

**Dr inż. Aleksandra Wawro**

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich-  
Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu



## **Autoreferat**

w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego,  
w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

Poznań 2023

**1. Imię i nazwisko:** Aleksandra Wawro

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

11.04.2017 - uzyskanie stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie biotechnologia, nadanego decyzją Rady Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Temat rozprawy doktorskiej: **Ulepszanie właściwości technologicznych drożdży gorzelniczych *Saccharomyces cerevisiae* metodą tasowania genomowego.**

Promotor: prof. dr hab. Włodzimierz Grajek

Recenzenci: prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski oraz dr hab. inż. Joanna Kawa-Rygielska, prof. nadzw.

10.05.2013 - uzyskanie dyplomu ukończenia studiów podyplomowych: 3-semesterne Niestacjonarne Podyplomowe Studium Przygotowania Pedagogicznego na Wydziale Ekonomiczno – Społecznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

21.06.2009 - uzyskanie tytułu zawodowego magistra inżyniera, specjalizacja: technologia fermentacji. Praca magisterska wykonana w Katedrze Fermentacji i Biosyntezy, Na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Temat pracy magisterskiej: **Zastosowanie mikroorganizmów wyizolowanych z kompostów do biodegradacji kwasów tłuszczowych w hodowlach okresowych.**

Promotor: dr inż. Agnieszka Piotrowska-Cyplik

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

1.06.2021 - do chwili obecnej- adiunkt w Zakładzie Inżynierii Bioproduktów Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu.

1.07.2017 – 31.05.2021 - adiunkt w Zakładzie Innowacyjnych Biomateriałów i Nanotechnologii Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich.

1.01.2012 – 30.06.2017 - asystent w Zakładzie Innowacyjnych Biomateriałów i Nanotechnologii Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu.

1.02.2010 – 31.12.2011 - asystent w Zakładzie Ochrony Środowiska Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu.

#### 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.).

##### 4.1. Osiągnięcie naukowe opisane w cyklu powiązanych tematycznie publikacji

###### 4.1.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

#### **Wydajność procesu produkcji etanolu lignocelulozowego z uwzględnieniem rodzaju biomasy i jej głównych składników chemicznych**

###### 4.1.2. Wykaz publikacji (P) wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

**P1** Batog J., **Wawro A.** 2021. Chemical and biological deconstruction in the conversion process of sorghum biomass for bioethanol. Journal of Natural Fibers 1-12.

*Punktacja wg MEiN (2021): 140*

*IF (2021): 3,507*

*IF (5-letni): 3,7*

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki badawczej, wykonaniu analiz laboratoryjnych, analizie wyników i dyskusji, wykonaniu statystycznej analizy danych*

**P2** **Wawro A.\***, Batog J., Gieparda W. 2021. Polish Varieties of Industrial Hemp and Their Utilisation in the Efficient Production of Lignocellulosic Ethanol. Molecules 26: 6467.

*\*autor korespondencyjny*

*Punktacja wg MEiN (2021): 140*

*IF (2021): 4,927*

*IF (5-letni): 4,9*

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i metodyki badawczej, analizie literatury, wykonaniu analiz laboratoryjnych, zbiorze danych, wykonaniu analizy wyników, wykonaniu analizy statystycznej danych, przygotowaniu i korekcie publikacji, funkcji autora korespondencyjnego*

**P3** Batog J., **Wawro A.\***, Gieparda W., Bujnowicz K., Foksowicz-Flaczyk J., Rojewski Sz., Chudy M., Praczyk M. 2023. Effective use of flax biomass in biorefining processes. Applied Sciences 13 (13), 7359.

*\*autor korespondencyjny*

*Punktacja wg MEiN (2023): 100*

*IF (2023): 2,7*

*IF (5-letni): 2,9*

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i metodyki badawczej dot. bioetanolu, wykonaniu analiz laboratoryjnych, analizie wyników i dyskusji, wykonaniu analizy statystycznej danych, korekcie publikacji, funkcji autora korespondencyjnego*

**P4** Wiatrowska B.M., **Wawro A.**, Gieparda W., Waliszewska B. 2022. Bioethanol Production Potential and Other Biomass Energy Properties of Invasive *Reynoutria*, *Solidago*, and *Spiraea* Plants. *Forests* 13: 1582.

*Punktacja wg MEiN (2022): 100*

*IF (2022): 2,9*

*IF (5-letni): 3,0*

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i publikacji, opracowaniu metodyki badawczej i analizie literatury dot. bioetanolu, wykonaniu analiz laboratoryjnych, zbiorze danych, analizie wyników i dyskusji, wykonaniu analizy statystycznej danych, korekcie dot. bioetanolu*

**P5** **Wawro A.\***, Jakubowski J., Gieparda W., Pilarek Z., Łacka A. 2023. Potential of Pine Needle Biomass for Bioethanol Production. *Energies* 16: 3949.

*\*autor korespondencyjny*

*Punktacja wg MEiN (2023): 140*

*IF (2023): 3,2*

*IF (5-letni): 3,3*

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i publikacji, opracowaniu metodyki badawczej dot. bioetanolu, analizie literatury, wykonaniu analiz laboratoryjnych, zbiorze danych, analizie wyników, przygotowaniu i korekcie publikacji, funkcji autora korespondencyjnego*

### **Łącznie dla ww. cyklu publikacji:**

Suma punktów MEiN prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **620**

Suma punktów IF prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **17,234**

Niezależnie od powyższego zestawienia, wykaz i kopie monotematycznego cyklu publikacji stanowiącego osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie tych publikacji zamieszczono w załącznikach nr 5 i nr 6.

#### 4.1.3. Omówienie celu naukowego ww. prac, wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

### **Wprowadzenie**

Na początku XXI w. na całym świecie, w tym także w Europie, zaczęto w intensywny sposób promować stosowanie energii ze źródeł odnawialnych. W 2009 roku dla krajów należących do Unii Europejskiej, powstała tzw. Dyrektywa RED I, wydana przez Parlament Europejski i Radę UE (2009/28/WE), która kładła nacisk przede wszystkim na spełnianie kryteriów zrównoważonego rozwoju biopaliw oraz znaczącą redukcję emitowanych gazów cieplarnianych. Wyznaczony został obowiązkowy „cel” osiągnięcia 10% zawartości biopaliw w paliwach transportowych do 2020 r. Obowiązujący obecnie „unijny cel”, polegający na osiągnięciu co najmniej 32 % udziału energii odnawialnej do 2030 r., który został zawarty w dyrektywie RED II, okazał się niewystarczający, dlatego też we wstępnych porozumieniach dotyczących powstania Dyrektywy RED III zmieniającej dyrektywę RED II (marzec 2023), podwyższono próg do 42,5 %. Z kolei państwa członkowskie UE prawdopodobnie będą zobligowane do działań w zakresie osiągnięcia celu 45% udziału OZE, w końcowym zużyciu energii brutto w 2030 r. Wymogi te są stworzone zgodnie z „celami

