

dr hab. inż. Magdalena Zielińska, prof. UWM
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Geoinżynierii
Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska
ul. Słoneczna 45G, 10-709 Olsztyn
tel. 89 523 41 85
e-mail: magdalena.zielinska@uwm.edu.pl

Olsztyn, 19.06.2023

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Przemysława Liczbińskiego
pt. „Opracowanie nowej metody przetwarzania odpadów zielonych wraz z odpadami
kuchennymi na biogaz”
Promotor pracy: dr hab. inż. Sebastian Borowski, prof. uczelni

Podstawę formalną sporządzonej recenzji stanowiło pismo Dziekana Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej Pana prof. dr hab. inż. Grzegorza Wielgościńskiego, z dnia 27.04.2023, informujące o powołaniu mnie na recenzentkę rozprawy w nawiązaniu do Uchwały Rady do Spraw Stopni Naukowych PŁ w dyscyplinie nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia z dnia 25.04.2023.

Problem badawczy i główny cel pracy; ocena zasadności podjętej tematyki badawczej

Odpady zielone obejmują heterogeniczną biomasę lignocelulozową, która nie pochodzi z procesów rolniczych ani celowych upraw, a zatem powstaje głównie na obszarach miejskich. Średnio przyjmuje się, że na świecie rocznie powstaje 47 kg odpadów zielonych na osobę. Transformacja tych odpadów w wysokiej jakości bioprodukty i bioenergię poprzez odpowiednie technologie recyklingu spełnia wymóg biogospodarki, promuje przejście na gospodarkę o obiegu zamkniętym i jest zgodna z celami zrównoważonego rozwoju, takimi jak łagodzenie wpływu gospodarki odpadami na środowisko. Gospodarka odpadami zielonymi jest zdominowana przez odzysk materiałowy (kompostowanie) i późniejsze zastosowanie jako nawóz w rolnictwie. Odpady te służą również jako surowiec do produkcji energii. Wybór tych metod wynika z wysokiego udziału materii organicznej, niskiej zawartości lignin i niskiej zawartości metali ciężkich, co jest pozytywnym wskaźnikiem bezpiecznego recyklingu. Znane są również obiekty gospodarki odpadami, w których prowadzone jest jednocześnie kompostowanie i fermentacja beztlenowa odpadów zielonych. Ze względu na wysoki stosunek

C/N, niską zawartość biogenów (NPK zwykle poniżej 2% s.m.), odporność na biodegradację, długi rozruch reaktorów i długi wymagany czas zatrzymania, odpady zielone fermentuje się wspólnie z odpadami kuchennymi czy odchodami zwierząt. Udział kosubstratu w postaci odpadów zielonych wspomaga beztlenowy rozkład odpadów kuchennych, które charakteryzują się niskim stosunkiem C/N oraz limitującą proces szybką produkcją LKT i wolnego amoniaku. Z tego względu podjęcie przez Autora rozprawy badań nad kofermentacją odpadów zielonych i odpadów kuchennych jest słuszne, gdyż zmierza do zwiększenia produkcji biogazu z odpadów przez synergiczne działanie nad poprawą bilansu biogenów i rozcieńczeniem substancji inhibujących. Ze względu na wysoki udział materiałów lignocelulozowych w materii organicznej, obróbka wstępna odpadów zielonych w celu konwersji opornych na biologicznych rozkład polimerów, aby stały się bardziej dostępne do hydrolizy, jest istotnym działaniem w cyklu przeróbki tych odpadów. Ponadto, kluczowe jest zoptymalizowanie stosunku substratu do inokulum zapewniającego liczebność mikroorganizmów wymaganą do zapoczątkowania reakcji beztlenowych. Z tych powodów należy podkreślić zasadność podjętej przez Autora tematyki badawczej. Głównym celem pracy było określenie efektywności hipertermofilnej obróbki wstępnej odpadów zielonych i jej wpływu na efektywność kofermentacji tych odpadów z odpadami kuchennymi w warunkach termofilnych i mezofilnych. Postawiono hipotezę badawczą mówiącą, że wstępna obróbka hipertermofilna odpadów zielonych zwiększy produkcję biogazu. Dodatkowym celem było wyizolowanie bakterii ze środowisk termofilnych i hipertermofilnych, których właściwości hydrolityczne mogą wspomóc przetwarzanie odpadów zielonych na biogaz. Wyniki badań stanowią podstawę do dalszych prac nad waloryzacją odpadów zielonych i do rozwoju systemów scentralizowanego przetwarzania odpadów zielonych i kuchennych.

