

**POLITECHNIKA WARSZAWSKA**  
**Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej**



dr inż. Katarzyna Dąbkowska-Susfał

**Autoreferat**

Załącznik nr 3

do wniosku w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych  
w dyscyplinie inżynieria chemiczna

Warszawa 2024 r.

## Spis treści

1. Informacje o wnioskodawcy .....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne - z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej. ....	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych .....	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego .....	4
4.2. Publikacje naukowe oraz inne prace będące podstawą wniosku o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.....	4
4.3. Opis kariery naukowej.....	9
4.3.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora .....	9
4.3.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.....	10
4.4. Omówienie celu naukowego oraz uzyskanych wyników w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	13
4.4.1. Wprowadzenie do tematyki osiągnięcia naukowego.....	13
4.4.2. Cel naukowy i zakres prowadzonych badań.....	16
4.4.3. Omówienie osiągniętych wyników i potencjału ich aplikacyjności .....	17
4.4.4. Podsumowanie i najważniejsze osiągnięcia .....	42
4.4.5. Bibliografia.....	44
4.5. Inne osiągnięcia naukowe.....	46
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	46
5.1. Współpraca z zagranicznymi instytucjami naukowymi .....	47
5.2. Współpraca z innymi ośrodkami naukowymi w Polsce .....	48
5.3. Współpraca międzywydziałowa realizowana wewnątrz Politechniki Warszawskiej .....	49
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	50
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne .....	50
6.1.1. Zajęcia dydaktyczne prowadzone w Politechnice Warszawskiej .....	50
6.1.2. Zajęcia dydaktyczne prowadzone na innych uczelniach .....	51
6.1.3. Promotorstwo prac dyplomowych.....	51
6.2. Osiągnięcia organizacyjne.....	52
6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę .....	52

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.....	53
7.1. Otrzymane nagrody, wyróżnienia i stypendia naukowe .....	53
7.2. Udział w wydarzeniach podnoszących kwalifikacje zawodowe .....	53

### 1. Informacje o wnioskodawcy

Imię i nazwisko: Katarzyna Dąbkowska-Suszał  
Nazwisko rodowe: Dąbkowska  
Afilacja: Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej,  
Politechnika Warszawska  
ORCID: 0000-0003-0532-2888  
Scopus ID: 8608097200

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne - z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

#### **Doktor nauk technicznych**

Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, 28.04.2010 r.

Dyscyplina: inżynieria chemiczna

Tytuł rozprawy doktorskiej:

Wykorzystanie katalizy enzymatycznej do rozdzielania enancjomerów kwasu migdałowego (rozprawa wyróżniona przez Radę Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW)

Promotor: prof. dr hab. inż. Krzysztof W. Szewczyk

#### **Magister inżynier**

Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, 15.07.2003 r.

Kierunek: Biotechnologia

Specjalność: Technologia związków biologicznie czynnych i kosmetyków

Tytuł pracy dyplomowej:

Synteza i próby rozdziału mieszanin racemicznych pochodnych N-(3-fenoksy-2-hydroksypropylo) hydroksyloaminy.

Promotor: prof. dr hab. inż. Jan Pleniewicz

Świadectwo ukończenia studiów podyplomowych w zakresie Rolnictwa

Wyższa Szkoła Agrobiznesu w Łomży, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, 14.06.2010 r.

### 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

15.12.2010 r. – obecnie	Politechnika Warszawska Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej Zakład Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej adiunkt badawczo-dydaktyczny
1.10.2008 r. – 14.12.2010 r.	Politechnika Warszawska Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej Zakład Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej asystent
1.09.2007 r. – 30.09.2008 r.	Politechnika Warszawska Międzywydziałowe Centrum Biotechnologii asystent

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.**

#### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

*Metody intensyfikacji procesów (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej*

#### 4.2. Publikacje naukowe oraz inne prace będące podstawą wniosku o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

Osiągnięciem naukowym, o którym mowa w art. 219 ust. 1, pkt.2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.), jest cykl 12 powiązanych tematycznie artykułów naukowych (**H1-H12**) opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Report (JCR)*, 2 artykuły opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych spoza listy *JCR* (**H13, H14**), 1 rozdział w recenzowanej monografii (**H15**) oraz 1 patent (**H16**). Wszystkie włączone do cyklu prace powstały po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora. W przedstawianym monotematycznym cyklu jestem jedynym autorem 4 prac, w kolejnych 6 pracach swój udział uważam za dominujący (tj. przekraczający 70%) i tym samym jestem w nich autorem wiodącym. W 8 artykułach naukowych jestem autorem korespondencyjnym, a w 10 pracach jestem pierwszym autorem. W pracach, które ukazały się do 2019 r. występuję jako Katarzyna Dąbkowska, a w pracach późniejszych jako Katarzyna Dąbkowska-Susfał.

W poniższym zestawieniu przedstawione zostały wartości wskaźnika oddziaływania *Impact Factor (IF)* z roku opublikowania danego artykułu. Dla prac opublikowanych w latach 2020-2024 liczbę punktów MEiN podano według Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych obowiązującego w roku opublikowania. Z uwagi na wprowadzane przez Ministerstwo odpowiedzialne za naukę i szkolnictwo wyższe zmiany zasad punktowania czasopism w roku 2019 i w latach kolejnych, dla prac opublikowanych przed 2019 rokiem podano liczbę punktów MNiSzW zgodnie z obowiązującą w roku opublikowania oraz dodatkowo liczbę punktów według Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31 lipca 2019 r. Dla każdej pozycji określony został mój autorski wkład w powstanie publikacji. Poprzez umieszczenie przy nazwisku ikony ✉ wskazany został autor korespondencyjny.

#### Wykaz powiązanych tematycznie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe:

[H1] K. Dąbkowska-Susfał✉ (2023) *Influence of Tween 80 on enzymatic hydrolysis of corn straw integrated with membrane separation*. *Industrial Crops and Products* 203, 117132. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.117132.

IF<sub>2023</sub> = 5,6      MEiN<sub>2023</sub> = 200 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: jedyny autor publikacji.

Mój udział procentowy w powstanie publikacji H1: 100%

- [H2] **K. Dąbkowska-Susfał**<sup>✉</sup>, A. Połgrabska, P. Sobieszuk, A. Kołtuniewicz (2024) *Mathematical modeling of the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic waste in membrane bioreactor considering transport phenomena*. Chemical Engineering Research and Development 208, 656-665. DOI: 10.1016/j.cherd.2024.07.034.

IF<sub>2024</sub> = 3,7      MEiN<sub>2024</sub> = 140 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań eksperymentalnych, dobór metodyki badawczej, zaplanowanie i wykonanie głównej części eksperymentów dotyczących obróbki wstępnej i hydrolizy enzymatycznej biomasy w reaktorze membranowym, wykonanie analizy ilościowej i jakościowej produktów hydrolizy, udział w opracowaniu modelu matematycznego procesu, wiodący udział w opracowaniu uzyskanych wyników i ich interpretacji, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu, dyskusja z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o pozyskanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H2: 70%

- [H3] **K. Dąbkowska-Susfał**<sup>✉</sup>, J. Lipińska, P. Sobieszuk, A.B. Kołtuniewicz (2024) *Hydrodynamic studies of innovative membrane reactor for enzymatic hydrolysis of lignocellulosic waste*. Biotechnology Journal 19, 202300602. DOI: 10.1002/biot.202300602.

IF<sub>2024</sub> = 3,2      MEiN<sub>2024</sub> = 100 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań eksperymentalnych, dobranie metodyki badawczej, zaplanowanie doświadczeń i główny udział w ich wykonaniu, wykonanie analizy ilościowej i jakościowej produktów hydrolizy, wiodący udział w analizie uzyskanych wyników i ich opracowaniu, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu artykułu, dyskusja z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o pozyskanie środków finansowych na badania.

Mój szacowany udział procentowy w powstanie publikacji H3: 70%

- [H4] **K. Dąbkowska**, M. Alvarado-Morales, M. Kuglarz<sup>✉</sup>, I. Angelidaki (2019) *Miscanthus straw as substrate for biosuccinic acid production: Focusing on pretreatment and downstream processing*. Bioresource Technology 278, 82-91. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.01.051.

IF<sub>2019</sub> = 7,539      MNiSzW<sub>2019</sub> = 140 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji, zaplanowanie badań i wykonanie doświadczeń w zakresie hydrolizy enzymatycznej biomasy po obróbce wstępnej z wykorzystaniem różnych dostępnych handlowo mieszanin preparatów enzymatycznych, analiza wyników hydrolizy oraz ich opracowanie zgodnie z wymogami manuskryptu, udział w badaniach produkcji kwasu bursztynowego z otrzymanych hydrolizatów, przygotowanie części manuskryptu dotyczącej hydrolizy enzymatycznej przetworzonej biomasy.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H4: 40%

- [H5] M. Kuglarz, M. Alvarado-Morales, **K. Dąbkowska**, I. Angelidaki<sup>✉</sup> (2018) *Integrated production of cellulosic bioethanol and succinic acid from rapeseed straw after dilute-acid pretreatment*. Bioresource Technology 265, 191-199. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.05.099.

IF<sub>2019</sub> = 6,669      MNiSzW<sub>2018</sub> = 45 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 140 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: zaplanowanie i wykonanie badań hydrolizy enzymatycznej, dobór eksperymentalny dawki enzymów i składu mieszanin reakcyjnych zapewniających wysoki stopień hydrolizy frakcji celulozy i hemicelulozy, analiza i opracowanie wyników hydrolizy enzymatycznej zgodnie z wymogami manuskryptu, udział w badaniach produkcji kwasu bursztynowego z pozostałości po produkcji etanolu lignocelulozowego, przygotowanie części manuskryptu dotyczącej hydrolizy enzymatycznej przetworzonej biomasy.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H5: 20%

- [H6] J. Mierzejewska<sup>✉</sup>, **K. Dąbkowska**, K. Chreptowicz, A. Sokołowska (2019) *Hydrolyzed corn stover as a promising feedstock for 2-phenylethanol production by non-conventional yeast*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 94, 777-784. DOI: 10.1002/jctb.5823.

IF<sub>2019</sub> = 2,75      MNiSzW<sub>2019</sub> = 70 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań związanych z obróbką wstępną i hydrolizą enzymatyczną biomasy lignocelulozowej, zaplanowanie doświadczeń i udział w ich wykonaniu, dobór eksperymentalny czasu prowadzenia obróbki wstępnej zapewniającego wysoką podatność frakcji celulozy i hemicelulozy na hydrolizę enzymatyczną, wykonanie analizy składu biomasy i uzyskanych hydrolizatów, wyznaczenie parametrów określających efektywność obróbki wstępnej i hydrolizy, analiza i opracowanie wyników zgodnie z wymogami manuskryptu, udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dyskusji z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o przyznanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H6: 30%

- [H7] **K. Dąbkowska-Susfał**<sup>✉</sup> (2020) *Efficiency of corn and poplar biomass saccharification after pretreatment with potassium hydroxide*. Ecological Chemistry and Engineering S 27, 41-53. DOI: 10.2478/eces-2020-0002.

IF<sub>2020</sub> = 1,545      MEiN<sub>2020</sub> = 40 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: jedyny autor publikacji.

Mój udział procentowy w powstanie publikacji H7: 100%

- [H8] M.J. Bernacki, J. Mielecki, A. Antczak, M. Drożdżek, D. Witoń, J. Dąbrowska-Bronk, P. Gawroński, P. Burdiak, M. Marchwicka, A. Rusaczonok, **K. Dąbkowska-Susfał**, W.R. Strobel, E.J. Mellerowicz, J. Zawadzki, M. Szechyńska-Hebda, S. Karpiński<sup>✉</sup> (2023) *Biotechnological potential of the stress response and plant cell death regulators proteins in the biofuel industry*. Cells 12, 2018. DOI: 10.3390/cells12162018.

IF<sub>2023</sub> = 5,1      MEiN<sub>2023</sub> = 140 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań eksperymentalnych dotyczących alkalicznej obróbki wstępnej drewna topoli, hydrolizy enzymatycznej otrzymanej biomasy po obróbce wstępnej oraz fermentacji etanolowej uzyskanych hydrolizatów, zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczeń w tym zakresie, przeprowadzenie analizy efektywności procesu fermentacji, opisanie przeprowadzonych eksperymentów w manuskrypcie publikacji.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H8: 15%

- [H9] A. Kołtuniewicz<sup>✉</sup>, K. Dąbkowska (2016) *Biorefineries - factories of the future*. Chemical and Process Engineering 37, 109-119. DOI: 10.1515/cpe-2016-0011.

IF<sub>2016</sub> = 0,971      MNiSzW<sub>2016</sub> = 15 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 40 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji publikacji, studia literaturowe, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, dyskusja z recenzentami.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H9: 70%

- [H10] A. Antczak<sup>✉</sup>, J. Szadkowski, A. Radomski, J. Zawadzki, K. Dąbkowska-Susfał, M. Walkowiak, M. Witczak, W. Cichy (2023) *The influence of selected physico-chemical pretreatment methods on chemical composition and enzymatic hydrolysis yield of poplar wood and corn stover*. Drewno 66, 00001. DOI: 10.12841/wood.1644-3985.423.01.

IF<sub>2022</sub> = 0,8      MEiN<sub>2023</sub> = 100 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań eksperymentalnych dotyczących alkalicznej obróbki wstępnej słomy kukurydzianej i dwóch odmian drewna topoli, zaplanowanie i wykonanie doświadczeń w tym zakresie, oznaczenie zawartości cukrów prostych po hydrolizie enzymatycznej biomasy, udział w przygotowaniu manuskryptu, udział w przygotowaniu wniosku o przyznanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H10: 30%

- [H11] K. Dąbkowska<sup>✉</sup>, M. Mech, K. Kopeć, M. Pilarek (2017) *Enzymatic activity of some industrially-applied cellulolytic enzyme preparations*. Ecological Chemistry and Engineering S 24, 9-18. DOI: 10.1515/eces-2017-0001.

IF<sub>2017</sub> = 0,7      MNiSzW<sub>2017</sub> = 15 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 40 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczeń, dobór metodyki badawczej, wykonanie części eksperymentów, wykonanie analiz ilościowych produktów hydrolizy, opracowanie wyników i ich interpretacja, przygotowanie manuskryptu, dyskusja z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o przyznanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H11: 75%

- [H12] K. Dąbkowska<sup>✉</sup>, P. Sobieszuk, M. Pilarek (2017) *Badania adsorpcji białek na powierzchni biomasy w procesie enzymatycznej hydrolizy słomy kukurydzianej do fermentowalnych cukrów prostych*. Przemysł Chemiczny 96, 2301-2304. DOI: 10.15199/62.2017.11.17.

IF<sub>2017</sub> = 0,399      MNiSzW<sub>2017</sub> = 15 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 40 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji oraz metodyki badań, zaplanowanie doświadczeń, przeprowadzenie wszystkich eksperymentów oraz wykonanie analiz, wyznaczenie izoterm adsorpcji enzymów, analiza uzyskanych wyników i ich opracowanie zgodnie z wymogami manuskryptu, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, dyskusja z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o przyznanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H12: 80%



**[H13] K. Dąbkowska** (2017) *Alkaliczna obróbka wstępna lignocelulozowych odpadów kukurydzianych*. Inżynieria i Aparatura Chemiczna 56, 66-67. DOI: brak.

MNiSzW<sub>2017</sub> = 7 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 5 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: jedyny autor publikacji.

Mój udział procentowy w powstanie publikacji H13: 100%

**[H14] K. Dąbkowska**, M. Pilarek (2018) *Porównanie efektywności kwasowej i alkalicznej obróbki wstępnej wybranych surowców lignocelulozowych*. Acta Scientiarum Polonorum - Biotechnologia 17, 19-28. DOI:10.30825/5.biot.46.2018.17.1.

MNiSzW<sub>2018</sub> = 6 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 5 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: opracowanie koncepcji oraz metodyki badań, zaplanowanie doświadczeń, przeprowadzenie wszystkich eksperymentów oraz wykonanie analiz, analiza i opracowanie wyników zgodnie z wymogami, przygotowanie manuskryptu, dyskusja z recenzentami, udział w przygotowaniu wniosku o przyznanie środków finansowych na badania.

Mój szacunkowy udział procentowy w powstanie publikacji H14: 80%

**[H15] K. Dąbkowska** *Zastosowanie enzymów w procesie produkcji biopaliw*, w: M. Maciąg, K. Maciąg (red.) Najnowsze doniesienia z zakresu enzymologii i nauk pokrewnych. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin 2018, pp. 114-130. ISBN 978-83-65932-05-1.

MNiSzW<sub>2018</sub> = 5 pkt      MNiSzW<sub>31.07.2019</sub> = 20 pkt

Opis autorskiego wkładu w publikację: jedyny autor publikacji.

Mój udział procentowy w powstanie publikacji H15: 100%

**[H16] A.B. Kołtuniewicz, K. Dąbkowska** (2023) *Sposób ciągłego przetwarzania lignocelulozy na paliwa i chemikalia w reaktorach membranowych*. Numer patentu na wynalazek: PL 244860, data udzielenia prawa wyłączności: 19.12.2023 (data zgłoszenia patentowego: 28.04.2020).

MEiN<sub>2023</sub> = 75 pkt

Opis autorskiego wkładu w wynalazek: współautorstwo wynalazku, zaplanowanie i przeprowadzenie badań eksperymentalnych obejmujących hydrolizę enzymatyczną i fermentację w układzie dwóch reaktorów membranowych, udział w przygotowaniu opisu wynalazku i zgłoszenia patentowego, odpowiedzi na uwagi rzeczników patentowych.

Mój udział procentowy w powstanie patentu: 50%

**Podsumowanie danych naukowych dotyczących prac H1-H16 zaliczonych do cyklu:**  
(wg bazy Scopus z dnia 30.09.2024 r.)

- Sumaryczny IF (liczony dla roku opublikowania prac) = 38,973
- Sumaryczna liczba punktów ministerialnych (liczona dla roku opublikowania prac) = 1108
- Sumaryczna liczba punktów ministerialnych (liczona dla roku opublikowania prac) (dotyczy prac opublikowanych od 2019 r.) oraz wg Komunikatu MNiSzW z 31 lipca 2019 r. (dotyczy prac opublikowanych przed 2019 r.) = 1295
- Suma cytowań prac zaliczonych do monotematycznego cyklu = 152

Oświadczenie dotyczące mojego autorskiego wkładu w powstanie każdej z powyższych prac zostało zamieszczone w **Załączniku 5**. Oświadczenia współautorów wskazujące na ich merytoryczny udział w powstanie poszczególnych prac (z wyjątkiem oświadczenia dotyczącego pracy **H8**) zostały zamieszczone w **Załączniku 6**. Praca **H8** powstała przy udziale 16 współautorów, a indywidualny wkład każdego z współautorów został szczegółowo zdefiniowany w artykule, w sekcji *Author Contributions*.

Kopie pełnych tekstów prac **H1-H16** wchodzących w skład powiązanego tematycznie osiągnięcia naukowego zostały zamieszczone w **Załączniku 10**.

### 4.3. Opis kariery naukowej

#### 4.3.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Od początku swojej działalności naukowej związana jestem z Politechniką Warszawską. Jednolite studia magisterskie na kierunku biotechnologia rozpoczęłam na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW. W trakcie trzeciego roku studiów zdecydowałam się na wybór specjalności Technologia Związków Biologicznie Czynnych i Kosmetyków realizowanej na Wydziale Chemicznym PW, co wiązało się z moim przeniesieniem na studia na tym Wydziale. W trakcie wykonywania pracy dyplomowej, pod promotorską opieką prof. dr. hab. inż. Jana Plenkiewicza, zajmowałam się otrzymywaniem optycznie czynnych pochodnych N-(3-fenoksy-2-hydroksypropylo)hydroksyloaminy. Zainteresowanie tymi związkami wynika z faktu, że wykazują one działanie lecznicze w zaburzeniach układu krążenia. Syntezę powadziłam metodą chemiczną, natomiast do rozdziału otrzymanej w ten sposób mieszaniny racemicznej produktu wykorzystałam katalizowaną enzymatycznie reakcję transestryfikacji, jako metodę kinetycznego rozdziału enancjomerów. Uzyskane przeze mnie wyniki stanowiły ważny element publikacji naukowej (Poz. A2, Zał. 4, pkt 2.4), której jestem współautorem.

W semestrze przeznaczonym na wykonywanie badań do pracy dyplomowej magisterskiej odbyłam też staż w Laboratorium Chemii Bioorganicznej i Bionieorganicznej Uniwersytetu-Paris Süd w podparyskim Orsay we Francji. W ramach tego stażu zajmowałam się syntezą inhibitorów aldolaz II, czyli enzymów biorących udział w przemianach glikolizy w komórkach bakterii i grzybów mikroskopowych. Celem przeprowadzonych badań było opracowanie związków biologicznie aktywnych do nowych leków przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych. Uzyskane w trakcie tych badań wyniki zostały zamieszczone jako załącznik do mojej pracy magisterskiej. Dodatkowo, wymiernym publikacyjnym efektem tego stażu był artykuł naukowy (Poz. A1, Zał. 4, pkt 2.4), którego jestem współautorem.

W 2003 roku, bezpośrednio po obronie pracy magisterskiej, rozpoczęłam studia doktoranckie na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW pod opieką naukową prof. dr. hab. inż. Krzysztofa W. Szewczyka. W ramach realizacji pracy doktorskiej zajmowałam się kinetycznym rozdziałem enancjomerów kwasu migdałowego, które znajdują zastosowanie jako chiralne bloki budulcowe w syntezie szeregu farmaceutyków. Proces prowadzony był na drodze katalizowanej enzymatycznie enancjoselektywnej transestryfikacji kwasu migdałowego octanem winylu z wykorzystaniem lipaz. Zbadałam wpływ warunków prowadzenia reakcji na jej przebieg i selektywność, a wyniki badań zrealizowanych w ramach pracy doktorskiej zostały opublikowane w pięciu artykułach (Poz. A3-A7, Zał. 4, pkt 2.4). Na podstawie otrzymanych danych doświadczalnych opracowałam model kinetyczny badanej przemiany uwzględniający inhibicję substratową i wyznaczyłam jego parametry (Poz. A3, A4 i A7, Zał. 4, pkt 2.4). Ponadto określiłam wpływ temperatury na enancjoselektywność procesu i parametry opracowanego modelu kinetycznego oraz wyznaczyłam wartość temperatury optymalnej z punktu widzenia aktywności enzymu i enancjoselektywności reakcji. Zakres moich badań obejmował

także określenie zmian parametrów termodynamicznych dla reakcji obu enancjomerów kwasu migdałowego (Poz. A5, Zał. 4, pkt 2.4). Na ich podstawie przedyskutowałam rolę towarzyszących reakcji przemian energetycznych w procesie rozróżniania enancjomerów przez enzymy. Zakres pracy obejmował także badanie procesu kinetycznego rozdziału enancjomerów w reaktorze kolumnowym z lipazą użytą jako jego wypełnienie. Wykazałam, że o przebiegu reakcji decyduje jej kinetyka, a nie zjawiska dyspersji wzdłużnej lub oporów dyfuzyjnych (Poz. A6, Zał. 4, pkt 2.4). Wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej zostały zaprezentowane łącznie na siedmiu konferencjach naukowych (Poz. K1-K7, Zał. 4, pkt 2.5).

Podsumowując, do czasu uzyskania stopnia naukowego doktora moje zainteresowania naukowe dotyczyły szeroko pojętej katalizy enzymatycznej. Badania przeprowadzone w ramach mojej działalności naukowo-badawczej realizowanej w latach 2003-2010 zostały opublikowane łącznie w sześciu artykułach naukowych, w tym w pięciu pracach z listy *JCR*, oraz zaprezentowane w postaci siedmiu wystąpień konferencyjnych (dwóch na konferencjach międzynarodowych i pięciu na konferencjach krajowych) w formie pięciu wystąpień ustnych oraz dwóch prezentacji posterowych. Szczegółową listę dorobku naukowego zgromadzonego przed uzyskaniem stopnia doktora przedstawiłam w **Załączniku 4**. Wiedza i doświadczenie badawcze pozyskane na tym etapie rozwoju naukowego, wykorzystałam w swojej dalszej działalności naukowej dotyczącej zastosowania metod inżynierii bioprosesowej w przetwarzaniu surowców lignocelulozowych w wartościowe produkty, której efektem jest osiągnięcie stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

#### **4.3.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora**

Wyniki otrzymane w trakcie realizacji mojej pracy doktorskiej spotkały się z zainteresowaniem i pozwoliły kilka miesięcy po uzyskaniu stopnia naukowego doktora na odbycie dwumiesięcznego stażu naukowego w Instytucie Technologii Membranowych (Istituto per la Tecnologia delle Membrane, ITM) na Uniwersytecie w Kalabrii we Włoszech. Wówczas, pod opieką profesora Lidietty Giorno brałam udział w badaniach procesów membranowych z wykorzystaniem enzymów immobilizowanych w porach różnych membran. Szczegółowy opis zagadnień badawczych realizowanych podczas stażu w ITM przedstawiony został w Rozdziale 5.1 niniejszego Autoreferatu. Zdobyte w trakcie stażu doświadczenie badawcze wykorzystałam po powrocie do kraju podczas kontynuacji badań podjętych w pracy doktorskiej oraz podczas realizacji nowej tematyki badawczej, w którą zaangażowałam się po obronie doktoratu. Do dalszych badań nad kinetycznym rozdziałem enancjomerów zdecydowałam się wykorzystać enzymatyczny bioreaktor membranowy z lipazą unieruchomioną w porach membran. W badaniach tych membrana pełniła jednocześnie funkcję katalityczną oraz separacyjną, w celu rozdzielenia reagentów pomiędzy fazę wodną i fazę organiczną. Zastosowany układ skutecznie pozwalał na selektywne usuwanie z układu reakcyjnego produktów będących inhibitorami zastosowanego enzymu. Na badania uzyskałam finansowanie w ramach funduszy z grantu dziekańskiego pt. „*Otrzymywanie enancjomerów kwasu migdałowego w reaktorze membranowym*” przyznanego mi w 2011 roku. Tematyki tej dotyczyły dwie prace dyplomowe magisterskie wykonane pod moją opieką promotorską przez studentów Politechniki Warszawskiej. Uzyskane wyniki zostały również zaprezentowane na konferencji naukowej (Poz. K8, Zał. 4, pkt 2.5).

W 2011 roku dołączyłam do zespołu badawczego realizującego projekt finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju i spółkę Energa S.A. w ramach Programu Strategicznego „*Zaawansowane technologie pozyskiwania energii*”. Projekt dotyczył opracowania zintegrowanych technologii konwersji surowców lignocelulozowych do bioetanolu i był koordynowany przez Instytut Maszyn Przepływowych Polskiej Akademii Nauk w Gdańsku. Uczestnicząc w pracach zespołu badawczego odpowiedzialna byłam za realizację badań dotyczących hydrolizy enzymatycznej biomasy

lignocelulozowej. Szczegółowy opis zakresu mojego udziału w projekcie oraz zagadnień badawczych realizowanych w ramach projektu przedstawiony został w Rozdziale 5.1 niniejszego Autoreferatu. Wymiernym efektem realizacji projektu były dwie publikacje naukowe (Poz. A8 i A10, Zał. 4, pkt 2.4) oraz jeden rozdział w recenzowanej monografii wydanej przez Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (Poz. M1, Zał. 4, pkt 2.2). Ponadto badania w ramach projektu były przedmiotem jednej pracy dyplomowej magisterskiej, której byłam opiekunem pomocniczym, oraz dwóch wystąpień na konferencjach naukowych (Poz. K9 i K10, Zał. 4, pkt 2.5). Mój udział w projekcie zainspirował mnie do zaangażowania w nową dla mnie na tym etapie działalności naukowej tematykę dotyczącą (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej, która od roku 2011 do chwili obecnej stanowi główny obszar moich zainteresowań naukowo-badawczych.