klimatycznymi” wytyczonymi na 2030 r. i zapisanymi w Europejskim Zielonym Ładzie. Rozwój biopaliw zaawansowanych traktowany jest priorytetowo i zakłada zwiększenie ich udziału z 0,5% w 2020 r. do 3,5 % w 2030 r. Według wstępnych założeń nowej Dyrektywy RED III będzie on wynosił nawet 5,5%. W załączniku do dyrektywy wymieniono surowce do produkcji zaawansowanych biopaliw, które liczą się podwójnie w osiąganiu wspomnianych „celów”. Należą do nich m.in.: algi, frakcje biomasy odpadów przemysłowych, słoma, niespożywcze materiały celulozowe oraz biomasa lignocelulozowa. Polska wychodząc naprzeciw wymogom UE, przygotowała Krajowy Plan na rzecz Energii i Klimatu na lata 2021–2030, w którym założono konieczność promowania biopaliw zaawansowanych z uwagi na zapisy ww. dyrektywy, jednak bez wskazywania wartości liczbowych w perspektywie do 2030 r. Wynika to z faktu, że w Polsce ten „cel” może być trudny do osiągnięcia, ze względu na ograniczony dostęp do technologii przetwarzających surowce lignocelulozowe.

Biopaliwa pochodzące z przetwórstwa biomasy, miały być rozwiązaniem nie tylko niezależnym od dostaw kopalnych nośników energii, ale jednocześnie miały wpływać na ograniczenie emisji gazów cieplarnianych. Zakładano bowiem, że biopaliwo przyniesie korzyści zarówno rolnikom, jak i środowisku naturalnemu poprzez poszerzenie możliwości racjonalnego i efektywnego wykorzystania surowców pozyskiwanych z produkcji rolniczej (Kerckhoffs i Renquist, 2013).

W pierwszych latach popularności biopaliw wyróżniano dwa podstawowe ich typy, biodiesel czyli przetworzony chemicznie olej roślinny oraz bioetanol czyli alkohol etylowy produkowany z roślin w procesie fermentacji i destylacji. Biomase stanowiły surowce spożywcze uprawiane na gruntach ornych, takie jak ziemniaki, ziarna zbóż i kukurydzy, nasiona rzepaku, trzcina cukrowa czy buraki cukrowe. Po pewnym czasie okazało się, że jeden z kluczowych problemów dotyczył tzw. zjawiska pośredniej zmiany sposobu użytkowania gruntów. Jako że ówczesne biopaliwa nazwane biopaliwami I-generacji, produkowane były głównie z podstawowych roślin żywnościowych uprawianych na wysokiej klasy użytkach rolnych, istniało ryzyko doprowadzenia do zachwiania bezpieczeństwa żywnościowego. Produkcja biopaliw z upraw roślin spożywczych mogła przyczynić się do wahań cen żywności oraz mogła wyrzucić negatywny wpływ społeczny na dochody rolników czy dostęp do gruntów. Stąd, niezbędne stało się wspieranie badań i rozwoju nowych zaawansowanych biopaliw, niekonkurujących z uprawami roślin spożywczych (Gabrielle 2008; Mohr i Raman 2013; Cavelius i in 2023). Powyższe założenia zapisano m.in. w mapie drogowej transformacji w kierunku gospodarki o obiegu zamkniętym. Istotną okazała się potrzeba rozwoju krajowej produkcji zaawansowanych biopaliw II generacji na cele transportowe, czyli biopaliw które wytwarzane są z surowców, niestanowiących bezpośredniej konkurencji dla upraw żywnościowych i paszowych, w tym m.in. z biomasy lignocelulozowej. Surowce te otrzymywane są z upraw prowadzonych często na gruntach ornych gorszej jakości (również gruntach marginalnych) i stanowią produkt uboczny uprawy głównej. Do produkcji biopaliw II generacji mogą być także wykorzystywane np. odpady z przemysłu spożywczego, leśnictwa czy gospodarstw domowych. Dlatego też niezbędne są prace nad skutecznymi i co istotne, opłacalnymi technologiami otrzymywania etanolu celulozowego, oczywiście w oparciu o regionalne zasoby biomasy, co znacząco może obniżyć koszty surowcowe. Ponadto, kompleksowe zagospodarowanie pozostałości lignocelulozowych pochodzących chociażby z rolnictwa, powinno uwzględniać wykorzystanie danego surowca w jak

największej ilości. Z danych literaturowych wynika, że udział rolniczych surowców lignocelulozowych jako odnawialnych źródeł energii w Polsce, wykazuje tendencję rosnącą. Stwarza to zatem szansę rozwoju obszarów wiejskich oraz ożywienia gospodarczego i społecznego na tych terenach (Jasiulewicz 2011; Pawlak 2016).

Mając na względzie powyższe, w ostatnim dziesięcioleciu naukowcy z wielu krajów europejskich i nie tylko, prowadzili badania nad pozyskiwaniem bioetanolu II generacji z surowców lignocelulozowych, które zostały podzielone na kilka grup ze względu na pochodzenie. Wśród surowców opisywanych w pracach badawczych znalazły się pozostałości rolnicze, w tym słoma zbożowa, słoma ryżowa, wyłoki z kukurydzy i trzciny cukrowej (Gao i in. 2018; Takano i Hoshino 2018; Ingrao i in. 2021), a także rośliny energetyczne takie jak: proso różgowate, wierzba energetyczna, topola, topinambur, miskant olbrzymi oraz sorgo (Ayodele i in. 2020; Ali i in. 2020; Turner i in. 2021). Doniesienia literaturowe dotyczą również wykorzystania odpadów z przemysłu spożywczego czy stałych odpadów komunalnych (Patra i in 2017; Anwar i in 2018). Publikowane wyniki badań wskazują, że największą wydajność etanolu lignocelulozowego można uzyskać z biomasy miskanta, sorgo cukrowego, wyłoków z trzciny cukrowej oraz proso różgowatego (Li i in. 2013).

