

Prof. dr hab. inż.
Bogusław Jerzy Czupryński
(prof. zwyczajny UKW)
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
ul. Chodkiewicza 30,
85-064 Bydgoszcz, tel. 52 3 419 126

Bydgoszcz, 27 grudnia 2017 r.

Recenzja

pracy doktorskiej mgr inż. Karoliny Szymańskiej pt.: „Intensyfikacja fermentacji etanolowej surowców lignocelulozowych”

Bioetanol pierwszej generacji otrzymuje się z surowców odnawialnych pochodzenia rolniczego zawierających skrobię, sacharozę. Wykorzystuje się do tego celu między innymi kukurydzę, trzcinę cukrową itp. Surowce te służą do produkcji żywności, dlatego otrzymywanie z nich biopaliwa jest ograniczone. W związku z czym prowadzone są badania dotyczące produkcji bioetanolu drugiej generacji z surowców lignocelulozowych. Można go otrzymać ze słomy, makulatury drewna odpadowego itp. W świecie tych surowców, jak podaje w pracy Doktorantka, jest bardzo dużo. Roczna produkcja biomasy lignocelulozowej mieści się w granicach od 10 do 50 mld ton w przeliczeniu na suchą masę. Otrzymywanie z nich etanolu składa się z kilku etapów: obróbki wstępnej, hydrolizy polisacharydów do cukrów prostych, fermentacji i destylacji etanolu. Koszt jego produkcji jest większy w porównaniu do bioetanolu pierwszej generacji. Wpływ na to mają między innymi czynniki inhibujące powstające podczas obróbki wstępnej surowców oraz zastosowane mikroorganizmy o tolerancji na te związki. Podjęcie a następnie konsekwentne realizowanie przez Doktorantkę tematyki opracowania warunków fermentacji hydrolizatów słomy rzepakowej i wierzby wiciowej uważam za celowe. Ważna jest też przeprowadzona ocena przydatności wybranych szczepów drożdży do fermentacji etanolowej pentoz i/lub heksoz.

Recenzowana praca doktorska została przedstawiona w formie maszynopisu liczącego 123 strony i podzielona w ogólnie przyjęty sposób na część teoretyczną (56 stron) i doświadczalną (67 stron) oraz załącznik wyników badań przedstawionych w 35 tabelach.

Temat pracy doktorskiej wynika bezpośrednio z kontaktów, jakie utrzymuje prof. dr hab. inż. Włodzimierz Bednarski i Jego współpracownicy z jednostkami naukowymi i przemysłem.

W części teoretycznej Doktorantka w sposób zwięzły przedstawiła te zagadnienia, które wiążą się bezpośrednio z tematem pracy. Przedstawione informacje ułatwiają zrozumienie części doświadczalnej pracy. Scharakteryzowała biomasy lignocelulozowe. Szczególną uwagę zwróciła na przygotowanie ich do hydrolizy. Omówiła między innymi mikroorganizmy wykorzystywane w czasie fermentacji alkoholowej surowców lignocelulozowych. Przedstawione dane oparte zostały na 89 publikacjach naukowych, cytowanych w pracy. Część teoretyczna opisana została zwięźle, jasno i z dużą znajomością omawianej problematyki.

W części doświadczalnej mgr inż. Karolina Szymańska opisała bardzo dokładnie charakterystykę stosowanych materiałów badawczych, przebieg badań i metody analityczne. Do tej części pracy nie mam uwag. Wykorzystała aktualnie stosowane w świecie metody badawcze. Z dużą znajomością rzeczy dokonała starannego wyboru preparatów enzymatycznych i mikroorganizmów do fermentacji hydrolizatów słomy rzepakowej i wierzby wiciowej. Badania zostały podzielone na kilka części. Dotyczyły one; oceny przydatności ośmiu szczepów drożdży predysponowanych do fermentacji etanolowej pentoz i/lub heksoz, określeniu tolerancji wybranych szczepów *Saccharomyces cerevisiae* na obecność inhibitorów, przetestowaniu metody sekwencyjnej i symultanicznej fermentacji, zastosowania detoksykacji surowców lignocelulozowych po wstępnej obróbce, modyfikacji symultanicznej metody fermentacji i określeniu jakości otrzymanych alkoholi lignocelulozowych.