Pozostając w nurcie tematyki badawczej związanej z (bio)przetwarzaniem biomasy lignocelulozowej brałam udział w kilku innych projektach (m.in. BIOSTRATEG 2, pt. „*Inteligentne systemy hodowli i uprawy, pszenicy, kukurydzy i topoli dla zoptymalizowanej produkcji, biomasy, biopaliw oraz zmodyfikowanego drewna*”, IUVENTUS PLUS pt. „*Koncepcja produkcji kwasu bursztynowego z biomasy lignocelulozowej z wykorzystaniem odpadowego CO<sub>2</sub>*”, SONATA 11 pt. „*Poszukiwanie nowych szczepów drożdży zdolnych do produkcji naturalnych aromatów, barwników i polimerów*”, Beyond II POB w ramach programu IDUB PW pt. „*Zintegrowane biotechnologiczne wytwarzanie bioetanolu i ksylitolu z rolniczych odpadów lignocelulozowych po alkalicznej obróbce wstępnej*”) we współpracy z kilkoma zespołami badawczymi z różnych uczelni i instytucji naukowych z Polski. Ponadto kierowałam projektem badawczym I-CHEM.2 pt. „*Wykorzystanie separacji membranowej w procesie hydrolizy enzymatycznej odpadów lignocelulozowych prowadzonej w obecności surfaktantów*”. Autorskie i współautorskie osiągnięcia naukowe uzyskane w rezultacie realizacji wyżej wymienionych projektów stanowią podstawę mojego wniosku o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego. Z tego względu, zakres mojego udziału w projektach oraz swoje osiągnięcia naukowe szczegółowo omówiłam w Rozdziale 4.4 niniejszego autoreferatu. Natomiast szczegółowe dane prezentujące moją aktywność naukową dotyczącą (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej zrealizowaną w ramach nawiązanej współpracy z innymi ośrodkami zamieściłam w Rozdziale 5.

W kolejnych latach kontynuowałam badania w ramach obranej ścieżki zainteresowań naukowych dotyczących (bio)przetwarzania i biokonwersji biomasy lignocelulozowej starając się aktywnie występować o środki grantowe. W latach 2020-2021 kierowałam projektem badawczym pt. „*Wpływ rodzaju enzymów i czasu ich działania na degradację celulozy ze słomy kukurydzianej jako etapu otrzymywania nanofibryny celulozowej*”, na realizację którego otrzymałam finansowanie Narodowego Centrum Nauki w konkursie Miniatura 3. W ramach przeprowadzonych badań eksperymentalnych zajmowałam się doбором enzymów do częściowej degradacji celulozy z biomasy słomy kukurydzianej po jej wcześniejszej delignifikacji. Do osiągnięć w tym zakresie zaliczam zidentyfikowanie i ilościowe określenie wpływu rodzaju użytych enzymów oraz czasu prowadzenia hydrolizy na stężenie oligosacharydów rozpuszczonych w otrzymanym hydrolizacie oraz określenie stopnia polimeryzacji niezhydrolizowanej celulozy. Uzyskana przetworzona celuloza poddawana była homogenizacji celem uzyskania z niej nanofibryny, stanowiącej wartościowy biodegradowalny produkt procesu (bio)zagospodarowania odpadowej biomasy lignocelulozowej, znajdujący zastosowanie w wielu dziedzinach m.in. w biotechnologii i medycynie. Wynika to z unikalnych właściwości nanowłókien celulozy, do których zalicza się wysoką wytrzymałość mechaniczną, sztywność i dużą powierzchnię właściwą.

Obecnie, tj. od kwietnia 2024 roku, kieruję realizacją dwuletniego projektu badawczego I-CHEM.5 pt. „*Odzyskiwanie enzymów wykorzystywanych w procesach przetwarzania biomasy lignocelulozowej*”

finansowanego przez Radę Naukową Dyscypliny Inżynieria Chemiczna PW. Celem badań prowadzonych w ramach projektu jest dobór najkorzystniejszych warunków odzyskiwania enzymów z hydrolizatów biomasy lignocelulozowej oraz z płynów pochodzących uzyskiwanych po jednoczesnej hydrolizie enzymatycznej i fermentacji biomasy. W pracy doświadczalnej stosowane są różne metody odzyskiwania enzymów obejmujące m.in. adsorpcję enzymów z mieszanin poreakcyjnych na świeżej porcji substratu, desorpcję enzymów z nieprzereagowanej biomasy do buforu, a także metody separacji membranowej mające na celu oddzielenie enzymów od produktów reakcji. Zakres badań obejmować będzie również zweryfikowanie możliwości wykorzystania nanopęcherzyków gazów w celu zwiększenia efektywności odzyskiwania enzymów. Uzyskane dotychczas rezultaty zostały zaprezentowane na forum XII Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Inżynieria Chemiczna i Procesowa dla Środowiska i Medycyny”, 11-14 września 2024 r. w Sarbinowie.

Prowadzona przeze mnie działalność naukowo-badawcza nie ograniczała się wyłącznie do przedstawionych powyżej głównych obszarów zainteresowań ukierunkowanych na (bio)przetwarzanie surowców lignocelulozowych. Jednym z wątków mojej aktywności naukowej, do którego zainspirował mnie prof. dr hab. inż. Tomasz Ciach, były badania dotyczące otrzymywania nanocząstek sacharydowych do potencjalnego wykorzystywania w celowanych terapiach antynowotworowych. W 2012 roku otrzymałam dwuletnie stypendium Centrum Studiów Zaawansowanych PW na realizację projektu pt. „Otrzymywanie nanocząstek polisacharydowych na drodze reakcji rodnikowych”. Celem prac przeprowadzonych w ramach uzyskanego finansowania było otrzymanie liniowych kopolimerów polisacharydów z alkilocyjanoakrylanami (ACA) na drodze reakcji rodnikowej inicjowanej jonami ceru IV. Powstałe kopolimery o właściwościach amfifilowych, w środowisku wodnym tworzyły sferyczne nanostruktury zbudowane z hydrofobowego rdzenia polialkilocyjanoakrylowego otoczonego hydrofilowym polisacharydem. Struktura tego typu złożonych układów sacharydowych pozwala upatrywać w nich potencjału do wewnątrzcząsteczkowej immobilizacji leków cytostatycznych. W zależności od zestawu substratów, tj. od rodzaju użytego polisacharydu oraz od rodzaju monomerów ACA, w ramach przeprowadzonych badań otrzymane zostały nanocząstki sacharydowe o zmiennym projektowanym rozmiarze. Tej tematyce badawczej poświęcone zostały cztery prace dyplomowe (jedna praca magisterska i trzy prace inżynierskie) zrealizowane pod moją opieką promotorską oraz publikacja naukowa, której jestem współautorem (Poz. A16, Zał. 4, pkt 2.4).

Dodatkowo brałam udział w badaniach naukowych i projektach realizowanych w zespole badawczym kierowanym przez dr. hab. inż. Macieja Pilarka z macierzystego Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW. Mój udział dotyczył m.in. analizy wpływu parametrów operacyjnych definiujących intensywność mieszania fazy ciekłej poddanej mieszaniu w jednorazowych polimerowych naczyniach hodowlanych podlegających oscylacyjnym wychyleniom, na osiągnięte w takim układzie wartości objętościowego współczynnika wnikania masy. Ponadto uczestniczyłam w badaniach dotyczących aplikacyjności bioreaktora typu *single-use* (tzn. wyposażonego w polimerowe jednorazowe zbiorniki) do intensyfikacji hodowli wgłębnej komórek zwierzęcych osadzonych na polimerowych mikronośnikach. Otrzymane w ramach tej współpracy wyniki zostały opublikowane w pięciu pracach (Poz. A19-A21, A27, A28, Zał. 4, pkt 2.4). Wraz z dr. hab. inż. M. Pilarkiem uczestniczyłam także w badaniach poświęconych wykorzystaniu perfluorozwiązków jako ciekłych nośników gazów oddechowych, tj. tlenu i dwutlenku węgla, w hodowlach komórek ssaczy. Efektem wspólnych prac badawczych było opracowanie enzymatycznej metody badania rozpuszczalności tlenu w ciekłych perfluorozwiązkach oraz wykazanie korzystnego wpływu użycia perfluorowanego nośnika gazów na żywotność izolowanych mysich kul zarodkowych hodowanych na powierzchni międzyfazowej w układzie dwóch niemieszających się cieczy: nagazowana perfluorodekalina/faza wodna pożywki. Podobny nietypowy układ hodowlany ciecz/ciecz wykorzystany został także z powodzeniem do hodowli przestrzennej komórek chrząstki na biomateriałowym włóknistym rusztowaniu

polilaktydowym. Wyniki tych prac zostały opublikowane w czterech artykułach (Poz. A9, A11, A13, A15, A17, Zał. 4, pkt 2.4) oraz zostały zaprezentowane na konferencji naukowej (Poz. K11, Zał. 4, pkt 2.5).

Kolejnym wątkiem badawczym, w realizacji którego uczestniczyłam, były badania naukowe powiązane z tematyką pracy doktorskiej mgr. inż. Kamila Kopcia (promotor: prof. T. Ciach), dotyczące opracowania antybakteryjnych powłok materiałów polimerowych do zastosowań biomedycznych. Tematyce tej poświęcone zostały cztery prace dyplomowe zrealizowane pod moją opieką promotorską. Otrzymane wyniki badań zostały opisane w dwóch artykułach (Poz. A12, A14, Zał. 4, pkt 2.4) oraz zaprezentowane na dwóch konferencjach naukowych (Poz. K12 i K14, Zał. 4, pkt 2.5).

Podsumowując, badania przeprowadzone w ramach mojej działalności naukowo-badawczej realizowanej po uzyskaniu stopnia doktora (tj. w latach 2010-2024) zostały opublikowane łącznie w 35 artykułach naukowych, w tym w 21 pracach z listy *JCR*, i zaowocowały także opracowaniem dokumentacji dotyczącej ochrony patentowej 1 wynalazku. Wyniki powyższych badań zostały również zaprezentowane w postaci 19 wystąpień konferencyjnych (7 na konferencjach międzynarodowych i 12 na konferencjach krajowych) w formie 7 wystąpień ustnych oraz 12 prezentacji posterowych. Szczegółową listę dorobku naukowego zgromadzonego po uzyskaniu stopnia doktora przedstawiłam w **Załączniku 4**.

#### **4.4. Omówienie celu naukowego oraz uzyskanych wyników w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

##### **4.4.1. Wprowadzenie do tematyki osiągnięcia naukowego**

Tematyka osiągnięcia naukowego stanowiącego merytoryczną podstawę wniosku o wszczęcie postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego dotyczy wykorzystania biomasy lignocelulozowej jako cennego źródła polisacharydów do następczego otrzymywania w biorafineriach produktów o wysokiej wartości rynkowej, w tym m.in. biopaliw, biopolimerów i biochemikaliów. Koncepcja (bio)przetwarzania lignocelulozowej biomasy roślinnej w biorafineriach wpisuje się w realizację strategii zrównoważonego rozwoju nieustannie zyskując na znaczeniu jako alternatywne rozwiązanie dla konwencjonalnych technologii opartych na kopalnych surowcach petrochemicznych [1]. Ponadto aktualne priorytety rozwojowe rynku biopaliw i innych bioproduktów w Unii Europejskiej, jak i na świecie, są zorientowane na zastąpienie surowcami lignocelulozowymi szeroko wykorzystywanej w biorafineriach biomasy roślinnej bogatej w skrobię, a przez to stanowiącej pożywienie dla ludzi i zwierząt [2,3]. Z uwagi na wyczerpywanie się ograniczonych zasobów surowców kopalnych, niekorzystny wpływ ich stosowania na środowisko oraz kontrowersje wokół wykorzystania w sektorze biopaliw jadalnej biomasy roślinnej do ich produkcji, tematyka osiągnięcia naukowego wydaje się być szczególnie ważna dla rozwoju sektora energetycznego i przemysłowego krajowej gospodarki, stanowiącej istotny element rynku Unii Europejskiej oraz gospodarki światowej.

Do surowców lignocelulozowych zalicza się ok. 90% biomasy roślinnej, w tym odpady rolne i leśne, szybko rosnące produkty upraw celowych oraz niejadalne pozostałości odpadowe z przetwórstwa roślin na cele żywnościowe. Biomasa lignocelulozowa jest naturalnym i odnawialnym źródłem węgla organicznego, a przy tym jest uważana za kluczowy zasób niejadalnych węglowodanów pozwalający sprostać rosnącemu zapotrzebowaniu na produkty zielonej chemii. Z danych literaturowych wynika, że co roku na świecie produkuje się miliony ton biomasy lignocelulozowej, z czego większość stanowi biodegradowalny odpad nieznajdujący zastosowania [4,5].

Biomasa lignocelulozowa składa się głównie z kompleksu polimerów węglowodanowych, tj. celulozy i hemiceluloz, oraz polimerów złożonych z podjednostek fenylopropanowych, tj. lignin. Ponadto zawiera niewielkie ilości pektyn, białek i innych składników zaliczanych do takich grup związków chemicznych jak m.in. garbniki, lipidy, żywice, terpeny czy związki fenolowe. Procentowy udział poszczególnych frakcji w surowcach lignocelulozowych różni się w zależności od pochodzenia biomasy roślinnej. Zazwyczaj zawartość celulozy mieści się w przedziale 30-50%, hemiceluloz 20-40%, a lignin 10-25% [4,5]. Za nadrzędny uznaje się fakt, że biomasa roślinna powstaje w procesie fotosyntezy, którego kluczowym etapem jest z asymilacja cząsteczek CO<sub>2</sub> z atmosfery, a zatem przemysłowe wykorzystanie surowców lignocelulozowych przyczynia się do zmniejszenia śladu węglowego na poziomie globalnym.

Złożona i różnorodna chemicznie, a przy tym zwarta struktura kompleksu lignocelulozowego oraz wysoki udział procentowy zawartych w nim lignin, są główną przyczyną problemów technologicznych towarzyszących (bio)przetwarzaniu surowców lignocelulozowych w biorafineriach. Wynika to przede wszystkim z problematycznych etapów hydrolizy celulozy i hemiceluloz, pozwalających uwolnić z biomasy lignocelulozowej monosacharydy, które w następnych etapach mogą być wykorzystane w procesach fermentacyjnych jako źródło węgla i energii dla mikroorganizmów wytwarzających docelowe cenne bioprodukty. Rozwiązaniem procesowym pozwalającym wydawnie zwiększać wydajność scukrzania surowców roślinnych jest wstępne przygotowanie (tj. obróbka) biomasy lignocelulozowej [5,6]. W ogólnym ujęciu, obróbka wstępna ma na celu zwiększenie podatności biomasy roślinnej na hydrolizę poprzez destrukcję zwartej struktury kompleksu lignocelulozowego, usunięcie lignin oraz obniżenie stopnia polimeryzacji i krystaliczności celulozy. Jest to etap niezbędny, jednakże uważany za kosztowny, gdyż zwykle wiąże się ze wzrostem zużycia energii oraz chemikaliów w ogólnym bilansie (bio)przetwarzania danego surowca, a dodatkowo może generować straty cennych składników polisacharydowych uzyskiwanych z biomasy [1,6]. Natomiast efektywność obróbki wstępnej korzystnie i znacząco wpływa na wydajność kolejnych etapów (bio)przetwarzania biomasy. Poszukiwanie efektywnych metod obróbki biomasy lignocelulozowej jest przedmiotem szeroko podejmowanych badań naukowych. Jednakże wciąż etap ten jest uważany za wąskie gardło technologii przetwarzania biomasy lignocelulozowej w cenne produkty. Rozwiązania zaproponowane dotychczas obejmują kilka typów metod obróbki biomasy roślinnej, tj. metody fizyczne, chemiczne, fizykochemiczne i biologiczne, a ich skuteczność zależy w dużej mierze od rodzaju kondycjonowanego surowca lignocelulozowego [5]. Oczywiście w skali przemysłowej pożądane są przede wszystkim metody tanie i skuteczne w łagodnych warunkach.

Kolejnym istotnym etapem procesu (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej po obróbce wstępnej jest hydroliza zawartych w nich polisacharydów - celulozy i hemicelulozy, do fermentowalnych monosacharydów. Proces ten może być prowadzony z użyciem kwasów lub enzymów hydrolitycznych. Z uwagi na łagodniejsze warunki i przyjazność dla środowiska, metody enzymatyczne są bardziej pożądane. Złożona struktura surowców lignocelulozowych implikuje konieczność stosowania w procesie ich hydrolitycznej degradacji szeregu enzymów, które poprzez synergistyczne działanie prowadzą do scukrzania zawartych w nich łańcuchów polisacharydów [7]. W praktyce stosuje się gotowe koktajle enzymatyczne zawierające wszystkie enzymy niezbędne do pełnego scukrzania celulozy i hemicelulozy do odpowiednich elementarnych heksoz i pentoz. Z uwagi na nierozpuszczalność kompleksu lignocelulozowego w wodzie, katalizowany enzymatycznie hydrolityczny rozkład polisacharydów obecnych w biomacie roślinnej wymaga etapu adsorpcji enzymów celulolitycznych i hemicelulolitycznych na powierzchni cząstek substratu [7]. Lignina, której zawartość zależy zarówno od rodzaju biomasy, jak i odmiany oraz wieku rośliny, wydawnie utrudnia enzymom celulolitycznym dostęp do podatnych na hydrolityczną degradację polisacharydów. Dodatkowo, hydrofobowy charakter obecnych w surowcu lignin sprawia, że białka enzymatyczne

adsorbują się także na ich powierzchni [8], co przyczynia się do utraty aktywności enzymów w trakcie procesu scukrzania biomasy lignocelulozowej. Dodatkowym niekorzystnym zjawiskiem jest inhibicja enzymów produktami katalizowanych przez nie reakcji hydrolizy [9]. Według dostępnych danych, aktualna rynkowa cena enzymów używanych w procesach (bio)przetwarzania biomasy przekracza poziom ekonomicznej rentowności ich wykorzystania w skali przemysłowej [10], co dodatkowo utrudnia komercjalizację procesu enzymatycznego scukrzania lignoceluloz. Z tego względu potrzebne są rozwiązania przyczyniające się do zwiększenia opłacalności procesów enzymatycznych.

Uwolnione w wyniku hydrolizy z biomasy cukry proste o sześć- i pięciowęglowych cząsteczkach, stanowią substraty do procesów fermentacyjnych, które w zależności od rodzaju użytych mikroorganizmów oraz warunków prowadzenia hodowli pozwalają na otrzymanie szeregu cennych produktów. Szczególne znaczenie dla światowej gospodarki ma bioetanol, na który zapotrzebowanie stale rośnie, głównie w sektorze transportu [2]. Bioetanol stanowi przyjazny środowisku substytut lub biokomponent ropopochodnych paliw pędnych, którego wykorzystywanie w transporcie uważane jest za istotny element zrównoważonego rozwoju, ale także znajduje zastosowanie jako kluczowy surowiec w przemyśle chemicznym. Obecnie alkohol ten jest na szeroką skalę wytwarzany ze scukrzanych surowców skrobiowych stanowiących jednocześnie główne źródło pożywienia dla ludzi i zwierząt gospodarskich, co wywołuje liczne kontrowersje bioetyczne, a przy tym przyczynia się do wzrostu cen żywności [5]. Wśród potencjalnych produktów o szerokiej aplikacyjności, które mogą być wytwarzane w skali przemysłowej na drodze fermentacji hydrolizatów lignocelulozowych bogatych w uwolnione monosacharydy, warto wskazać również kwas bursztynowy, 2,3-butanodiol, kwas mlekowy, jak i szereg innych uznanych przez Departament Energii Stanów Zjednoczonych za najważniejsze związki pochodzenia naturalnego, z grupy tzw. „platform chemicals”.

Efektywność procesów fermentacyjnych hydrolizatów lignocelulozowych zależy od rodzaju i stężenia zawartych w nich monosacharydów, a zatem ma na nią wpływ zarówno rodzaj wykorzystanej w procesie biomasy lignocelulozowej, jak też użyta metoda obróbki wstępnej surowca i wydajność przeprowadzonej enzymatycznej hydrolizy scukrzającej polisacharydy do cukrów prostych. Główny składnik hydrolizatów lignocelulozowych stanowi glukoza, czyli cukier sześciowęglowy (C6) łatwo wykorzystywany przez większość mikroorganizmów i przetwarzany przez nie w procesach metabolicznych. Poza glukozą hydrolizaty uzyskiwane z biomasy lignocelulozowej zawierają również cukry pięciowęglowe (C5), najczęściej ksylozę, ale także m.in. arabinozę, mannozę, galaktozę, a skład frakcji pentozowej jest determinowany przez rodzaj (a tym samym skład) biomasy roślinnej. Większość wyselekcjonowanych ze środowiska naturalnego mikroorganizmów nie posiada zdolności metabolizowania cukrów C5 do etanolu [11]. Powoduje to, że fermentacja etanolowa monosacharydów uwolnionych z frakcji hemicelulozowej biomasy pozostaje aktualnym badawczo wyzwaniem. Rozwiązaniem tego problemu może być zintegrowana produkcja wytwarzanych przez mikroorganizmy metabolitów z cukrów C5 i C6 na drodze osobnych szlaków metabolicznych. Takie rozwiązanie podnosi opłacalność technologii wytwarzania etanolu z surowców lignocelulozowych i pozwala na otrzymanie dodatkowo innych wartościowych produktów w różnorodnych szlakach metabolicznych.

Rozwój rynku paliw odnawialnych i bioproduktów jest obiektem licznie podejmowanych działań badawczo-rozwojowych na świecie. Pomimo wieloletnich i zaawansowanych badań naukowych mających na celu poprawienie efektywności poszczególnych wymienionych powyżej etapów, sektor biorafinerii lignocelulozowych ma trudności z uzyskaniem atrakcyjności komercyjnej w przeciwieństwie do tradycyjnych rafinerii wykorzystujących węglowodorowe źródła kopalne, jak również biorafinerii opartych na przetwarzaniu surowców skrobiowych o dużym znaczeniu żywieniowym. Wysokie zapotrzebowanie na bioprodukty pochodzenia lignocelulozowego wskazuje na potrzebę podjęcia globalnych wysiłków, zarówno przez sektor publiczny, ale również przez inwestorów



prywatnych, w celu zwiększenia opłacalności komercjalizacji technologii przetwarzania lignocelulozowej biomasy roślinnej w oparciu o zieloną chemię i czyste technologie. W celu maksymalizacji biokonwersji i rozszerzenia możliwości przemysłowego zastosowania biomasy lignocelulozowej, niezbędne jest wieloaspektowe i dynamiczne podejście, w którym rola nowych badań naukowych poszerzających dostępną wiedzę w zakresie intensyfikacji i zwiększania efektywności poszczególnych etapów biorafinacji, jest szczególnie istotna.

#### 4.4.2. Cel naukowy i zakres prowadzonych badań

Niska opłacalność ekonomiczna opracowanych dotychczas technologii przetwarzania odnawialnych surowców lignocelulozowych w bioprodukty o wysokiej wartości rynkowej, uniemożliwia ich wdrażanie na skalę przemysłową. Dlatego opracowanie efektywnych metod przetwarzania takich surowców w biorafineriach jest uzasadnione i stanowi współcześnie wiodący element realizacji światowej polityki zrównoważonego rozwoju. W ten nurt wpisują się tematycznie przeprowadzone przeze mnie badania naukowe przedstawione w cyklu powiązanych tematycznie prac **H1-H16**.

**Celem naukowym badań, stanowiących moje osiągnięcie naukowe przedstawione przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego, była poprawa efektywności wybranych metod wykorzystywanych w następujących procesach przetwarzania surowców lignocelulozowych w wartościowe bioprodukty, obejmujących: obróbkę wstępną biomasy, hydrolizę enzymatyczną scukrzającą surowiec i fermentację otrzymanych hydrolizatów.** Wszystkie badane procesy stanowią kluczowe etapy konwersji biomasy lignocelulozowej w biorafineriach, a efektywność każdego z nich bezpośrednio wpływa na koszt produktu docelowego. Wyniki moich badań mogą być wykorzystane do opracowania bardziej opłacalnych technologii produkcji na skalę przemysłową biopaliw i innych cennych bioproduktów z odpadowej i/lub nieużytecznej żywieniowo lignocelulozowej biomasy roślinnej.

Merytorycznym punktem wyjścia do ugruntowanego i uporządkowanego podjęcia badawczej aktywności w zakresie (bio)przetwarzania surowców lignocelulozowych w biorafineriach była praca nad opracowaniem treści publikacji przeglądowej **H9**. Zakres tematyczny wykonanych studiów literaturowych pozwolił poznać aktualne badawczo nurty biokonwersji surowców roślinnych oraz określić potencjał ekonomicznie uzasadnionego zapotrzebowania na cenne gospodarczo bioprodukty otrzymywane biorafineryjnie. Z dzisiejszej perspektywy, publikację przeglądową **H9** uważam za kluczową z punktu widzenia ścieżki naukowego rozwoju obranej po obronie pracy doktorskiej. Drugie z opracowań o charakterze przeglądowym, tj. praca **H15** będąca rozdziałem w monografii, powstało kilka lat później. Z uwagi na zakres tematyczny przedstawionego w nim krytycznego przeglądu aplikacji enzymów w produkcji biopaliw, obejmujący zastosowania klasyczne, ale również te, które w czasie opracowywania manuskryptu uznawano za innowacyjne, stanowi ono pozycję równie ważną, bo porządkuje liczne doniesienia literaturowe dotyczące procesów scukrzania biomasy lignocelulozowej z wykorzystaniem enzymów.

Zakres przeprowadzonych przeze mnie autorsko lub z moim wydatnym udziałem badań eksperymentalnych, które przedstawiono w pracach **H1 - H8, H10 - H14** oraz **H16** można podzielić na trzy główne obszary merytoryczne:

##### I. Obróbka wstępna biomasy lignocelulozowej

Przeprowadzone badania z zakresu obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej, które stanowią merytoryczną treść prac **H7, H10, H13 i H14**, zmierzały do opracowania najkorzystniejszych warunków prowadzenia procesu dla różnych surowców lignocelulozowych oraz określenia efektywności badanych procesów rozumianej jako wpływ zastosowanych warunków na skład biomasy (w tym straty/odzysk jej

poszczególnych składników) i jej podatność na hydrolizę enzymatyczną. Moja uwaga skoncentrowana była na metodach chemicznych obróbki surowca, głównie prowadzonej w środowisku zasadowym. Wstępną selekcję dostępnych metod obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej do badań przeprowadziłam na podstawie analizy informacji literaturowych i wyników moich wcześniejszych badań w tym zakresie.

## II. Hydroliza enzymatyczna biomasy lignocelulozowej po obróbce wstępnej

Badania dotyczące hydrolizy enzymatycznej były niezwykle istotne w rozwoju badanej tematyki i osiągnięcia celów naukowych przedstawianego osiągnięcia naukowego. Po pierwsze, posłużyły one określeniu efektywności badanych metod obróbki wstępnej biomasy, co stanowiło zakres merytoryczny prac **H7**, **H10**, **H13** i **H14**. Zmierzały one także do ułatwienia przewidywania przebiegu procesu w zależności od rodzaju biomasy lignocelulozowej użytej jako substratu oraz doboru odpowiedniej dawki enzymów do realizacji procesu, co zostało przedstawione w pracach **H4**, **H5**, **H11** i **H12**. Pozwoliły także na intensyfikację procesu hydrolizy enzymatycznej poprzez zastosowanie do jej realizacji reaktorów membranowych (prace **H1** - **H3**), w tym reaktora o innowacyjnej konstrukcji cylindrycznej (praca **H3**), a także zaproponowanie modelu matematycznego opisu procesu enzymatycznego scukrzania surowca lignocelulozowego w reaktorze membranowym z uwzględnieniem zjawiska transportu masy, opisanego w pracy **H2**, który może być wykorzystany do projektowania i doboru korzystnych warunków procesu biokonwersji prowadzonej w skali przemysłowej.