Pomimo szerokiego zainteresowania badaczy potencjałem energetycznym różnorodnej biomasy lignocelulozowej, w doniesieniach literaturowych zarówno światowych jak i krajowych, brakuje szerokich opracowań naukowych dotyczących otrzymywania bioetanolu z surowców włóknistych, takich jak konopie czy len. Światowe trendy pokazują, że biomasa konopna z roku na rok staje się coraz bardziej popularna. Na przestrzeni ostatnich czterech lat, ośrodki naukowe ze Stanów Zjednoczonych i Chin, podjęły próbę scharakteryzowania tej rośliny pod względem jej potencjału energetycznego, wskazując na jej wielorakie możliwości wykorzystania w zakresie produkcji bioenergii. W Polsce w ostatnich latach również zauważalny jest wzrost areалу upraw konopi włóknistych (*Cannabis sativa* L.). Intensywnie rozwija się uprawa konopi na cele nasienne. Wytwarzana w ten sposób słoma stanowi niezagospodarowaną biomasę, która może być doskonałym surowcem lignocelulozowym. Na podstawie danych z 2016 roku (badania własne IWNiRZ-PIB w Poznaniu) oszacowano, że w Polsce areal gruntów zdewastowanych i zdegradowanych, wymagających rekultywacji, a stanowiący potencjalny obszar do uprawy konopi na cele energetyczne, wynosi około 65 tys. ha. Z kolei w przypadku lnu, nie podjęto dotychczas żadnych badań pozwalających na określenie potencjału tej biomasy do szerszego wykorzystania bioenergetycznego. Wynika to z niższego potencjału plonowania lnu, w porównaniu z konopiami czy sorgo. Len uprawny (*Linum usitatissimum* L.) to gatunek o bardzo różnorodnych możliwościach wykorzystania surowcowego. Podstawowymi surowcami pozyskiwanymi z lnu są nasiona bogate w tłuszcze o wysokim udziale WNKT oraz włókno doskonałej jakości. Należy podkreślić, że w uprawach lnu znajdują się dwie główne formy użytkowe tj. włóknista i oleista. O ile w uprawie odmian włóknistych podstawowym surowcem jest słoma, będąca źródłem doskonałego jakościowo włókna, o tyle w przypadku formy oleistej surowcem głównym są nasiona, natomiast słoma stanowi materiał odpadowy. Charakter uprawy lnu w świecie zmienił się zasadniczo w ciągu ostatnich 40 lat. Jeszcze w połowie XX w. w Polsce dominowała uprawa lnu włóknistego, który uprawiano na powierzchni ok. 100 000 ha. Obecnie dominuje len oleisty, a dawna uprawa na włókno ma charakter jedynie śladowy. Obszar uprawy lnu oleistego zarówno w Polsce jak i w

krajach europejskich systematycznie wzrasta (Wielebski i in. 2017). Wg danych FAOSAT w 2021 r. światowy areał uprawy lnu wynosił 4 384 000 ha, z czego na len włóknisty przypadało jedynie 241 103 ha. Słoma lniana stanowiąca odpadową pozostałość po oddzieleniu nasion wykorzystywanych do wyłaczania oleju, z uwagi na wysoką zawartość celulozy, może znaleźć zastosowanie do wytwarzania wielu bioproduktów, w tym bioetanolu. Tym samym, stwarza to nowe możliwości zagospodarowania tej rośliny, a także podnosi wartość upraw (Czemplik i Szopa 2009; Burczyk i in. 2009, Kazimierczak i in. 2014).

Ponadto, w literaturze światowej i krajowej nie ma doniesień dotyczących wykorzystywania do procesu produkcji bioetanolu biomasy z roślin inwazyjnych, które mogą być traktowane jako rośliny energetyczne, ze względu na ich potencjał energetyczny (Królak 2021). Rośliny te, doskonale funkcjonują w nowych warunkach, szybko rozmnażają się i wypierają rodzime gatunki, a także mogą być nośnikiem chorób i pasożytów, na które rodzime gatunki są nieodporne. Gatunki inwazyjne szybko mogą opanowywać teren rolniczy czy też skraj lasu, rozprzestrzeniając się na kolejne tereny z większą łatwością niż rośliny uprawne, co może stanowić zagrożenie dla produkcji rolniczej. Najbardziej agresywne wśród roślin inwazyjnych są m.in. gatunki *Reynoutria* (rdzestowiec) oraz *Solidago* (nawłóć). Dlatego też, przy próbie wyeliminowania obcych gatunków inwazyjnych jednym z rozwiązań może być zagospodarowanie tej biomasy w procesie biokonwersji do etanolu lignocelulozowego (Trejo i in. 2022).

Warto także zwrócić uwagę na możliwość pozyskiwania bioetanolu II generacji z odpadowej biomasy leśnej, którą stanowią m.in. kora, gałęzie, liście, igły, wierzchołki drzew, trociny, strużyny oraz frakcje biomasy pochodzące z gałęzi przemysłu opartego na leśnictwie (Dyrektywa RED II; Broda i in. 2022). Polska jest krajem o dużych obszarach leśnych (ok. 30% powierzchni kraju) i dzięki temu o ogromnym potencjale do produkcji odpadowej biomasy leśnej. Całkowity potencjał energetyczny szacuje się na 13-16 mln m<sup>3</sup>, z czego ok. 65% biomasy pochodzi z przemysłu drzewnego, a 35% to biomasa pozyskana bezpośrednio z lasu (Wieruszewski i in. 2022). Wstępne badania prowadzone przez krajowych i zagranicznych badaczy wskazują, że biomasa leśna może zostać wykorzystana jako surowiec energetyczny (Yu i in. 2021; Broda i in. 2022). Konieczne jest jednak opracowanie zoptymalizowanej i opłacalnej metody otrzymywania biopaliw z tej biomasy.

Wymienione powyżej surowce lignocelulozowe, w tym rośliny włókniste, rośliny inwazyjne czy odpadowa biomasa leśna, posiadają duży potencjał energetyczny i mogą zostać wykorzystane do produkcji bioetanolu II generacji. Niemniej wydajność uzyskanego z nich etanolu, jest uzależniona od udziału procentowego polisacharydów, znajdujących się w ścianie komórkowej. Skład chemiczny jest zróżnicowany w zależności od rodzaju biomasy, gatunku oraz poszczególnych części rośliny. Można zatem bez wątplenia stwierdzić, że jednym z głównych czynników wpływających na efektywność produkcji etanolu z biomasy lignocelulozowej jest jej skład chemiczny. Należy także podkreślić, że istotnymi czynnikami wpływającymi na wydajność procesu pozyskiwania etanolu z biomasy lignocelulozowej są: poziom plonowania, forma życiowa poszczególnych gatunków (jednoroczne, dwuletnie, wieloletnie) oraz rodzaj produkcji rolniczej lub leśnej, który w zależności od kierunku i sposobu prowadzenia upraw generuje różne ilości surowca przeznaczonego na cele energetyczne (Roozeboom i in. 2018).