Struktura i treść rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska Pana mgr Przemysława Liczbińskiego jest spójnym tematycznie zbiorem pięciu następujących 2- i 3-autorskich artykułów naukowych opublikowanych w latach 2020-2022, których Doktorant jest pierwszym autorem o potwierdzonym przez współautorów 70% wkładzie pracy:

1. Liczbiński P., Borowski S., 2020, Hyperthermophilic treatment of grass and leaves to produce hydrogen, methane and VFA-rich digestate: preliminary results, *Energies* 13(11), 2814.
2. Liczbiński P., Borowski S., 2021, Effect of hyperthermophilic pretreatment on methane and hydrogen production from garden waste under mesophilic and thermophilic conditions, *Bioresource Technology* 335, 125264.
3. Liczbiński P., Borowski S., 2021, Co-digestion of kitchen waste with grass and leaves after hyperthermophilic pretreatment for methane and hydrogen production, *Energies* 14(18), 5880.
4. Liczbiński P., Borowski S., Nowak A., 2022, Isolation and use of *Coprothermobacter* spp. to improve anaerobic thermophilic digestion of grass, *Molecules* 27(14), 4338.

5. Liczbiński P., Borowski S., Cieciura-Włoch W., 2022, Anaerobic co-digestion of kitchen waste with hyperthermophilically pretreated grass for biohydrogen and biomethane production, *Bioresource Technology* 364, 128053.

Zbiór prac został poprzedzony 37-stronicowym opisem osiągnięć i charakterystyką dorobku naukowego Autora. Część ta zawiera streszczenie rozprawy w języku polskim i angielskim, wstęp i cel pracy wraz z hipotezą badawczą, zakres pracy przedstawiony w 5 rozwiniętych punktach, syntetyczny opis wyników badań, wnioski oraz spis 39 pozycji literatury anglojęzycznej.

W badaniach przedstawionych w publikacji 1 (P1) testowano warunki wstępnej obróbki hipertermofilnej trawy i liści w zależności od obecności inokulum, stosunku inokulum do substratu oraz stosunku substratu do wody. Wykazano, że inkubacja trawy w 70°C, a liści w 80°C dała najwyższą produkcję LKT. Odnotowano odmienne dla trawy i liści uwalnianie azotu amonowego, co wpłynęło na buforowanie powstających LKT i pH. W 70°C w seriach z użyciem inokulum uzyskano niewielką ilość metanu (liście) i wodoru (trawa i liście). Wskazanie warunków operacyjnych hipertermofilnej obróbki wstępnej odpadów zielonych powodującej upłynnienie substratu oraz uwolnienie kwasów organicznych i cukrów prostych dało wytyczne do dalszych badań nad produkcją biogazu, zaprezentowanych w kolejnych publikacjach.

W badaniach przedstawionych w publikacji 2 (P2) określano potencjał biogazowy trawy i liści po wstępnej obróbce hipertermofilnej w procesach termo- i mezofilnej fermentacji w zależności od obecności inokulum podczas wstępnej obróbki. Największą produkcję biogazu uzyskano, gdy stosunek wagowy substratów do inokulum podczas fermentacji w 55°C wynosił 1:2, a hipertermofilna obróbka wstępna trawy i liści była przeprowadzana w 70°C bez dodatku inokulum; większość biogazu stanowił metan. Analiza metagenomiczna biomasy wykazała obecność termo- i hipertermofilnych mikroorganizmów o właściwościach hydrolitycznych oraz metanogennych.

W badaniach przedstawionych w publikacji 3 (P3) określano wydajność produkcji biogazu z mieszaniny odpadów zielonych po wstępnej obróbce hipertermofilnej i odpadów kuchennych. Udowodniono, że kofermentacja odpadów zielonych i kuchennych zwiększyła wydajność produkcji wodoru. Najwyższą produkcję metanu i wodoru uzyskano, gdy obróbka wstępna była prowadzona przez 3 dni w 70°C, a kofermentacja w 55°C z 25% udziałem odpadów zielonych.

W publikacji 4 (P4) analizowano wpływ bakterii hydrolitycznych izolowanych ze środowisk fermentacji beztlenowej i wprowadzanych do odpadów zielonych na wydajność produkcji biogazu. Zidentyfikowano bakterie z rodzaju *Coprothermobacter spp.*, których

dodatek do trawy po obróbce wstępnej zwiększył produkcję metanu i wodoru, odpowiednio 3- i 2-krotnie.

W badaniach przedstawionych w publikacji 5 (P5) optymalizowano proces hipertermofilna obróbka wstępna odpadów zielonych – fermentacja beztlenowa mieszaniny odpadów zielonych i kuchennych w testach półciągłych. W warunkach termofilnych kofermentacja skutkowała ponad 2-krotnym wzrostem wydajności produkcji metanu w porównaniu do monofermentacji. Analiza metagenomiczna biomasy wskazała dominujące zbiorowiska mikroorganizmów biorących udział w fermentacji.