## III. Fermentacja hydrolizatów lignocelulozowych

Badania fermentacji miały na celu zweryfikowanie przydatności hydrolizatów lignocelulozowych otrzymanych z wykorzystaniem określonych przeze mnie warunków prowadzenia obróbki wstępnej i/lub hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej, jako źródła węgla i energii w hodowli mikroorganizmów asymilujących monosacharydy uwolnione z łańcuchów polisacharydowych celulozy i hemiceluloz. Z uwagi na obszerny zakres tematyczny tego etapu przeprowadzonych badań, wszystkie dotyczące go merytorycznie prace powstały we współpracy z zespołami badawczymi reprezentującymi zewnętrzne ośrodki naukowe specjalizujące się w procesach fermentacyjnych (prace **H4** - **H6**) oraz metodzie transgenizacji biomasy roślinnej (praca **H8**). Przeprowadzone procesy dotyczyły otrzymywania etanolu (prace **H5** i **H8**), kwasu bursztynowego (prace **H4** i **H5**) oraz 2-fenyletanolu (praca **H6**), a zatem cennych bioproduktów o dużym znaczeniu przemysłowym. W pracach zespołów badawczych odpowiedzialna byłam za podejście inżynierskie mające na celu określenie warunków wymaganych do wdrożenia opracowanych rozwiązań.

### 4.4.3. **Omówienie osiągniętych wyników i potencjału ich aplikacyjności**

Moja aktywność naukowa realizowana w ramach założonego celu miała w dominującej części charakter eksperymentalny, co przedstawione zostało w pracach **H1** - **H8**, **H10** - **H14** oraz **H16**, ale obejmowała także opracowanie przeglądu dotyczące biorafinerii (praca **H9**) oraz przegląd stanu wiedzy dotyczącej wykorzystania enzymów w procesie produkcji biopaliw (praca **H15**). Zgodnie z przedstawionym w poprzednim rozdziale zakresem zrealizowanych badań eksperymentalnych, poniżej w opisie swojego osiągnięcia naukowego wyszczególniłam trzy podrozdziały, tj. 4.4.4.1 - 4.4.4.3, odpowiadające poszczególnym obszarom tematycznym.

W pierwszej publikacji przeglądowej **H9** omówione zostały ogólne zasady funkcjonowania biorafinerii ze wskazaniem na konieczność przetwarzania w nich surowców odnawialnych zgodnie z regułami zrównoważonego rozwoju, zielonej chemii i czystych technologii. Scharakteryzowano także stosowane w biorafineriach surowce, ze szczególnym akcentem na biomasę roślinną lignocelulozową, oraz możliwe do otrzymania w procesach biorafinacji produkty, ze wskazaniem ich praktycznego

zastosowania. Wykazano także możliwość wykorzystania w biorafineriach alg, jako cennych mikroorganizmów obdarzonych potencjałem metabolicznych przemian fotosyntetycznych, zdolnych do wytwarzania szerokiej gamy wartościowych bioproduktów znajdujących współcześnie coraz szersze możliwości zagospodarowania przemysłowego. Hodowla alg spełnia niemal wszystkie wymagania stawiane najnowszym generacjom biorafinerii, a w omawianej publikacji przeglądowej zostały przedstawione rozwiązania technologiczne wykorzystywane do przemysłowej hodowli alg. W artykule podkreślono, że zrównoważony rozwój w przemyśle jest nie tylko alternatywną strategią do klasycznych procesów produkcyjnych wykorzystujących paliwa kopalne, ale także jest warunkiem przetrwania naszej cywilizacji i ewolucyjnym osiągnięciem gwarantującym zmniejszenie intensywności negatywnych interakcji na linii uprzemysłowiona cywilizacja ludzka – środowisko naturalne, w szczególności w zakresie przemysłowo zużywanych surowców. Publikację przeglądową **H9** traktuję jako osiągnięcie inicjujące moje dalsze działania w zakresie tematycznym biokonwersji biomasy lignocelulozowej.

W monoautorskiej pracy przeglądowej **H15** poświęconej charakterystyce biokatalizatorów enzymatycznych wykorzystywanych w procesie produkcji bioetanolu z biomasy roślinnej, szczegółowo opisałam kluczowe etapy przetwarzania surowców I i II generacji w bioetanol oraz enzymy klasy hydrolaz, które z uwagi na swoje synergistyczne działanie katalizują hydrolizę surowców skrobiowych (enzymy amylolityczne) i lignocelulozowych (enzymy celulolityczne i hemicelulolityczne) do cukrów prostych. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi wskazane zostało istotne znaczenie w procesie scukrzania lignoceluloz monoooksygenazy – enzymu klasyfikowanego jako oksydoreduktaza, który katalizuje rozkład nierozpuszczalnych polisacharydów z udziałem tlenu cząsteczkowego. Zdecydowana większość enzymów wykorzystywanych w procesach produkcji bioetanolu z biomasy roślinnej otrzymywana jest w wyniku hodowli biomasy komórek bakterii lub grzybów strzępkowych. W celu polepszenia cech produkcyjnych szczepów stosowanych mikroorganizmów i wywołania w ich komórkach nadprodukcji pożądaných enzymów poddaje się je udoskonalaniu. W tym zakresie największą rolę odegrały zaawansowane techniki rekombinacji DNA materiału genetycznego wykorzystywanych gatunków, a o ich dużym znaczeniu komercyjnym świadczy bardzo bogata literatura patentowa poświęcona metodom udoskonalania cech produkcyjnych mikroorganizmów. Innowacyjnym podejściem jest również poszukiwanie nowych szczepów naturalnie bytujących w ekstremalnych warunkach środowiskowych. Spośród wielu dobrze poznanych i scharakteryzowanych mikroorganizmów, najlepszymi producentami biokatalizatorów odpowiedzialnych za rozkład polisacharydów lignocelulozowych okazały się być różne gatunki grzybów strzępkowych, które wydzielają zewnątrzkomórkowo wszystkie enzymy niezbędne do hydrolizy celulozy jak i hemiceluloz. Wydajność wytwarzania poszczególnych enzymów zależy od gatunku, a nawet szczepu grzybów strzępkowych. Na przykład wiadomo, że strzępki *Aspergillus niger* wytwarzają duże ilości  $\beta$ -glukozydazy przy deficycie wytwarzania innych celulaz. Z kolei, szczepy pleśni z gatunku *Trichoderma reesei* charakteryzują się nadprodukcją celobiohydrolaz - enzymów katalizujących hydrolizę co drugiego wiązania  $\beta$ -1,4-glikozydowego w cząsteczce celulozy lub celodekstryn, co funkcjonalnie pozwala od substratu odłączać cząsteczki celobiozy. W pracy **H15** omówiłam także techniki hodowli mikroorganizmów wykorzystywanych w procesach produkcji celulaz i hemicelulaz, ze wskazaniem ich wad oraz zalet, a także potrzeby opracowania nowych, ulepszonych rozwiązań technologicznych w tym zakresie. Jeden z rozdziałów zaprezentowanych w pracy **H15** dotyczył charakterystyki przemysłowych, komercyjnie dostępnych preparatów amylolitycznych i celulolitycznych wytwarzanych przez koncerny biotechnologiczne, wśród których wiodącą rolę pełni duński koncern Novozymes oraz amerykański DuPont Enzymes. Całość materiału przedstawionego w jednoautorskiej pracy **H15** jest spójna tematycznie z pozostałymi pracami zaliczanymi przeze mnie do monotematycznego cyklu, z uwagi na fakt wykorzystywania przeze mnie we wszystkich badaniach

naukowych poświęconych hydrolizie enzymatycznej biomasy lignocelulozowej najnowszych generacji preparatów enzymatycznych wytworzonych przez obu ww. producentów.

Prace przeglądowe **H9** i **H15** wydatnie wykazały konieczność prowadzenia nowych badań naukowych w celu intensyfikacji i zwiększania efektywności etapów (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej.

#### **4.4.3.1. Obróbka wstępna surowców lignocelulozowych**

Opracowując koncepcję i dobierając na podstawie wcześniejszych doniesień literaturowych warunki prowadzenia procesu obróbki wstępnej badanych przez mnie surowców lignocelulozowych, miałam na uwadze przede wszystkim jak największą efektywność zastosowanej metody obróbki wstępnej, ale także minimalizację zarówno kosztów eksploatacyjnych procesu, jak i niekorzystnego wpływu zastosowanej metody na środowisko. Poprzez efektywność metody obróbki wstępnej rozumiałam nie tylko podatność surowca po obróbce wstępnej na hydrolizę enzymatyczną, ale także jak najmniejsze straty celulozy i hemicelulozy towarzyszące procesowi. Z tego względu swoją uwagę koncentrowałam głównie na procesie wstępnego przetwarzania biomasy prowadzonym w środowisku zasadowym w łagodnych warunkach. Alkaliczna obróbka wstępna jest stosowana przede wszystkim ze względu na wysoką skuteczność usuwania ligniny z biomasy [12] i wynikającą z tego poprawę reaktywności polisacharydów na drodze zwiększenia dostępności substratów dla działających hydrolitycznie enzymów celulolitycznych. Oprócz wysokiego stopnia delignifikacji biomasy, zaletą alkalicznej obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej jest wykorzystanie w procesie niekorozyjnych chemikaliów, a także jej wysoka skuteczność w stosunkowo łagodnych warunkach procesowych. Ponadto, w przeciwieństwie do kwasowej obróbki wstępnej, metoda alkaliczna nie generuje powstawania produktów ubocznych, takich jak furfural i 5-hydroksymetylofurfural, które stanowią inhibitory enzymów i działają toksycznie na mikroorganizmy wykorzystywane w następczych etapach [13]. Uważa się, że mechanizm alkalicznej obróbki wstępnej biomasy polega na zrywaniu międzycząsteczkowych wiązań estrowych występujących między ligniną i polisacharydami, zwłaszcza hemicelulozą [4,14]. Ponadto, podczas procesu alkalicznego dochodzi do oderwania od łańcuchów hemicelulozy podstawników kwasu acetylowego i uronowego, co prowadzi do zwiększonej dostępności enzymów do jej powierzchni i poprawia podatność biomasy na rozkład hydrolityczny. Proces alkalicznej obróbki wstępnej i badania koncentrujące się na poszukiwaniu skutecznych warunków jej prowadzenia są szeroko opisywane w literaturze [12], jednakże prezentowane dane ilościowe są w dominującej większości niepełne, a przy tym brakuje wyników badań mających na celu porównanie skuteczności proponowanych metod w odniesieniu do roślinnej biomasy lignocelulozowej różnego pochodzenia, które są ważne z uwagi na zróżnicowany skład chemiczny surowców odnawialnych użytecznych dla procesów biorafineryjnych.

Wyniki przeprowadzonych prac badawczych z zakresu badań alkalicznej obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej przedstawione zostały w publikacjach **H7**, **H10**, **H13** i **H14** oraz na 4 konferencjach naukowych (Poz. K16, K17, K19, K21, Zał. 4, pkt 2.5).

W monoautorskiej pracy **H13** przedyskutowałam wpływ wybranych warunków realizacji alkalicznej obróbki wstępnej odpadów kukurydzianych, tj. słomy oraz odziarnionych kolb (tzn. osadków) kukurydzianych, na skład biomasy oraz wydajność hydrolizy enzymatycznej zawartych w niej polisacharydów. Obróbkę wstępną prowadziłam z użyciem roztworów 2% NaOH oraz 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (pH 11,5) przez 2, 9 i 24 h w temperaturze 50°C. Kontynuując badania dotyczące wstępnego przetwarzania surowców lignocelulozowych w warunkach alkalicznych, w monoautorskiej pracy **H7** przeanalizowałam wpływ czasu trwania obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej prowadzonej w środowisku 2% KOH na efektywność procesu. użytą jako substrat w tym przypadku biomasą były nie tylko odpady kukurydziane (słoma i osadki), ale także drewno szybko rosnącej topoli *Populus*

*deltoides* × *maximowiczii*. Będący wstępem do badań tematyczny przegląd literatury wykazał, że uprzednio roztwory KOH były stosowane do obróbki wstępnej tylko ograniczonej grupy surowców lignocelulozowych, obejmującej: proso różgocate, wyłoki z trzciny cukrowej, słomę pszenną, trawę kallar (*Leptochloa fusca* L.) oraz łodygi bawełny. Brak danych literaturowych dotyczących obróbki wstępnej odpadów kukurydzianych i biomasy drzewnej stanowił główną przesłankę podjęcia badań prowadzonych przeze mnie w ramach pracy **H7**. Warto dodać, że wodorotlenek potasu jest uważany za bardziej przyjazny środowisku reagent niż wodorotlenek sodu, gdyż zawierające go ścieki poprodukcyjne mogą być stosowane jako nawozy potasowe. Głównym celem pracy było wyznaczenie najkorzystniejszego czasu obróbki wstępnej dla każdego testowanego rodzaju biomasy.

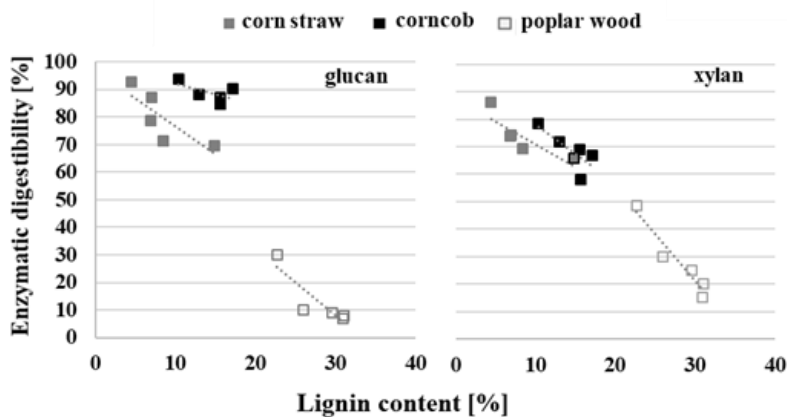
W pracy **H14** przedstawione zostało porównanie wpływu warunków prowadzenia alkalicznej i kwasowej obróbki wstępnej, na wydajność uwalniania cukrów prostych również z biomasy odpadów kukurydzianych (słomy i osadków) oraz drewna szybkorosnącej topoli *Populus deltoides* × *maximowiczii*. Obróbka alkaliczna prowadzona była w tym przypadku w 2% NaOH w 50°C przez 4 lub 24 h, zatem w zbliżonych warunkach do tych, które zastosowałam podczas badań przedstawionych w publikacji **H13**. Dodatkowo, w celach porównawczych i odniesienia się do efektywności innych badanych metod obróbki wstępnej, jeden z wariantów procesu obróbki prowadzony był w warunkach panujących w autoklawie (tj. 121°C i 0,1 MPa) przez 0,5 h. Do obróbki kwasowej użyty został 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a pozostałe parametry procesowe (temperatura i czas prowadzenia procesu) były analogiczne do zastosowanych podczas obróbki alkalicznej.

Eksperymenty przeprowadzone w ramach prac **H7**, **H13** i **H14** zaplanowałam tak, aby możliwe było wyznaczenie na podstawie otrzymanych wyników kluczowych parametrów charakteryzujących efektywność obróbki wstępnej z punktu widzenia jej wpływu na zawartość celulozy (glukanów) i hemiceluloz (ksylanów) w badanych surowcach, straty (lub odzysku) tych polisacharydów podczas obróbki oraz wydajności enzymatycznego scukrzania biomasy po obróbce. We wszystkich przypadkach do hydrolizy enzymatycznej wykorzystywałam wyłącznie frakcję stałą odseparowaną z zawiesiny podawanej obróbce wstępnej, zatem na wyniki przeprowadzonych analiz nie wpływały rozpuszczone w fazie ciekłej produkty degradacji składników lignoceluloz, mogące stanowić inhibitory enzymów celulolitycznych.

Głównym składnikiem frakcji polisacharydowej osadu uzyskanego po każdym z badanych wariantów alkalicznej obróbki wstępnej biomasy słomy jak i osadków z kolb kukurydzianych była celuloza i jej zawartość była wyższa niż w biomacie natywnej (przed obróbką). Straty celulozy (glukanów) w trakcie obróbki wstępnej zależały od warunków jej prowadzenia oraz rodzaju poddawanego procesowi surowca i wynosiły od 0,8% do 26,5 %, a zatem we wszystkich przypadkach były stosunkowo niskie porównując je z danymi literaturowymi uzyskanymi z wykorzystaniem innych metod obróbki biomasy [15]. Oznacza to, że większość glukanów nie uległa rozpuszczeniu w użytych roztworach wodorotlenku i pozostawała we frakcji stałej biomasy lignocelulozowej po obróbce wstępnej. Ponadto, straty glukanów nieznacznie rosły wraz z wydłużaniem czasu prowadzenia procesu obróbki. Analogicznie wyznaczone straty hemiceluloz wskazywały, że w przypadku użycia jako surowca odpadów kukurydzianych, w trakcie obróbki wstępnej dochodziło do rozpuszczenia w użytych roztworach znacznej części (55,4-73,7%) tych polisacharydów, w zależności od czasu i warunków prowadzenia procesu. Oznacza to, że stosunkowo duża część ksylanów była usuwana z tego surowca podczas obróbki wstępnej, co można uznać za główną wadę badanej metody. Z tego też względu zawartość ksylanów w frakcji stałej uzyskanej po obróbce wstępnej była niższa niż w biomacie surowej lub utrzymywała się na zbliżonym poziomie, w zależności od zastosowanej metody obróbki wstępnej. Straty ksylanów podczas obróbki drewna topoli były dużo mniejsze i mieściły się w zakresie 7,2 - 11 %, a ich poziom zależał od czasu prowadzenia procesu. Niezależnie od rodzaju użytej metody obróbki wstępnej drewna

topoli, stężenie glukanów w odzyskanych frakcjach stałych biomasy po obróbce było wyższe w porównaniu do ich zawartości w materiale natywnym i tylko nieznacznie wzrastało wraz z wydłużaniem czasu trwania procesu obróbki.

W monoautorskiej publikacji **H7** dodatkowo wyznaczyłam stopień delignifikacji biomasy i przeanalizowałam wpływ zawartości lignin w surowcach po obróbce wstępnej na efektywność ich hydrolizy enzymatycznej (Rys. 1). Otrzymane wyniki udowodniły, że podatność glukanów i ksylanów na hydrolizę enzymatyczną była ściśle związana z zawartością w niej lignin. Stosunkowo wysoka zawartość lignin w drewnie topoli była prawdopodobną przyczyną niskiej efektywności hydrolizy enzymatycznej tego surowca.



Rys. 1. Zależności między efektywnością hydrolizy enzymatycznej glukanów i ksylanów, a zawartością lignin w biomacie roślinnej poddanej obróbce wstępnej (grafika pochodzi z pracy **H7**).

Otrzymane w ramach powyższych badań wyniki pozwoliły wysnuć istotny wniosek, że wydłużanie czasu prowadzenia alkalicznej obróbki wstępnej w badanych warunkach do 9 h oraz dłużej jest nieuzasadnione i niekorzystne, przede wszystkim z uwagi na większe koszty eksploatacyjne procesu bez uzyskania poprawy jego efektywności. Rodzaj użytej zasady w procesie obróbki wstępnej nie miał znaczącego wpływu na otrzymane wartości wydajności reakcji hydrolizy enzymatycznej, zarówno dla słomy jak i osadków z kolb kukurydzianych. We wszystkich przypadkach biomasa po obróbce wstępnej charakteryzowała się znacznie większą podatnością na enzymatyczne scukrzanie niż biomasa natywna.

Wnioski wynikające z opisanych powyżej badań wykorzystałam do zaplanowania i opracowania koncepcji badań dotyczących obróbki alkalicznej przedstawionej w pracy **H10**, która dotyczyła analizy wpływu trzech różnych metod obróbki wstępnej słomy kukurydzianej i biomasy z dwóch gatunków topoli *Populus deltoides x maximowiczii* i *Populus trichocarpa* na skład chemiczny biomasy oraz wydajność jej hydrolizy enzymatycznej. Praca ta powstała w celu porównania fizyko-chemicznych metod obróbki wstępnej opracowanych w ramach współpracy przy realizacji projektu Biostrateg 2 przez trzy krajowe jednostki badawcze. Ciekawym i innowacyjnym aspektem tych badań jest praktyczne wykorzystanie drewna szybko rosnących gatunków topoli, które zostały zaaklimatyzowane i są obecnie uprawiane w warunkach polowych w Polsce. Warunki zastosowanych w pracy **H10** metod obróbki wstępnej zostały przedstawione w Tabeli 1.

Wyniki wykonanej szczegółowej analizy składu chemicznego biomasy wykazały, że spośród wszystkich porównywanych wariantów metod wstępnej obróbki surowców lignocelulozowych, wariant zaproponowanej przeze mnie obróbki alkalicznej był najkorzystniejszy z punktu widzenia zawartości hemicelulozy w otrzymanej biomacie lignocelulozowej po obróbce i dotyczyło to wszystkich użytych surowców lignocelulozowych. We wszystkich przypadkach odnotowano spadek zawartości

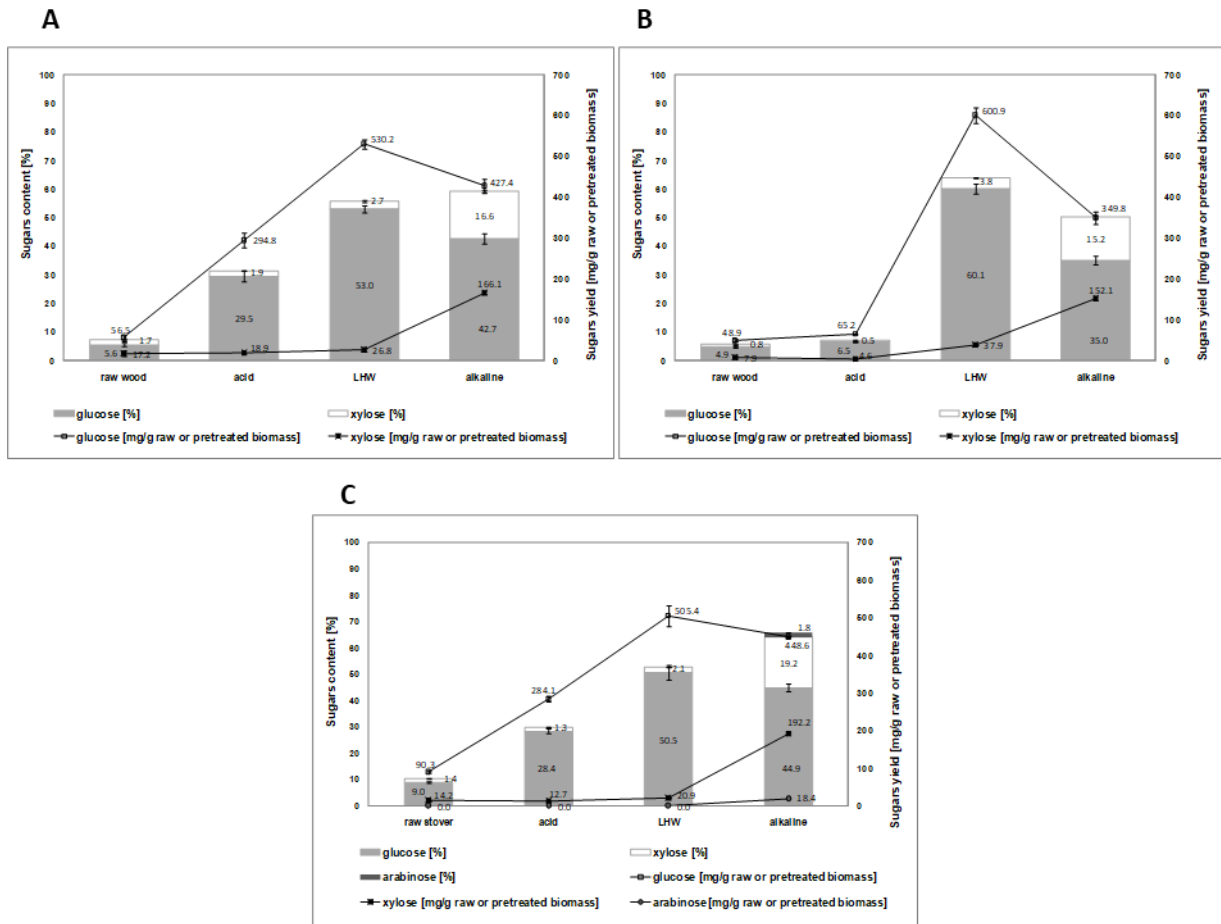
hemiceluloz, w tym pentozanów w biomase po obróbce, jednak obróbka zasadowa generowała najniższe straty tych cennych polisacharydów. Średni wynik analizy zawartości pentozanów w natywnym drewnie *Populus trichocarpa* wyniósł 18,2%, a po obróbce w 2% NaOH zmalał tylko do poziomu 13,3%. Dla porównania, zawartość pentozanów w biomase po obróbce prowadzonej metodą kwasową i LHW wynosiła odpowiednio tylko 0,1 i 2,3%. Podobne zależności zaobserwowano dla poddanego obróbce drewna *Populus deltoides x maximowiczii*. W przypadku słomy kukurydzianej zawartość pentozanów po obróbce alkalicznej była zbliżona do zawartości w biomase natywnej (tj. 24,4%), natomiast po obróbce kwasowej i LHW zmalała odpowiednio do 1,5 i 2,7%. Zawartość celulozy po obróbce wstępnej była znacznie wyższa niż w biomase słomy natywnej. Dla wszystkich omawianych rodzajów biomasy lignocelulozowej zaobserwowano wzrost zawartości celulozy po obróbce, a był on spowodowany degradacją innych składników analizowanych materiałów, w tym hemicelulozy i lignin, a tym samym sumaryczną utratą masy surowca. Największy wzrost zawartości celulozy odnotowano po obróbce LHW, zaś najmniejszy w przypadku obróbki alkalicznej, co miało związek ze stopniem usunięcia pozostałych składników z biomasy w trakcie obróbki. Biorąc pod uwagę stopień delignifikacji, w tym przypadku również najkorzystniejsze wyniki otrzymano dla obróbki alkalicznej. Stężenie lignin w biomase po obróbce wstępnej było najniższe po zastosowaniu 2% NaOH dla wszystkich badanych surowców, w porównaniu do procesu prowadzonego z użyciem kwasu lub LHW.

Tabela 1. Metody obróbki wstępnej biomasy roślinnej porównywane w pracy **H10**.

Metoda obróbki wstępnej	Słoma kukurydziana			Drewno topoli		
	T [°C]	t [h]	dawka [g/g s.m.]*	T [°C]	t [h]	dawka [g/g s.m.]*
Alkaliczna: 2% r-r NaOH	50	3	0,41	121	0,5	0,41
Kwasowa: 12% r-r H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	102	4	1,30	102	4	1,90
LHW (z ang. <i>liquid hot water</i> )	190	0,25	-	190	0,25	-

\*Dawka użytego roztworu zasady lub kwasu w przeliczeniu na g suchej masy (s.m.) surowca.

