

Prof. dr hab. Andrzej Kotecki
Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej
Uniwersytet przyrodniczy we Wrocławiu

Recenzja pracy doktorskiej
mgr inż. Łukasza Gila
pt.: „Zawartość substancji biologicznie czynnych oraz właściwości
termofizyczne i skład elementarny dendromasy pozyskiwanej w krótkich
rotacjach zbioru”

Na forum XXIII sesji Zgromadzenia Ogólnego Organizacji Narodów Zjednoczonych 26 maja 1969 r. Sekretarz Generalny Sithu U Thanta przedstawił raport *Człowiek i jego środowisko*. U Thant po raz pierwszy wykazał, że w historii ludzkości pojawił się ogólnoświatowy kryzys, który określony został jako kryzys stosunku człowieka do środowiska. Oznaki zapowiadające ten kryzys widoczne były już od dawna – eksplozja demograficzna, niedostateczna integracja rozwiniętej techniki z wymogami środowisk, wyniszczanie ziem uprawnych, bezplanowy rozwój stref miejskich, zmniejszanie się wolnych terenów i coraz większe niebezpieczeństwo wyginięcia wielu form życia zwierzęcego i roślinnego. Nie ulega wątpliwości, że jeśli proces ten będzie kontynuowany, przyszłe życie na Ziemi może zostać zagrożone. Jest więc sprawą palącą rozpatrzenie problemów zagrożenia środowiska, umożliwiającego człowiekowi realizowanie jego najwyższych aspiracji, oraz podjęcie koniecznych kroków w celu zapobieżenia temu niebezpieczeństwu.

W podsumowaniu raportu czytamy między innymi: Istnieje wiele osiągnięć naukowych i technicznych, których się nie stosuje lub stosuje w sposób nienależyty; większość problemów środowiska ludzkiego mogłaby być rozwiązana przez rozsądne i właściwe gospodarowanie, obejmujące nie tylko ochronę przed dewastacją, lecz również racjonalne wykorzystywanie i polepszenie środowiska dla dobra przyszłych pokoleń; tego rodzaju gospodarowanie wymaga odpowiednich kroków administracyjnych, należytego planowania gospodarczego i społecznego, jak również wprowadzenia przepisów prawnych, krajowych i międzynarodowych.

W preambule deklaracji Rio w sprawie środowiska i rozwoju zapisano między innymi, że:

- mając na celu ustanowienie nowego i sprawiedliwego światowego partnerstwa przez stworzenie nowych form współpracy między państwami, podstawowymi grupami społecznymi i narodami,
 - pracując w celu osiągnięcia międzynarodowych porozumień, korzystnych dla wszystkich i chroniących integralność światowego systemu środowiska i rozwoju,
 - uznając niepodzielną i powiązaną współzależnościami istotę Ziemi – naszego domu,
- ogłasza 27 Zasad Zrównoważonego Rozwoju: w zasadzie 1 czytamy, że Istoty ludzkie stanowią centrum zainteresowania w procesie trwałego i zrównoważonego rozwoju. Mają prawo do zdrowego oraz twórczego życia w harmonii z przyrodą.

Oceniana praca wpisuje się w cele Europejskiego Zielonego Ładu. Układ pracy jest typowy dla tego typu opracowań. Już we wprowadzeniu Autor słusznie zauważa, że „Źródło materii jakim jest biomasa, to najbardziej dostępny odnawialny materiał wykorzystywany na szeroką skalę w różnych gałęziach przemysłu spożywczego, paszowego, leśnego, budowlanego, energetycznego, farmaceutycznego oraz chemicznego. Wśród licznych szybko rosnących gatunków drzew i krzewów występują rośliny z rodzaju: *Salix*, *Populus*, *Robinia* oraz *Eucalyptus*.

Dendromasa pozyskiwana z drzew i krzewów o krótkiej rotacji zbioru może i powinna być wykorzystywana w wielokierunkowy sposób. Można ją stosować jako surowiec do produkcji biopaliw stałych, płynnych i gazowych, jak również do produkcji ciepła i/lub chłodu, energii elektrycznej, ale także do wytworzenia odnawialnych produktów biologicznych, w tym biochemikaliów”. Wprowadzenie kończy, kilka hipotez badawczych, które zakładały, że:

- różnorodność biologiczna genotypów będzie miała istotny wpływ na zróżnicowanie zawartości substancji biologicznie czynnych oraz wielkość badanych parametrów termofizycznych i skład elementarny;
- wydłużenie cyklu zbioru w istotny sposób wpłynie na zmniejszenie zawartości związków bioaktywnych w korze;
- dłuższa rotacja zbioru badanych genotypów wpłynie na poprawę właściwości energetycznych drewna;
- na podstawie uzyskanych wyników można będzie wskazać genotyp o największym potencjale do wielokierunkowego wykorzystania.