Biomasa lignocelulozowa zawiera w swojej strukturze kompleks polimerów węglowodanowych, tzw. lignocelulozę, która składa się z trzech głównych komponentów: celulozy, hemiceluloz i ligniny. Celuloza jako główny składnik strukturalny ściany komórkowej roślin, zbudowana jest z dwóch cząsteczek glukozy, połączonych wiązaniem  $\beta$ -1,4- glikozydowym. Jest krystaliczna, bardzo włóknista i sztywna, dzięki wiązaniom wodorowym. Zwykle jest pokryta hemicelulozami tworząc kompleks celulozowo-hemicelulozowy, który hamuje dostęp enzymów, wpływając negatywnie na szybkość hydrolizy, a co za tym idzie, produkcję cukrów fermentujących i scukrzanie biomasy lignocelulozowej. Hemicelulozy są drugim najbardziej znanym polimerem ścian komórkowych roślin i tworzą niejednorodną grupę heteropolimerów zbudowanych z cukrów prostych, takich jak pentozy (ksylozy i arabinozy) oraz heksozy (mannoza, galaktoza i glukoza). W porównaniu z celulozą, hemicelulozy nie mają budowy krystalicznej, są bezpostaciowe i hydrofilowe. Hemicelulozy owijają włókna celulozy, zatem, aby zwiększyć dostępność celulozy oraz szybkość jej hydrolizy do cukrów prostych, konieczne jest usunięcie przynajmniej części hemiceluloz. Trzecim komponentem lignocelulozy jest lignina. Jest to amorficzny polimer aromatyczny, składający się z monomerów fenolowych (alkohol koniferylowy, alkohol p-kumarylowy oraz alkohol sinapylowy). Biorąc pod uwagę fakt, że lignina wiąże cały kompleks lignocelulozowy nadając mu trwałość i odporność na degradację, a ponadto wykazuje zdolności do niespecyficznego wiązania enzymów, jej obecność obniża wydajność hydrolizy celulozy (Wu i in. 2013, Rocha-Meneses i in. 2017, Dharmaraja i in. 2023). Warto w tym miejscu nadmienić, że naukowcy zajmujący się charakterystyką surowców lignocelulozowych w swoich badaniach zaobserwowali, że udział celulozy i ligniny jest bardzo zróżnicowany, i zależy między innymi od terminu zbioru surowca, żyzności gleby oraz sposobu uprawy (Montero-Lagunes i in. 2022). Poza tym skład chemiczny biomasy lignocelulozowej dopełniają substancje ekstrakcyjne (żywice kwasowe, kwas taninowy, olejki eteryczne), a także mono- i oligomeryczne cukry, sole i związki mineralne.

Złożoność i oporność lignocelulozy, a także różnorodność biomasy powodują, że proces otrzymywania bioetanolu jest wieloetapowy i skomplikowany. Proces konwersji biomasy roślinnej do bioetanolu obejmuje obróbkę wstępną, hydrolizę enzymatyczną oraz fermentację alkoholową. Procesy poprzedzające etap fermentacji ukierunkowane są przede wszystkim na oddzielenie ligniny i hemiceluloz od cząsteczek celulozy. We wstępnym etapie konieczne jest rozdrobnienie fazy stałej oraz uszkodzenie zwartej struktury lignocelulozy, a także zwiększenie powierzchni kontaktu surowca z enzymami oraz zmniejszenie stopnia krystalizacji i polimeryzacji celulozy. W dalszych etapach niezbędne jest nie tylko usunięcie ligniny i przynajmniej części hemiceluloz, ale także zwiększenie powierzchni właściwej celulozy tak, by jej łańcuchy były dostępne dla enzymów celulolitycznych, a co za tym idzie, by zwiększyć końcową wydajność procesu produkcji bioetanolu (Limayem i Ricke 2012). Tym samym, każdy z wymienionych etapów biokonwersji w istotny sposób wpływa na ostateczną wydajność procesu produkcyjnego (Wi i in. 2015). Stąd też obecnie jednym z głównych wyzwań jest prowadzenie intensywnych badań nad opracowywaniem technologii, które są wydajne, opłacalne ekonomicznie i uniwersalne dla różnych rodzajów biomasy, a jednocześnie przyjazne środowisku.



## Cel badań

Celem podjętych przeze mnie badań, w pracach stanowiących osiągnięcie naukowe, było określenie możliwości pozyskiwania etanolu lignocelulozowego z wybranych surowców lignocelulozowych w tym biomasy rodzimych gatunków roślin włóknistych (konopi siewnych – *Cannabis sativa* L. i lnu uprawnego – *Linum usitatissimum* L.), a także biomasy sorga cukrowego, biomasy roślin inwazyjnych i biomasy leśnej.

Sformułowałam następujące cele szczegółowe: (i) określenie zawartości składników chemicznych biomasy lignocelulozowej, ze szczególnym uwzględnieniem udziału procentowego celulozy, hemiceluloz i ligniny; (ii) ustalenie wpływu zasadowej obróbki wstępnej na skład chemiczny badanej biomasy; (iii) określenie i porównanie wydajności procesu otrzymywania bioetanolu uzyskanego z różnorodnej biomasy.

W pracy przyjąłm poniższe hipotezy badawcze:

1. Biomasa lignocelulozowa z rodzimych gatunków roślin włóknistych (konopi siewnych – *Cannabis sativa* L. i lnu uprawnego – *Linum usitatissimum* L.), sorga cukrowego, roślin inwazyjnych oraz igieł sosny to obiecujący i efektywny surowiec do produkcji etanolu lignocelulozowego.
2. Udział procentowy głównych składników chemicznych biomasy lignocelulozowej ulega zmianie pod wpływem działania zasadowej obróbki wstępnej.
3. Zwiększenie udziału procentowego celulozy oraz zmniejszenie udziału procentowego ligniny i części hemiceluloz determinuje wydajność etanolu lignocelulozowego.

W pracy **P1** wchodzącej w skład osiągnięcia, dokonałam oceny wpływu trzech różnych metod obróbki wstępnej biomasy sorgo, na skład głównych komponentów strukturalnych, czyli celulozy, hemiceluloz i ligniny. Uzyskane wyniki zostały potwierdzone analizą widm w podczerwieni (FTIR) oraz zdjęciami ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Badane rodzaje obróbki wstępnej porównałam, a następnie wybrałam najbardziej skuteczną metodę, pozwalającą na zwiększenie wydajności procesu produkcji bioetanolu.

Sorgo to roślina jednoroczna osiągającą wysokość do 4 m, z dużą tolerancją na suszę, dająca bardzo wysokie plony suchej masy (do 28 Mg·ha<sup>-1</sup>) oraz charakteryzująca się wysoką wartością opałową równą 15 Mg·kg<sup>-1</sup>.

Biomasę sorgo odmiany Sucrosorgo 506 pozyskano z Zakładu Doświadczalnego IWNiRZ w Sielcu Starym. Surowiec został poddany wstępnemu rozdrobniению na cząstki o wielkości 2–4 cm, a następnie suszeniu w temperaturze 50–55°C przez 24 godziny. Po tych zabiegach materiał badawczy został rozdrobiony w młynie nożowym na sicie o wielkości oczek 4 mm.

Kluczowym czynnikiem warunkującym wydajność rozdrabniania, ale także wydajność obróbki chemicznej i biologicznej, jest zawartość cukrów redukujących, która w prezentowanych badaniach została oznaczona metodą Millera z zastosowaniem kwasu 3,5-dinitrosalicylowego (DNS) w krótkim teście enzymatycznym (enzym Celluclast 1.5 L, inkubacja w temperaturze 40 °C w 0.05 M buforze cytrynianowym, przy pH 4.8 przez 2 godziny).