Dorobek naukowy składający się na rozprawę doktorską Pana mgr Przemysława Liczbińskiego potwierdza istotne znaczenie podjętej tematyki badawczej. Publikacje składające się na rozprawę doktorską zostały wydane w uznanych czasopismach o IF od 3,004 do 11,889 (łącznie IF 34,961, 700 punktów MEiN). O obecności prac w międzynarodowym obiegu naukowym świadczy fakt, że mimo niedawnego opublikowania 4 prace były już cytowane łącznie 20 razy (baza Scopus, stan na 15.06.2023).

Na pozostałą aktywność naukową mgr Przemysława Liczbińskiego składają się trzy publikacje naukowe w czasopismach o IF od 2,086 do 9,600, cytowane łącznie 132 razy (baza Scopus, stan na 15.06.2023) oraz jedno wystąpienie ustne na konferencji krajowej.

Ocena rozprawy doktorskiej

Za najważniejsze osiągnięcia rozprawy doktorskiej Pana mgr Przemysława Liczbińskiego uważam:

- wskazanie warunków technologicznych obróbki wstępnej odpadów zielonych i kofermentacji odpadów zielonych i kuchennych, w których uzysk metanu lub wodoru jest najwyższy,
- określenie warunków, w których w biomase rozwijają się termo- i hipertermofilne bakterie o właściwościach hydrolitycznych wobec biomasy lignocelulozowej oraz wskazanie mikroorganizmów zdolnych do produkcji metanu w warunkach hipertermofilnych.

Pozytywnej merytorycznej oceny rozprawy doktorskiej nie obniżają następujące pytania i uwagi, które mogą stanowić początek dyskusji nad zagadnieniami prezentowanymi w pracy:

- odnośnie P1:

- a) Co mogło być powodem odmiennego wpływu temperatury na obróbkę trawy i liści?
- b) Autor przypisuje zmniejszony uzysk wodoru podczas przeróbki trawy hamującemu działaniu np. związków fenolowych. Czy obecność tych związków mogła mieć również wpływ na zahamowanie metanogenezy?

c) Dlaczego w warunkach hipertermofilnych, gdzie spodziewano się zahamować metanogenezę, odnotowano produkcję metanu? Wyjaśniono to obecnością inokulum, z drugiej strony podano, że z samego inokulum nie powstał biogaz.

d) Ostatnie zdanie wniosków w P1: dlaczego uznano trawę po wstępnej obróbce za lepszy substrat niż liście, skoro więcej metanu i wodoru uzyskano z liści?

- odnośnie P2:

a) Jaki był cel dodatku inokulum do substratu przed obróbką wstępną, podczas gdy inokulum wprowadzano również do odpadów zielonych po obróbce, a przed fermentacją? Czy zwiększanie w ten sposób masy odpadów, które będą poddawane warunkom hipertermofilnym, ma uzasadnienie, jeśli chodzi o nakłady energetyczne?

b) Jak można wytłumaczyć fakt, że produkcja biogazu z liści była niższa niż z trawy, podczas gdy na podstawie badań wstępnych (P1) sformułowano odwrotny wniosek?

c) Czy analizie metagenomicznej poddawano samo inokulum?

d) Dlaczego wymienione na str. 21 rodzaje *Caldicellulosiruptor*, *Thermovenabulum* i inne zostały nazwane „godnymi uwagi”?

e) W P2 rozdział 3.4.1. ma tytuł „Bacterial diversity”. Jakie wskaźniki bioróżnorodności stosowano?

- odnośnie P3:

a) Jako wniosek końcowy podano, że kofermentacja trawy i liści z 75% udziałem odpadów kuchennych dała najwyższą wydajność metanu i wodoru, podczas gdy opis wyników wskazuje, że najwyższą produkcję metanu (387 ml/g s.m.o.) odnotowano, gdy substratem były liście bez dodatku odpadów kuchennych. Jaki był zatem wpływ dodatku odpadów kuchennych i jak udowodnić zakładane uzyskanie komplementarności składu mieszaniny substratów pod kątem zwiększenia efektywności fermentacji?

- odnośnie P4:

a) Jak można porównać efektywność produkcji metanu i wodoru w przypadkach, gdy fermentacji poddawano odpady zielone zaszczerpione osadem z komór fermentacyjnych oraz gdy odpady zielone zaszczerpiano wyizolowanym *Coprothermobacter spp.*?

b) Jakie są trudności czy wyzwania bioaugmentacji w beztlenowej przeróbce odpadów?

- odnośnie P5:

a) Jak wyjaśnić wyższą produkcję metanu w warunkach mezofilnych, gdy fermentacji poddawano samą trawę, bez dodatku odpadów kuchennych niż podczas kofermentacji?

b) Optymalizacja warunków technologicznych wskazała obróbkę wstępną odpadów zielonych w 70°C i fermentację termofilową w 55°C jako wariant, w którym uzysk

biogazu był najwyższy. Czy, posiadając wyniki eksperymentu w systemie półciągłym, podjęto próbę oszacowania bilansu energetycznego?