Wyniki hydrolizy enzymatycznej biomasy otrzymanej po zastosowaniu metod obróbki wstępnej porównywanych w pracy **H10** zostały przedstawione na Rys. 2. Zawartość cukrów (tj. *sugar content* [%]) świadczy o ilości uwolnionych w trakcie reakcji cukrów prostych w stosunku do suchej masy użytego substratu. Wydajność hydrolizy (tj. *sugar yield* [%]) oznacza natomiast masę otrzymanych cukrów prostych odniesioną do suchej masy użytego surowca przed obróbką wstępną. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że obróbka alkaliczna pozwala na uzyskanie najkorzystniejszych wyników biorąc pod uwagę ilość uwolnionej ksylozy z biomasy. Dla drewna topoli *Populus trichocarpa* i słomy kukurydzianej uzyskano także najwyższe sumaryczne wydajności uwalniania cukrów prostych po zastosowaniu opracowanej przeze mnie na podstawie wyników prac **H7**, **H13** i **H14** metody alkalicznej obróbki biomasy lignocelulozowej. Istotnym spostrzeżeniem jest także wyraźna zależność efektywności hydrolizy od rodzaju biomasy, a nawet od odmiany drewna topoli. Oznacza to, że dla każdego rodzaju a nawet gatunku stosowanej biomasy konieczna jest weryfikacja możliwości zastosowania wybranej metody i parametrów prowadzenia procesu w kontekście maksymalizacji wydajności wytwarzania z niej cukrów prostych.



Rys. 2. Porównanie efektywności hydrolizy surowca lignocelulozowego po zastosowaniu zbadanych wariantów metod obróbki wstępnej biomasy roślinnej, które zostały przedstawione i przedyskutowane w pracy H10: **A)** dla drewna topoli *Populus trichocarpa*, **B)** dla drewna topoli *Populus deltoides x maximowiczii*, **C)** dla słomy kukurydzianej.

#### 4.4.3.2. Hydroliza enzymatyczna surowców lignocelulozowych i intensyfikacja procesu w reaktorach membranowych

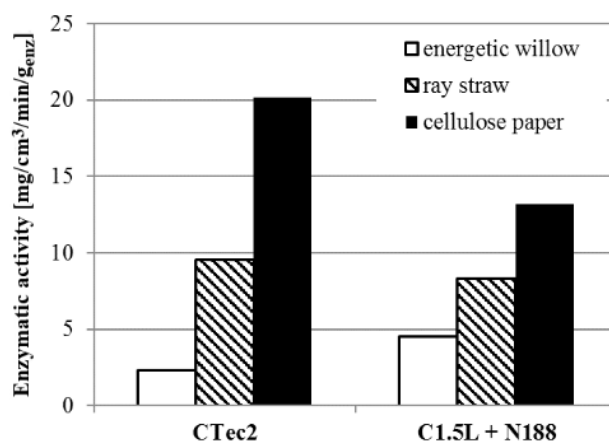
Wydajność hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej przetwarzanej w biorafineriach, istotnie i determinująco wpływa na opłacalność przemysłowego wytwarzania produktów docelowych. Przeszkodą w komercjalizacji procesu jest wciąż wysoki koszt zakupu biokatalizatorów, trudności z ich odzyskiwaniem oraz postępująca utrata aktywności enzymów w trakcie reakcji, spowodowana głównie adsorpcją białek katalitycznych na ligninach oraz inhibicją enzymów produktami reakcji [7,10]. Istnieje zatem silna potrzeba poprawienia opłacalności procesu enzymatycznego scukrzania surowców lignocelulozowych poprzez m.in. dobór najkorzystniejszych warunków prowadzenia procesu w zależności od rodzaju i składu chemicznego hydrolizowanej biomasy roślinnej, ograniczenie występowania zjawiska nieproduktywnej adsorpcji enzymów na ligninie (np. poprzez dodatek surfaktantów do mieszaniny reakcyjnej), znoszenie efektów inhibicji produktami hydrolitycznego rozkładu polisacharydów w drodze ciągłego usuwania produktów z układu reakcyjnego, oraz odzyskiwanie i wielokrotne użycie stosowanych enzymów, na przykład na drodze procesów separacji membranowej. Dostępność bardziej opłacalnej technologii hydrolizy biomasy lignocelulozowej zwiększy szansę na zastąpienie surowców kopalnych biomasą biodegradowalną, co korzystnie wpłynie



na stan globalnego ekosystemu, a w skali lokalnej, np. w odniesieniu do gospodarki Polski, mocniej zintensyfikuje rozwój obszarów wiejskich przez zwiększenie areału upraw celowych, co w pełni zgodne jest z założeniami wdrażanej polityki zrównoważonego rozwoju.

Wyniki prowadzonych badań tematycznie związanych z hydrolizą enzymatyczną biomasy lignocelulozowej zostały przedstawione i przedyskutowane w publikacjach **H1 - H3**, **H11** i **H12**.

Swoje rozważania w tym zakresie tematycznym rozpoczęłam od badań opisanych w pracy **H11**, której merytoryczną podstawę stanowiła analiza efektywności dostępnych na rynku preparatów enzymatycznych, tj. Cellic® CTe2 oraz mieszaniny Celluclast® 1.5 L i Novozyme 188, przeznaczonych do przemysłowego scukrzania biomasy lignocelulozowej. Badania te zostały wykonane w ramach projektu grantowego Biostrateg 2. Koordynowane przeze mnie prace eksperymentalne prowadzone były z użyciem dwóch rodzajów substratu lignocelulozowego tj. słomy żytniej i wierzby energetycznej *Salix viminalis L.* oraz papieru celulozowego. Zgodnie z przyjętą metodyką, przed hydrolizą enzymatyczną wszystkie zbadane surowce lignocelulozowe poddane zostały alkalicznej obróbce wstępnej. Głównym elementem nowości naukowej badań opisanych w publikacji **H11** było porównanie aktywności preparatów enzymatycznych oraz ich wpływu na przebiegi reakcji dla różnych substratów znacznie różniących się podatnością na scukrzanie. Wszystkie eksperymenty prowadzone były w skali laboratoryjnej, z zachowaniem takich samych wartości parametrów operacyjnych procesu hydrolizy. W badaniach zastosowano preparaty enzymatyczne wyprodukowane przez firmę Novozymes, różniące się składem i aktywnością enzymatyczną względem substratów polisacharydowych. Warty odnotowania jest, że preparat Cellic® CTe2 był w czasie powstawania publikacji uważany za wiodący preparat najnowszej generacji o aplikacyjności przemysłowej. Zawiera on w swoim składzie endoglukanazy, cellobiohydrolazy, ksylanazy i  $\beta$ -glukozydazę, czyli stanowi koktajl enzymów niezbędnych do pełnego rozłożenia celulozy i hemiceluloz do cukrów prostych. Według producenta, preparat Cellic® CTe2 został wydatnie udoskonalony w stosunku do wcześniej wprowadzonego na rynek preparatu Celluclast® 1.5L, co stało się możliwe dzięki uzupełnieniu o dodatek  $\beta$ -glukozydazy, czyli enzymu katalizującego rozkład celobiozy do glukozy. Dodatkowo, preparat Cellic® CTe2 charakteryzował się wyższą aktywnością hemicelulolityczną i mniejszą podatnością za inhibicję i dezaktywację niż biokatalizator Celluclast® 1.5L. Drugi z badanych preparatów, czyli Novozyme 188, jest bogaty w  $\beta$ -glukozydazy, dlatego najczęściej był on stosowany w mieszaninie z preparatem Celluclast® 1.5L. Analiza uzyskanych wyników przeprowadzonych badań pozwoliła stwierdzić, że szybkość uwalniania cukrów prostych w reakcjach katalizowanych z użyciem preparatów enzymatycznych zależy od rodzaju substratu. Dla biomasy wierzby energetycznej przebieg reakcji był do siebie zbliżony dla obu preparatów enzymatycznych. Z kolei dla słomy żytniej zaobserwowano znacznie większą szybkość reakcji hydrolitycznej degradacji frakcji polisacharydowej w przypadku użycia preparatu Cellic® CTe2. Biorąc pod uwagę wpływ użytych enzymów na początkowe szybkości reakcji uzyskane dla różnych dawek enzymów, a następnie na wyznaczone na ich podstawie aktywności preparatów enzymatycznych, co zostało przedstawione na zaczerpniętej z publikacji **H11** grafice przedstawionej na Rys. 3, można zauważyć, że w przypadku biomasy wierzby energetycznej najlepsze wyniki otrzymano z użyciem mieszaniny starszej generacji preparatów enzymatycznych (tj. mieszaniny Celluclast® 1.5L i Novozyme 188), zaś dla słomy żytniej i celulozy wydajniejsza hydroliza zachodziła w przypadku użycia preparatu Cellic® CTe2. Otrzymane wyniki pozwoliły wysnuć uogólniony wniosek, że wydajność hydrolizy biomasy lignocelulozowej katalizowanej enzymatycznie zależy nie tylko od zastosowanego biokatalizatora, ale także od rodzaju surowca użytego jako substrat. Wykazano, że było to związane z różnicami w procentowej zawartości poszczególnych głównych komponentów substratu (celulozy, hemiceluloz i lignin) w całkowitej masie badanych surowców po przeprowadzonej obróbce wstępnej.

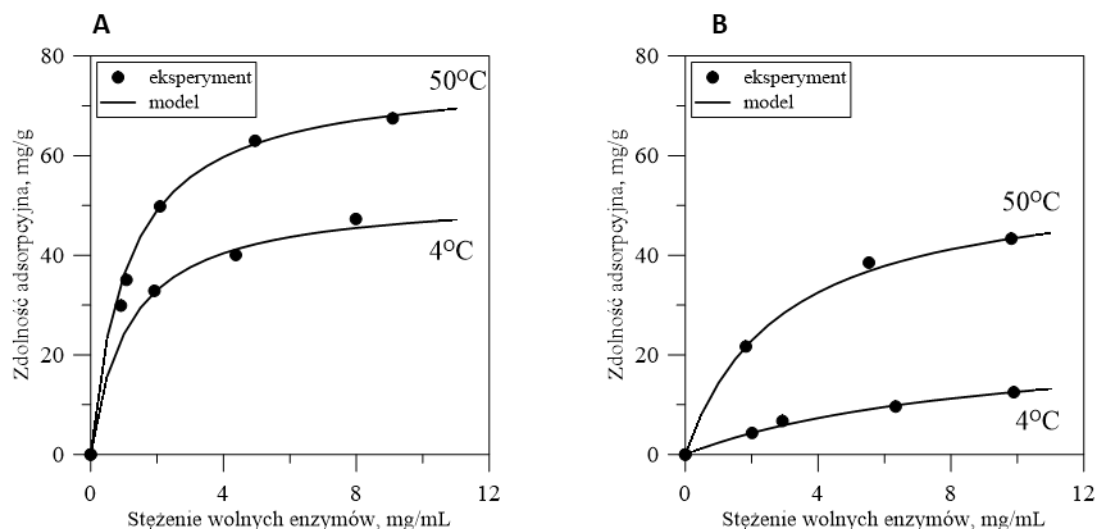


Rys. 3. Wartości aktywności enzymów wyznaczone w pracy **H11** dla trzech różnych surowców lignocelulozowych poddanych uprzednio obróbce wstępnej.

W ramach przeprowadzonych badań eksperymentalnych hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej zmierzyłam się również z analizą zjawiska adsorpcji białek katalitycznych zawartych w preparacie enzymatycznym Cellic® CTec2 na biomacie słomy kukurydzianej poddanej obróbce wstępnej oraz na wyizolowanych z niej ligninach. Otrzymane wyniki zostały opublikowane w pracy **H12**. Celem pracy było zbadanie wydajności enzymatycznej hydrolizy biomasy słomy kukurydzianej po obróbce wstępnej z użyciem wypracowanego uprzednio alkalicznego roztworu  $H_2O_2$  oraz, dodatkowo, wyznaczenie izoterm adsorpcji białek enzymatycznych na powierzchni surowca, ligniny i polisacharydów obecnych w surowcu. Na podstawie uzyskanych wyników zaproponowane zostało rozwiązanie matematyczne pozwalające na wyznaczenie zdolności adsorpcyjnej polisacharydów w zależności od równowagowego stężenia enzymów.

Obróbka wstępna biomasy lignocelulozowej przed hydrolizą enzymatyczną w trakcie realizacji pracy **H12** prowadzona była w środowisku alkalicznego 2% roztworu  $H_2O_2$  (pH 11,5) w temperaturze  $50^\circ C$  przez 4 h, czyli w warunkach dobranych na podstawie wyników otrzymanych w ramach pracy **H13**. Z przesączu uzyskanego po filtracji zawiesiny biomasy poddanej obróbce wstępnej, wyizolowałam ligniny z wykorzystaniem roztworu HCl, po uprzednim wytrąceniu z przesączu hemiceluloz. Adsorpcję enzymów prowadziłam niezależnie w temperaturze  $50^\circ C$ , czyli w warunkach inkubacji zalecanych przez producenta preparatu Cellic® CTec2 do przeprowadzenia hydrolizy biomasy lignocelulozowej, oraz w temperaturze  $4^\circ C$ , w której enzymy nie wykazywały aktywności katalitycznej. Eksperymenty w obniżonej temperaturze miały na celu zbadanie samego procesu adsorpcji po zahamowaniu aktywności enzymów, natomiast w temperaturze  $50^\circ C$  poza adsorpcją zachodziła także hydroliza enzymatyczna celulozy i hemiceluloz.

Na podstawie otrzymanych danych doświadczalnych wyznaczono wydajności hydrolizy glukanów i ksylianów, stanowiących główne frakcje biomasy po obróbce wstępnej. Wyniki badań adsorpcji białek katalitycznych na cząstkach surowca oraz cząstkach ligniny opisane zostały izotermą Langmuira i wyznaczone zostały jej parametry - maksymalna zdolność adsorpcyjna oraz stała równowagi adsorpcji dla danego procesu. Porównanie danych doświadczalnych i obliczeń modelowych adsorpcji białek enzymatycznych na powierzchni słomy kukurydzianej po obróbce wstępnej oraz na cząstkach lignin wyizolowanych z surowca przedstawiono na Rys. 4.



Rys. 4. Porównanie danych doświadczalnych i krzywych modelowych dla procesu adsorpcji białek enzymatycznych na biomacie słomy kukurydzianej po obróbce wstępnej (A), oraz na ligninie (B), w obu badanych temperaturach (grafiki pochodzą z pracy H12).

W obu przypadkach równanie izotermy dobrze odwzorowywało dane doświadczalne, co świadczyło o właściwym doborze rodzaju izotermy adsorpcji i wyznaczeniu wartości jej parametrów. Na podstawie otrzymanych wyników wyznaczone zostały izotermy adsorpcji enzymów na polisacharydach zawartych w biomacie surowca. W tym celu skorzystano z założenia, że zdolność adsorpcyjna białek enzymatycznych na ligninie zawartej w biomacie po obróbce jest taka sama jak na ligninie wyizolowanej z surowca w procesie obróbki. Wartości wyznaczonych maksymalnych zdolności adsorpcyjnych dla wszystkich badanych adsorbatów były wyższe w 50°C niż w 4°C, jednak różnice były zdecydowanie największe w przypadku adsorpcji białek enzymatycznych zachodzącej na ligninie. Wartość stałej równowagi adsorpcyjnej praktycznie nie zależała od temperatury dla adsorpcji na biomacie słomy kukurydzianej i na samych polisacharydach, zaś dla ligniny w 50°C była zdecydowanie niższa niż w 4°C. Uzyskane wyniki mogą ułatwić dobór dawki enzymów w zależności od zawartości ligniny w biomacie podczas enzymatycznego scukrzania substratów pochodzenia roślinnego realizowanego w skali przemysłowej na potrzeby przetwarzania surowców lignocelulozowych w biorafineriach.

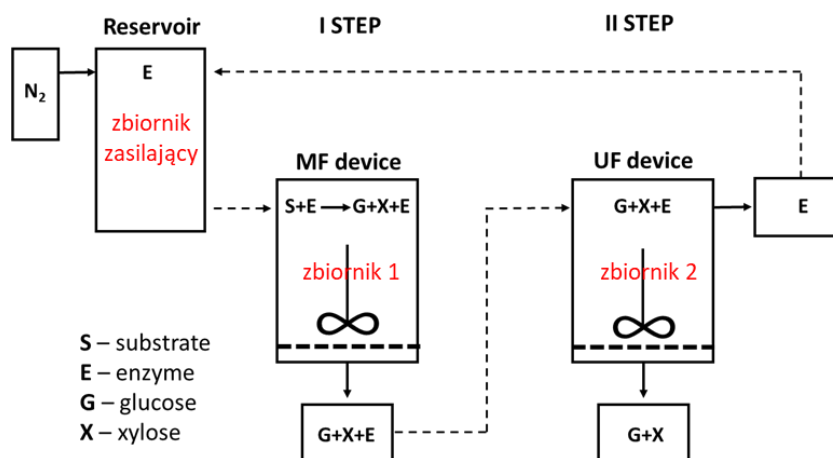
Rozważania naukowe dotyczące efektywności hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej kontynuowałam w kolejnych pracach. W monoautorskiej publikacji H1 przedstawiłam wyniki badań dotyczących hydrolizy enzymatycznej biomasy słomy kukurydzianej zintegrowanej z dwuetapową separacją membranową. Badania te prowadzone były w ramach realizacji projektu badawczego I-Chem.2, którego byłam kierownikiem. Biomasa przed hydrolizą poddana była obróbce wstępnej z wykorzystaniem metody opracowanej przeze mnie na podstawie wyników prac H7, H13 i H14. W pierwszym etapie mieszanina poreakcyjna poddawana była procesowi mikrofiltracji, w celu oddzielenia hydrolizatu od nieprzereagowanej biomasy. Następnie, w drugim etapie, otrzymany retentat poddawany był ultrafiltracji z użyciem membrany zatrzymującej stosowane do hydrolizy enzymy. Taki sposób realizacji procesu pozwalał na odzyskanie enzymów i ponowne ich użycie w nowej reakcji hydrolizy prowadzonej ze świeżą porcją substratu. Najważniejszym elementem nowości naukowej zaprezentowanej w pracy H1 było prowadzenie procesu w obecności surfaktantu Tween 80 oraz określenie wpływu użytego surfaktantu na przepływ permeatu oraz wydajności reakcji.

Surfaktant Tween 80 (Polisorbat 80), zaliczany do nietoksycznych niejonowych środków powierzchniowo czynnych, jest często stosowany w reakcjach hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej w celu zredukowania występowania niekorzystnego zjawiska adsorpcji enzymów na

powierzchni lignin [np. 16]. Z tego powodu dodatek Tween 80 do mieszaniny reakcyjnej przyczynia się do uzyskania wyższych wydajności procesu w porównaniu do reakcji prowadzonych w układach reakcyjnych bez surfaktantu. Z kolei procesy separacji membranowej są od lat stosowane podczas hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej, w celu usunięcia z przestrzeni reakcyjnej cukrów prostych będących inhibitorami stosowanych enzymów celulolitycznych [17]. Niezależnie od charakterystyki stosowanych w dotychczasowych badaniach reaktorów lub modułów membranowych, uzyskiwano wyższe wydajności hydrolizy niż w przypadku procesu prowadzonego bez użycia separacji membranowej [18].

Zastosowane przeze mnie rozwiązanie procesowe można uznać za innowacyjne, gdyż wykorzystywało jednocześnie dwa sposoby niwelowania opisanych powyżej niekorzystnych zjawisk towarzyszących przemianom enzymatycznym surowców lignocelulozowych prowadzącym do ich scukrzania do cukrów prostych. Pierwszy sposób polegał do dodaniu surfaktantu do układu reakcyjnego, a drugi na usuwaniu inhibitorów enzymów z mieszaniny reakcyjnej z wykorzystaniem membrany. Wykonane studia literaturowe wykazały, że badania w tym zakresie nie były dotychczas prowadzone. Ponadto nie znany był wcześniej wpływ surfaktantu na przepuszczalność oraz zdolność separacyjną membran w trakcie przemiany enzymatycznej lignoceluloz prowadzącej do ich scukrzania.

Doświadczalny układ badawczy, który został wykorzystany w trakcie badań prowadzących do opublikowania pracy **H1** przedstawiono schematycznie na Rys. 5. Zbiornik 1 o pojemności 300 cm<sup>3</sup> stanowił reaktor membranowy wyposażony w płaską polietersulfonową membranę mikrofiltracyjną (Nadir PM MP005, rozmiar porów 0,05 μm, średnica 63,5 mm), w którym zachodziła hydroliza enzymatyczna (czyli pierwszy etap badanego procesu). użytym substratem była rozdrobniona słoma kukurydziana poddana wcześniej alkalicznej obróbce wstępnej z użyciem NaOH w warunkach dobranych autorsko na podstawie wyników pracy **H13**. Jako katalizator użyty został preparat enzymatyczny Cellic<sup>®</sup> CTec2. Zbiornik 1 (czyli reaktor membranowy) połączony był ze zbiornikiem zasilającym o pojemności 800 cm<sup>3</sup>, zawierającym roztwór enzymów rozpuszczonych w buforze. Przepływ permeatu był prostopadły do membrany i wymuszany przez nadciśnienie wytworzone po stronie nadawy za pomocą gazu obojętnego (azotu) dostarczanego bezpośrednio do zbiornika zasilającego reaktor. Objętość mieszaniny reakcyjnej w reaktorze była stała w trakcie procesu, ponieważ przepływ roztworu enzymu do reaktora odpowiadał przepływowi permeatu z uwagi na zamknięty i uszczelniony układ badawczy.



Rys. 5. Schemat układu użytego w pracy **H1** do badań hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej zintegrowanej z dwuetapową separacją membranową.

Wybrane permeaty otrzymane po reakcji hydrolizy przeprowadzonej w zbiorniku 1 z membraną mikrofiltracyjną, poddawane były następnie procesowi ultrafiltracji w zbiorniku 2 o pojemności 300 cm<sup>3</sup>. Zbiornik 2 był wyposażony w płaską asymetryczną membranę polieterosulfonową o punkcie odcięcia 5 kDa. Eksperymentalnie wykazałam, że membrana jest nieprzepuszczalna dla użytych enzymów hydrolitycznych. Dzięki temu, w zbiorniku 2 możliwe było odzyskiwanie białek katalitycznych i ich ponowne użycie w reakcji prowadzonej ze świeżą porcją substratu. Mieszanie zawartości zbiornika 1, jak i zbiornika 2, realizowane było z wykorzystaniem mieszadeł magnetycznych. Dodatkowo zbiornik 1 i zbiornik zasilający były termostatowane w 50°C w celu zapewnienia optymalnych warunków temperaturowych wymaganych przez stosowane enzymy. Dla porównania hydrolizę enzymatyczną przeprowadziłam także w procesie okresowym - bez przepływu permeatu przez membranę.

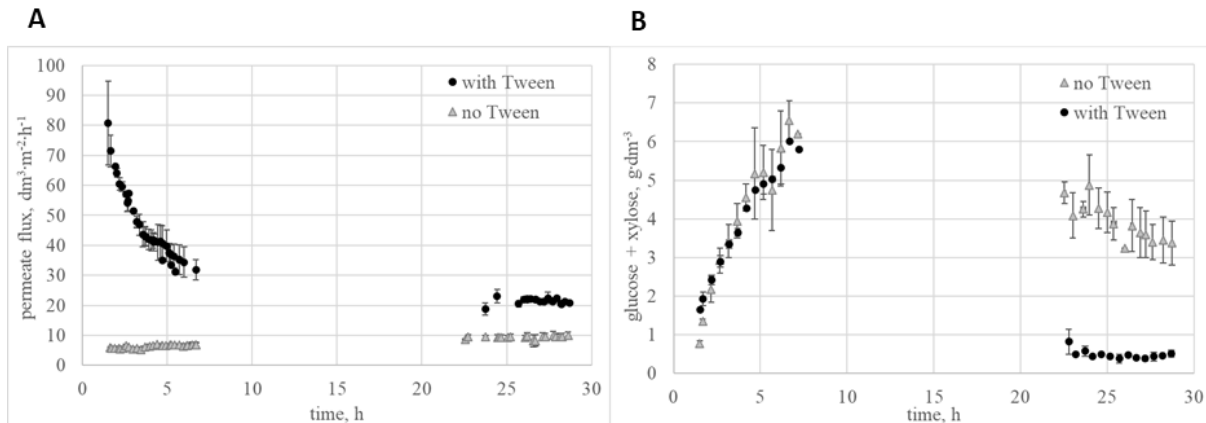
W ramach zrealizowanych badań doświadczalnych określiłam wpływ surfaktantu Tween 80 na przepuszczalność użytych membran oraz na ich zdolność do zatrzymywania enzymów. Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wykazały, że dodatek Tween 80 przyczynił się do znacznego zmniejszenia współczynnika przepuszczalności ( $L_p$ ) obu stosowanych membran w porównaniu do wody destylowanej (Tabela 2).

Tabela 2. Wyznaczone współczynniki przepuszczalności ( $L_p$ ) badanych membran dla wody destylowanej i 0,6% roztworu Tween 80 w wodzie destylowanej.

	$L_p$ dla membrany MF [dm <sup>3</sup> ·m <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup> ·bar <sup>-1</sup> ]	$L_p$ dla membrany UF [dm <sup>3</sup> ·m <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup> ·bar <sup>-1</sup> ]
Woda destylowana	726,8 ± 61,9	11,8 ± 0,9
0,6% (w/v) Tween 80	449,2 ± 32,3	4,83 ± 0,3

Przeprowadzone badania hydrolizy enzymatycznej słomy kukurydzianej po obróbce wstępnej pozwoliły stwierdzić, że dodatek do mieszaniny reakcyjnej surfaktantu Tween 80 w stężeniu 0,6% (w/v) miał wpływ zarówno na zmiany gęstości strumienia objętościowego permeatu w czasie, jak również na stężenia zawartych w nim monosacharydów stanowiących produkty końcowe enzymatycznego scukrzania, co zostało przedstawione na grafikach zaczerpniętych z pracy **H1** na Rys. 6. Warto wspomnieć, że surfaktant Tween 80 pozwolił znacznie zwiększyć przepływ permeatu przez membranę w trakcie procesu, bez wpływu na współczynnik zatrzymania membrany dla białek enzymatycznych. W przypadku eksperymentów przeprowadzonych bez dodatku Tween 80 doszło do prawie natychmiastowego wyraźnego spadku strumienia permeatu tuż po rozpoczęciu mikrofiltracji, który to jednak w miarę upływu czasu wzrastał ze względu na zużywanie w reakcji cząstek substratu. Wyniki uzyskane w doświadczeniach przeprowadzonych w obecności Tween 80 wskazują na znacznie wolniejszy spadek przepływu permeatu w początkowym czasie trwania procesu. Oznacza to, że dodatek surfaktantu ograniczył tworzenie się placka filtracyjnego na powierzchni membrany lub blokowanie jej porów przez składniki zawiesiny reakcyjnej. Wykazałam, że możliwą tego przyczyną są interakcje Tween 80 z zawiesiną rozdrobnionych cząstek biomasy i tworzenie się przy powierzchni membrany miceli z zamkniętymi w ich wnętrzu cząstkami substratu, bądź efekt modyfikacji powierzchni membrany i/lub cząstek zawiesiny biomasy przez monomery surfaktantu lub micelle, który nadawał im bardziej hydrofilowy charakter. Może to wpływać na hydrodynamikę przepływu nad powierzchnią membrany, ułatwiając usuwanie z niej placka filtracyjnego i zapobiegając blokowaniu porów membrany. Biorąc pod uwagę przebieg zmian stężeń uwolnionych monosacharydów (Rys. 6B), w pierwszym etapie reakcji, kiedy przemiana enzymatyczna zachodziła z największą szybkością, wpływ Tween 80 był niezauważalny. Dopiero po pewnym czasie stężenia produktów reakcji w permeacie

w obecności Tween 80 przyjmowały znacznie niższe wartości niż bez użycia surfaktantu. Miało to związek z wpływem surfaktantu na szybkość przepływu permeatu i tym samym na szybkość rozcieńczania zawartości reaktora. Dodatek Tween 80 przyczynił się także do zwiększenia wydajności reakcji zarówno w procesie okresowym jak i w reaktorze membranowym, w porównaniu do analogicznych procesów prowadzonych bez użycia surfaktantu. Wydajności uwalniania glukozy i ksylozy w mikrofiltracyjnym reaktorze membranowym w przypadku użycia Tween 80 były odpowiednio o 31,2% i 25,5% wyższe niż bez jego dodatku.