W moim przekonaniu hipotezy badawcze powinny się znaleźć po konkluzji bardzo interesującego rozdziału pt.: „Przegląd literatury”, który jest wielowątkowy i oparty na 357 pozycjach literatury. Dla celów porządkowych został podzielony na pięć podrozdziałów, a te z

kolei na jednostki niższego rzędu. Oceniany słusznie zauważa, że „W światowej gospodarce dostrzega się nieustannie zmieniający się kierunek postrzegania rozwoju społeczno-gospodarczego. Ewolucja paradygmatu zarządzania gospodarką koncentruje się na wyzwaniach, przed jakimi stoi globalne społeczeństwo. Coraz większą uwagę zwraca się na działalność wytwórczą, która jest oparta na zrównoważonym wykorzystywaniu ograniczonej bazy surowców naturalnych.

...Nieustannie zwiększająca się liczebność populacji ludzkiej oraz problem głodu i niedożywienia mieszkańców biednych rejonów świata, to główne przyczyny, dla których powinno się zrezygnować z wykorzystywania roślin spożywczych i paszowych do zastosowań energetycznych. W związku z tym należy zastąpić biomasę roślin konsumpcyjnych przeznaczonych do wytwarzania biopaliw I generacji, wieloletnimi szybko rosnącymi roślinami o biomacie lignocelulozowej uprawianymi na glebach marginalnych, z których pozyskiwany surowiec może być dobrym substratem do produkcji biopaliw II generacji.”

Głównym celem pracy była ocena przydatności biomasy badanych genotypów roślin drzewiastych uprawianych na gruntach rolniczych w krótkich rotacjach zbioru do wielokierunkowego (np. bioproduktowego i energetycznego) wykorzystania.

Cele szczegółowe obejmowały określenie:

- udziału kory i drewna w świeżej oraz suchej dendromasie;
- zawartości substancji bioaktywnych w korze;
- właściwości termofizycznych oraz składu elementarnego drewna;
- plonu świeżej oraz suchej dendromasy;
- plonu kory i drewna w stanie świeżym oraz suchym;
- potencjalnego plonu związków bioaktywnych;
- wartości energetycznej plonu drewna oraz jego równoważnika węglowego.

Badania polowe realizowano w ramach wieloletnich prac prowadzonych w Katedrze Genetyki, Hodowli Roślin i Inżynierii Biosurowców, Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Obiekty do doświadczeń wydzielono w obszarze plantacji wieloletnich roślin przemysłowych z grupy drzew i krzewów, założonej w Zakładzie Produkcyjno-Doświadczalnym Łęzany. W celu określenia potencjału plonowania oraz pozyskania prób biomasy do analiz laboratoryjnych w obszarze plantacji dla każdego genotypu losowo wytyczono po 3 poletka, każde o powierzchni 45 m². Rośliny ścinano ręcznie, a po zbiorze ważono.

Przedmiotem badań była dendromasa szybko rosnących drzew i krzewów. Pierwszym czynnikiem doświadczenia było czternaście genotypów należących do 3 rodzajów: jeden genotyp z rodzaju *Robinia*, pięć genotypów z rodzaju *Populus* oraz siedem klonów i jedna odmiana z rodzaju *Salix*. Badano następujące genotypy: *Robinia pseudoacacia* L.; *Populus nigra* × *Populus maximowiczii* (L.) Henry, Max-5; *Populus maximowiczii* × *Populus trichocarpa* (Henry) Torr. & A. Gray, Hybryda 275; *Populus maximowiczii* × *Populus trichocarpa* (Henry) Torr. & A. Gray, Androscoggin; *Populus balsamifera* L., UWM 2; *Populus balsamifera* L., UWM 3; *Salix alba* L., UWM 200; *Salix alba* L., UWM 095; *Salix dasyclados* Willd., UWM 155; *Salix fragilis* L., UWM 195; *Salix pentandra* L., UWM 035; *Salix triandra* L., UWM 198; *Salix viminalis* L., Żubr; *Salix viminalis* × *Salix purpurea* L., UWM 033.