- Odnosząc się do wszystkich eksperymentów: czy stosowano jedynie inokulum jako próbkę kontrolną? Brak wyników dotyczących samego inokulum pozwala co prawda porównywać potencjał biogazowy poszczególnych substratów w różnych warunkach eksploatacyjnych, ale na pewno nie wszystkie eksperymenty były wykonane z tym samym inokulum.
- W przypadku badań nad degradacją materiałów roślinnych cenne byłoby, w celach porównawczych z innymi badaniami, określanie wpływu obróbki wstępnej na zawartość włókien celulozy, hemicelulozy i lignin w odpadach.
- Kilukrotnie w pracy wspomniano, że zaproponowana koncepcja technologiczna nie tylko zwiększy produkcję biogazu z odpadów, ale również poprawi stabilność procesu. Jakiego kryterium użyto w celu oceny stabilności procesu?
- Jeśli chodzi o zbiórkę trawy w gospodarstwach domowych, to praktyce jest ona zbierana do worków z tworzywa sztucznego i najwcześniej po kilku dniach trafia do miejsca przeróbki w stanie zapoczątkowanego zagniwania. Jaki wpływ może mieć ten fakt na wyniki, które uzyskano, wykorzystując trawę, którą bezpośrednio po zbiorze wysuszono i zmielono?
- W pracy zaproponowano koncepcję wspólnej fermentacji odpadów zielonych i kuchennych. Rozpatrując możliwość wdrożenia technologii do skali technicznej i biorąc pod uwagę sezonowość zbiórki odpadów zielonych, jak przewiduje się funkcjonowanie biogazowni? Czy uwzględnia się magazynowanie substratu?
- Z wyjątkiem P4, brakuje informacji o metodach statystycznych umożliwiających weryfikację hipotezy badawczej.

Autor nie ustrzegł się następujących nieścisłości i niesłusznych sformułowań, a także usterek edycyjnych:

- proces hipertermofilny, mający na celu rozbicie struktur lignocelulozowych liści i trawy, czasem jest nazywany wstępną obróbką, czasem pierwszym stopniem fermentacji beztlenowej, czasem wstępnym stopniem hipertermofilnym, a czasem jest mowa o „hipertermofilnej fermentacji beztlenowej”, podczas gdy tylko obróbka wstępna była realizowana w warunkach hipertermofilnych. Brak ujednoliconej nomenklatury utrudnia czytanie rozprawy.
- Brak informacji (np. rys. 2, str. 17) o tym, czy stosunek inokulum do substratu był wagowy czy objętościowy.
- Urwane zdania (str. 18, ostatni akapit).
- „5°C” zamiast „55°C” (str. 24).

- Niefortunne zwroty czy skróty myślowe, np. „liczba populacji na Ziemi” (str. 7), „przy temperaturze 70°C” zamiast „w temperaturze 70°C”, „produkcja wodoru była wyższa w seriach z trawą” (str. 25), „produkcja wodoru dla fermentacji trawy” (str. 27).
- P3, w nagłówku tabeli 3 powinno być prawdopodobnie „KW/GW” zamiast „GW/KW”.
- na rys. 4 (str. 23) powinno być „25/75%” zamiast „25/50%”.
- Mam wątpliwości co do nazywania odpadów zielonych po wstępnej obróbce hipertermofilnej pofermentem czy mieszaniną pofermentacyjną. Bardziej odpowiednie jest określenie „hydrolizat”, jak użyto na str. 20.
- Rysunki. 3 i 4 w P2 prawdopodobnie pokazują względną liczebność mikroorganizmów, jednak brakuje jednostki na osi Y. Podobnie brak jednostki na osi Y na rys. 5 i 6 utrudnia analizę wyników.
- Wniosek 1: Hipoteza badawcza może być potwierdzona lub odrzucona, a nie udowodniona.

Podsumowanie

Podsumowując moją opinię stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr Przemysława Liczbińskiego stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Autor wykazał się znaczną wiedzą teoretyczną dotyczącą waloryzacji odpadów oraz umiejętnością projektowania badań naukowych i interpretacji ich wyników. Na podkreślenie zasługuje integracja badań technologicznych i molekularnych w celu rozwiązania problemu naukowego. Uzyskane wyniki wnoszą istotny wkład do rozwoju dyscypliny inżynieria chemiczna oraz są podstawą do udoskonalania technologii wspólnego przetwarzania odpadów zielonych i kuchennych w skali technicznej.

Wniosek końcowy

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska całkowicie spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Zwracam się z wnioskiem o dopuszczenie Pana mgr Przemysława Liczbińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Magdalena Liczbińska