



Wrocław, dnia 24.11.2014

Prof.dr hab. inż. Józef Szlachta
Jozef.szlachta@up.wroc.pl

Ocena pracy doktorskiej mgr Sławomira Jabłońskiego
pt. „Modelowanie procesu fermentacji metanowej
z wykorzystaniem ADM1”

Wstęp

W ostatnich kilku latach zauważa się dynamiczny rozwój biogazowni rolniczych na świecie i w Polsce, postrzeganych jako jednostki bioenergetyczne umożliwiające utylizację odpadów rolniczych a zarazem produkujących energię elektryczną i ciepło w układach kogeneracji. Są one postrzegane jako bardzo korzystne dla systemu energetycznego kraju jednostki bioenergetyki rozproszonej. Prawidłowe funkcjonowanie instalacji biogazowych wymaga jednak dobrego rozpoznania czynników determinujących przebieg złożonych procesów biochemicznego rozkładu substratów biogazowych stosowanych w tego typu biogazowniach. Zróżnicowanie substratów a także ciągle stosunkowo niskie rozpoznanie procesów rozkładu komponentów substratów jest wręcz konieczne dla prawidłowego oszacowania aktywności mikroorganizmów podczas fermentacji, zarówno na etapie rozruchu tychże instalacji jak i podczas pracy w przepływie. Należy podkreślić fakt ścisłego powiązania tempa rozkładu materii i stabilności produkcji biogazu co wymaga równowagi pomiędzy poszczególnymi etapami pośrednimi. Sytuacja taka może oznaczać nadmierne nagromadzenie produktów kwaśnych lub zasadowych co w konsekwencji może prowadzić do zahamowania produkcji biogazu. Wskazuje to na dużą wrażliwość ekosystemów na warunki i parametry fermentacji i utrudnia właściwą predykcję produkcji biogazu w instalacjach biogazowych.

Pan mgr Sławomir Jabłoński wykonał pracę doktorską pt. „Modelowanie procesu fermentacji metanowej z wykorzystaniem ADM1” pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Marcina Łukaszewicza, która doskonale wpisuje się w tę problematykę.

Praca dotyczy ważnych aspektów modelowania procesów fermentacji beztlenowej, zwłaszcza mając na uwadze, że fermentacja ta stanowi złożony, wieloetapowy proces rozkładu mikrobiologicznego materii organicznej. Mając powyższe na uwadze Autor pracy podjął ww. temat pracy, której celem było opracowanie narzędzi pozwalających na dostarczenie danych wejściowych wymaganych do symulowania procesu fermentacji metanowej. Dane te obejmowały charakterystykę stanu początkowego złoża metanogenne oraz zestaw parametrów opisujących rozkład wybranych substratów.

Autor do modelowania procesu fermentacji wykorzystuje modele matematyczne ADM1 (Anaerobic Digestion Model No.1), zakładając, że zastosowanie modelowania matematycznego pozwoli na określenie warunków granicznych, dla których produkcja biogazu będzie wciąż utrzymana, ze świadomością, że poprawność symulacji jest

warunkowana dokładnością wyznaczenia zmiennych opisujących stan początkowy układu oraz parametrów modelu.

Ocena pracy

Praca liczy 129 stron wydruku komputerowego i jest napisana jasnym i zrozumiałym językiem. Schematy postępowania, wzory są czytelne i wykonane starannie. Zawartość pracy podzielono na sześć rozdziałów głównych z właściwą proporcją pomiędzy rozdziałami, przy czym część stanowiąca rozwiązanie problemu naukowego wraz z dyskusją stanowi ok. 2/3 zawartości pracy, podczas gdy część teoretyczna – przeglądowa obejmuje 44 strony. W części przeglądowej zawarto uzasadnienie podejmowanego problemu, dokonano charakterystyki fermentacji beztlenowej. Wiele miejsca poświęcono biochemicznym przemianom materii organicznej podczas fermentacji, zwracając uwagę na znaczenie mikroorganizmów w tym procesie, ich grupy oraz aktywność w procesie. Zasadniczą część pracy Autor poświęcił modelowaniu procesów fermentacji beztlenowej z wielopłaszczyznową charakterystyką procesów uwzględnianych w modelu AMD1, a także na możliwości modyfikacji modelu, którą (nie wiem czy słusznie) Autor nazwał optymalizacją?.