Drugim czynnikiem doświadczenia były cykle zbioru dendromasy: co jeden rok; co cztery lata.

W latach 2018-2020 każdego roku w III dekadzie marca pobierano pędy genotypów uprawianych w cyklu jednorocznym, natomiast pędy po czteroletniej rotacji pozyskano w 2018 roku. Pocięte na fragmenty pędy umieszczono w workach polietylenowych, a przed dalszymi pracami pogrupowane je wg średnic na następujące klasy: 4-7 mm, 7-10 mm, 10-20 mm w przypadku roślin jednorocznych oraz 10-20 mm, 20-30 mm, 30-40 mm, 40-50 mm, 50-60 mm, 60-70 mm w odniesieniu do roślin pochodzących z cyklu 4 letniego. W obrębie każdej średnicy, na trzech pędach, oddzielano korę od drewna, następnie uzyskane frakcje ważono i suszono w temperaturze 40°C aż do momentu uzyskania stałej masy. Po wysuszeniu określono suchą masę kory i drewna.

Zawartość kory i drewna w pędach obliczono jako procentowy udział wydzielonych frakcji w masie całkowitej (kora + drewno).

Ze względu na brak na rynku odczynników chemicznych standardów chemicznych populiny, salikortyny i salirepozydu na potrzeby analiz chemicznych przeprowadzono syntezę populiny oraz z oczyszczonych ekstraktów korowych wydzielono salikortynę i salirepozyd.

Z każdej próby wysuszonej i rozdrobnionej kory przeprowadzono po dwie niezależne ekstrakcje hydrolizy:

- zasadowej ekstraktów korowych,
- kwasowej ekstraktów korowych.

W próbach uzyskanych w wyniku ekstrakcji kory oznaczono zawartość salikortyny, salirepozydu oraz populiny. W procesie hydrolizy zasadowej powstała baza do oznaczenia zawartości salicyny i jej pochodnych w przeliczeniu na salicynę, natomiast za pomocą hydrolizy

kwasowej przygotowano próby do oznaczenia zawartości kwasu salicylowego, kwercetyny oraz kemferolu.

W rozdrobnionej frakcji drewna oznaczono następujące parametry: wilgotność, ciepło spalania, wartość opałową, zawartość popiołu, węgla związanego, części lotnych, C, H, S, N, Cl, O

Na podstawie przeprowadzonych badań określono:

- plon świeżej oraz suchej dendromasy;
- plon kory i drewna;
- potencjalną wydajność związków bioaktywnych;
- wartość energetyczną plonu drewna oraz równoważnik węglowy.

Analizę statystyczną wyników badań wykonano w oparciu o program komputerowy STATISTICA 13.3.0 (TIBCO Software Inc.) za pomocą różnych narzędzi. Dla wszystkich badanych cech przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA), w której porównano analizowane genotypy na tle dwóch cykli zbioru biomasy.

Średnie arytmetyczne poddano porównaniu wielokrotnemu co umożliwiło wyznaczenie średnich, które różnią lub nie różnią się w sposób istotny. Na tej podstawie wydzielono dla większości analizowanych cech grupy jednorodne.

Ponadto za pomocą współczynnika korelacji r-Pearsona określono zależności pomiędzy badanymi właściwościami kory i drewna.

Metodyka, pomimo rozległych i wieloaspektowych badań nie budzi jakichkolwiek wątpliwości, a o determinacji Ocenianego w realizacji celu badań świadczy uzyskanie chemicznych standardów chemicznych populiny, salikortyny i salirepozydu.

Wyniki badań przedstawiono na 12 rysunkach i 44 tabelach, a rozdział dla ułatwienia czytania podzielono na 7 podrozdziałów. Ogrom uzyskanych wyników opisano syntetycznie unikając powtórzeń.

W rozdziale dyskusja wyników skonfrontowano rezultaty badań własnych z danymi literaturowymi. Dyskusja jest wielowątkowa, prowadzona w oparciu o najnowszą literaturę co dobrze świadczy o odczytaniu Autora.