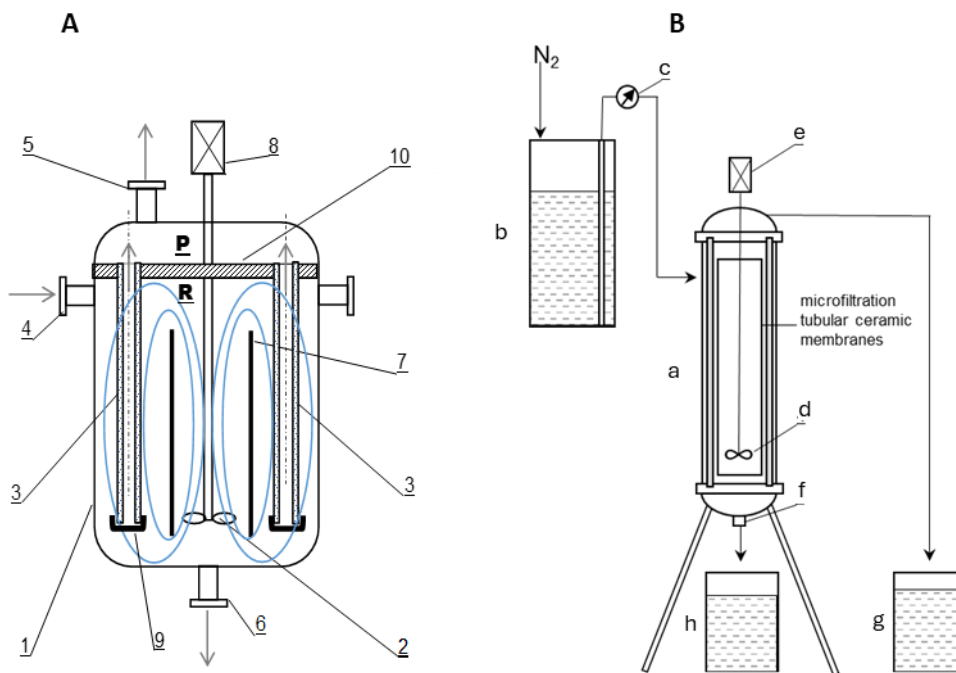
Rys. 6. Porównanie wyników hydrolizy enzymatycznej biomasy w reaktorze membranowym prowadzonej z użyciem lub bez dodatku Tween 80: **A)** zmiany gęstości strumienia objętościowego permeatu w czasie, **B)** zmiany sumarycznych stężeń glukozy i ksylozy w strumieniu permeatu w czasie.

Zastosowana w kolejnym etapie ultrafiltracja permeatu zawierającego monosacharydowe produkty hydrolizy i enzymy pozwoliła na częściowe odzyskanie enzymów i ich ponowne użycie w reakcji hydrolizy świeżej porcji biomasy lignocelulozowej. Otrzymane wyniki jednoznacznie dowiodły, że dodatek Tween 80 korzystnie wpływa na hydrolizę enzymatyczną biomasy lignocelulozowej w reaktorze membranowym, co zostało podkreślone w pracy **H1**.

Hydroliza enzymatyczna biomasy lignocelulozowej prowadzona w reaktorze membranowym stanowiła także przedmiot publikacji **H3**, która była kolejną pracą powstałą w ramach realizacji projektu Biostrateg 2. Publikacja powstała między innymi przy udziale Joanny Lipińskiej, studentki wykonującej badania do swojej pracy magisterskiej, której byłam opiekunem pomocniczym. Kierowany przeze mnie zespół badawczy wykorzystał mikrofiltracyjny reaktor membranowy o innowacyjnej budowie cylindrycznej, którego koncepcja została opracowana przez prof. Andrzeja Kołtuniewicza, w celu prowadzenia mikrofiltracji zawiesin. Analizując pracę reaktora dla zawiesin, zauważyłam możliwość praktycznego wykorzystania go do procesu hydrolizy enzymatycznej rozdrobnionej biomasy lignocelulozowej. Schematy budowy reaktora membranowego oraz stanowiska badawczego wykorzystanego w pracy **H3** zostały przedstawione na Rys. 7.

W tym miejscu warto przybliżyć budowę rozwiązania bioreaktorowego zastosowanego do intensyfikacji enzymatycznej hydrolizy biomasy lignocelulozowej. W płycie kolektora, równoległe do osi reaktora, zainstalowanych było 16 sztuk mikrofiltracyjnych membran rurowych wykonanych z materiału ceramicznego  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-}\alpha$  o średnicy porów ok. 1  $\mu\text{m}$ , średnicy wewnętrznej 10 mm i długości 200 mm. Końce membran przechodzące przez płytę kolektora były otwarte, zaś dolne końce zostały zaślepione. Zapewniało to ruch permeatu w kierunku wnętrza komory i następnie do zbiornika zewnętrznego. Konstrukcja reaktora pozwalała na cyrkulację osiową zawiesiny cząstek biomasy lignocelulozowej we wnętrzu aparatu, a sama cyrkulacja była zapewniona dzięki zainstalowanej między mieszadłem a membranami rurze cyrkulacyjnej i wymuszana mechanicznie przez obracające się

mieszadło. Miało to korzystny wpływ na pracę reaktora z uwagi na usuwanie placka filtracyjnego z powierzchni membran poprzez burzliwy ruch zawiesiny w jego wnętrzu i styczny przepływ tejże zawiesiny do powierzchni membrany. Dodatkowo tworzenie się placka filtracyjnego ograniczane było przez uderzanie powierzchni membrany przez cząstki stałe biomasy lignocelulozowej (z ang. *scouring effect*), zapewniając tym samym wysoką wydajność filtracji. Zakres prac doświadczalnych obejmował zbadanie wpływu podstawowych parametrów operacyjnych (tj. częstości obrotów mieszadła, ciśnienia transmembranowego, stężenia i rozmiaru cząstek substratu) na hydrodynamikę przepływu w reaktorze oraz na wydajność prowadzonej w nim hydrolizy enzymatycznej słomy kukurydzianej uprzednio poddanej obróbce wstępnej.



Rys. 7. Schematy budowy reaktora membranowego oraz stanowiska badawczego wykorzystanych w pracy **H3**: **A**) reaktor membranowy: 1 - obudowa, 2 - mieszadło, 3 - ceramiczne membrany rurowe, 4 - wlot, 5 - odpływ permeatu, 6 - odpływ retentatu, 7 - rura, 8 - silnik, 9 - zaślepki, 10 - płyta kolektora, R - komora retentatu, P - komora permeatu; **B**) układ badawczy: a - reaktor membranowy ( $V = 14 \text{ dm}^3$ ), b - zbiornik zasilający ( $V = 30 \text{ dm}^3$ ), c - manometr, d - mieszadło, e - silnik, f - odpływ retentatu, g - zbiornik na permeat, h - zbiornik na retentat.

W celu przeprowadzenia hydrolizy enzymatycznej, reaktor membranowy o poj.  $14 \text{ dm}^3$  (a, Rys.7B) napełniany był zawiesiną cząstek rozdrobnionej biomasy lignocelulozowej w buforze zawierającym enzymy celololityczne (preparat Accelerase 1500). Ta sama mieszanina preparatów enzymatycznych w buforze umieszczona była w zbiorniku zasilającym o poj.  $30 \text{ dm}^3$  (b, Rys.7B). Biomasa przed hydrolizą poddana została alkalicznej obróbce wstępnej zgodnie z metodyką opracowaną autorsko w ramach realizacji prac **H13** i **H14**. Do zbiornika zasilającego wprowadzany był gaz obojętny (azot) w celu wygenerowania ciśnienia transmembranowego, które wymuszało przepływ hydrolizatu przez membrany. Ponieważ reaktor był wyposażony w membrany mikrofiltracyjne, to podczas prowadzonej w warunkach przepływowych hydrolizy enzymatycznej, produkty reakcji o niskiej masie cząsteczkowej (czyli głównie glukoza i ksyloza) oraz enzymy przechodziły przez pory membrany. Jednocześnie nieprzereagowane składniki substratu (tj. celuloza, hemiceluloza, lignina, nierozpuszczalne oligosacharydy) pozostawały po stronie retentatu. W celu utrzymania stałego stężenia enzymów w mieszaninie reakcyjnej, reaktor był w sposób ciągły uzupełniany buforem zawierającym

świeże enzymy ze zbiornika zasilającego. Strumień mieszaniny ze zbiornika zasilającego odpowiadał strumieniowi permeatu, co zapewniało utrzymanie stałej objętości mieszaniny reakcyjnej wewnątrz reaktora. Sposób prowadzenia procesu był zatem zbliżony do zaprezentowanego w pracy **H1**. W Tabeli 3 zamieszczone zostały dane dotyczące wyznaczonych wartości wydajności reakcji hydrolizy biomasy słomy kukurydzianej.

Tabela 3. Wydajności reakcji hydrolizy dla badanych warunków procesowych.

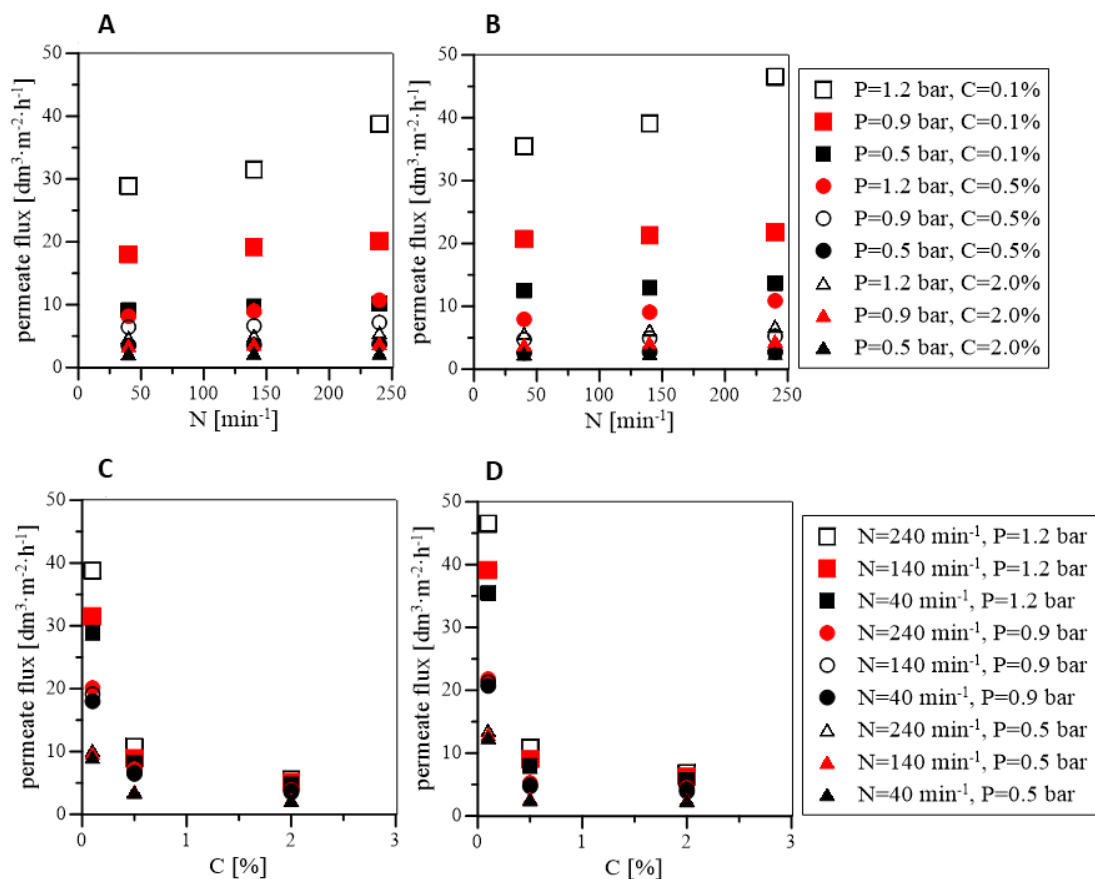
Warunki procesowe		Wydajność reakcji hydrolizy [%]		
P [bar]	N [min <sup>-1</sup> ]	całkowita	hydr. glukanów	hydr. ksylanów
0,3	240	80,2	78,3	87,5
1,0	240	85,6	83,6	93,4
2,0	240	90,3	88,1	98,5
2,0	160	91,8	89,6	99,8
2,0	80	89,2	87,1	97,3
proces okresowy	240	75,8	74,1	82,7

Analiza danych zamieszczonych w Tabeli 3 pozwala stwierdzić, że w badanym układzie wydajność reakcji hydrolizy rosła wraz ze wzrostem ciśnienia transmembranowego z powodu większej szybkości usuwania produktów z objętości reakcyjnej oraz wyższego stężenia biomasy przy powierzchni membrany, niż we wnętrzu reaktora przy zastosowaniu wyższych ciśnień. Wskazano jednak także na potrzebę przeprowadzenia dalszych badań w celu zweryfikowania, czy podczas procesu nie dochodziło do akumulacji enzymów w reaktorze, co również mogło mieć wpływ na efektywność reakcji hydrolizy.

W układzie bioreaktorowym analizowanym w pracy **H3**, częstość obrotów mieszadła w badanym zakresie praktycznie nie miała wpływu na wydajność reakcji enzymatycznego scukrzania biomasy lignocelulozowej. Ponadto, ilość uwolnionych z substratu cukrów prostych w procesie prowadzonym w reaktorze membranowym była większa niż w przypadku przeprowadzenia eksperymentu w warunkach okresowych (tj. bez wytworzenia ciśnienia po stronie nadawy w reaktorze). W ramach badań przeprowadzono także pomiary strumienia permeatu podczas mikrofiltracji zawiesiny biomasy bez dodatku enzymów. W takich warunkach nie dochodziło do hydrolizy enzymatycznej surowca lignocelulozowego. Otrzymane wyniki pozwoliły określić wpływ badanych parametrów procesowych na przepływ permeatu co przedstawiono na Rys. 8, zawierającym grafiki opublikowane w pracy **H3**.

Gęstości strumienia objętościowego permeatu zależały od warunków procesu i przyjmowały nawet o 20% wyższe wartości dla większych rozmiarów cząstek biomasy. Wzrastały one także liniowo wraz ze zwiększaniem szybkości mieszania, a wzrost ten był szczególnie widoczny dla najniższych badanych stężeń biomasy lignocelulozowej (tj.  $C = 0,1\%$ ). Dla wyższych stężeń biomasy (tj.  $C = 0,5\%$  i  $2,0\%$ ) częstość obrotowa mieszadła miała znacznie mniejszy wpływ na wartości gęstości strumienia permeatu. Wykazano w ten sposób wpływ badanych parametrów operacyjnych na przeciwstawne efekty: odnawiania powierzchni na membranie oraz akumulacji na niej cząstek zawiesiny biomasy lignocelulozowej, a tym samym na tworzenie placka filtracyjnego i inne zjawiska odpowiadające za redukcję przepuszczalności membrany. Dodatkowo przedstawiono zmiany wartości objętościowego strumienia permeatu w czasie prowadzenia procesu mikrofiltracji zawiesiny cząstek biomasy lignocelulozowej dla wszystkich badanych warunków. Na podstawie analizy otrzymanych wyników określono korzystne parametry operacyjne, dla których placek filtracyjny wytworzony przez cząstki biomasy na powierzchni membrany był stabilny.





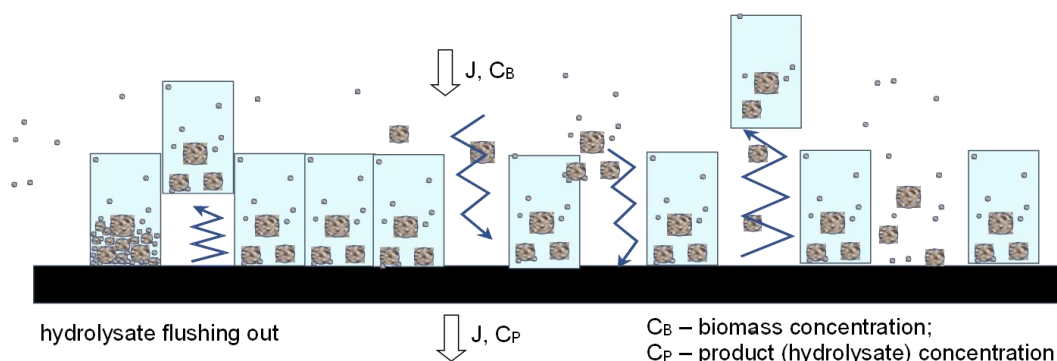
Rys. 8. Wpływ parametrów procesowych na gęstość strumienia objętościowego permeatu w reaktorze membranowym wykorzystywanym w pracy **H3** do realizacji enzymatycznej hydrolizy biomasy lignocelulozowej: **A i B**) wpływ częstości obrotów mieszadła ( $N$ ) dla różnych ciśnień transmembranowych ( $P$ ) i różnego stężenia biomasy w zawieszynie ( $C$ ); **C i D**) wpływ stężenia biomasy w zawieszynie ( $C$ ) dla różnych częstości obrotów mieszadła ( $N$ ) i ciśnień transmembranowych ( $P$ ). Badaną zawieszinę stanowiły rozdrobnione cząstki słomy kukurydzianej o średnicy  $d < 425 \mu\text{m}$  (**A, C**) i  $425 < d < 900 \mu\text{m}$  (**B, D**) zawieszona w fazie wodnej. Grafiki pochodzą z publikacji **H3**.

Zaprezentowane w pracy **H3** wyniki badań dowiodły, że zastosowanie reaktora membranowego o innowacyjnej konstrukcji cylindrycznej prowadzi do intensyfikacji procesu hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej. Przede wszystkim wprowadza możliwość pracy ciągłej, co jest podstawowym kryterium intensyfikacji. Proces można kontrolować nie tylko parametrami operacyjnymi pracy reaktora, ale także rozmiarem cząstek i stężeniem biomasy lignocelulozowej w zawieszynie. Dlatego odpowiedni dobór warunków prowadzenia procesu umożliwia maksymalizację jego wydajności i produktywności. Osiowa cyrkulacja zawiesziny cząstek substratu po stronie retentatu, zapewniająca przepływ zawiesziny w kierunku stycznym do powierzchni membran, ma korzystny wpływ na przepływ permeatu z uwagi na ułatwione usuwanie placka filtracyjnego z powierzchni membran, a tym samym korzystnie wpływa to na efektywność procesu. Konstrukcja reaktora umożliwia prowadzenie procesu hydrolizy enzymatycznej biomasy o dużym rozdrobieniu, które to w klasycznych reaktorach membranowych jest przyczyną małej wydajności permeacji z uwagi na szybkie tworzenie się na membranach placka filtracyjnego.

Hydrolizy enzymatycznej słomy kukurydzianej po alkalicznej obróbce wstępnej prowadzonej w mikrofiltracyjnym reaktorze membranowym dotyczyły także badania przedstawione w pracy **H2** wykonywane pod moim kierunkiem. Praca powstała między innymi przy udziale Aleksandry

Półgrabskiej, wykonującej badania do pracy magisterskiej, której byłą promotorem. W pracy **H2** zaproponowane zostało nowe podejście do opisu matematycznego procesu uwzględniającego zarówno zmiany stężeń produktów hydrolizy w permeacie, jak i spadek strumienia permeatu w czasie reakcji, w zależności od hydrodynamiki pracy reaktora. Do opisu zjawisk transportowych w reaktorze zaimplementowano znaną teorię odnawiania powierzchni [19], natomiast do opisu kinetyki reakcji zaproponowano nowe równanie empiryczne. W pracy **H2** przedstawiono również procedurę wyznaczania parametrów modelu na podstawie danych eksperymentalnych. Modele proponowane dotychczas w literaturze [20-23], koncentrowały się głównie na opisie kinetyki reakcji bez uwzględnienia zjawisk transportowych i nie uwzględniały spadku strumienia permeatu w trakcie procesu enzymatycznej hydrolizy w zależności od hydrodynamiki pracy reaktora.

Na potrzeby opracowania modelu matematycznego, w oparciu o teorię odnawiania powierzchni, założono, że w przypadku hydrolizy enzymatycznej surowców lignocelulozowych w mikrofiltracyjnym reaktorze membranowym reakcja odbywa się głównie w warstewce przymembranowej, a produkt jest uwalniany podczas przepływu mieszaniny reakcyjnej (wraz z enzymami) przez placek filtracyjny wytworzony na powierzchni membrany. Przyjęto, że warstewka biomasy lignocelulozowej zlokalizowana w bezpośrednim sąsiedztwie membrany jest heterogeniczną „mozaiką” składającą się z nieskończenie małych elementów utworzonych poprzez całkowicie przypadkowe oddziaływania hydrodynamiczne (wiry) i ma dynamiczny charakter (Rys. 9). Pod wpływem impulsów hydrodynamicznych dochodzi do porywania elementów warstewki z membrany i ich przemieszczania.



Rys. 9. Schemat odnawiania powierzchni na powierzchni membrany (kopia rysunku z publikacji **H2**).

Strumień permeatu zawierającego produkty hydrolizy przepływający przez membranę w czasie jest sumą efektów lokalnych:

$$J_P C_P = \int_0^{t_p} J(t) \cdot C_p(t) \cdot f(t) dt \quad (1)$$

gdzie:  $J(t)$  - strumień chwilowy,  $C_p(t)$  - stężenie chwilowe produktów w permeacie,  $f(t)$  - funkcja wieku elementów na powierzchni membrany.

W każdym elemencie znajdującym się na powierzchni membrany odbywa się proces niestacjonarny, warstewka tworzy się od nowa, a strumień chwilowy permeatu maleje w miarę wzrostu grubości warstewki i jej oporu. Założono, że zmiana strumienia w elemencie membrany jest taka sama jak podczas procesu niestacjonarnego (z ang. *dead-end*) zachodzącego pod stałym ciśnieniem w zbiorniku z umieszczoną na jego dnie membraną płaską bez mieszania.

Strumień chwilowy permeatu można przybliżyć za pomocą formuły empirycznej [24]:

$$J(t) = (J_0 - J^*) \cdot e^{-A \cdot t} + J^* \quad (2)$$

gdzie:  $J_0$  - strumień początkowy,  $J^*$  - strumień po nieskończonej dłużej czasie (asymptota),  $A$  - stała akumulacji.

Funkcję wieku elementów membrany określono zależnością [25]:

$$f(t) = s \frac{e^{-st}}{1 - e^{-st_p}} \quad (3)$$

gdzie:  $s$  - szybkość odnawiania powierzchni,  $t_p$  - czas procesu.

Strumień średni z całej powierzchni membrany po czasie  $t_p$  opisano równaniem [26]:

$$J_p = (J_0 - J^*) \cdot \frac{s}{s+A} \cdot \frac{1 - e^{-(s+A) \cdot t_p}}{1 - e^{-s \cdot t_p}} + J^* \quad (4)$$

Kinetyka reakcji enzymatycznej hydrolizy substratu lignocelulozowego określona została empirycznie w postaci równania:

$$C_p(t) = C_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \cdot (1 - e^{-k_2 \cdot t}) \quad (5)$$

gdzie:  $C_0$  i  $k_1$  - stałe kinetyczne związane z szybkością reakcji hydrolizy,  $k_2$  - stała kinetyczna związana z szybkością usuwania produktów z reaktora.

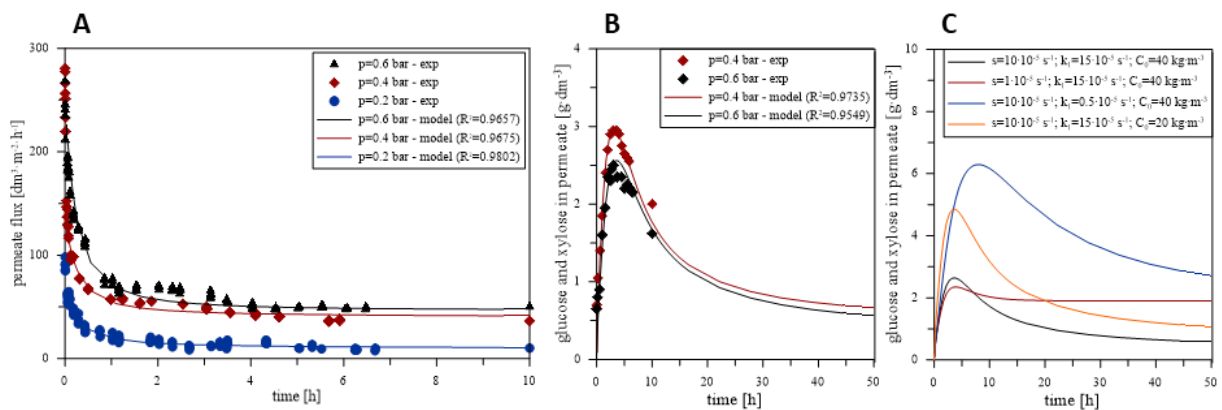
Założono, że stężenie chwilowe produktu można łatwo wyznaczyć przez jego pomiar w permeacie podczas procesu hydrolizy prowadzonego pod stałym ciśnieniem w zbiorniku z umieszczoną na jego dnie membranę płaską, bez mieszania zawartości reaktora. Scałkowane wyrażenie z równania (1) pozwoliło określić stężenie cukrów w permeacie w procesie prowadzonym w reaktorze membranowym z mieszaniem.

Badania eksperymentalne prowadzone były w układzie badawczym analogicznym do zastosowanego w pracy **H1** i przedstawionego powyżej na Rys. 5, z tą różnicą, że w pracy **H2** prowadzono tylko jednoetapową separację membranową z wykorzystaniem reaktora wyposażonego w membranę mikrofiltracyjną. W celu wyznaczenia parametrów równania (2), w reaktorze umieszczono zawieszinę biomasy lignocelulozowej (tj. słomy kukurydzianej po alkalicznej obróbce wstępnej) w buforze, a następnie bez dodania enzymów hydrolitycznych poddano ją mikrofiltracji przy zastosowaniu trzech różnych ciśnień transmembranowych. Proces prowadzono bez mieszania zawartości reaktora w celu imitowania warunków panujących w pojedynczym elemencie na powierzchni membrany, zgodnie z teorią odnawiania powierzchni. W trakcie procesu mierzono strumień permeatu, a otrzymane wyniki opisano za pomocą równania (2) oraz wyznaczono jego parametry tj.  $A$ ,  $J^*$  oraz  $J_0$ . Hydroliza enzymatyczna w badanym układzie była prowadzona w dwóch wariantach. Wariant I miał na celu wyznaczenie wartości parametrów modelu opisującego kinetykę reakcji (równanie 5) i prowadzony był bez mieszania zawartości reaktora. W wariantcie II zastosowano mieszanie ( $N = 400 \text{ min}^{-1}$ ), a celem jego przeprowadzenia było wyznaczenie parametrów modelu zależnych od szybkości mieszania, czyli:  $C_0$  i  $k_1$  w równaniu (5) oraz  $s$  w równaniu (4). Mieszanina reakcyjna, oprócz zawiesziny słomy kukurydzianej po obróbce wstępnej w buforze, zawierała także enzymy celulozowe. W trakcie prowadzenia reakcji oznaczano stężenie glukozy i ksylozy w permeacie i mierzono przepływ permeatu.

Na Rys. 10A zaczerpniętym z pracy **H2** zaprezentowano porównanie danych doświadczalnych i obliczeń modelowych dotyczących zmian gęstości strumienia objętościowego permeatu uzyskanych podczas procesu hydrolizy enzymatycznej biomasy prowadzonego w warunkach mieszania przy

zastosowaniu różnych ciśnień transmbranowych. Dla wszystkich zadanych ciśnień krzywe modelowe wykazywały wysoką zgodność z wynikami pomiarów.