Na podkreślenie zasługuje precyzyjnie omówione postępowanie w budowie i optymalizacji modelu matematycznego, ze szczegółowym opisaniem kolejnych kroków modelowania począwszy od wyboru modelu aż do jego walidacji, przy czym duży nacisk położono na omówienie budowy i funkcjonowania modelu AMD1 w aspekcie jego przydatności do modelowania procesów beztlenowego rozkładu materii organicznych. Mając na uwadze fakt złożoności problemu fermentacji beztlenowej pozytywnie należy ocenić zastosowanie modelu AMD1 do opisu fermentacji masy organicznej ponieważ w modelu tym uwzględnia się wiele procesów biochemicznych, procesy transferu gazów pomiędzy fazami płynu i gazu oraz procesy dysocjacji związków chemicznych.

W części przeglądowej Autor opisuje metody badawcze niezbędne do wyznaczenia wartości zmiennych dynamicznych opisujących proces metanogenezy. Charakteryzuje parametry substratów, biogazu i inne parametry procesu jak pH, LKT oraz sposoby ich wyznaczania oraz wielkość populacji mikroorganizmów poprzez opisanie ilości mikroorganizmów, wyznaczenie specyficznej aktywności metanogennej czy też poprzez mikroskopowe obserwacje mikroorganizmów.

Na uwagę zasługuje konkluzja części przeglądowej, która moim zdaniem stanowi zdefiniowanie problemu badawczego w postaci stwierdzenia, że „Opracowanie techniki pozwalającej na szybką weryfikację symulacji zmian w populacji mikroorganizmów byłoby znaczącym krokiem w badaniu i modelowaniu fermentacji metanowej prowadzonej w zmieniających się warunkach”. Pozwoliłoby to na poprawienie trafności symulacji układów nie posiadających dobrze rozwiniętej populacji mikroorganizmów (np. podczas rozruchu biogazowni).

Ze względu na złożoność procesu fermentacji wybór modelu AMD1 zasługuje na uznanie, ale zarazem przed Autorem stawia duże wyzwania metodologiczne i analityczne. Autor zauważa także i analizuje konieczność dostosowania modelu do parametrów substratów stosowanych w biogazowniach.

Cele pracy zdefiniowano w postaci sześciu punktów jak:

1. Uruchomienie stanowiska badawczego pozwalającego na prowadzenie procesu fermentacji metanowej w skali laboratoryjnej w warunkach zbliżonych do instalacji przemysłowych.
2. Ocena przydatności wybranych substratów jako potencjalnych surowców do produkcji biogazu.

3. Wyznaczenie parametrów charakteryzujących badane surowce pozwalających na symulowanie procesu fermentacji z wykorzystaniem modelu ADM1.
4. Określenie grup mikroorganizmów o kluczowym znaczeniu podczas procesu rozruchu i załamania procesu fermentacji.
5. Opracowanie prostej metody pomiarowej pozwalającej na wyznaczenie wartości
6. zmiennych opisujących dane grupy mikroorganizmów na potrzeby modelowania procesu fermentacji z wykorzystaniem ADM1.
7. Określenie taksonomicznej przynależności badanych grup mikroorganizmów.

Metody analityczne dotyczące sposobu oznaczania zawartości ważnych dla procesu rozkładu materii parametry jak zawartość białka, lipidów, lignin, poszczególnych rodzajów włókna oraz budowę stanowiska badawczego wraz ze sposobem przeprowadzenia eksperymentów badawczych omówiono precyzyjnie i kompleksowo. Autor oprócz omówienia klasycznych metod analiz o prowadzenia doświadczeń fermentacyjnych, zwraca także na potrzebę badania aktywności i składu populacji mikroorganizmów występujących w złożu metanogennym z możliwością wykorzystania techniki biologii molekularnej oraz cyfrowej analizy obrazu.

Na szczególną uwagę zasługuje część dotycząca modelowania wyników eksperymentalnych oraz wyznaczania danych wejściowych do modelu, gdzie za podstawę przyjęto zmodyfikowaną metodologię opracowaną przez Kocha i współpracowników (Koch et al., 2010). Zasadniczo metoda jest oparta na wyznaczeniu ilości węglowodanów na potrzeby modelu, wyliczonej jako różnica pomiędzy całkowitą ilością substancji organicznych w substracie (zawartość substancji lotnych) a sumaryczną zawartością lipidów, ligniny oraz białka. Badaniem składu objęto substraty jak: odchody bydłowe, odsiane odchody bydłowe, makuchy nasion roślin oleistych (*Brassica napus*, *Linum usitatissimum* oraz *Jatropha curcas*), łuski nasion słonecznika (*Helianthus annuus*), serwatkę w proszku oraz frakcję glicerynową powstałą w procesie transestryfikacji oleju rzepakowego (traktowana jako frakcja glicerynowa). Do modelowania procesu fermentacji metanowej wykorzystano model oparty na ADM1. Model zaimplementowano w środowisku Octave 3.6.4. Do rozwiązywania zestawu równań różniczkowych wykorzystano solver *lsode*. Opracowano strukturę równań zaimplementowanych w modelu, wartości stałych kinetycznych oraz wartości współczynników stechiometrycznych. W tabelach zawartych w załączniku zaprezentowano równania wykorzystywane do obliczania odczynu środowiska, ciśnienia gazów oraz współczynnika inhibicji wynikającego z odczynu środowiska.