Zaplanowane przez Doktorantkę badania zostały w pracy systematycznie zrealizowane. Z ośmiu testowanych drobnoustrojów największą wydajnością fermentacji charakteryzowały się drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Z czterech badanych, drożdże B4 i 7 wykazują dużą odporność na substancje inhibitujące. Drożdże te wrażliwe są tylko na 4-hydroksybenzaldehyd. Zostały one wykorzystane w sekwencyjnym metodzie hydrolizy i fermentacji. Uzyskana wydajność etanolu jest mała, nie przekroczyła 70 %. Niezadowolające wyniki uzyskała także stosując metodę symultaniczną przy użyciu drożdży As4 i D2. W związku z czym przeprowadziła modyfikację procesu polegającej na usunięciu frakcji płynnej po wstępnej obróbce i poddaniu frakcji stałej detoksykacji polegającej na płukaniu wodą. Zastosowana operacja spowodowała zmniejszenie substancji hamujących i istotne zwiększenie wydajności uzyskanego etanolu. Zwiększenie stężenia etanolu z hydrolizatu wierzby wiciowej w stosunku do hydrolizatu słomy rzepakowej uzyskała

stosując ich zagęszczenie w wyparce. Wzrost stężenia hydrolizatów słomy rzepakowej i wierzby wiciowej miał wpływ na zawartość w nich kwasu lewulinowego, która wynosiła odpowiednio 22,49 i 2,46 g/dm³.

Następne badania dotyczyły modyfikacji systemu jednoczesnej hydrolizy i fermentacji. Wprowadziła do reakcji dodatkowe porcje surowców po 24 i 48 godzinach trwania procesu. Zaowocowało to poprawą jego wydajności w przypadku zastosowania jako substratu wierzby wiciowej.

Analiza spirytusów zateżonych po fermentacji hydrolizatów słomy rzepakowej i wierzby wiciowej wykazała obecność typowych zanieczyszczeń chemicznych; alkoholi wyższych, aldehydów, metanolu i innych. Zawartość tych związków jest poniżej norm dla spirytusów przeznaczonych na biopaliwa. Do oznaczenia zanieczyszczeń wykorzystano chromatografię gazową (GC) i cieczową (HPLC).

Badania prowadzone przez Doktorantkę są bardzo ważne ponieważ na ich pozytywny wynik czeka przemysł. Łatwy dostęp do surowców lignocelulozowych zachęca naukowców do opracowania wydajnej, o niskich kosztach, produkcji bioetanolu. Rozprawa doktorska jest wartościową pozycją naukową o podstawowym aspekcie technologicznym i ma także znaczenie poznawcze. Otrzymane wyniki badań mogą być wykorzystane do opracowania założeń projektowych technologii produkcji biopaliwa z słomy rzepakowej i wierzby wiciowej.

Pytanie ogólne;

Czy Doktorantka rozważała możliwość wykorzystania do swoich badań szczepu drożdży I-7-43 (fuzant *S. cerevisiae* i *S. diastaticus* z kolekcji IBPRS).

Praca doktorska pod względem merytorycznym nie budzi zastrzeżeń. Napisana została starannie, zwięźle, poprawną polszczyzną. Zauważyłem nieliczne usterki przeważnie natury drukarskiej, których nie przytaczam.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest interesująca, aktualna, gdyż przyczynia się do rozszerzenia wiedzy o możliwości wykorzystania słomy rzepakowej i wierzby wiciowej do produkcji alkoholu etylowego. Badania prowadzone przez Doktorantkę są bardzo ważne. Mieszczą się w światowym trendzie rozwojowym biopaliw. Wykonanie jej wymagało szerokiej wiedzy z zakresu biotechnologii procesu fermentacji alkoholowej i dysponowania zapleczem badawczym wyposażonym w nowoczesną aparaturę.

Doktorantka wykonała wszystkie zaplanowane cele badawcze. Wyniki doświadczeń zebrane są w tabelach i zilustrowane na wykresach. Wykresy są czytelne i bardzo dobrze wykonane. Nie mam uwag do sposobu przedstawienia i interpretacji wyników badań. Bardzo dokładnie przeprowadziła ich analizę, w tym statystyczną wykorzystując oprogramowanie Statistica 10. Podsumowanie badań jest wyczerpujące. Wnioski sformułowane są logicznie i udokumentowane wynikami wszechstronnych badań. W dyskusji porównała uzyskane rezultaty badawcze z wynikami innych autorów. Na szczególne podkreślenie zasługuje sposób przeprowadzania doświadczeń jak i umiejętność doboru materiału przeznaczonego do badań. W pracy zawarte są elementy nowości naukowych.

Rozprawa spełnia wymagania stawiane przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14.03.2003 roku kandydatom do stopnia naukowego doktora. Wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Karolinę Szymańską do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Bogusław Czupryński