Podobnie, wysoką zgodność obliczeń modelowych do danych doświadczalnych uzyskano dla zmian stężeń produktów hydrolizy w permeacie w trakcie procesu prowadzonego w reaktorze membranowym z mieszaniem (Rys. 10B). Na Rys. 10C przedstawiono wyniki symulacji zmian stężeń glukozy i ksylozy w permeacie dla różnych teoretycznych wartości parametrów opracowanego w pracy modelu zależnych od mieszania. Wszystkie krzywe modelowe w tym przypadku dotyczyły procesu prowadzonego przy tym samym ciśnieniu (tj.  $P = 0,6$  bar). Przebieg krzywych wskazuje na znaczącą rolę szybkości mieszania zawartości reaktora. Należy jednak zaznaczyć, że wartości stałych modelowych zależą także od charakteru przepływu w module membranowym, a tym samym od konstrukcji reaktora.

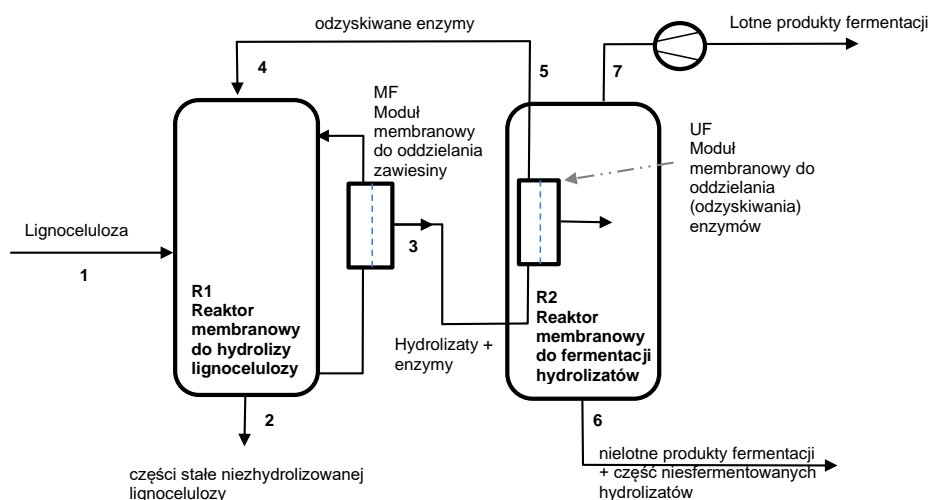


Rys. 10. **A, B**) Porównanie danych doświadczalnych i obliczeń modelowych zaprezentowanych w pracy **H2** dla różnych ciśnień transmbranowych: **A**) zmiana gęstości strumienia objętościowego permeatu w czasie, **B**) zmiana stężeń produktów hydrolizy w zebranym permeacie; **C**) symulacja zmian stężeń produktów w permeacie dla ciśnienia 0,6 bara i różnych wartości parametrów modelu zależnych od szybkości mieszania.

Przeprowadzone prace oraz uzyskane wyniki stanowiły podstawę do opracowania rozwiązania technologicznego, o którego innowacyjnym potencjale świadczy uzyskany patent na ochronę wynalazku **H16**. Zaproponowany w zgłoszeniu patentowym sposób dotyczy ciągłego przetwarzania surowców lignocelulozowych w dwóch umieszczonych szeregowo reaktorach membranowych (Rys. 11). W pierwszym reaktorze, wyposażonym w membrany mikrofiltracyjne (MF), zachodzi hydroliza enzymatyczna biomasy po wcześniejszej obróbce wstępnej. Uzyskany na tym etapie permeat zawierający uwolnione cukry proste i enzymy wprowadzany jest do drugiego reaktora wyposażonego w membranę ultrafiltracyjną (UF) swobodnie zanurzoną w cieczy zawierającej mikroorganizmy przeprowadzające fermentację uwolnionych monosacharydów. W reaktorze tym zachodzi ciągły proces fermentacji próżniowej, przy obniżonym ciśnieniu (30–300 Tr) i w temperaturze 30–45°C, utrzymując ciecz w stanie ciągłego wrzenia. Lotne produkty fermentacji, z uwagi na panujące w reaktorze warunki, są w sposób ciągły usuwane na drodze destylacji próżniowej. Zapewnia to ciągły dopływ hydrolizatów do reaktora drugiego. Ponadto stałe utrzymywanie warunków wrzenia pod obniżonym ciśnieniem w reaktorze drugim zapewnia ruch membran i przez to ich oczyszczanie dzięki unoszącym się ku górze pęcherzykom gazu, co korzystnie wpływa na wydajność permeatu. Jest to bardzo efektywny i energooszczędny sposób redukcji efektów polaryzacji stężeniowej. Uzyskuje się w ten sposób ciągłość procesu zintegrowanego. Zaproponowane rozwiązanie dodatkowo eliminuje konieczność stosowania pompy zapewniającej przepływ cieczy w układzie, gdyż układ jest szczelnie zamknięty. Przyczynia się to do uproszczenia aparatury i obniżenia zużycia energii w porównaniu do rozwiązań wymagających użycia pompy. Ciągły odbiór lotnych produktów fermentacji przez ich odparowanie w niskiej

temperaturze przekłada się na obniżenie kosztów zużycia energii w porównaniu do tradycyjnych metod destylacji czy perwaporacji membranowej. Istotną zaletą zaproponowanego innowacyjnego rozwiązania jest też ciągłe usuwanie z płynu hodowlanego produktów fermentacji, które mogą stanowić inhibitory wzrostu mikroorganizmów.

Podsumowując, należy podkreślić, że zaproponowane rozwiązanie intensyfikuje rozważany proces oraz nastawione jest na aspekt wdrożeniowy. Przede wszystkim wprowadza możliwość pracy ciągłej co umożliwi znaczące zmniejszenie wielkości aparatury przy zachowaniu wydajności procesu. Znacząco zmniejsza to koszty inwestycyjne przy wdrażaniu produkcji. Kolejną korzyścią jest znaczące ograniczenie zużycia energii, co przekłada się na zmniejszenie kosztów eksploatacyjnych procesu. Jednakże najważniejszym kryterium świadczącym o intensyfikacji procesu jest zastosowanie reaktora wielofunkcyjnego, łączącego w sobie zarówno bioreaktor jak moduł filtracyjny o działaniu ciągłym.



Rys. 11. Innowacyjne rozwiązanie aparaturowe zaproponowane do ciągłego przetwarzania surowców lignocelulozowych w dwóch umieszczonych szeregowo reaktorach membranowych. (grafika z pracy H16).

Aplikacyjność zaproponowanego rozwiązania jest szeroka. Może być ono wykorzystane do otrzymywania różnorodnych wartościowych bioproduktów na drodze procesów fermentacyjnych determinowanych specyfiką przemian metabolicznych wykorzystywanych mikroorganizmów. Badania przeprowadzone w ramach opracowania zgłoszenia patentowego potwierdziły możliwość wykorzystania zaproponowanego rozwiązania aparaturowego do otrzymywania etanolu z wykorzystaniem drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, jako przykładowego produktu fermentacji hydrolizatów lignocelulozowych.

#### 4.4.3.3. Fermentacja hydrolizatów lignocelulozowych

Ostatnim obszarem tematycznym podjętym w ramach osiągnięcia naukowego przedstawianego przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego było wykorzystanie hydrolizatów lignocelulozowych w procesach fermentacyjnych. Zagadnieniu temu poświęcone zostały cztery prace (H4 - H6 i H8), wszystkie przygotowane z moim istotnym udziałem w ramach współpracy z zewnętrznymi jednostkami badawczymi. We wszystkich przypadkach byłam odpowiedzialna za podejście inżynierskie z uwzględnieniem perspektywy możliwości aplikacji proponowanych rozwiązań.

Praca H6 dotyczyła biotechnologicznego otrzymywania 2-fenyletanolu z hydrolizatów słomy kukurydzianej i powstała w efekcie współpracy z zespołem badawczym prof. Jolanty Mierzejewskiej

z Wydziału Chemicznego PW. 2-fenyletanol to aromatyczny jednohydroksylowy alkohol, który znalazł zastosowanie jako substancja aromatyzująca i zapachowa. Jest on powszechnie stosowany w przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Ponadto 2-fenyletanol wykazuje działanie przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjne, zatem pełni dodatkowo funkcję konserwującą w produktach kosmetycznych [27]. Obecnie związek ten jest otrzymywany głównie na drodze syntezy chemicznej. W dużo mniejszej skali jest ekstrahowany z płatków róż, jednak jest to metoda kosztowna i mało wydajna. Rosnące zapotrzebowanie przemysłu spożywczego i kosmetycznego na związki zapachowe naturalnego pochodzenia, w tym 2-fenyletanol, implikuje potrzebę poszukiwania nowych, przyjaznych dla środowiska metod. Warto dodać, że praca **H6** stanowiła pierwsze doniesienie literaturowe o wykorzystaniu biomasy lignocelulozowej w procesie biotechnologicznej produkcji 2-fenyletanolu.

W ramach realizacji badań prowadzących do przygotowania publikacji **H6** wykorzystałam swoje wcześniejsze inżynierskie doświadczenie do zaplanowania i opracowania metodyki obróbki wstępnej, a następnie hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej, które stanowią dwa pierwsze etapy otrzymywania 2-fenyletanolu. Dobrałam metody analityczne umożliwiające analizę chemiczną biomasy przed i po obróbce wstępnej oraz zawartości cukrów prostych w hydrolizatach, a na podstawie otrzymanych danych pomiarowych wyznaczyłam wartości parametrów charakteryzujących efektywność badanych procesów. Z udziałem studentki wykonującej pracę inżynierską pod moją opieką, przygotowałam serię hydrolizatów lignocelulozowych otrzymanych z wykorzystaniem słomy kukurydzianej poddanej wcześniej opracowanej przeze mnie metodzie obróbki wstępnej w 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (pH 11,5) będącej przedmiotem opisanej powyżej pracy **H13**. Hydrolizaty te stanowiły bazę do pożywek produkcyjnych wykorzystywanych w hodowli dwóch szczepów drożdży: *Pichia fermentans* WUT36 oraz *Metschnikowia chrysoperlae* WUT25, wyselekcjonowanych przez zespół z Wydziału Chemicznego. Wykorzystane mikroorganizmy okazały się być zdolne do asymilacji i metabolizowania L-fenylealaniny w 2-fenyletanol. Wybór szczepów drożdży do badań podyktowany był także ich zdolnością do utylizowania cukrów pięciowęglowych jako źródła węgla – cechy takiej nie posiadają konwencjonalne drożdże, np. *Saccharomyces cerevisiae*, także wykorzystywane do produkcji 2-fenyletanolu. Warto przypomnieć, że hydrolizaty lignocelulozowe otrzymane z surowców po alkalicznej obróbce wstępnej zawierają zarówno cukry pięcio- jak i sześciowęglowe.

Obróbka wstępna biomasy lignocelulozowej była prowadzona dla dwóch wariantów czasowych: 0,5 h i 3,5 h. Dla dłuższego czasu prowadzenia procesu uzyskano wyższe stężenia monosacharydów w hydrolizatach otrzymanych po enzymatycznym scukrzaniu biomasy, a tym samym i wyższe wydajności hydrolizy glukanów i ksylanów, jednak wiązało się to także z większymi stratami frakcji polisacharydów na etapie obróbki wstępnej. Analiza uzyskanych wyników dotyczących przebiegu produkcji 2-fenyletanolu z użyciem dwóch różnych hydrolizatów lignocelulozowych i dwóch różnych szczepów drożdży *P. fermentans* WUT36 i *M. chrysoperlae* WUT25 doprowadziła do wniosków, że wydajniejszym producentem 2-fenyletanolu jest szczep WUT 36. Świadczyły o tym zarówno wyższe niż dla szczepu WUT 25 odnotowane stężenia produktu w płynie hodowlanym po 72 h prowadzenia procesu, jak i szybszy przyrost wartości parametru OD<sub>600</sub>, będącego miarą stężenia biomasy mikroorganizmów w medium hodowlanym. Ilość wytworzonego 2-fenyletanolu była również zależna od użytego hydrolizatu – istotnie wyższe stężenia produktu otrzymano w przypadku wykorzystania w hodowli pożywki przygotowanej na bazie hydrolizatów słomy kukurydzianej po 3,5 h alkalicznej obróbce wstępnej. Po zakończeniu wszystkich badanych hodowli stężenia glukozy i ksylozy w mediach hodowlanych spadły do zera, co oznacza, że oba te monosacharydy zostały całkowicie wykorzystane przez użyte drożdże. Potwierdza to słuszność zastosowania w procesie otrzymywania hydrolizatów alkalicznej obróbki wstępnej, której, w odróżnieniu od innych metod wstępnego przetwarzania biomasy, towarzyszy stosunkowo niewielki stopień degradacji hemiceluloz zawartych w surowcach lignocelulozowych [12,13].

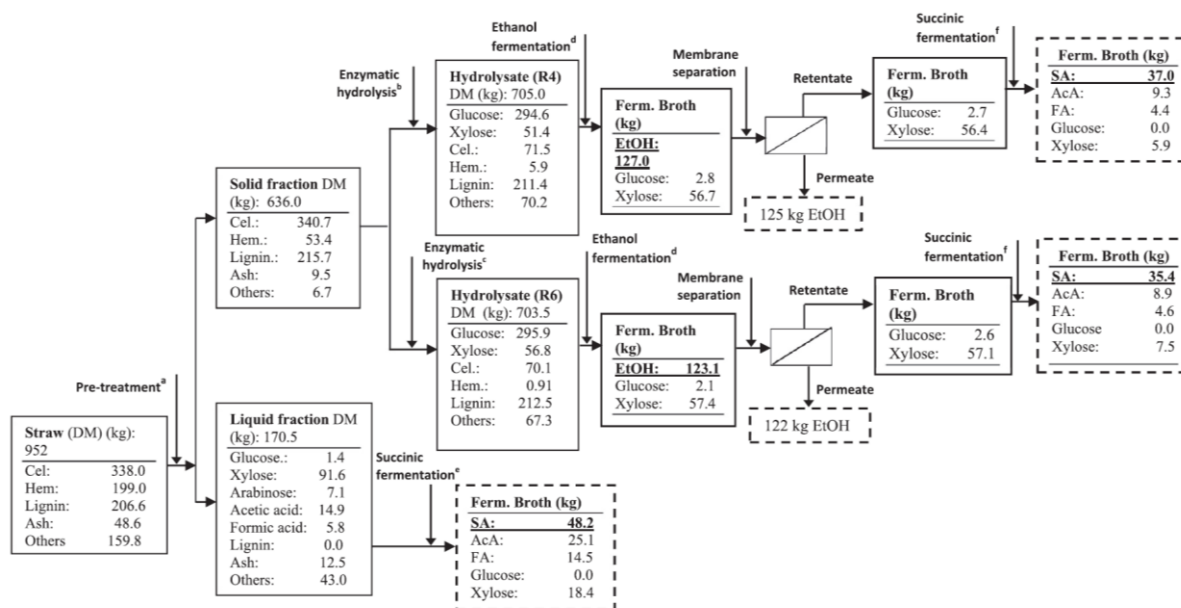
Prace **H4** i **H5** powstały we współpracy z dwoma zespołami badawczymi: z Uniwersytetu Technicznego w Lyngby (Dania) oraz z Uniwersytetu Bielsko-Bialskiego. W badaniach tych uczestniczyłam na zaproszenie profesora Mariusza Kuglarza, a przyczynkiem do wzięcia udziału we wspólnie prowadzonych badaniach było moje wcześniejsze praktyczne doświadczenie w realizacji procesów enzymatycznej hydrolizy biomasy lignocelulozowej. Pierwsza wspólna publikacja naukowa w tym zakresie, czyli praca **H5**, dotyczyła opracowania zintegrowanej metody produkcji bioetanolu i kwasu bursztynowego ze słomy rzepakowej. Bioetanol otrzymywany z biomasy roślinnej jest biopaliwem wykorzystywanym jako powszechny dodatek do paliw pędnych typu benzyny. Zapotrzebowanie na ten produkt niezmiennie wzrasta, szczególnie z uwagi na dynamicznie rozwijający się sektor transportu i dążenie do ograniczania emisji CO<sub>2</sub> do atmosfery. Kwas bursztynowy z kolei znajduje szerokie zastosowanie jako prekursor do otrzymywania wartościowych związków chemicznych, m.in. wykorzystywanych w produkcji dodatków do żywności, biodegradowalnych tworzyw sztucznych, środków powierzchniowo czynnych i szerokiej gamy chemikaliów [28].

Celem wspólnie przeprowadzonych badań zaprezentowanych w pracy **H5** była analiza wpływu stężenia użytej biomasy lignocelulozowej na efektywność jej obróbki wstępnej przeprowadzonej metodą chemiczną z użyciem rozcieńczonego kwasu siarkowego (1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) oraz dobór proporcji komercyjnie dostępnych mieszanin enzymatycznych firmy Novozymes do hydrolizy biomasy poddanej obróbce wstępnej. W ramach realizacji badań doświadczalnym moim zadaniem było zaplanowanie i wykonanie prac badawczych dotyczących hydrolizy enzymatycznej słomy rzepakowej po obróbce wstępnej przeprowadzonej zgodnie z najkorzystniejszym wariantem. Procesowi hydrolizy poddałam również natywną słomę rzepakową, w celu zweryfikowania skuteczności obróbki wstępnej w zakresie zwiększenia podatności celulozy i hemicelulozy na katalizowane enzymatycznie scukrzanie. Hydrolizę enzymatyczną prowadziłam w warunkach analogicznych do zastosowanych we wcześniejszych moich pracach, z tym, że w tym przypadku w procesie oprócz preparatu Cellic<sup>®</sup> CTec2 zastosowałam także mieszaninę Cellic<sup>®</sup> HTec2, zawierającą w swoim składzie dodatkowe enzymy hemicelulolityczne. Przeprowadziłam łącznie 11 wariantów reakcji hydrolizy różniących się dawką użytych preparatów enzymatycznych i ich wzajemną proporcją. Na podstawie otrzymanych danych eksperymentalnych wykazałam, że początkowe szybkości uwalniania glukozy i ksylozy w reakcji hydrolizy były liniowo zależne od użytej dawki preparatu Cellic<sup>®</sup> CTec2 tylko wtedy, gdy jego stężenie nie przekraczało 10% masowych w stosunku do suchej masy użytego surowca lignocelulozowego po obróbce wstępnej. Oznaczało to, że w przypadku użycia wyższych dawek enzymów szybkość uwalniania zarówno glukozy, jak i ksylozy nie jest wprost proporcjonalna do ilości enzymu obecnego w mieszaninie reakcyjnej, co uzasadniłam wysyceniem miejsc aktywnych enzymów przez hydrolizowane wiązania w cząsteczkach substratu. Najwyższe końcowe wydajności reakcji hydrolizy glukanów i ksylianów uzyskałam dla procesu prowadzonego z użyciem dawki preparatu Cellic<sup>®</sup> CTec2 wynoszącej 13% w/w.

W celu zwiększenia efektywności hydrolizy enzymatycznej surowców lignocelulozowych, zwłaszcza jeśli hydrolizowany surowiec zawiera znaczną ilość hemiceluloz, firma Novozymes zaleca użycie w reakcji oprócz preparatu Cellic<sup>®</sup> CTec2 także dodatku bogatej w endoksyłanazy mieszaniny Cellic<sup>®</sup> HTec2. Z tego względu na dalszym etapie badań proces enzymatycznej hydrolizy słomy rzepakowej po obróbce wstępnej prowadziłam z wykorzystaniem obu ww. preparatów użytych w różnych proporcjach, tak aby sumaryczne stężenie enzymów nie przekraczało 13% masowych w odniesieniu do suchej masy surowca. Uzyskane wyniki wykazały, że dodatek Cellic<sup>®</sup> HTec2 nie ma istotnego wpływu na końcową wydajność hydrolizy celulozy, jednak w jego obecności reakcja hydrolizy tego polisacharydu zachodzi z większą szybkością niż podczas użycia wyłącznie preparatu Cellic<sup>®</sup> CTec2 - czas hydrolizy wymagany do osiągnięcia maksymalnego stopnia konwersji glukanów był krótszy o około 44-46%. Ponadto, dodatek Cellic<sup>®</sup> Htec2 korzystnie wpłynął na wydajność hydrolizy hemicelulozy.

Na podstawie otrzymanych wyników do dalszych badań poświęconych procesom fermentacyjnym przygotowałam hydrolizaty z użyciem dobranej autorsko najkorzystniejszej proporcji użytych preparatów Cellic<sup>®</sup>. Zostały one wykorzystane jako źródło monosacharydów w procesach fermentacji etanolowej i bursztynianowej. Fermentacja etanolowa przeprowadzona została z użyciem drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, które do etanolu metabolizują wyłącznie cukry sześciowęglowe (czyli glukozę z hydrolizatów lignocelulozowych), a nie posiadają zdolności przekształcania w etanol cukrów pięciowęglowych pochodzących z frakcji hemicelulozowej biomasy. Dlatego w pracy **H5** produkty uboczne bogate w ksylozę (płyn po obróbce wstępnej i pozostałości po produkcji etanolu) zostały wykorzystane jako składniki pożywki do produkcji kwasu bursztynowego przy użyciu bakterii *Actinobacillus succinogenes* 130Z. Było to pierwsze doniesienie dotyczące zintegrowanego wytwarzania niskowartościowych produktów w dużej objętości (tj. etanolu z frakcji stałej po obróbce wstępnej) i wysokowartościowych produktów w małej objętości (tj. bursztynianu z frakcji ciekłej po obróbce wstępnej i z cukrów nieprzetworzonych w procesie fermentacji etanolowej) ze słomy rzepakowej poddanej obróbce wstępnej rozcieńczonym kwasem. Na moment zgłoszenia publikacji **H5** do recenzji, nie znaleziono w literaturze przedmiotu opublikowanych wyników wykorzystania w tym celu nowej generacji preparatów enzymatycznych Cellic<sup>®</sup> CTec2 i Cellic<sup>®</sup> HTec2. Elementem nowości naukowej w pracy było także wykorzystanie stosunkowo wysokich stężeń biomasy w procesie jej obróbki wstępnej, w porównaniu do wcześniejszych doniesień literaturowych.

Dane jakościowe i ilościowe uzyskane w ramach przeprowadzonych eksperymentów posłużyły zaproponowaniu koncepcji biorafinerii ukierunkowanej na wytwarzanie bioetanolu i kwasu bursztynowego ze słomy rzepakowej, którą w oparciu o wyniki pracy **H5** przedstawiono na Rys. 12.



Rys. 12. Bilans masowy biorafinerii ukierunkowanej na produkcję etanolu i kwasu bursztynowego ze słomy rzepakowej (grafika zaczerpnięta z pracy **H5**): (a) - słoma poddana obróbce wstępnej 1,0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> z użyciem 20% stężenia biomasy, (b) - hydroliza enzymatyczna prowadzona z użyciem Cellic<sup>®</sup> CTec2 w dawce 13% w/w, (c) - hydroliza enzymatyczna prowadzona z użyciem mieszaniny preparatów Cellic<sup>®</sup> CTec2 i Cellic<sup>®</sup> HTec2 w sumarycznej dawce 13% w/w (stosunek preparatów 9:1), (d) - wytwarzanie etanolu w kolbach Pyrex o pojemności 300 cm<sup>3</sup>, (e) - wytwarzanie kwasu bursztynowego z frakcji ciekłej po obróbce wstępnej biomasy, (f) - produkcja kwasu bursztynowego z pozostałości po fermentacji etanolowej; SA - kwas bursztynowy, AcA - kwas octowy, FA - kwas mrówkowy, EtOH - etanol.



Praca **H4**, która również powstała we współpracy z zespołami badawczymi z Danii oraz z Bielska-Białej, dotyczyła opracowania metody produkcji kwasu bursztynowego z biomasy miskanta olbrzymiego, tj. gatunku szybkoorosnącej trawy. Celem badań był dobór warunków obróbki wstępnej biomasy prowadzonej z użyciem glicerolu z dodatkiem kwasu siarkowego, a także opracowanie mieszaniny enzymów na bazie różnych dostępnych handlowo preparatów, pozwalającej na maksymalizację wydajności hydrolizy biomasy miskanta poddanej obróbce wstępnej. W chwili publikowania pracy **H4**, w literaturze przedmiotu nie było doniesień o stosowaniu mieszanin różnych preparatów enzymatycznych w procesie scukrzania biomasy lignocelulozowej, poza preparatami Cellic® (Novozymes) i Accelerase (DuPoint). Zakres pracy **H4** obejmował również opracowanie metody oczyszczania płynu pochodzącego i odzyskiwania z niego kwasu bursztynowego o wysokiej czystości. Moim zadaniem było opracowanie aplikacyjnej koncepcji hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej miskanta po obróbce wstępnej oraz zaplanowanie i wykonanie badań eksperymentalnych w tym zakresie. Hydrolizie poddałam frakcję stałą biomasy miskanta otrzymaną po obróbce wstępnej prowadzonej przez 10 min w temperaturze 160°C z użyciem mieszaniny glicerolu i wody (w stosunku 4:1) z dodatkiem 1,25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - ta metoda obróbki wstępnej została uznana na podstawie wyników eksperymentów za najbardziej efektywną. Hydrolizę enzymatyczną prowadziłam również z użyciem biomasy natywnej jako substratu. Sumarycznie przeprowadziłam 10 różnych wariantów hydrolizy, a w badaniach wykorzystałam pięć komercyjnie dostępnych preparatów enzymów katalizujących hydrolizę polisacharydów zawartych w surowcach lignocelulozowych, których charakterystyka została zamieszczona w Tabeli 4.

Tabela 4. Charakterystyka preparatów enzymatycznych wykorzystanych w pracy **H4**.

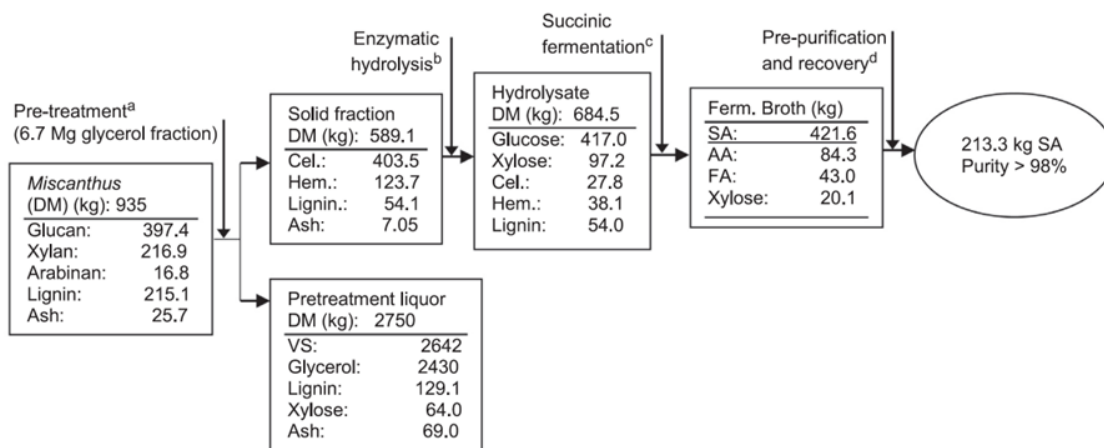
Preparat	Charakterystyka	Źródło/nr kat.	Aktywność*
Viscozyme® L	enzymy celulolityczne i hemicelulolityczne z <i>Aspergillus aculeatus</i>	Sigma-Aldrich/ V2010	26,5 FPU/g
Carezyme 1000L®	enzymy produkowane przez grzyby mikroskopowe <i>Aspergillus niger</i>	Sigma-Aldrich/ C2605	30,1 FPU/g
$\beta$ -glukanaza z <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	enzymy o aktywności głównie $\beta$ -1-3 i $\beta$ -1-4-glukanazy, ksylanazy i celulazy	Sigma-Aldrich/ G4423	42,1 FPU/g
Cellic® CTec2	celulazy, hemicelulazy i $\beta$ -glukozydazy z <i>Trichoderma sp.</i>	Novozymes, Dania	64,6 FPU/g
Cellic® HTec2	endoksylnazy o wysokiej aktywności wobec rozpuszczonych frakcji hemicelulozy	Novozymes, Dania	10,3 FPU/g

\*FPU, z ang. *filter paper unit*

W początkowej części badań określiłam przebieg hydrolizy prowadzonej z użyciem wymienionych w Tabeli 4 preparatów enzymatycznych. Na podstawie otrzymanych rezultatów wytypowałam dwa preparaty (Cellic® CTec2 i  $\beta$ -glukanaza), dla których wydajność reakcji była najwyższa. W kolejnym kroku w reakcjach hydrolizy zastosowałam mieszaniny tych preparatów użytych w różnych proporcjach, przy ich sumarycznym stężeniu wynoszącym 15% masowych w odniesieniu do suchej masy substratu. Mieszaninę, dla której otrzymałam najlepsze wyniki, suplementowałam następnie enzymami zawartymi w preparacie Cellic® HTec2, w celu zbadania ich wpływu na wydajność scukrzania glukanów i ksylanów. Hydrolizaty uzyskane w procesie scukrzania biomasy prowadzonej przy użyciu dobranej autorsko mieszaniny preparatów enzymatycznych (10% wag. Cellic® CTec2, 5% wag.  $\beta$ -glukanazy i 1% wag. Cellic® HTec2) wykorzystane zostały jako źródło węgla i energii do otrzymywania kwasu bursztynowego w hodowli bakterii *Actinobacillus succinogenes 130Z*. Warto zaznaczyć, że całkowita wydajność uwalniania cukrów prostych z użytej biomasy miskanta w procesie

prowadzonym z użyciem opracowanej przeze mnie mieszanki enzymów była średnio o 13,2% wyższa niż wydajność procesu prowadzonego wyłącznie z użyciem preparatu Cellic® CTec2. Skutkowało to wyższą efektywnością produkcji kwasu bursztynowego.