Uwieńczeniem prowadzonych badań jest rozdział wyniki badań, gdzie Autor prezentując uzyskane wyniki z dużą skrupulatnością a dokonuje wnikliwej ich analizy, komentuje ich znaczenie dla modelu i procesu fermentacji metanowej.

Oceniając wartość merytoryczną pracy należy stwierdzić, że prezentuje ona ambitne podejście Autora do osiągnięcia założonego celu oraz wnosi wiele elementów poznawczych do złożonej problematyki dezintegracji i hydrolizy substratów biogazowych. Niewątpliwie Autor przeprowadzając szereg doświadczeń i analiz rozwiązał problem naukowy polegający na „zweryfikowaniu technik analitycznych pozwalających na szybką weryfikację symulacji zmian w populacji mikroorganizmów i modelowaniu fermentacji metanowej prowadzonej w zmieniających się warunkach” – co jest wymagane wobec rozprawy doktorskiej. Na szczególne podkreślenie zasługuje zastosowanie w prowadzonych doświadczeniach nowoczesnych metod pomiarowych z dogłębną analizą i interpretacją uzyskanych wyników oraz wyjaśnienie przydatności modelowania matematycznego ADM1 do opisania złożonych zjawisk fermentacji substratów zarówno na poziomie rozruchu fermentora jak i podczas fermentacji w przepływie. Potwierdzeniem tego są dogłębne badania dezintegracji i hydrolizy nie tylko substratów ale także rozkład biochemiczny ich komponentów w kierunku produkcji metanu.

Do oryginalnych osiągnięć Autora, szczególnie cennych dla poznania procesów zachodzących podczas fermentacji metanowej substratów należy zaliczyć następujące dokonania Autora:

- opracowanie kinetyki fermentacji substratów w trybie wsadowym oraz optymalizacja stałych kinetycznych na podstawie danych doświadczalnych wraz z wyznaczeniem wartości zoptymalizowanych stałych dezintegracji i hydrolizy dla wybranych substratów,
- modelowanie zmian populacji mikroorganizmów w złożu metanogennym przy wykorzystaniu techniki FISH - analizy mikroskopowe preparatów znakowanych sondami oligonukleotydowymi połączonymi ze znacznikiem fluorescencyjnym,
- zastosowanie komputerowej analizy obrazu do badań składu populacji mikroorganizmów budujących złożę - eksperyment pozwolił na wykazanie, że komórki hybrydujące stanowiły ok. 20% całkowitej populacji w obu badanych przypadkach. Ważne dla fazy metanolizy archeony należące do rodzaju *Methanosaeta* w przypadku hodowli prowadzonej na maślanie sodu stanowiły około 60% całkowitej populacji archeonów. Autor wykazał zróżnicowany wpływ pożywki, gdyż przy zastosowaniu propionianu sodu *Methanosaeta* stanowiły około 33% populacji archeonów. Komórki bakterii *Syntrophomonas*, utleniających kwas masłowy pojawiły się jedynie w preparacie z hodowli prowadzonej na maślanie sodu, gdzie stanowiły około 63% populacji bakterii. Komórki bakterii *Syntrophus* obserwowano jedynie w przypadku hodowli prowadzonej na soli sodowej kwasu propionowego. Bakterie te stanowiły jedynie około 10% komórek bakteryjnych,
- wykazanie, że substraty takie jak: serwatka, makuch lniany i rzepakowy oraz frakcja glicerynowa zapewniały wysoką wydajność produkcji biogazu porównywalną z roślinami energetycznymi, co oznacza, że ich wykorzystanie w biogazowniach rolniczych jako produktów odpadowych z przemysłu przetwórczego może być konkurencyjne względem standardowego substratu jakim jest kiszonka z kukurydzy,
- zaprezentowana w pracy procedura modelowania pozwoliła na wyznaczenie parametrów charakteryzujących skład oraz proces dezintegracji i hydrolizy wybranych substratów przeznaczonych do prowadzenia fermentacji metanowej- wykazanie odmienności postępowania dla substratów o krótkim HRT,
- zastosowanie nowoczesnego podejścia do oszacowania wartości zmiennych dynamicznych charakteryzujących ilość mikroorganizmów utylizujących kwasy organiczne na podstawie krzywych produkcji biogazu uzyskanych w testach SAA. Zaletą metody jest jej przydatność do każdego materiału do szczepienia niezależnie od jego pochodzenia.

