegającą na usunięciu stwierdzenia, że celem pracy są „badania eksperymentalne zmierzające do”. Same badania są tylko drogą prowadzącą do osiągnięcia celu. Natomiast nie mam wątpliwości, że wyniki przeprowadzonych badań pozwalają ocenić wpływ analizowanych metod degradacji lignocelulozy na ilość i skład biogazu, decydujący o jego wartości kalorycznej.

Obok korekty sformułowania celu potrzebna jest drobna modyfikacja tytułu, w którym zabrakło słowa „wpływu”. Pełny tytuł powinien brzmieć „Ocena wpływu metod obróbki wstępnej biomasy na jakość i wydajność biogazu”.

Wkradły się również pewne nieścisłości terminologiczne odnośnie określenia badań podstawowych. Zgodnie z przyjętą definicją w badaniach tych chodzi o zdobycie nowej wiedzy o zjawiskach, bez nastawienia na jej bezpośrednie zastosowanie praktyczne, np. o ustalenie zależności pomiędzy jakimś parametrem a oddziałującym czynnikiem. Natomiast poznanie optymalnych warunków wstępnego przygotowania biomasy nie leży w zakresie badań podstawowych. Mówiąc o warunkach najkorzystniejszych dla przebiegu procesu zakładamy jakiś cel praktyczny, chcąc określić warunki optymalne z pewnego punktu widzenia.

Przegląd literatury stanowi logiczne wprowadzenie do zagadnień, będących przedmiotem pracy, choć słabo zaakcentowano w nim luki badawcze istniejące w omawianej problematyce. W tej części pracy pojawiają się pewne nieścisłości, jak na przykład to, że równanie Nyn_s nie przedstawia przebiegu procesu tylko jego bilans (str. 12), że bakterie octanowe są wrażliwe na wysokie ciśnienia parcjalne wodoru, a nie na niskie (str. 16), że przy określeniu wartości stężenia toksycznego mylące jest podanie zakresu (Tabela 2, przypadek sodu i jonów amonowych). Podanie przedziału liczb sugeruje, że powyżej górnej wartości stężenia substancja przestaje być toksyczna. Ponadto przy omówieniu stanu wiedzy na temat wpływu rozdrobnienia oraz działania ultradźwięków na produkcję biogazu wielokrotnie nie podano istotnych szczegółów dotyczących warunków prowadzenia procesów, bez których to danych nie da się przeprowadzić ścisłej analizy, np. bez podania jak zmieniały się wielkości cząstek biomasy lub przy jakich parametrach prowadzono proces obróbki ultradźwiękami nie można porównywać wyników badań uzyskanych przez różnych autorów.

Dobór metod badawczych, analitycznych i statystycznych oceniam jako właściwy i wystarczający do realizacji celów pracy. Natomiast bardzo przydatna w interpretacji przyczyn obserwowanego przyrostu produkcji metanu w testach porcjowych, w próbach poddanych obróbce wstępnej w porównaniu do prób kontrolnych, byłaby znajomość zawartości frakcji ChZT rozpuszczonego w wodzie i zawartego w fazie stałej, ocena stosunku BZT₅/ChZT, który wskazuje na podatność materiału na rozkład mikrobiologiczny lub analiza zawartości lotnych kwasów tłuszczowych.

Szczegółowe uwagi i pytania do części metodycznej pracy są następujące:

- Jakie były przesłanki prowadzące do wyboru metod obróbki?

- Dlaczego opis oznaczenia wilgotności podłoża nie został umieszczony w par. 3.4 „Metody analityczne”, ale znalazł się w par. 3.5 „Inne metody”?
- Proszę o wyjaśnienie pojęcia uzysk biogazu/metanu. Zgodnie ze wzorem na str. 46 uzysk biogazu/metanu liczono jako wartość stosunku różnicy ilości gazu wydzielonego w próbie poddanej i niepoddanej obróbce (czyli wartości względnej) do suchej masy organicznej substratu. Jednak na rysunkach 32-37, które prezentują wyniki testów fermentacji prowadzonej w układach porcjowych zaznaczono także uzysk biogazu/metanu w próbach kontrolnych, co sugeruje że uzysk w poszczególnych próbach poddanych obróbce obliczany był jako objętość biogazu/metanu (wartość bezwzględna) odniesiona do suchej masy substratu.
- Jakiego gazu użyto do wytworzenia warunków beztlenowych w komorach fermentacji?
- Pomiaru stężenia metanu w biogazie dokonywano za pomocą aparatu GFM 410 (Gas Data), co wymaga zassania sporej porcji gazu do celki pomiarowej. Czy taki sposób pomiaru nie miał wpływu na pomiary ilościowe wytworzonego biogazu?
- Dlaczego po obróbce ultradźwiękami badano ChZT, a po obróbce mechanicznej i biologicznej zawartość cukrów redukujących?

Generalnie, opis wyników przedstawiony jest w sposób poprawny, a dyskusja jest logiczna i poparta argumentami bazującymi na wynikach przytaczanych w literaturze naukowej. Jednak również w tej części pojawiły się pewne kwestie, które wymagają wyjaśnienia. Oto one:

- Z tabeli 6 wynika, że zawartość K w biomacie badanych roślin wahała się w zakresie 11,4 do 14,42% s.m. To bardzo wysokie wartości. Co mogło być przyczyną tak wysokiej zawartości potasu w biomacie badanych roślin?
- Proszę wyjaśnić, jaki związek ma wysoka zawartość cynku w biomacie (ok. 13,61 mg/kg, a nie 13,61% jak błędnie podano na str. 56) z nawożeniem zastosowanym w czasie uprawy.
- Czy zawartość azotu amonowego podawana jest w mg/kg czy w mg/ml? (rozbieżności pomiędzy opisem metodyki a wynikami podanymi w części badawczej)
- Co oznacza stwierdzenie, że nastąpił spadek masy biomasy podczas rozdrabniania (62)?
- W pracy brak odniesienia do wyników badań literaturowych dotyczących stężenia toksycznego fenoli dla metanogenów.
- Niejasne jest wyjaśnienie niskiego stopnia delignifikacji badanej biomasy poprzez wzrost stabilności ligniny wywołany zagęszczeniem wiązań w obecności rozpuszczalnika (str. 85). O jaki rozpuszczalnik chodzi?
- Obróbka wstępna to proces przerwania naturalnej powłoki lignino-węglowodanowej a nie lignino-węglowodorowej (str. 28).
- Do wniosków z literatury należy podchodzić z dozą krytycyzmu. Wniosek z pracy Vasco-Correa i in. (2016), mówiący o tym, że degradacja celulozy na drodze obróbki wstępnej jest efektem niepożądanym, gdyż celuloza stanowi główne źródło węgla dla bakterii

został prawdopodobnie uproszczony lub wyrwany z szerszego kontekstu. Celuloza musi ulec rozkładowi do prostszych związków organicznych, aby mogła być źródłem węgla dla metanogenów.

6. Uwagi redakcyjne

Praca jest dobrze przygotowana pod względem redakcyjnym. Liczba błędów edycyjnych i językowych jest niewielka, jak na tak obszerną pracę, choć Autorce nie udało się ustrzec się od drobnych błędów interpunkcyjnych, takich brak przecinków lub ich niewłaściwe umieszczenie; typograficznych, z których bardziej istotne to np. frakcja „ksylenu” zamiast „ksylanu” (str. 29), „perz wysłużony” zamiast „wydłużony” (str. 104); gramatycznych, np. dowodzić „czego” a nie „o czym” (str. 94), „wynikać z”, a nie „od” (str.101), „zagospodarowanie (...) do produkcji biogazu” zamiast „wykorzystanie (...) do produkcji biogazu” (str. 36); a także nieścisłości i skrótów myślowych (np. „redukcja wielkości długości” (59), źródło węgla zawarte w biomase zostało przekształcone w CO₂ (88) „fermentacja statyczna” (66).

Przedstawione w pracy rysunki i tabele są czytelne i starannie przygotowane, choć wskazane byłoby zachowanie takiej samej skali na osi Y na wykresach przedstawiających zmiany tych samych parametrów w różnych układach badawczych (np. wykres 6, 7, 8-11, itd.). Różnice występujące pomiędzy porównywanymi materiałami byłyby łatwiej dostrzegalne.

Z innych uwag formalnych wymienię:

- nieprzetłumaczony zwrot „steam explosion” (str. 29),
- przesunięty w stosunku do akapitu nagłówek „Lignina”, który pozostał w ostatniej linijce na str. 25
- brak objaśnienia skrótów „HG, RGI, RGII, XGA, AGA” na rys 4.
- brak w spisie literatury pracy Yang i Wyman (2008)

Podsumowując, stwierdzam że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi wartościowe opracowanie naukowe, a wyniki zaprezentowanych w niej badań w sposób widoczny poszerzają stan dostępnej wiedzy na temat możliwości zwiększania odzysku energii z biomasy roślin energetycznych na drodze jej wstępnej obróbki, szczególnie w zakresie obróbki biologicznej. Na szczególnie podkreślenie w pracy zasługuje:

-nowatorski charakter badań dotyczących aktywności enzymatycznej grzybów białej zgnilizny *Basidiomycetes adusta* i *Pleurotus eryngii* na podłożu z biomasy mozgi trzcinowatej i perzu wydłużonego odmiany „BAMAR”,

-kompleksowość badań, która umożliwiła dokonanie porównania wpływu zastosowania różnych metod obróbki wstępnej biomasy trzech popularnych gatunków traw uznawanych za rośliny energetyczne (perz wydłużony kępowy, miskant olbrzymi, mozga trzcinowata) oraz rośliny z rodzaju sorgo na efektywność procesu produkcji biogazu i jego skład,

-wysoki poziom merytoryczny prowadzenia dyskusji wyników, w szczególności wyjaśnienia kwestii zróżnicowania wpływu poszczególnych gatunków grzybów białej zgnilizny na efektywność biodegradacji komponentów lignocelulozy, wskazujący na dogłębne rozpoznanie tematyki badawczej.

Oprócz walorów poznawczych praca jest cenna również ze względów praktycznych, gdyż uzyskane wyniki wskazują kierunki doboru najkorzystniejszych metod obróbki wstępnej określonego rodzaju biomasy roślinnej wykorzystywanej do produkcji biogazu, co w konsekwencji może doprowadzić do wzrostu popytu na tego typu substraty, a tym samym zwiększyć udziału sektora rolniczego w produkcji energii ze źródeł niekonwencjonalnych.

5. Wniosek końcowy

Stwierdzam, że mgr inż. Justyna Lalak spełnia kryteria określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. 2014 poz. 1852) dla kandydatów ubiegających się o nadanie stopnia naukowego doktora. Doktorantka przedstawiła oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazała się szeroką wiedzę w zakresie związanym z problematyką pracy, dotyczącą produkcji biogazu i metod wstępnej obróbki substratów lignocelulozowych, zwiększających ich podatność na rozkład przez bakterie metanogenne. Wniosuję zatem do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN **o dopuszczenie mgr inż. Justyny Lalak do dalszych etapów postępowania kwalifikacyjnego o nadanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia** i jednocześnie **o wyróżnienie pracy** ze względu na jej obszerny zakres i wysoki poziom merytoryczny.



Dr hab. Małgorzata Pawłowska