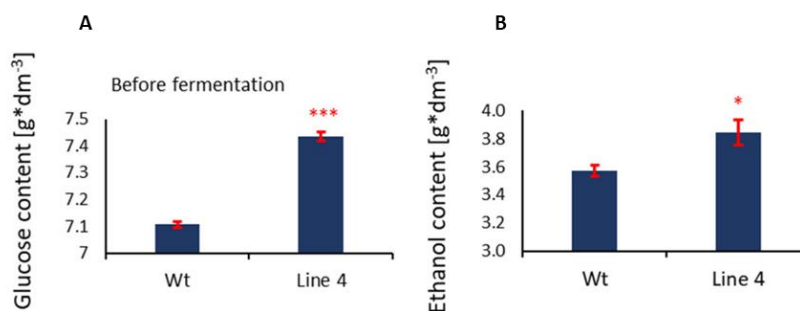
Na podstawie otrzymanych danych jakościowych i ilościowych dla poszczególnych etapów produkcji kwasu bursztynowego opracowany został uproszczony bilans masowy procesu (Rys. 13).



Rys. 13. Uproszczony bilans masowy dla produkcji kwasu bursztynowego z biomasy miskanta olbrzymiego z zastosowaniem opracowanych warunków prowadzenia poszczególnych etapów procesu (grafika zaczerpnięta z pracy **H4**): (a) - obróbka wstępna biomasy prowadzona z użyciem 80% glicerolu w wodzie z dodatkiem 1,25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (b) – hydroliza enzymatyczna prowadzona z użyciem opracowanej mieszanki enzymów: 10% Cellic® CTec2 + 5% β-Glukanaza + 1% Cellic® HTec2, (c) - produkcja kwasu bursztynowego z użyciem hydrolizatów i syntetycznej pożywki w stosunku objętościowym 3:1 v/v, (d) - oczyszczanie płynu pochodowlanego i wydzielanie kwasu; DM - sucha masa, SA - kwas bursztynowy, AA - kwas octowy, FA - kwas mrówkowy.

Kolejnym wymiernym rezultatem mojej współpracy badawczej z zewnętrznymi jednostkami naukowymi była także praca **H8**, której zakres merytoryczny dotyczył wyprowadzenia transgenicznych genotypów topoli osikowej odmiany *Aspen wood* z wyciszonymi odpowiednimi genami, charakteryzujących się m.in. intensywniejszym przyrostem biomasy, obniżoną zawartością ligniny oraz zwiększoną zawartością celulozy w porównaniu do biomasy kontrolnej (gatunku odmiany dzikiej). Uzyskanie korzystnego składu chemicznego drewna może skutkować jego preferencyjnym zastosowaniem w procesach wytwarzania bioetanolu, gdyż umożliwia znaczne ograniczenie kosztów obróbki wstępnej i hydrolizy enzymatycznej biomasy drzewnej. Prace prowadzone były we współpracy z zespołem badawczym kierowanym przez profesora Stanisława Karpińskiego z Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytutu Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Moja rola polegała na zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów mających na celu określenie aplikacyjności wybranych, na podstawie otrzymanych wyników, transgenicznych linii czteroletniej topoli jako surowca do produkcji bioetanolu. Zakres przeprowadzonych przeze mnie badań doświadczalnych obejmował obróbkę wstępną biomasy topoli oraz fermentację etanolową uzyskanych z niej hydrolizatów. W procesie obróbki wstępnej wykorzystywałam metodę alkaliczną opisaną w pracach **H10** i **H14**. Następnie biomasa została poddana hydrolizie enzymatycznej, a otrzymane hydrolizaty użyłam jako podstawowy składnik pożywki do hodowli drożdży *Saccharomyces cerevisiae* szczepu KKP 50. Na Rys. 14 przedstawiono porównanie wyników uzyskanych z użyciem topoli dzikiego typu (wild-type, Wt) oraz transgenicznej topoli (Line 4) cechującej się najmniejszą względną zawartością lignin spośród wszystkich wyprowadzonych w ramach pracy linii transgenicznych. Wykazało ono, że ilość wyprodukowanego przez drożdże etanolu (Rys. 14B) była istotnie większa w przypadku użycia

linii 4 topoli jako substratu w porównaniu do próby kontrolnej (Wt), a było to efektem wyższych stężeń glukozy w hydrolizatach uzyskanych z biomasy transgenicznej (Rys. 14A).



Rys. 14. Porównanie efektywności enzymatycznego scukrzana biomasy lignocelulozowej oraz fermentacji etanolowej uzyskanych hydrolizatów dla topoli osikowej dzikiego typu (Wt) i linii topoli transgenicznej (Line 4): **A**) stężenia glukozy uwolnionej enzymatycznie z substratu lignocelulozowego w pożywce wykorzystanej następnie do fermentacji etanolowej, **B**) stężenia etanolu w płynie pochodzonym. Grafika pochodzi z pracy **H8**.

Otrzymane w ramach pracy **H8** obiecujące wyniki badań nad transformacją biomasy roślinnej mogą przyczynić się do rozwoju nowych technologii w przemyśle biopaliwowym. Przemawiają za tym również obserwacje i analizy poczynione w trakcie czteroletniej hodowli opracowanej transgenicznej topoli, wskazujące na redukcję zawartości lignin i zwiększenie stopnia polimeryzacji łańcuchów celulozowych bez wpływu na plon i szybkość wzrostu drzew.

#### 4.4.4. Podsumowanie i najważniejsze osiągnięcia

W odpowiedzi na stale rosnące zapotrzebowanie na efektywne technologie przetwarzania biomasy lignocelulozowej w biorafineriach, w swoich badaniach skupiłam się na poszukiwaniu korzystnych warunków i sposobów prowadzenia trzech głównych etapów procesu (bio)konwersji biomasy. Podjęta w tym obszarze działalność badawcza na przestrzeni ostatnich ośmiu lat pozwoliła mi uzyskać wyniki udokumentowane powiązaniem tematycznie dorobkiem publikacyjnym, stanowiącym podstawę do wystąpienia o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Pierwszy obszar tematyczny wchodzący w zakres mojego osiągnięcia naukowego dotyczył obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej. Uwagę skoncentrowałam głównie na metodzie alkalicznej, która prowadzi do uzyskania korzystnie wysokiego stopnia delignifikacji biomasy roślinnej przy stosunkowo niewielkiej degradacji hemiceluloz zawartych w kompleksach lignocelulozowych. W ramach przeprowadzonych badań porównana została efektywność obróbki wstępnej prowadzonej z użyciem różnych roztworów alkalicznych (tj. 2% NaOH, 2% KOH, oraz 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o odczynie pH 11,5) w odniesieniu do różnych surowców lignocelulozowych (tj. rolniczych odpadów kukurydzianych - słomy i osadków, oraz drewna szybkorosnących odmian topoli). Uzyskane wyniki jednoznacznie pozwoliły stwierdzić, że zastosowana metoda alkalicznej obróbki wstępnej cechuje się wysoką skutecznością wobec biomasy kukurydzianej nawet w 50°C, jednak efektywność procesu wstępnego kondycjonowania badanej biomasy drzewnej okazała się niewystarczająca nawet w wysokotemperaturowych i ciśnieniowych warunkach panujących w autoklawie.

Drugi, według mnie najobszerniejszy pod względem zakresu ale i najważniejszy obszar tematyczny zaliczony do powiązanego tematycznie osiągnięcia naukowego, dotyczył analizy procesów hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej po uprzedniej obróbce wstępnej zwiększającej dostępność surowca dla hydrolaz. Badania przeprowadzone w tym zakresie obejmowały porównanie efektywności

procesu hydrolizy z użyciem różnych dostępnych handlowo preparatów biokatalizatorów i różnych rodzajów roślinnego surowca lignocelulozowego. Na podstawie analizy otrzymanych wyników wskazałam najkorzystniejsze dawki enzymów dla badanych procesów hydrolizy biomasy lignocelulozowej. Ciekawych i nowatorskich wyników dostarczyła przeprowadzona analiza zjawiska adsorpcji cząsteczek białek enzymatycznych na powierzchni cząstek kompleksu lignocelulozowego. Mogą być one przydatne przy doborze roboczej dawki enzymów do hydrolizy surowców lignocelulozowych w zależności od zawartości w nich lignin. Istotnym aspektem zrealizowanych badań były także oryginalne i innowacyjne próby intensyfikacji procesów hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej przeprowadzane z wykorzystaniem reaktorów membranowych. W zakresie tych badań przedstawiłam i przedyskutowałam oryginalne wyniki wykazujące korzystny wpływ dodatku niejonowego surfaktantu Tween 80 do mieszaniny reakcyjnej. Oryginalnym rozwiązaniem było również wykorzystanie do hydrolizy reaktora membranowego o innowacyjnej konstrukcji cylindrycznej. Pozwala on na realizację procesów enzymatycznego scukrzania z wykorzystaniem biomasy o dużym stopniu rozdrobnienia, które korzystnie rozwija powierzchnię międzyfazową kontaktu enzymów rozpuszczonych w fazie wodnej i cząstek stałego surowca lignocelulozowego, ale w klasycznych reaktorach membranowych jest przyczyną małej wydajności permeacji z uwagi na szybkie tworzenie się placka filtracyjnego. Przeprowadzone w tym zakresie studia dotyczyły określenia hydrodynamiki pracy reaktora oraz efektywności enzymatycznej hydrolizy biomasy w innowacyjnym układzie w porównaniu do procesu prowadzonego bez separacji produktów reakcji z mieszaniny reakcyjnej. Istotnym elementem było także opracowanie modelu matematycznego procesu hydrolitycznej konwersji biomasy lignocelulozowej prowadzonego w reaktorze membranowym, uwzględniającego zarówno kinetykę reakcji, jak i zjawiska transportowe analizowane w oparciu o teorię odnawiania powierzchni. Zaproponowane oryginalne podejście do modelowania analizowanego procesu może być wykorzystywane w symulacjach i racjonalnym projektowaniu procesów hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej prowadzonych w reaktorach membranowych o różnej konstrukcji w celu ich intensyfikacji.

Trzeci obszar tematyczny wchodzący w zakres mojego osiągnięcia naukowego dotyczył określenia aplikacyjności hydrolizatów lignocelulozowych uzyskanych z użyciem opracowanych metod obróbki wstępnej i/lub hydrolizy enzymatycznej w aspekcie realizacji procesów fermentacyjnych prowadzących do otrzymywania wartościowych produktów. Wyniki uzyskane w tej części badań dopełniają zakres merytoryczny monotematycznego zestawu publikacji. Pozwoliły one na opracowanie koncepcji zintegrowanej produkcji etanolu i kwasu bursztynowego ze słomy rzepakowej oraz kwasu bursztynowego z biomasy miskanta, a także biotechnologicznej metody produkcji 2-fenyletanolu ze słomy kukurydzianej. Za innowacyjne podejście można z pewnością uznać zaproponowany sposób ciągłego przetwarzania biomasy lignocelulozowej w produkty fermentacji z wykorzystaniem szeregowo umieszczonych w układzie dwóch reaktorów membranowych. Ciekawym uzupełnieniem wyników było potwierdzenie zasadności transgenizacji topoli osikowej w celu pozyskiwania biomasy lignocelulozowej o zwiększonej użyteczności w procesach enzymatycznego otrzymywania z niej cukrów prostych na potrzeby biorafineryjne.

Podsumowując całość zrealizowanych badań naukowych, uzyskane i opublikowane przeze mnie lub przy moim znaczącym udziale wyniki w moim odczuciu wniosły nowy wkład w obecny stan wiedzy dotyczący trzech głównych etapów przetwarzania roślinnej biomasy lignocelulozowej w bioprodukty o wysokiej wartości rynkowej. Przedstawione metody i wyniki mogą być wykorzystywane do racjonalnego projektowania i doboru parametrów operacyjnych procesów biokonwersji surowców lignocelulozowych prowadzonych w skali przemysłowej.

Do swoich **najważniejszych osiągnięć naukowych** wnoszących wkład w rozwój dyscypliny inżynieria chemiczna zaliczam:

- określenie wpływu warunków prowadzenia obróbki wstępnej surowców lignocelulozowych różnego pochodzenia na jej efektywność skutkującą wysoką podatnością na enzymatycznie katalizowany hydrolytyczny rozkład zawartych w surowcu frakcji polisacharydowych,
- określenie wpływu rodzaju oraz dawki przemysłowo wykorzystywanych preparatów biokatalizatorów (czystych enzymów i ich mieszanek) na wydajność enzymatycznego scukrzania surowców lignocelulozowych o różnym pochodzeniu i składzie,
- opis ilościowy zjawiska adsorpcji enzymów celulolitycznych na głównych komponentach kompleksu lignocelulozowego po alkalicznej obróbce wstępnej biomasy roślinnej,
- wykazanie zasadności stosowania dodatku niejonowego surfaktantu Tween 80 do poprawy efektywności hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej realizowanej w reaktorach membranowych,
- zastosowanie reaktora membranowego o innowacyjnej konstrukcji cylindrycznej do prowadzenia procesów hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej,
- opracowanie oryginalnego modelu matematycznego opisującego przebieg hydrolizy enzymatycznej surowców lignocelulozowych w mikrofiltracyjnych reaktorach membranowych,
- opracowanie innowacyjnego niskoenergetycznego sposobu ciągłego wytwarzania bioproduktów z surowców lignocelulozowych z wykorzystaniem dwuetapowej separacji membranowej, którego oryginalność została potwierdzona przyznanym patentem na wynalazek,
- zaproponowanie warunków realizacji procesu obróbki wstępnej i hydrolizy enzymatycznej słomy kukurydzianej na potrzeby opracowania biorafinerijnej metody otrzymywania 2-fenylotanolu,
- dobór preparatów enzymatycznych i ich dawek na potrzeby opracowania koncepcji biorafinerii ukierunkowanej na otrzymywanie etanolu i kwasu bursztynowego z biomasy słomy rzepakowej i miskanta olbrzymiego;
- potwierdzenie aplikacyjności biomasy lignocelulozowej z transgenicznej odmiany topoli osikowej do bioprosesowego przetwarzania na potrzeby biorafinerijne, obejmującego zwiększoną podatność na obróbkę wstępną surowca i następczą enzymatycznie katalizowaną biokonwersję frakcji polisacharydowych do użytecznych fermentacyjnie monosacharydów.

#### 4.4.5. Bibliografia

1. Mujtaba M., Fraceto L.F., et al. (2023) *Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: a review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics*. Journal of Cleaner Production 402, 136815. DOI: 10.1016/j.jclepro.2023.136815.
2. International Energy Agency, Paris (2024), *Renewables 2023 - Analysis and forecast to 2028*. <https://www.iea.org/reports/renewables-2023> (dostęp 27.09.2024).
3. Ramsey S., Williams B., et al. (2023) *Global Demand for Fuel Ethanol Through 2030*, U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service. <https://www.ers.usda.gov/publications/pub-details/?pubid=105761> (dostęp 27.09.2024).
4. Adewuyi A. (2022) *Underutilized lignocellulosic waste as sources of feedstock for biofuel production in developing countries*. Frontiers in Energy Research 10, 741570. DOI: 10.3389/fenrg.2022.741570.
5. Blasi A., Verardi A., et al. (2023) *Lignocellulosic agricultural waste valorization to obtain valuable products: An overview*. Recycling 8, 61. DOI: 10.3390/recycling8040061.
6. Mankar A.R., Pandey A., et al. (2021) *Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances*. Bioresource Technology 334, 125235. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125235.

7. Guo H., Zhao Y., et al. (2023) *Enzymes and enzymatic mechanisms in enzymatic degradation of lignocellulosic biomass: A mini-review*. *Bioresource Technology* 367, 128252. DOI: 10.1016/j.biortech.2022.128252.
8. Baig, K.S., Turcotte, G., Doan, H. (2016) *Adsorption of cellulose enzymes on lignocellulosic materials and influencing factors: a review*. *International Journal of Waste Resources* 6, 3. DOI: 10.4172/2252-5211.1000239.
9. Hsieh, C.W.C., Cannella, D., et al. (2014) *Cellulase inhibition by high concentrations of monosaccharides*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 3800-3805. DOI: 10.1021/JF5012962.
10. Jahangeer M., Rehman M.U., et al. (2024) *Biotransformation of lignocellulosic biomass to value-added bioproducts: Insights into bio-saccharification strategies and potential concerns*. *Topics in Catalysis*. DOI: 10.1007/s11244-024-01941-9.
11. Vasić K., Knez Ž., Leitgeb M. (2021) *Bioethanol production by enzymatic hydrolysis from different lignocellulosic sources*. *Molecules* 26, 753. DOI: 10.3390/molecules26030753.
12. Kim J.S., Lee Y.Y., Kim T.H. (2016) *A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technology* 199, 42-48. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.08.085.
13. Woiciechowski A.L., Dalmas Neto C.J., et al. (2020) *Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances*. *Bioresource Technology* 304, 122848. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.122848.
14. El-Naggar N.E., Deraz S., Khalil A. (2014) *Bioethanol production from lignocellulosic feedstocks based on enzymatic hydrolysis: Current status and recent developments*. *Biotechnology* 13, 1-21. DOI: 10.3923/biotech.2014.1.21.
15. Gandam P.K., Chinta M.L., et al. (2022) *Corn-cob-based biorefinery: A comprehensive review of pretreatment methodologies, and biorefinery platforms*. *Journal of the Energy Institute* 101, 290-308. DOI: 10.1016/j.joei.2022.01.004.
16. Zhang H., Huang S., et al. (2019) *Investigation of alkaline hydrogen peroxide pretreatment and Tween 80 to enhance enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts* 12, 1-9. DOI: 10.1186/s13068-019-1454-3.
17. Pino M.S., Rodríguez-Jasso R.M., et al. (2018) *Bioreactor design for enzymatic hydrolysis of biomass under the biorefinery concept*. *Chemical Engineering Journal* 347, 119-136. DOI: 10.1016/j.cej.2018.04.057.
18. Mazzei R. et al. (2021) *Enzyme catalysis coupled with artificial membranes towards process intensification in biorefinery-A review*. *Bioresource Technology* 335, 125248. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125248.
19. Kołtuniewicz A. (1992) *Predicting permeate flux in ultrafiltration on the basis of surface renewal concept*. *Journal of Membrane Science* 68, 107-118. DOI: 10.1016/0376-7388(92)80153-B.
20. Gan Q., Allen S.J., Taylor G. (2005) *Analysis of process integration and intensification of enzymatic cellulose hydrolysis in a membrane bioreactor*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80, 688-698. DOI: 10.1002/jctb.1195.
21. Andrić P., Meyer A.S., et al. (2010) *Reactor design for minimizing product inhibition during enzymatic lignocellulose hydrolysis. II. Quantification of inhibition and suitability of membrane reactors*. *Biotechnology Advances* 28, 407-425. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.02.005.
22. Al-Mardeai S., Elnajjar E., et al. (2021) *Dynamic model of simultaneous enzymatic cellulose hydrolysis and product separation in a membrane bioreactor*. *Biochemical Engineering Journal* 174, 108107. DOI: 10.1016/j.bej.2021.108107.
23. Al-Zuhair S., Al-Hosany M., et al. (2013) *Development of a membrane bioreactor for enzymatic hydrolysis of cellulose*. *Renewable Energy* 56, 85-89. DOI: 10.1016/j.renene.2012.09.044.

24. Konieczny K. (2002) *Modelling of membrane filtration of natural water for potable purposes*. Desalination 143, 123-139. DOI: 10.1016/S0011-9164(02)00234-5.
25. Kołtuniewicz A.B., Noworyta A. (1995) *Method of yield evaluation for pressure-driven membrane processes*. The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal 58, 175-182. DOI: 10.1016/0923-0467(95)02981-8.
26. Kołtuniewicz A., Noworyta A. (1994) *Dynamic properties of ultrafiltration systems in light of the surface renewal theory*. Industrial & Engineering Chemistry Research 33, 1771-1779. DOI: doi.org/10.1021/ie00031a016.
27. Martínez-Avila O., Sánchez A., et al. (2018) *Bioprocesses for 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate production: current state and perspectives*. Applied Microbiology and Biotechnology 102, 9991-10004. DOI: 10.1007/s00253-018-9384-8.
28. Raj M., Devi T., et al. (2024) *Succinic acid: applications and microbial production using organic wastes as low cost substrates*. Physical Sciences Reviews 9, 2757-2773. DOI: 10.1515/psr-2022-0160.

#### 4.5. Inne osiągnięcia naukowe

Zgodnie z opisem kariery naukowej przedstawionym w punkcie 4.3. niniejszego Autoreferatu oraz wykazem osiągnięć przedstawionym w **Załączniku 4** do wniosku, zakres mojej dotychczasowej działalności naukowo-badawczej dotyczył nie tylko tematyki (bio)przetwarzania biomasy lignocelulozowej. Wymiernym efektem działalności wykraczającej poza główny nurt moich zainteresowań naukowych są łącznie 23 publikacje (w tym 13 w czasopismach indeksowanych w bazie *JCR*), wśród których 17 (w tym 8 w czasopismach z listy *JCR*) powstało po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora.

Poza osiągnięciem zawartym w cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiącym podstawę wniosku o wszczęcie postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego omówionym w punkcie 4.4., dodatkowym osiągnięciem wnoszącym wkład w rozwój dyscypliny inżynieria chemiczna jest cykl publikacji naukowych dotyczących opracowania innowacyjnych układów do hodowli izolowanych komórek zwierzęcych. Obejmuje on cztery artykuły w czasopismach indeksowanych w bazie *JCR* (Poz. A11, A17, A19, A27; Zał. 4, pkt. 2.4) oraz trzy artykuły opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych spoza listy *JCR* (Poz. A9, A15, A28; Zał. 4, pkt. 2.4). Zwięzły zakres merytoryczny prac zaliczanych do ww. osiągnięcia omówiony został w punkcie 4.3.2 niniejszego Autoreferatu. Wchodzące w cykl prace powstały w ramach mojej wieloletniej współpracy z zespołami badawczymi kierowanymi przez dr. hab. inż. Macieja Pilarka, prof. uczelni z macierzystego Wydziału. Mój autorski wkład w powstanie powyższych publikacji obejmował udziały w realizacji badań doświadczalnych, interpretacji uzyskanych wyników i przygotowaniu manuskryptów.

#### 5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Poza Wydziałem Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej, który jest moją jednostką macierzystą, dotychczas miałam okazję realizować aktywność naukową w kilku innych ośrodkach naukowych oraz nawiązując współpracę z grupami badawczymi z innych ośrodków - dotyczy to zarówno instytucji zagranicznych, jak i krajowych. W tym zakresie moja aktywność objęła dwa staże naukowe zrealizowane w zagranicznych ośrodkach naukowych, współpracę w wymiarze krajowym

z zespołami badawczymi z innych uczelni w Polsce. Kopie dokumentów potwierdzających zrealizowane zagraniczne staże naukowe oraz moją aktywność w nawiązywaniu współpracy z innymi grupami badawczymi z krajowych uczelni zamieszczone zostały w **Załączniku 7**, który uzupełniają dokumenty potwierdzające współpracę międzywydziałową z zespołami badawczymi działającymi w strukturach Politechniki Warszawskiej.

### 5.1. Współpraca z zagranicznymi instytucjami naukowymi

W 2003 roku, jeszcze w czasach realizacji badań do pracy dyplomowej magisterskiej, odbyłam trzymiesięczny staż naukowy w Laboratorium Chemii Bioorganicznej i Bionieorganicznej Instytutu Chemii Molekularnej i Materiałowej, we francuskim Université Paris-Süd, z siedzibą w Orsay pod Paryżem (**Laboratoire de Chimie Bioorganique et Bioinorganique, Institut de Chimie Moléculaire et de Matériaux d'Orsay, Université Paris-Süd**), który odbył się w ramach programu wymiany studenckiej Socrates-Erasmus. Tematem stażu była synteza inhibitorów aldolaz II, czyli enzymów biorących udział w przemianach glikolizy u bakterii i grzybów mikroskopowych, nie zachodzących w komórkach ssaków. Opiekunem naukowym stażu był profesor Michel Thérissod. Celem naukowym projektu, w realizacji którego uczestniczyłam w trakcie stażu, było opracowanie nowych wysokoselektywnych inhibitorów aldolaz fruktozo-1,6-bisfosforowych klasy II, opartych na pochodnych kwasu fosfoglikolowego, tj. związków chemicznych, które potencjalnie mogą stanowić substancje aktywne w lekach przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych. Wymiernym naukowym efektem prac badawczych zrealizowanych podczas stażu w Université Paris-Süd jest publikacja naukowa mojego współautorstwa (Poz. A1, Zał. 4, pkt 2.4). Ponadto, wyniki przedstawione w publikacji, jak i wyniki innych doświadczeń uzyskane w trakcie stażu stanowiły istotny element mojej pracy dyplomowej magisterskiej.