W pierwszej kolejności przeprowadzono optymalizację wytypowanych metod obróbki wstępnej biomasy sorgo, tj. kwasowej i zasadowej oraz biologicznej. W przypadku obróbki kwasowej zastosowano kwas siarkowy o stężeniu 0,1-2%,

podczas 10-minutowej inkubacji, a dalej badano efekt procesu autoklawowania w temperaturach: 100, 121 i 134°C przez 15-60 minut. Optymalizacji warunków obróbki zasadowej dokonano przy użyciu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,5-3% w temperaturze 90 °C i czasie 5 godzin. Z kolei do optymalizacji warunków biologicznej obróbki biomasy sorgo, zastosowano lakazę z *Trametes versicolor* i jej mediator (ABTS, HBT, NHA), a następnie poddano działaniu w zakresie temperatur 20-60°C, w czasie 1-2 godzin, pH 4,5 - 6,5 przy dawce enzymu 1-5 U·g<sup>-1</sup> s.m. Po przeprowadzeniu wspomnianego powyżej krótkiego testu enzymatycznego stwierdzono, że optymalne warunki dla poszczególnych metod obróbki wstępnej były następujące: (i) kwasowa- 2% stężenie H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, autoklawowanie w temperaturze 121°C przez 60 minut; (ii) zasadowa- 1,5% stężenie NaOH; (iii) biologiczna- lakaza o stężeniu 1 U·g<sup>-1</sup> s.m. z zastosowaniem mediatora ABTS, w temperaturze 60°C, przy pH 6,5 w czasie 2 godzin.

Stosując zoptymalizowane wcześniej parametry, porównano działanie trzech rodzajów obróbki wstępnej biomasy sorgo, a ich efektywność określono na podstawie zawartości uwolnionych cukrów redukujących. W tym celu przeprowadzono test enzymatyczny, z użyciem enzymu Celluclast 1,5 L w dawce 10 FPU·g<sup>-1</sup> w temperaturze 55°C, w 0,05 M buforze cytrynianowym o pH 4,8 przez 24 godziny. Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że obróbka wstępna wodorotlenkiem sodu i lakazą jest skuteczniejszą metodą obróbki biomasy sorgo niż obróbka kwasem siarkowym. Zawartość cukrów redukujących w przeliczeniu na wydajność scukrzania wynosiła odpowiednio 613 mg·g<sup>-1</sup> (± 0,55), 577 mg·g<sup>-1</sup> (± 0,44) i 212 mg·g<sup>-1</sup> (± 0,57).

Następnie oceniono wpływ działania obróbki kwasowej i zasadowej oraz biologicznej na zawartość składników chemicznych biomasy sorgo. Analizę struktury biomasy przeprowadzono zarówno przed zastosowaniem procesu obróbki, jak i po nim. Biomasa sorgo, która nie była poddana zabiegom chemiczno-biologicznym charakteryzowała się udziałem procentowym celulozy na poziomie 29,87% (± 0,51), hemiceluloz na poziomie 29,03% (± 0,29), a ligniny na poziomie 21,74% (± 0,39). Łącznie udział polisacharydów to niemalże 60%, z kolei zawartość ligniny to ponad 20%. Po przeprowadzeniu obróbki wstępnej, zaobserwowano istotne zmiany udziału procentowego głównych składników lignocelulozowych (Tabela 1).

Tabela 1. Skład chemiczny biomasy sorgo (% s.m.)

Biomasa	Celuloza	Hemicelulozy	Lignina
BT	29,87 ± 0,51	29,03 ± 0,29	21,74 ± 0,39
ACT	59,18 ± 1,92	8,21 ± 0,06	28,62 ± 0,35
ALT	47,34 ± 0,22	28,40 ± 0,12	9,19 ± 0,44
LT	53,79 ± 0,20	35,71 ± 0,10	8,50 ± 0,45

BT: przed obróbką; ACT: obróbka kwasowa; ALT: obróbka zasadowa; LT: obróbka biologiczna

Stwierdzono, że działanie rozcieńczonego kwasu doprowadziło do rozpuszczenia większości hemiceluloz i odsłonięcia celulozy, co przypuszczalnie może powodować zwiększenie strawności enzymatycznej celulozy. Warto zaznaczyć, że rozpuszczone hemicelulozy odzyskano w fazie ciekłej (ksyloza 9,53 g·L<sup>-1</sup>, arabinoza 1,08 g·L<sup>-1</sup>), jednakże doprowadziło to, do utworzenia silnych inhibitorów hydrolizy enzymatycznej i fermentacji etanolowej, takich jak: kwas octowy (1,44 g·L<sup>-1</sup>), HMF (0,28 g·L<sup>-1</sup>) i furfural (0,18 g·L<sup>-1</sup>). Z kolei działanie dwóch pozostałych obróbek (zasadowej i biologicznej) spowodowało widoczne zwiększenie udziału celulozy i zmniejszenie udziału ligniny, w tym jednak przypadku nie zaobserwowano znaczącego zmniejszenia udziału hemiceluloz. Niemniej uzyskane wyniki mogą świadczyć o

rozbiciu kompleksu lignocelulozowego, co w przypadku przeprowadzenia efektywnego procesu otrzymywania bioetanolu jest wartością dodaną. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że zmiana udziału procentowego poszczególnych składników chemicznych, a więc ich zwiększenie lub zmniejszenie trzeba traktować jako tzw. zmianę pozorną, dlatego że jest to zwiększenie lub zmniejszenie ilości obliczonej w stosunku do masy, która zostaje po przeprowadzonej obróbce. Analiza udziału procentowego głównych składników jest niezmiernie ważna, gdyż pozwala dokonać oceny, czy doszło do rozkładu lignocelulozy i tym samym czy została odsłonięta celuloza, a także czy nastąpiła degradacja hemiceluloz i ligniny.

Celem potwierdzenia uzyskanych wyników analizy struktury składników chemicznych, wykonano widma metodą spektrofotometrii w podczerwieni, które mają istotne znaczenie w badaniu struktury surowca lignocelulozowego, ponieważ pomagają określić grupy funkcyjne i ich lokalizacje. Porównanie widm FTIR biomasy przed i po obróbce wstępnej przy długości fali  $1510\text{ cm}^{-1}$  i  $1270\text{ cm}^{-1}$ , pozwoliło na wnioskowanie, że doszło do delignifikacji biomasy sorgo, szczególnie w przypadku biomasy po obróbce zasadowej. Z kolei po obróbce kwasowej, zaobserwowano spadek przy długości fali  $1730\text{ cm}^{-1}$ , czyli paśmie, które jest charakterystyczne dla grup karbonylowych zawartych w hemicelulozach. Natomiast w przypadku obróbki biologicznej zaobserwowano wzrost intensywności pasma przy długości fali  $898\text{ cm}^{-1}$  i spadek przy długości fali  $1427\text{ cm}^{-1}$ , co wskazuje na niższą krystaliczność i wzrost amorficznej formy celulozy.

