Politechnika Łódzka
Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej

Prof. dr hab. inż. Stanisław Bielecki,

Łódź, 21 kwietnia,2021r.

R E C E N Z J A

pracy doktorskiej mgr inż. Kamili Orlińskiej

pt.: **„Zwiększenie efektywności biokonwersji surowca lignocelulozowego do etanolu poprzez detoksykację hydrolizatów drewna wierzby (Salix L.) i topoli (Populus L.)"**

wykonanej w Katedrze Genetyki, Hodowli Roślin i Inżynierii Biosurowców
Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.
Pod kierunkiem prof. dr hab.inż. Janusza Gołaszewskiego.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kamili Orlinskiej pt.: „Zwiększenie efektywności biokonwersji surowca lignocelulozowego do etanolu poprzez detoksykację hydrolizatów drewna wierzby (Salix L.) i topoli (Populus L.)" jest ciekawą i nowatorską w ujęciu applikacyjnym pracą, przedstawiającą zagadnienia związane z usuwaniem szczególnych barier w wykorzystaniu drewna wierzby i topoli w produkcji bioetanolu drugiej generacji. Są nimi inhibitory powstające z celulozy, hemicelulozy i ligniny w wyniku obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej. Mogą one mieć negatwny wpływ na obróbkę enzymatyczną jak i na fermentację hydrolizatów lignocelulozowych. Stąd konieczność wynalezienia odpowiednich, ekonomicznie uzasadnionych metod detoksyfikacyjnych pozwalających na usunięcie inhibitorów z hydrolizatów czy ich chemicznej konwersji do mniej toksycznych form. Innym rozwiązaniem detoksykacyjnycm jest optymalizacja procesu hydrolizy czy fermentacji hydrolizatów lignocellulozowych w kierunku redukcji toksyczności inhibitorów. Genetycznie modyfikowane lub konstruowane metodami biologii syntetycznej drobnoustroje fermentujące, uzyskując właściwości większej odporności na inhibitory mogą być bardziej użyteczne do otrzymywania bioetanolu nowej generacji. Niektóre z przytoczonych tutaj sposobów detoksyfikacji są przedmiotem studiów przedstawionych przez mgr Orlińską w swej pracy doktorskiej. Swoimi badaniami Doktorantka wpisuje się we współczesne obszary badawcze, dające rozwiązania technologiczne i ekonomiczne, będące podstawą gospodarki obiegu zamkniętego wykorzystujące odnawialne surowce, a

HR EXCELLENCE IN RESEARCH

także łagodzi spory związane z dyskusją o wykorzystaniu odnawialnej, użytecznej żywnościowo, biomasy do produkcji etanolu pierwszej generacji do celów przemysłowych. Głównym celem badań cyt. „.. *było zwiększenie efektywności produkcji etanolu 2G z masy lignocelulozowej wierzby i topoli poprzez włączenie w ciąg technologiczny procesu detoksykacji hydrolizatów sorbentami mineralnymi – zeolitem i haloizytem".* Doktorantka na podstawie danych literateraturowych i swojego doświadczenia wynikającego z uczestnictwa w programach badawczych finansowanych przez NCBR i Horyzont Europe 2020 skoncentrowała się na zagadnieniach związanych z kontrolą i/lub usuwaniem inhibitorow procesów biologicznych pochodzących z surowca, a zachodzących w produkcji etanolu 2G. Wybrała do tego celu sorbenty: zeolit i haloizyt, których detoksykujące działanie było optymalizowane przez doktorantkę, aby nie następowały jednocześnie istotne zmiany stężenia cukrów fermentujących. Badania w tak szerokim zakresie były możliwe dzięki istnieniu ciągu biorafineryjnego w Centrum Biogospodarki i Energii Odnawialnych w macierzystej uczelni i dzięki wykorzystaniu bardzo różnorodnych metod badawczych i analitycznych dostępnych w laboratoriach uczelnianych, jak i w firmie ChemProf.

Podobnie jak odpowiednio zaplanowany i przeprowadzony jest ciąg badań, również i przedstawiona rozprawa doktorska jest napisana, mimo swej obszerności, w sposób komunikatywny. W pracy tej na 173 stronach, z pomocą 32 tabel i 36 rysunków (5 tabel i 18 rysunków znajduje się w Aneksie) oraz ponad 310 pozycji literaturowych, dokonano przeglądu literatury, przedstawiono metodykę badań, omówiono i przedyskutowano uzyskane wyniki, kończąc pracę podsumowaniem i wnioskami oraz podziękowaniami. W pracy wydzielono Abstrakt w języku polskim i angielskim oraz 3 Aneksy, czyniąc ją bardziej czytelną.