W 2010 roku, niemalże bezpośrednio po obronie pracy doktorskiej, odbyłam dwumiesięczny podoktorski staż naukowy we włoskim Instytucie Technologii Membranowych Uniwersytetu w Kalabrii w Rende (**Istituto per la Tecnologia delle Membrane - Consiglio Nazionale delle Ricerche, Università della Calabria**), w ramach przyznanego przez Centrum Studium Zaawansowanych Politechniki Warszawskiej naukowego stypendium wyjazdowego ze środków Programu Rozwojowego Politechniki Warszawskiej (konkurs CAS/11/POKL). Tematem stażu była immobilizacja enzymów w strukturze asymetrycznych membran ultrafiltracyjnych pozwalająca zachować katalityczne właściwości białka enzymatycznego. Opiekunem naukowym stażu była profesor Lidietta Giorno, pełniąca funkcję dyrektorki Instytutu. Celem naukowym projektu, w realizacji którego uczestniczyłam w trakcie stażu, było określenie wpływu użytej membrany na wydajność immobilizacji białka enzymatycznego  $\beta$ -glukozydazy w porach ultrafiltracyjnych asymetrycznych membran polimerowych, a następnie na aktywność katalityczną badanego unieruchomionego enzymu w modelowej reakcji hydrolizy oleuropeiny. W przeprowadzonych badaniach wykorzystane zostały membrany z regenerowanej celulozy (RC) i octanu celulozy (CA) oraz membrany polietersulfonowe (PES). Szczegółowy zakres zrealizowanych prac obejmował: charakterystykę membran użytych do immobilizacji (tj. wyznaczenie przepuszczalności dla ultraczystej wody, pomiar kąta zwilżania, analizę struktury membran za pomocą mikroskopii SEM), immobilizację enzymu w porach badanych membran oraz przeprowadzenie i ilościową charakterystykę hydrolizy oleuropeiny z wykorzystaniem membran z unieruchomionym białkiem katalitycznym. Wyniki uzyskane w trakcie realizacji stażu zostały zaprezentowane na seminarium zorganizowanym w Instytucie Technologii Membranowych Uniwersytetu w Kalabrii, a po zakończeniu stażu zostały przedstawione na seminarium wydziałowym Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW oraz opisane w raportach przedłożonych w Centrum Studiów Zawansowanych PW i w Instytucie Technologii Membranowych Uniwersytetu w Kalabrii.



Wiedza i doświadczenie zdobyte w trakcie stażu we wiodącym naukowym ośrodku zagranicznym specjalizującym się w rozwoju nowoczesnych technologii membranowych stały się przyczynkiem do mojego dalszego rozwoju naukowego, a poznany warsztat badawczy obejmujący metodykę pracy oraz użyte techniki analityczne, zostały wykorzystane w mojej dalszej pracy naukowej dotyczącej zastosowania separacji membranowej w procesie kinetycznego rozdziału enancjomerów, a następnie do hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej, pozostając w pełnej zgodzie ze ścieżką mojego dalszego rozwoju naukowego.

## 5.2. Współpraca z innymi ośrodkami naukowymi w Polsce

W latach 2011-2013 współpracowałam z **Centrum Biogospodarki i Energii Odnawialnych (CBEO) Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie** w zakresie realizacji zadania badawczego nr 4 pt. „*Opracowanie zintegrowanych technologii wytwarzania paliw i energii z biomasy, odpadów rolniczych i innych*” w ramach strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „*Zaawansowane technologie pozyskiwania energii*” sfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz spółki ENERGA S.A. (projekt nr SP/E/4/65786/10). Cały projekt był koordynowany przez Instytut Maszyn Przepływowych Polskiej Akademii Nauk w Gdańsku. Mój udział w projekcie wynikał z umowy nr 1/31/4.4.E/Projekt Strategiczny/2010 pomiędzy Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie a Politechniką Warszawską. Do 2011 roku za realizację projektu z ramienia PW odpowiadał prof. Krzysztof W. Szewczyk. Po Jego śmierci, Rektor UWM w Olsztynie, prof. dr hab. Józef Górniewicz, powierzył mi wykonanie podetapu badawczego 31-4.4E pt. „*Dobór metod oraz optymalizacja warunków hydrolizy odpadów lignocelulozowych*”. Od tego czasu koordynowałam realizacją badań dotyczących zarówno obróbki wstępnej biomasy szybkoorosnącej wierzby energetycznej (*Salix viminalis L.*), z wykorzystaniem metod chemicznych i fizykochemicznych, jak i optymalizacji warunków enzymatycznej hydrolizy surowca lignocelulozowego po uprzedniej obróbce wstępnej. Wymiernymi efektami naukowymi, które potwierdzają mój merytoryczny udział w realizacji projektu i jednocześnie współpracę z CBEO UWM w Olsztynie są dwie publikacje naukowe (Poz. A8 i A10, Zał. 4, pkt 2.4), jeden rozdział w recenzowanej monografii (Poz. M1, Zał. 4, pkt 2.2), jeden wygłoszony referat i jedna prezentacja posterowa na konferencjach naukowych (Poz. K9 i K10, Zał. 4, pkt 2.5) oraz jedna praca dyplomowa magisterska zrealizowana w Politechnice Warszawskiej.

W latach 2016-2019, na zaproszenie profesora Janusza Zawadzkiego z **Wydziału Technologii Drewna Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**, uczestniczyłam w opracowaniu dokumentacji konkursowej, a następnie w realizacji projektu strategicznego Biostrateg 2 pt. „*Inteligentne systemy hodowli i uprawy, pszenicy, kukurydzy i topoli dla zoptymalizowanej produkcji, biomasy, biopaliw oraz zmodyfikowanego drewna*” sfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (projekt nr BIOSTRATEG 2/298241/10/NCBR/201). Projekt był realizowany przez konsorcjum CROPTECH, którego liderem była Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, konsorcjantami z ośrodków naukowych była Politechnika Warszawska, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Technologii Drewna w Poznaniu, a partnerami z grona otoczenia gospodarczego: Hodowla Roślin Smolice sp. z o.o. - Grupa IHAR, BIOAGRA S. A., Eco Power Plant sp. z o.o., Versal sp. z o.o. oraz firma Parkiety Jabłoński. Kierownikiem całego projektu i jednocześnie przewodniczącym Rady Konsorcjum był prof. Stanisław Karpiński z SGGW. Moja rola w projekcie dotyczyła realizacji Zadania nr 6 pt. „*Badanie procesów wstępnej obróbki i hydrolizy enzymatycznej biomasy lignocelulozowej z kukurydzy i topoli*” kierowanego przez dr. hab. inż. Andrzeja Antczaka, prof. uczelni, z Wydziału Technologii Drewna SGGW. Pełniłam funkcję kierownika z ramienia Politechniki Warszawskiej (Partnera Konsorcjum) prac dotyczących opracowania koncepcji i realizacji badań dotyczących alkalicznej obróbki wstępnej biomasy lignocelulozowej odpadów kukurydzianych

i drewna topoli oraz hydrolizy enzymatycznej uzyskanego w ten sposób surowca. Wymiernymi efektami naukowymi mojego udziału w projekcie Biostrateg 2 jest 11 prac uwzględnionych w cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiącym podstawę o wszczęcie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego. Obejmują one 10 publikacji naukowych (prace **H1-H3**, **H6-H8**, **H10-H12**, **H14**) mojego autorstwa lub współautorstwa, wśród których 2 powstały we współpracy z zespołami badawczymi z SGGW (prace **H8** i **H10**), 1 patent (praca **H16**) oraz 30 prac dyplomowych obronionych przez studentów Politechniki Warszawskiej, w tym 17 prac inżynierskich oraz 13 prac magisterskich. Ponadto wyniki uzyskane w efekcie realizacji koordynowanej przeze mnie części projektu zostały zaprezentowane w postaci 9 wystąpień konferencyjnych, w formie 4 wystąpień ustnych oraz 5 prezentacji posterowych (Poz. K13, K15-K17, K19-K22, K24, Zał. 4, pkt 2.5), w tym na 4 konferencjach międzynarodowych.

W latach 2016-2019, na zaproszenie dr. hab. inż. Mariusza Kuglarza, prof. uczelni, z **Wydziału Inżynierii Materiałów, Budownictwa i Środowiska Akademii Techniczno-Humanistycznej w Bielsku-Białej** (obecnie Uniwersytet Bielsko-Bialski) uczestniczyłam w realizacji kierowanego przez niego grantu naukowego pt. „*Koncepcja produkcji kwasu bursztynowego z biomasy lignocelulozowej z wykorzystaniem odpadowego CO<sub>2</sub>*” sfinansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach II edycji konkursu Iuventus Plus (projekt nr 0395/IP2/2016/74). Mój udział dotyczył przeprowadzenia badań hydrolizy enzymatycznej biomasy miskanta i słomy rzepakowej po uprzedniej obróbce wstępnej. Wymiernymi efektami naukowymi naszej współpracy w ramach realizacji projektu Iuventus Plus są dwa artykuły naukowe (prace **H4** i **H5**) powstałe także z udziałem zespołu badawczego z Uniwersytetu Technicznego w Lyngby (Dania), które stanowią elementy cyklu powiązanych tematycznie publikacji oraz jeden referat wygłoszony na konferencji międzynarodowej (Poz. K18, Zał. 4, pkt 2.5).

### **5.3. Współpraca międzywydziałowa realizowana wewnątrz Politechniki Warszawskiej**

Od 2017 roku aktywnie współpracuję naukowo z zespołem dr hab. Jolanty Mierzejewskiej, prof. uczelni, z **Katedry Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków Wydziału Chemicznego PW**. Dotychczas wspólnie zrealizowane badania naukowe obejmowały udział w projektach, których tematyka dotyczyła praktycznego wykorzystania hydrolizatów uzyskanych w wyniku enzymatycznego scukrzania surowców lignocelulozowych w procesach fermentacji prowadzących do biosyntezy wartościowych bioproduktów pochodzenia mikrobiologicznego. Zainicjowanie współpracy wiązało się z udziałem w realizowanym na Wydziale Chemicznym PW i kierowanym przez prof. J. Mierzejewską grantie badawczym pt. „*Poszukiwanie nowych szczepów drożdży zdolnych do produkcji naturalnych aromatów, barwników i polimerów*”, sfinansowanym przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Sonata 11 (projekt nr 2016/21/D/NZ9/01605). W ramach realizacji projektu brałam udział w badaniach dotyczących biotechnologicznego otrzymywania 2-fenyletanolu z hydrolizatów uzyskanych enzymatycznie ze słomy kukurydzianej. Wymiernymi efektami współpracy są: jedna publikacja naukowa (praca **H6**) zaliczona do cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiącego podstawę mojego wniosku oraz dwie prace dyplomowe magisterskie i jedna praca inżynierska obronione w Politechnice Warszawskiej.

W ramach kontynuacji powyższej współpracy naukowej, w latach 2022-2023, zrealizowany został grant badawczy przyznany w konkursie Beyond II POB (Program IDUB PW) pt. „*Zintegrowane biotechnologiczne wytwarzanie bioetanolu i ksylitolu z rolniczych odpadów lignocelulozowych po alkalicznej obróbce wstępnej*”, którego byłam kierownikiem. Celem projektu było zbadanie efektywności zintegrowanej biotechnologicznej produkcji etanolu i ksylitolu, realizowanej na drodze jednoczesnej hydrolizy enzymatycznej i fermentacji roślinnych surowców lignocelulozowych

pochodzących z odpadów kukurydzianych, z wykorzystaniem nowych szczepów drożdży z Kolekcji Kultur PW prowadzonej przez prof. J. Mierzejewską. Wymiernym efektem zrealizowanych w tym zakresie badań naukowych są jak dotychczas trzy wystąpienia konferencyjne, w tym jedno na konferencji międzynarodowej (Poz. K23, K25 i K26, Zał. 4, pkt 2.5) oraz sześć prac dyplomowych (trzy prace magisterskie i trzy prace inżynierskie) obronionych w Politechnice Warszawskiej. Aktualnie przygotowwany jest manuskrypt publikacji naukowej oraz dokumentacja dotycząca zgłoszenia patentowej ochrony wynalazku.

W 2020 roku na zaproszenie grupy badawczej prof. Joanny Ryszkowskiej z **Wydziału Inżynierii Materiałowej PW** podjęłam współpracę w zakresie analizy składu naturalnych napełniaczy wykorzystywanych do wytwarzania kompozytów pianek poliuretanowych. W ramach tej współpracy przeprowadziłam ilościowe oznaczenia zawartości celulozy, hemicelulozy i ligniny w poddawanej obróbce biomasy wyłoków z czarnej porzeczki. Wymiernym efektem współpracy jest jedna publikacja naukowa (Poz. A32, Zał. 4, pkt 2.4).

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę**

### **6.1. Osiągnięcia dydaktyczne**

Moja działalność dydaktyczna, którą rozpocząłam w 2003 r. już w trakcie studiów doktoranckich, obejmuje prowadzenie zajęć dydaktycznych w Politechnice Warszawskiej oraz na innych uczelniach, a także promotorstwo prac dyplomowych inżynierskich i magisterskich studentów PW. Prowadzone przeze mnie zajęcia dydaktyczne są wysoko oceniane przez studentów w procesie ankietyzacji. Ponadto staram się podnosić swoje kompetencje dydaktyczne poprzez nabywanie nowych umiejętności w prowadzeniu zajęć dydaktycznych oraz wykorzystywaniu w procesie nauczania nowoczesnych narzędzi oraz innowacyjnych technik. W celu rozwijania swoich umiejętności dydaktycznych brałam udział w licznych szkoleniach, seminariach oraz webinarach, które zostały wymienione w punkcie 7.2. niniejszego Autoreferatu.

#### **6.1.1. Zajęcia dydaktyczne prowadzone w Politechnice Warszawskiej**

Działalność dydaktyczną w Politechnice Warszawskiej prowadzę na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej (WIChiP) dla studentów kierunku inżynieria chemiczna i procesowa oraz na Wydziale Chemicznym (WCh) dla studentów kierunku biotechnologia od 2003 roku, czyli od momentu rozpoczęcia studiów doktoranckich. W trakcie studiów doktoranckich, a następnie zatrudnienia na stanowisku asystenckim w Międzywydziałowym Centrum Biotechnologii PW prowadziłam zajęcia laboratoryjne, natomiast już po uzyskaniu stopnia doktora zakres prowadzonych przez mnie przedmiotów obejmuje także wykłady i zajęcia projektowe. W roku akademickim 2019/2020 prowadziłam dodatkowo zajęcia na studiach II stopnia dla studentów kierunku biogospodarka na Wydziale Instalacji Budowlanych, Hydrotechniki i Inżynierii Środowiska (WIBHIS). Zestawienie prowadzonych przeze mnie zajęć dla studentów Politechniki Warszawskiej zostało zamieszczone w Tabeli 5.

W trakcie wykładów z przedmiotu *Podstawy biotechnologii* wykorzystuję nowoczesne narzędzia motywujące słuchaczy do uważnego udziału w zajęciach, co spotkało się z bardzo pozytywnym odbiorem wśród studentów. Za prowadzenie tego przedmiotu otrzymałam dodatkowo ocenę wyróżniającą w procesie hospitacji zajęć dydaktycznych w semestrze zimowym roku akademickiego 2023/2024. Wykład i projekt z przedmiotu *Biorafinerie lignocelulozowe* są zajęciami autorskimi.

Zostały one przeze mnie od podstaw przygotowane - opracowałam program zajęć oraz materiały wykładowe.

Tabela 5. Wykaz zajęć dydaktycznych prowadzonych dla studentów Politechniki Warszawskiej.

Nazwa przedmiotu	Rodzaj zajęć	Kierunek i stopień studiów	Wydział	Okres prowadzenia
Podstawy biotechnologii*	Wykład	Inżynieria chemiczna i procesowa (I stopień)	Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej	2012 - obecnie
Biochemia	Lab.	Biotechnologia (I stopień)	Wydział Chemiczny (Międzywydziałowe Centrum Biotechnologii 2007-2008 r.)	2003 - 2024
Procesy rozdzielania w biotechnologii	Lab.	Biotechnologia (II stopień)	Wydział Chemiczny	2003 - 2007
Techniki hodowli mikroorganizmów*	Lab.	Biotechnologia (I stopień/ II stopień do 2012 r.)	Wydział Chemiczny	2010 - obecnie
Biorafinerie lignocelulozowe*	Wykład + Projekt	Biogospodarka (II stopień)	Wydział Instalacji Budowlanych, Hydrotechniki i Inżynierii Środowiska	2019 - 2020

\*Przedmioty, których pełnię lub pełniłam funkcję koordynatora.

### 6.1.2. Zajęcia dydaktyczne prowadzone na innych uczelniach

Moja dotychczasowa działalność dydaktyczna na innych uczelniach realizowana była lub jest w ramach okresowych umów cywilnoprawnych i obejmuje prowadzenie zajęć na Uniwersytecie Kardynała Stefana Wyszyńskiego (UKSW) oraz na Uniwersytecie Warszawskim (UW) w Warszawie. Zestawienie prowadzonych przeze mnie zajęć dla tych uczelni zostało zamieszczone w Tabeli 6.

Tabela 6. Wykaz zajęć dydaktycznych prowadzonych dla studentów innych uczelni.

Nazwa przedmiotu	Rodzaj zajęć	Kierunek i stopień studiów	Uczelnia/Wydział	Okres prowadzenia
Inżynieria bioprosesowa	Wykład	Biotechnologia (I stopień)	UW/Wydział Biologii	2020 - obecnie
Biochemia	Lab.	Biologia (I stopień)	UKSW/ Wydział Biologii i Nauk o Środowisku	2015 - 2021
Biochemia	Lab.	Inżynieria Środowiska (I stopień)	UKSW/ Wydział Biologii i Nauk o Środowisku	2020

### 6.1.3. Promotorstwo prac dyplomowych

W ramach swojej pracy badawczo-dydaktycznej realizowanej w Politechnice Warszawskiej jako macierzystej uczelni, w latach 2012-2024 pełniłam dotąd rolę promotora 32 prac magisterskich oraz 31 prac inżynierskich zrealizowanych przez studentów kierunków inżynieria chemiczna i procesowa (kierunek prowadzony na macierzystym Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej PW) oraz biotechnologia (kierunek prowadzony na Wydziale Chemicznym PW). Wykonałam także 61 recenzji prac dyplomowych. Obecnie w realizacji są kolejne 3 prace dyplomowe.

## 6.2. Osiągnięcia organizacyjne

Podczas pracy na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej pełniłam lub nadal pełnię następujące funkcje organizacyjne:

- Pełnomocnik Dziekana ds. systemu zapewniania jakości kształcenia - Członek Uczelnianej Rady ds. Jakości Kształcenia (od 10.2020 r., kadencje: 2020-2024 oraz 2024-2028);

Najważniejsze obowiązki: kontakty i współpraca z Uczelnianą Radą Jakości Kształcenia oraz Pełnomocnikiem Rektora ds. Jakości Kształcenia i Akredytacji; nadzór nad dokumentacją Wydziałowego Systemu Zapewniania Jakości Kształcenia (SZJK) oraz Księgą Jakości Kształcenia, koordynowanie aktualizacji dokumentacji SZJK i procedur oraz ich dystrybucja na Wydziale; nadzór na procesem oceny jakości kształcenia, w tym inicjowanie i koordynowanie przebiegu hospitacji i ankietyzacji zajęć dydaktycznych, przygotowanie corocznych raportów dotyczących jakości kształcenia realizowanego na Wydziale, współpraca z instytucjami związanymi z jakością kształcenia, w tym akredytacyjnymi i certyfikującymi.

- Członek wydziałowej Komisji ds. jakości kształcenia (od 10.2012 r., kadencje: 2012-2016, 2016-2020, 2020-2024);

Najważniejsze obowiązki: organizacja i nadzór nad procesem ankietyzacji zajęć dydaktycznych na Wydziale, opracowywanie raportów i sprawozdań z przebiegu ankietyzacji; udział w przygotowaniu raportów samooceny Wydziału przed wizytacją zespołu oceniającego Polskiej Komisji Akredytacyjnej (PKA) oraz Komisji Akredytacyjnej Uczelni Technicznych (KAUT); udział w spotkaniu Komisji PKA z przedstawicielami Wydziału (2020 r.); udział w spotkaniach KAUT z przedstawicielami Wydziału (2017 i 2023 r.), udział w panelu ekspertów dot. badania opinii pracodawców na WICHiP; udział w realizacji projektu Podniesienie Jakości Kształcenia PW - członek zespołu wydziałowych ekspertów ds. modyfikacji systemu zapewniania jakości kształcenia (2013 r.).

- Członek Rady Wydziału IChiP (kadencje: 2020-2024 oraz 2024-2028);
- Przedstawiciel grupy wyborczej Bw w Wydziałowym Kolegium Wnioskująco-Opiniującym WICHiP (2020 r.) oraz w Wydziałowym Kolegium Elektorów WICHiP (2024 r.);
- Członek Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna (od 10.2019 r.);
- Wydziałowy Społeczny Inspektor Pracy (od 05.2015 r., kadencje: 2015-2019, 2019-2023, 2023-2027);
- Członek Zespołu ds. oceny ryzyka zawodowego (decyzja Dziekana 29/2021 z dnia 8.10.2021 r.);
- Członek Komitetu Organizacyjnego 23 Konferencji Inżynierii Chemicznej i Procesowej - koordynator zawodów Studenckich Kół Naukowych (*Students Science Clubs Contest*) oraz koordynator konkursu na najlepszą ustną prezentację młodych naukowców (*Best Young Researcher Presentation*);
- Członek Komitetu Naukowego międzynarodowej konferencji European Young Engineers Conference (EYEC) w latach 2014-2024.

## 6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

- Współautorstwo rozdziału w książce popularyzującej naukę: Krzysztof W. Szewczyk, Katarzyna Dąbkowska: *Rola enzymów w przyrodzie i technologii*, w: *Chemia w szkole* / Marek Orlin, Barbara Parcińska-Wywiątek (red.), 4 (293), 2011, EduPress, ISSN 0411-8634, s. 22-27.

- Przygotowanie i wygłoszenie wykładów popularnonaukowych pt. „*Enancjomery i ich rola w farmakoterapii*” w ramach Festiwalu Nauki w latach 2011-2014.
- Członek jury w oceniającego prace konkursowe międzynarodowego wydarzenia ENHANCE BioHackathon organizowanego przez Koło Naukowe Biotechnologii „Herbion” i Centrum Współpracy Międzynarodowej Politechniki Warszawskiej (24-26 maja 2024 r., Warszawa, Polska)
- Prezentacja wyników badań na konferencjach naukowych w latach 2003-2024 - jestem autorką lub współautorką 27 wystąpień na konferencjach krajowych lub międzynarodowych, wśród których na 11 osobiście przedstawiałam wyniki w formie wystąpienia ustnego. Wykaz moich wystąpień na konferencjach krajowych i międzynarodowych zamieszczony został w **Załączniku 4** (pkt 2.5).

## 7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej

### 7.1. Otrzymane nagrody, wyróżnienia i stypendia naukowe

- **Nagroda** Best Paper PW za 2023 r. za monoautorską publikację naukową pt. „*Influence of Tween 80 on enzymatic hydrolysis of corn straw integrated with membrane separation*” w czasopiśmie Industrial Crops and Products (IF<sub>2023</sub> = 5,6; MEiN<sub>2023</sub> = 200 pkt);
- **Nagroda** zespołowa stopnia II JM Rektora Politechniki Warszawskiej za osiągnięcia organizacyjne w roku akademickim 2022/2023;
- **Nagroda** zespołowa stopnia III JM Rektora Politechniki Warszawskiej za osiągnięcia organizacyjne w roku 2017;
- Indywidualna **nagroda** II stopnia JM Rektora Politechniki Warszawskiej za osiągnięcia naukowe w roku 2010;
- **Wyróżnienie** rozprawy doktorskiej przez Radę Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej (2010 r.);
- Naukowe **stypendium** stacjonarne “Programu Rozwojowego Politechniki Warszawskiej” przyznane przez Centrum Studiów Zaawansowanych PW w ramach konkursu CAS/23/POKL (2012-2013);
- Naukowe **stypendium** wyjazdowe “Programu Rozwojowego Politechniki Warszawskiej” przyznane przez Centrum Studiów Zaawansowanych PW w ramach konkursu CAS/11/POKL na realizację dwumiesięcznego pobytu w roku 2010 w Istituto per la Tecnologia delle Membrane, c/o Università della Calabria, Italia (2010);

Potwierdzenia wymienionych powyżej osiągnięć zamieszczone zostały w **Załączniku 8**.

### 7.2. Udział w wydarzeniach podnoszących kwalifikacje zawodowe

W latach 2008 - 2023 uczestniczyłam w wielu szkoleniach, kursach warsztatach i seminariach podnoszących kwalifikacje zawodowe. Część odbytych szkoleń i kursów była poświęcona nabywaniu nowych umiejętności w prowadzeniu zajęć dydaktycznych oraz wykorzystywaniu w procesie nauczania nowoczesnych narzędzi oraz innowacyjnych technik. Inne szkolenia odbyłam w celu m.in. rozwijania swoich kompetencji organizacyjnych i społecznych.

- Szkolenie „*Zjawiska niepożądane w miejscu pracy – mobbing, dyskryminacja, molestowanie*” (Biuro ds. Społecznej Odpowiedzialności Uczelni PW, 25.05.2023 r.);

- Szkolenie „Zasady wsparcia edukacyjnego studentów z różnymi niepełnosprawnościami. Prowadzenie zajęć online dla osób ze specjalnymi potrzebami” w ramach projektu pt. „Politechnika Warszawska Ambasadorem Innowacji na Rzecz Dostępności” (POWER-EFS) (Biuro ds. Społecznej Odpowiedzialności Uczelni PW, 18.01.2023 r.);
- Kurs pn. „Przygotowanie grafiki dla celów publikacyjnych i prezentacyjnych” realizowany w ramach zadania 44 „Kompetentny wykładowca” projektu „NERW PW. Nauka - Edukacja - Rozwój - Współpraca” (14-16.09.2020 r.);
- Kurs pn. „Techniki przygotowania profesjonalnej prezentacji w programie PowerPoint na poziomie zaawansowanym realizowanym” w ramach zadania 44 „Kompetentny wykładowca” projektu „NERW PW. Nauka - Edukacja - Rozwój - Współpraca” (24-26.06.2019 r.);
- Kurs pn. „Wykorzystanie narzędzi ICT do prowadzenia przedmiotu na platformie moodle (kurs hybrydowy)” w zakresie umiejętności informatycznych, realizowane w ramach zadania 44 „Kompetentny wykładowca” „NERW PW. Nauka - Edukacja - Rozwój - Współpraca” (9, 16, 23.01.2019 r.);
- Webinarium Polskiej Komisji Akredytacyjnej dla Uczelni dotyczące omówienia procedury zdalnej oceny programowej (7.10.2020 r.);
- Szkolenie w zakresie obsługi sterylizatorów parowych typu ASVE (12.04.2019 r.);
- Szkolenie „STATISTICA kurs podstawowy” (Stat-Soft Polska Sp. z o.o., 15-16.03.2017 r.);
- Letni Kurs Hodowli Komórek Zwierzęcych (Zakład Cytologii Wydziału Biologii UW, Warszawa, 10-13 września 2012 r.);
- Seminarium pt. Hodowle komórkowe, oczyszczanie białek i analiza komórek (Merck Millipore, 14.06.2012 r.);
- Kurs Bioprocess Engineering Course, Brač, Chorwacja (19-25.09.2010 r.);
- Seminarium chromatograficzne (Perlan Technologies Polska Sp. z o.o., 29.10.2008 r.);
- Seminarium pt. „Ekspresja i oczyszczanie białek” (Merck Sp. z o.o., 16.06.2008 r.);
- Szkolenie Społecznych Inspektorów Pracy Politechniki Warszawskiej z zakresu bezpieczeństwa i higieny pracy oraz ochrony przeciwpożarowej (Inspektorat BHP PW, 10.01.2024 r.);
- Szkolenie w zakresie udzielania pierwszej pomocy przedmedycznej (Dział ds. Szkoleń PW, 22.09.2022 r.);
- Szkolenie specjalistyczne pn. „Zachowanie się pracowników Politechniki Warszawskiej w przypadku wystąpienia zdarzeń o charakterze terrorystycznym” (Centrala Szkoleń AT, Warszawa, 06.2017 r.);
- Szkolenie Społecznych Inspektorów Pracy Politechniki Warszawskiej z zakresu bezpieczeństwa i higieny pracy oraz postępowania w sytuacji zagrożeń (Dział ds. Szkoleń PW, 19-20.05.2015 r.)

Potwierdzenia najważniejszych z wymienionych powyżej osiągnięć zamieszczone zostały w **Załączniku 8**.

.....  
(podpis wnioskodawcy)