Dodatkowo określono cechy morfologiczne biomasy sorgo przed i po obróbce wstępnej wykorzystując skaningowy mikroskop elektronowy (SEM). Obrazy SEM potwierdziły, że biomasa sorgo przed obróbką posiada na powierzchni warstwę osadową, która może zawierać woski, hemicelulozy czy też ligninę. Z kolei po obróbce struktura biomasy była wyraźnie chropowata i luźniejsza. Skłania to do stwierdzenia, że działanie chemicznej i biologicznej obróbki spowodowało usunięcie warstwy osadowej i odsłonięcie struktury lignocelulozy i włókien. Można przypuszczać, że włókna te będą bardziej podatne na działanie enzymów i drożdży.

W końcowym etapie badań przeprowadzono proces SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) w warunkach zapewniających optymalną synergię enzymów i drożdży gorzelniczych *Saccharomyces cerevisiae*. Uzyskane stężenia etanolu wskazywały, że obróbka wstępna przy użyciu NaOH i lakazy jest efektywniejszą metodą przygotowania biomasy sorgo do dalszych etapów procesu pozyskiwania bioetanolu w porównaniu z obróbką kwasem siarkowym. Stężenie etanolu uzyskanego z biomasy sorgo po obróbce zasadowej i biologicznej wynosiło odpowiednio:  $10,72\text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,39$  tj.  $21\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  biomasy oraz  $9,55\text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,21$  tj.  $19\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  biomasy, natomiast po obróbce kwasowej  $5,69\text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,34$  tj.  $11\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  biomasy sorgo).

Badania zaprezentowane w publikacji **P1** potwierdziły, że biomasa odmiany Sucrosorgo 506 jest obiecującym surowcem do produkcji bioetanolu, między innymi ze względu na korzystny udział węglowodanów wynoszący ok. 60%. Stwierdzono, że obróbka zasadowa i biologiczna biomasy sorgo to skuteczne metody przyczyniające się do delignifikacji oraz zwiększenia powierzchni właściwej celulozy, co potwierdziła zmiana udziału procentowego składników chemicznych biomasy poddanej tym obróbkom. Najwyższą wydajność etanolu uzyskano dla biomasy poddanej obróbce NaOH i wyniosła ona 271 litrów na tonę suchej masy surowca, co w przeliczeniu na 1 hektar uprawy daje ok.  $5\text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Z kolei w publikacji **P2**, wchodzącej w skład osiągnięcia, zaprezentowałam badania mające na celu określenie wpływu odmiany konopi włóknistych na jakość surowca przeznaczonego do pozyskiwania bioetanolu. Badaniami objęto cztery polskie odmiany tj. Białobrzeskie, Tygra, Henola i Rajan, określając ich wartość do przeprowadzenia wydajnego procesu produkcji bioetanolu. Wykonałam analizę udziału głównych składników chemicznych w biomase konopi wszystkich badanych odmian oraz określiłam wpływ zastosowanej obróbki chemicznej na zmianę tego udziału. Przeprowadziłam także optymalizację wszystkich etapów procesu produkcji etanolu lignocelulozowego i określiłam wydajność etanolu pozyskanego z powierzchni 1 hektara biomasy konopnej.

Konopie włókniste są gatunkiem wytwarzającym znaczną ilość biomasy, doskonale adaptują się do różnych warunków klimatycznych. Dla uzyskania wysokich plonów wymagają dość żyznych gleb, niemniej można je z powodzeniem uprawiać nawet na gruntach zdegradowanych, są niepodatne na działanie chorób i szkodników, przez co nie wymagają stosowania fungicydów i insektycydów. Charakteryzują się krótkim okresem wegetacji (3–4 miesiące) i szybkim wzrostem. Rośliny osiągają wysokość do 4 m, a plon biomasy na dobrych stanowiskach dochodzi do 15 Mg·ha<sup>-1</sup>. Konopie wykazują również wysoką tendencję do absorpcji dwutlenku węgla. Uprawa 1 ha konopi w jednym sezonie pochłania około 11 Mg CO<sub>2</sub> z atmosfery.

Jak wspominałam, do badań wykorzystano biomasę konopi włóknistych (*Cannabis sativa* L.) odmian: Białobrzeskie, Tygra, Henola i Rajan, które pochodziły z Zakładu Doświadczalnego IWNiRZ w Pętkowie. Plony suchej masy tych odmian konopi wynosiły odpowiednio: 8–10 Mg·ha<sup>-1</sup>, 8–11 Mg·ha<sup>-1</sup>, 7–8 Mg·ha<sup>-1</sup> i 9–12 Mg·ha<sup>-1</sup>. Materiał poddano wstępnemu rozdrobnieniu do cząstek o wielkości 20–40 mm, a następnie suszono w temperaturze 50–55 °C przez 24 godziny w suszarce laboratoryjnej. Dalej materiał rozdrabniano w młyńcu nożowym przy wielkości oczek w zakresie od 2 do 4 mm.

Na podstawie wyników uzyskanych w poprzednich badaniach (w tym także tych prezentowanych w publikacji **P1**) określono, że najskuteczniejszą metodą chemicznej obróbki wstępnej jest obróbka zasadowa. Dlatego też optymalizacji obróbki wstępnej biomasy konopi dokonano, stosując wodorotlenek sodu o stężeniu w zakresie od 1,5% do 3%, w temperaturze 90 °C i czasie 5 godzin. Po przeprowadzeniu obróbki, roztwór biomasy przesączono na lejku Büchnera, następnie przemyto wodą destylowaną do zubożenia i wysuszono w suszarce. Wpływ obróbki zasadowej na biomasę konopi oceniono w teście enzymatycznym, a zawartość uwolnionych cukrów redukujących oznaczono metodą Millera, która została przedstawiona w publikacji **P1**.

Kolejnym ważnym etapem przedstawionych przeze mnie badań była ocena struktury składników chemicznych biomasy konopnej tj. celulozy, hemiceluloz i ligniny, przed i po obróbce wstępnej. W celu uzyskania pełniejszego obrazu struktury molekularnej tej biomasy przeprowadzono analizę spektroskopii FTiR. Z kolei dla potwierdzenia zmian w morfologii wykonano zdjęcia za pomocą SEM.