Przed ustosunkowaniem się do niektórych wyników otrzymanych przez doktorantkę, chciałbym zwrócić uwagę na rozdział nazwany Przegląd Piśmiennictwa. Stanowi on dobre wprowadzenie czytelnika w zagadnienia związane z postępem biogospodarki, rozwojem biorafinerii, a w szczególności z produkcją bioetanolu drugiej generacji. Omówiono metody obróbki wstępnej surowca, jego hydrolizę enzymatyczną oraz proces fermentacyjny. Dużą cześć informacji, z racji wyboru kierunku badawczego, poświęcono problemom detoksykacji hydrolizatów lignocelulozowych, z wykorzystaniem metod fizyko-chemicznych jak i sorbentów. Informacje zawarte w tym rozdziale, choć moim zdaniem czasem zbyt podręcznikowe, są dobrym wprowadzeniem w zagadnienia badawcze przedstawione w pracy jak i stanowią dobre odniesienie do uzyskanych przez doktorantkę wyników i ich dyskusji.

W równie obszernym rozdziale dotyczącym metodyki podano procedury postepowania w prowadzonych przez doktorantkę badaniach. Dokładnie przedstawiono surowce lignocelulozowe, stosowane preparaty enzymatyczne i preparaty drożdżowe oraz przybliżono charakterystykę sorbentów stosowanych w detoksykacji hydrolizatów lignocelulozowych. Z uznaniem należy przyjąć szeroki zakres metodologii zastosowanych w planowaniu i analizie ciągów procesowych biokonwersji surowca lignocelulozowego do bioetanolu 2G i optymalizacji procesów detoksykacji zapewniających skuteczne usuwanie wybranych inhibitorów. Nie wiem

ile z tej listy metodologii Doktorantka wykonywała sama, a na ile była wspierana przez innych, ale na pewno była zaangażowana we wszystkie doświadczenia i analizy, co jest bardzo imponujące.

Kolejno Autorka przystępuje do omawiana swoich wyników badań poczynając od przedstawienia zawartości głównych składników chemicznych zrębków wierzby i topoli odpowiadających za ekonomikę procesu produkcji bioetanolu. Zawartość tych składników w obu typach drewna jest bardzo zbliżona. Myślę, że dobór surowca o bardziej zróżnicowanym składzie do badań dostarczyłby więcej danych do planowania produkcji bioetanolu 2G. Podobnie w przypadku hydrolizy enzymatycznej, która według wyników otrzymanych przez Autorkę jak i zgodnie z przewidywaniami, powodowła zwiększenie ilości cukrów fermentujących w procesie, stosowano tylko dostępne komercyjnie preparaty enzymatyczne i to według zaleceń producenta. Ciekawi mnie, co sądzi Autorka o użyciu preparatów lakazy w obróbce enzymatycznej surowca do produkcji bioetanolu 2G. Być może dobór dawki preparatów enzymatycznych oparty o własną optymlizację, uwzględniającą także sekwencje dodawania enzymów, byłby bardziej korzystny. Doktorantka podeszła w ten sposób do procesów detoksykacji, analizując właściwości sorpcyjne badanych sorbentów pod kątem minimalizacji sorpcji związków chemicznych pożądanych dla procesu fermentacji i maksymalizacji sorpcji związków niepożądanych. Badajac efektywność sorpcji inhibitorów z hydrolizatów lignocelulozowaych przewodnikiem były otrzymane przez Autorkę dane kinetyczne sorpcji w zaplanowanych układach modelowych. Najefektywniejszym sorbentem w procesie otrzymywania bioetanolu badanym przez Panią mgr Orlińską okazał sie zeolit zarówno dla wierzby jak i dla topoli. Z tym, że w przypadku haloizytu było mniejsze powinowactwo do cukrów redukujących. Wnikliwa analiza olbrzymiej ilości danych procesowych pozwoliła Autorce na zdefiniowanie dawki i czasu działania wybranych sorbentów w ciągach technologicznych produkcji bioetanolu 2G