Pracę kończy 15 wniosków mających swoje odzwierciedlenie w wynikach badań. Najważniejsze rezultaty badań dotyczą związków bioaktywnych występujących w korze, gdzie między innymi wykazano, że:

- największą sumaryczną zawartością oznaczonych substancji biologicznie czynnych charakteryzowała się kora topoli *P. balsamifera* UWM 2 i wynosiła ona średnio 118,39

mg g⁻¹ s.m., natomiast najmniejszą ilość substancji oznaczono średnio w korze wierzby *S. dasyclados* UWM 155 (0,32 mg g⁻¹ s.m.).

- spośród siedmiu substancji biologicznie czynnych oznaczonych w korze badanych genotypów, największą średnią zawartość stwierdzono dla salicyny (20,61 mg g⁻¹ s.m.), a następnie salikortyny (12,58 mg g⁻¹ s.m.). Istotnie mniejszy udział określono w przypadku kwasu salicylowego (2,74 mg g⁻¹ s.m.) oraz salirepozydu (2,51 mg g⁻¹ s.m.), natomiast zawartość kemferolu i kwercetyny została zidentyfikowana w śladowych ilościach (odpowiednio 0,046 mg g⁻¹ s.m. i 0,032 mg g⁻¹ s.m.). Z kolei zawartość populiny w suchej korze kształtowała się poniżej poziomu oznaczalności zastosowanej metody analitycznej
- suma potencjalnego plonu oznaczonych związków bioaktywnych była istotnie zróżnicowana, zarówno pod względem zmienności genetycznej, jak również w zależności od rotacji pozyskania biomasy.
- sumaryczna masa potencjalnie możliwych do pozyskania substancji wahała się w zakresie od zaledwie 0,59 kg ha⁻¹ rok⁻¹ w przypadku plonu kory z czteroletnich pędów *S. dasyclados* UWM 155 do 325,83 kg ha⁻¹ rok⁻¹ w plonie kory pozyskanej z jednorocznych pędów genotypu *P. maximowiczii* × *P. trichocarpa* Hybryda 275.
- największym potencjalnym średnim plonem oznaczonych substancji biologicznie czynnych charakteryzował się klon UWM 2 z gatunku *P. balsamifera*, którego łączna masa wynosiła średnio 295,23 kg ha⁻¹ rok⁻¹.
- najbardziej predysponowanym genotypem do pozyskiwania substancji biologicznie czynnych i dalszego wytwarzania bioproduktów, o najkorzystniejszym składzie naturalnych związków fenolowych była topola balsamiczna UWM 2, której kora zawierała średnio najwięcej oznaczanych substancji 118,39 mg g⁻¹ s.m. oraz charakteryzowała się ich największym potencjalnym plonem.
- genotypem łączącym najlepsze cechy użytkowe z bioproduktowego i energetycznego punktu widzenia był mieszaniec topoli *P. maximowiczii* × *P. trichocarpa* Hybryda 275, którego kora charakteryzowała się bogatym składem substancji bioaktywnych (średnia sumaryczna zawartość oznaczonych substancji wynosiła 68,47 mg g⁻¹ s.m.), Największą sumą potencjalnego plonu związków bioaktywnych w korze pozyskanej z jednorocznych roślin (325,83 kg ha⁻¹ rok⁻¹), wysokim plonem suchego drewna (średnio 8,48 Mg kg ha⁻¹ rok⁻¹) o dobrych właściwościach oraz wysoką wartością energetyczną drewna (średnio 165,2 GJ kg ha⁻¹ rok⁻¹) i równoważnika węglowego (6,6 kg ha⁻¹ rok⁻¹).

Z obowiązku recenzenta muszę zaznaczyć, że w pracy dostrzegłem drobne uchybienia natury redakcyjnej do których zaliczam między innymi określenie wydajności substancji biologicznie czynnych jako plon i w niektórych tabelach nadmierną dokładność danych liczbowych (powyżej znaczących 3 cyfr).

Przedstawiona do oceny praca doktorska mgr. inż. ŁUKASZA GILA pt.: „Zawartość substancji biologicznie czynnych oraz właściwości termofizyczne i skład elementarny dendromasy pozyskiwanej w krótkich rotacjach zbioru” spełnia wymogi stawiane tego typu pracom w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo i dlatego przedkładam wniosek do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę:

- **zakres pracy,**
- **wyjatkowo staranne opracowanie wyników,**
- **wysoki poziom merytoryczny i edytorski stawiam wniosek o jej wyróżnienie.**

Wrocław, 28 czerwca 2021 roku

Andrzej Kotecki