Celem określenia wydajności etanolu pozyskanego z biomasy konopi, przeprowadzono powszechnie znany proces SSF, podczas którego hydroliza i fermentacja następują równocześnie. Optymalizacji procesu SSF dokonano metodą płaszczyzny odpowiedzi (RSM), dobierając następujące zakresy parametrów: stężenie substratu od 5% do 7% w/v, dawka enzymów (Flashzyme:Celluclast 1,5L) od 10 do 30 FPU·g<sup>-1</sup>. Proces SSF prowadzono w 2-litrowym bioreaktorze pozwalającym na kontrolę pH oraz temperatury. Temperaturę utrzymywano na poziomie 37°C, a pH na poziomie 4,8 poprzez dodanie 1 M NaOH lub 1 M HCL. Hydrolizat umieszczony w bioreaktorze mieszano z szybkością 900 obr/min. W procesie SSF zastosowano

nieuwodnione liofilizowane drożdże gorzelnicze *S. cerevisiae* w dawce  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , co odpowiadało stężeniu komórek po inokulacji równemu  $1 \times 10^7 \text{ jtk}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Czas trwania procesu SSF nie przekraczał 96 godzin. Wszystkie eksperymenty wykonano w trzech powtórzeniach. Stężenie etanolu oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Na podstawie wydajności etanolu ze 100 g surowca obliczono ilość etanolu w litrze na tonę suchej masy surowca ( $\text{L}\cdot\text{Mg}^{-1}$ ), a na podstawie plonu suchej masy obliczono wydajność etanolu z hektara ( $\text{m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Jak już wspominałam wcześniej, celem obróbki wstępnej jest rozdrobnienie fazy stałej biomasy, ale także rozluźnienie zwartej struktury lignocelulozy. Po przeprowadzeniu optymalizacji stwierdzono, że dla odmian Tygra i Białobrzeskie przy 2% stężeniu NaOH, ilość uwolnionych cukrów redukujących była o około 13% większa niż w przypadku 1,5% NaOH. Z kolei przy 3% NaOH zawartość cukrów redukujących była na zbliżonym poziomie. Dla odmiany Henola i Rajan zaobserwowano zupełnie inną korelację, najniższy poziom uwolnionych cukrów redukujących odnotowano dla stężenia 3% NaOH, natomiast przy stężeniu 2% zawartość cukrów redukujących była najwyższa. Ponadto zaobserwowano, że odmiany Tygra i Rajan charakteryzowały się o ponad 10% wyższą zawartością cukrów redukujących niż Białobrzeskie i Henola, co może świadczyć o większej podatności tych odmian na alkaliczną obróbkę wstępną. Na podstawie uzyskanych wyników do dalszych badań wybrano stężenie wodorotlenku sodu na poziomie 2%.

Dla potwierdzenia skuteczności przeprowadzonej obróbki wykonano oznaczenie składu chemicznego biomasy konopi po obróbce i porównano ze składem chemicznym biomasy przed obróbką (Tabela 2).

Tabela 2. Skład chemiczny biomasy konopi (% s.m.)

Odmiany	Próby	Celuloza	Hemicelulozy	Lignina
Białobrzeskie	BP	50,10 ± 0,18	32,10 ± 0,22	15,40 ± 0,03
	AP	61,46 ± 0,37	21,59 ± 0,06	15,12 ± 0,16
Tygra	BP	50,82 ± 0,12	27,79 ± 0,33	14,68 ± 0,46
	AP	62,70 ± 0,09	20,16 ± 0,16	15,12 ± 0,22
Henola	BP	46,82 ± 0,04	29,94 ± 0,45	15,48 ± 0,17
	AP	57,62 ± 0,08	20,33 ± 0,22	17,80 ± 0,06
Rajan	BP	48,69 ± 0,39	31,43 ± 0,04	16,72 ± 0,08
	AP	59,30 ± 0,33	19,91 ± 0,25	18,40 ± 0,18

BP: przed obróbką; AP: po obróbce

Analiza składu chemicznego biomasy konopi wykazała, że we wszystkich czterech odmianach działanie NaOH spowodowało widoczny wzrost udziału procentowego celulozy (o około 10%) oraz częściową degradację hemiceluloz, w przypadku odmiany Rajan prawie o 12%. Najwyższą zawartość celulozy po obróbce stwierdzono dla odmian: Tygra, Białobrzeskie i Rajan, a jej udział procentowy wynosił około 60%. W przypadku udziału procentowego ligniny tylko dla odmiany Białobrzeskie zaobserwowano nieznaczny spadek po przeprowadzeniu obróbki alkalicznej. W przypadku pozostałych odmian tendencja była odwrotna. Może to wynikać z faktu, że rozkład ligniny nie zawsze jest widoczny w analizie składu chemicznego, a niekiedy jest wręcz zauważalny pozorny przyrost ligniny. Ten problem badawczy poruszany jest w publikacjach opisujących szczegółowo strukturę biomasy lignocelulozowej i nadal pozostaje nierozwiązany. Tu również należy podkreślić, że zmiana udziału procentowego jest pozorna, co już zostało wyjaśnione podczas omawiania zmian w składzie chemicznym biomasy sorgo w publikacji **P1**. Na podstawie otrzymanych

wyników do dalszych badań wybrano biomasę dwóch odmian konopi- Tygra i Rajan, które mają lepsze właściwości, co więcej obie odmiany charakteryzują się najwyższym plonem suchej masy mieszczącym się w przedziale od 8 do 12 Mg·ha<sup>-1</sup>.

Wpływ obróbki zasadowej na strukturę chemiczną biomasy konopi Tygra i Rajan został potwierdzony także widmami FTIR i obrazami SEM. Zmiany w widmach FTIR obserwowano w zakresie od 600 cm<sup>-1</sup> do 4000 cm<sup>-1</sup>. Na widmach obu odmian typowe pasma drgań w cząsteczce celulozy odczytano przy długości fali 3300 cm<sup>-1</sup>, 2900 cm<sup>-1</sup> i 1610 cm<sup>-1</sup>. Szerokie pasmo w obszarze 3600–3100 cm<sup>-1</sup>, które było spowodowane drganiami rozciągającymi O-H, dostarczyło istotnych informacji dotyczących wiązań wodorowych. Pasma charakterystyczne dla wiązań wodorowych z widm odmiany Rajan po obróbce stały się nieco ostrzejsze i bardziej intensywne w porównaniu z odmianą Rajan przed obróbką. Z kolei w przypadku odmiany Tygra pasmo to było mniej intensywne. Natomiast pasmo 2900 cm<sup>-1</sup> odpowiadające za drgania rozciągające C-H w przypadku odmiany Tygra, przesunęło się w kierunku wyższych wartości liczby falowej i nieznacznie zmniejszyło intensywność. Zmiany te mogły wynikać zarówno ze zwiększenia powierzchni właściwej celulozy po obróbce, jak i ze zmniejszenia jej krystaliczności. Wykazane zmiany potwierdziły wzrost udziału procentowego celulozy w biomacie poddanej obróbce wstępnej. Pasma drgań widoczne przy długości fali 1730 cm<sup>-1</sup> (rozciąganie grup acetylowych C=O w hemicelulozie i aldehydów w ligninie) uległo zmniejszeniu dla obu odmian konopi po zastosowaniu obróbki zasadowej, przy czym w przypadku odmiany Rajan pasmo prawie zniknęło. Nastąpiło to na skutek rozkładu hemiceluloz i solubilizacji ligniny podczas obróbki. Uzyskane wyniki bardzo dobrze korelują z analizą składu chemicznego biomasy po obróbce. Udział procentowy hemiceluloz po obróbce alkalicznej w odmianie Rajan obniżył się aż o 12%. Z kolei pasmo otrzymane przy długości fali 1510 cm<sup>-1</sup> potwierdziło, że temat dotyczący usuwania ligniny w procesie obróbki alkalicznej może stanowić problem, który opisałam powyżej. Dzięki obrazom SEM na powierzchni biomasy konopi po obróbce zaobserwowano istotne zmiany strukturalne. Biomasa konopi niepoddana obróbce, charakteryzowała się nienaruszoną, sztywną i szorstką strukturą oraz regularnym układem włókien, co może silnie blokować dostęp do celulozy i ograniczać działanie enzymów. Po wstępnej obróbce powierzchnia biomasy została częściowo oczyszczona. Zaobserwowane zmiany morfologiczne świadczyły o uszkodzeniu struktury biomasy i zwiększeniu jej powierzchni, czyniąc ją bardziej dostępną dla enzymów celulolitycznych.