Część badań stanowił proces fermentacji hydrolizatów lignocelulozowych wierzby i topoli. Podobnie jak w poprzednich badaniach proces ten doktorantka analizowała wykorzystując fermentację prowadzoną w różnych ciągach fermentacyjnych. Zarówno w przypadku zeolitu jak i haloizytu sprawność procesu fermentacji względem materiałów wyjściowych zwiększyła się o około 24%. Wydajność etanolu w procesie D1H2 z detoksykacją dla obu sorbentów była podobna w przypadku wierzby i była ponad dwukrotnie większa w porównaniu z ciągiem kontrolnym. Natomiast dla topoli w podobnie skonstruowanych ciągach technologicznych wzrost wydajności etanolu wynosił od 1,3x do 1,7x. Zawartość metanolu w destylatach wierzby wynosiła od 0,2 do 0,7g/l, a acetonu od 0,1 do 1,2g/l. W destylatach topoli stężenie metanolu zawierało się w przedziałe 0,5 do 1,4g/l, a acetonu od 0,1 do 0,9g/l. Porównanie tych wartości z wymaganiami normatywnymi byłoby korzystne dla poprawnej oceny procesu.

Wracając do strukury pracy chciałbym wspomnieć o rozdziale Dyskusja. Często jest to część, która jest zaniedbywana w pracach doktorskich lub czyta się ją bardziej jak streszczenie. Pani mgr Kamila Orlińska starała się uciec od takiego schematu. Omówiła własne wyniki badań, porównała z dostępnym jej *state of art* w literaturze światowej,

Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź
tel.: +48 42 631 34 42
e-mail: biochem@info.p.lodz.pl, w5i51@adm.p.lodz.pl
www.p.lodz.pl, www.binoz.p.lodz.pl
HR EXCELLENCE IN RESEARCH

zasugerowała dalsze kierunki badań. Biorąc pod uwagę zakres badań i wielce skomplikowaną zróżnicowaną zależność poszczególnych parametrów procesu od rodzaju surowca, jego wieku, struktury, dostępności dla enzymów i drobnoustrojów doktorantka poradziła sobie dobrze. Jednakże, jednoczesne pogłębienie podejścia molekularnego na platformach biologicznej, chemicznej i fizycznej istniejących w badanych przez Nią procesach pozwoliloby lepiej zrozumieć badane zależności. Zresztą doktorantka zdaje sobie z tego sprawę, co bardzo dobrze o niej świadczy, stwierdzając, że cyt. „…wyniki badań nie stanowią jeszcze o przekroczeniu masy krytycznej wiedzy, która pozwoliłaby na powszechną implementację rynkową technologii."

Przechodząc do końcowej części mojej recenzji chciałbym podkreślić, że przedstawione wyniki badań ukazują bardzo ważne cele użytkowe z punktu widzenia rozwoju biogospodarki. Pani mgr Kamila Orlińska krytycznie podchodzi do otrzymanych wyników, próbuje rozwiązać niektóre badane przez siebie biokonwersje bardziej nowoczesnymi metodami. Jestem przekonany, że wprowadzając dalej nową wiedzę z zakresu obróbki wstępnej surowców lignocelulozowych jak i z inżynierii biosystemów, zwiększy efektywność proponowanych przez siebie biotransformacji. Jak już wspomniałem praca doktorska mgr inż. Kamili Orlińskiej jest napisana, mimo swej objętości w sposób komunikatywny. Wymaga tylko korekty edytorskiej, doprecyzowania niektórych sformułowań, jak np. „hydrolizowany kwas octowy…" , „Frakcja płynna stanowiła matrycę o odczynie….". Niektóre z tabel i rysunków wymagają bardziej rozszerzonej i komunikatywnej legendy.

Biorąc pod uwagę wartość merytoryczną, jakość i zakres wykonanych doświadczeń, przedstawioną do recenzji rozprawę oceniam pozytywnie. Uważam, że mgr inż. Kamila Orlińska przedstawiła rozprawę doktorską, której wyniki znacząco poszerzają wiedzę w zakresie procesów biokonwersji lignocelulozowych składników drewna. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki ujęte w art.13 pkt.1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 14 marca 2003r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789), z późniejszymi zmianami. Spełnia też wymogi zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim. W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne, Wydział Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warminsko – Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpis; Stanisław Bielecki