Uwieńczeniem przeprowadzonych eksperymentów badawczych są wnioski, które wyjaśniają przyjęte cele pracy.

Do uwag o charakterze dyskusyjnym zaliczam pewne niedostatki jakie wyniosłem z czytania pracy pod względem aplikacyjny jej wyników. Moim zdaniem Autor posiadając tak doskonały materiał badawczy i wiele wyników poznawczych odnośnie dezintegracji i hydrolizy komponentów substratów – podczas podsumowania ale także na etapie modelowania - nie pokusił się na uogólnienie przydatności badanych substratów do produkcji biogazu. Znając mechanizm dezintegracji i hydrolizy komponentów substratów - cennym dla pełnej aplikacji uzyskanych wyników badań byłoby podanie np. relacji: substrat-model rozkładu - czas HRT- uzysk biometanu.

Pomimo, że praca wykonana jest z należytą starannością występuje w niej także kilka drobnych błędów i nieścisłości o charakterze formalnym.

- Moim zdaniem zasadniczym brakiem pracy jest brak oznaczeń użytych w pracy,
- Str.63 - Przy oznaczeniu składowej X_{pol} we wzorze 2.2 mylnie podano dwukrotnie ilość białek ... ilość białek (X_{li}), białek (X_{pr}),

- Str. 66 - Rozdział 4.1.1 Analiza składu wybranych substratów - Wątpliwości budzi zamiana pojęć - substrat zawiera składniki (komponenty) - a więc analiza składu substancji ...czy analiza substancji zawartych w substratach jako pożywki do produkcji biogazu???
- Str.80 - na rysunku 4.4A błędnie opisano oś rzędnych ...Szybkość produkcji ... a nie Czybkość,
- Str. 80 - Błąd w nazwie Rysunek 4.4 a nie ...Rysunke 4.4?,
- Str.103 - Czy wartość współczynnika determinacji R^2 świadczy o wysokiej istotności statystycznej obserwowanych zmian aktywności kwasu propionowego????
- Str.106 - i w wielu miejscach pracy Autor używa zamiennie pojęcia substratów jak (makuchy, serwatka, odchody itd.) oraz substraty w postaci kwasu octowego czy propionowego – moim zdaniem należy rozróżniać pojęcie substratu i jego komponentu jako pożywki zastosowanej dla celów doświadczalnych,
- Str.106 - jak rozumieć pojęcie model po wstępnej kalibracji – czy Autor miał na myśli model po optymalizacji?? – określenie takie pojawia się kilka wierszy dalej???

Przytoczone uchybienia formalne i błędy w niczym nie obniżają wysokiej oceny pracy i jej walorów poznawczych. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wnosi wiele cennych informacji do problematyki poznania procesu fermentacji metanowej i jego modelowania matematycznego z użyciem modelu AMD1. Oryginalne osiągnięcia Autora polegają na wyjaśnieniu wielu zależności dotyczących procesu dezintegracji i hydrolizy komponentów substratów a także ustaleniu wielkości populacji bakterii utleniających kwas propionowy oraz archeony acetoklastyczne, co jest wystarczające do prowadzenia symulacji np. procesu rozruchu bioreaktora metanowego. Oprócz dobrej pracy doktorskiej mgr Sławomir Jabłoński posiada także dobry dorobek publikacyjny polegający na opublikowaniu dwóch oryginalnych prac w czasopiśmie z IF oraz siedmiu prac oryginalnych i monografii opublikowanych w innych czasopiśmie

Wniosek końcowy

Podsumowując dorobek naukowy oraz uzyskane wartościowe wyniki pracy doktorskiej pt. „Modelowanie procesu fermentacji metanowej z wykorzystaniem ADM1” wnoszące nowe elementy poznawcze stwierdzam, że mgr Sławomir Jabłoński spełnia ustawowe wymagania do uzyskania stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii. Wnoszę zatem do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Go do dalszej części przewodu doktorskiego. Równocześnie biorąc pod uwagę wysokie walory poznawcze pracy, po prawidłowym przebiegu obrony pracy, wnoszę do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o wyróżnienie pracy.