Ostatnim celem prezentowanych przeze mnie badań w pracy **P2**, było określenie wydajności etanolu pozyskanego z powierzchni 1 hektara biomasy konopi. Wybrano optymalne warunki procesu SSF dla obu odmian. Stężenie substratu powyżej 5% w/v zakłócało mieszanie roztworu fermentacyjnego, co skutkowało gorszym dostępem do biomasy, a tym samym mniej efektywnym działaniem enzymów i drożdży. Zaobserwowano również, że zwiększenie dawki enzymu nasiliło konwersję celulozy do glukozy i spowodowało zwiększenie stężenia etanolu. Proces SSF przeprowadzono w skali wielkolaboratoryjnej (2-litrowy bioreaktor). W przypadku biomasy odmiany Tygra nie zaobserwowano zmian stężenia etanolu wraz z upływem czasu procesu. Z kolei dla biomasy odmiany Rajan po 24 godzinach stwierdzono spadek stężenia etanolu, a po kolejnych 24 godzinach odnotowano wzrost, choć nie były to zmiany istotne statystycznie. Najwyższe stężenie etanolu dla obu odmian stwierdzono przy zawartości substratu 5% w/v i dawce enzymu 30 FPU·g<sup>-1</sup> oraz po 4 dobach trwania procesu i wynosiło ono dla odmiany Tygra 6,5 g·L<sup>-1</sup>, z kolei dla biomasy odmiany Rajan było równe 7,5 g·L<sup>-1</sup>.

Podsumowując badania zaprezentowane w publikacji **P2** stwierdzono, że zastosowanie obróbki zasadowej spowodowało oczekiwane rozluźnienie struktury lignocelulozy, odnotowano wzrost udziału procentowego celulozy, a także częściową degradację hemiceluloz. Dodatkowo wykonano analizy FTIR oraz SEM, które potwierdziły zmiany w strukturze chemicznej biomasy konopi. Zoptymalizowanie poszczególnych etapów procesu biokonwersji biomasy konopi oraz określenie wydajność etanolu z dwóch wytypowanych odmian, pozwoliło na sformułowanie wniosku, że obie odmiany charakteryzują się dużym potencjałem energetycznym i mogą stanowić wartościowe surowce do produkcji etanolu lignocelulozowego. Dla odmiany Rajan wydajność etanolu była równa  $190 \text{ L}\cdot\text{Mg}^{-1}$  (s.m. słomy konopnej), tj.  $2,23 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ , natomiast dla odmiany Tygra wydajność etanolu wynosiła  $165 \text{ L}\cdot\text{Mg}^{-1}$  (s.m. słomy konopnej), tj.  $1,81 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Kontynuując prace badawcze związane z określeniem potencjału energetycznego roślin włóknistych, w publikacji **P3** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, skupiłam się na ocenie różnych form użytkowych lnu uprawnego (oleistej, włóknistej i dwucelowej) jako potencjalnego surowca do produkcji etanolu lignocelulozowego.

Len uprawny (*Linum usitatissimum* L.) należy do gatunków rolniczych o bardzo szerokim zastosowaniu. W odmianach uprawnych wyróżnia się dwie podstawowe formy użytkowe: włóknistą i oleistą. Dla zwiększenia opłacalności uprawy lnu prowadzone są również prace hodowlane mające na celu wytwarzanie tzw. odmian dwucelowych, stanowiących połączenie wysokiego plonu nasion z wysokim plonem słomy i włókna. W Polsce, hodowlę odmian dwucelowych (zwanymi wcześniej przejściowymi) rozpoczęto w latach siedemdziesiątych XX wieku, próbując w genotypach stricte włóknistych zwiększyć plon nasion. Obecnie, prace hodowlane w Polsce oraz wielu innych krajach, koncentrują się na zwiększeniu plonu słomy w formach oleistych, które nastawione są na wysoki plon nasion, charakteryzujących się najwyższą wśród roślin zawartością kwasu  $\alpha$ -linolenowego. Wartością dodaną jest wyższy plon słomy i włókna, które ze względu na obniżoną jakość nie jest przeznaczone do celów tekstylnych, lecz technicznych, a pozostająca słoma nie musi być odpadem, tylko wartościowym surowcem do otrzymywania bioetanolu. Z kolei podstawowym surowcem pozyskiwanym z uprawy form włóknistych lnu jest słoma i włókno. Ze słomy lnianej uzyskuje się włókno długie wykorzystywane do produkcji wysokiej jakości przędzy i tkanin oraz włókno krótkie, z którego wytwarza się przędze zgrzeblone, maty izolacyjne czy papier. Pomimo tego, słoma lnu włóknistego mogłaby stanowić także surowiec wykorzystywany do celów energetycznych.

Opisane w publikacji badania, obejmowały ustabilizowane genetycznie linie hodowlane lnu włóknistego, oleistego i dwucelowego, wyprowadzone w IWNiRZ-PIB jako potencjalne nowe odmiany. Biomasa pochodziła z Zakładu Doświadczalnego IWNiRZ-PIB w Pętkowie. Linie hodowlane uzyskano poprzez kontrolowane zapylanie form rodzicielskich, a następnie z uzyskanych genotypów wybrano najlepsze pojedyncze rośliny do reprodukcji. Badaniemi objęto 5 perspektywicznych linii lnu oleistego, 4 linie lnu dwucelowego oraz 3 linie lnu włóknistego. Rośliny badanych linii lnu uprawiano w doświadczeniu wazonowym w szklarni. Każdą linię wysiano w pięciu powtórzeniach, stosując obsadę 30 nasion/wazon. Siew przeprowadzono w drugiej dekadzie kwietnia 2021 r. Wyboru najlepszych linii dokonano w oparciu o ocenę cech mających największy wpływ na efektywność procesu produkcji bioetanolu: ogólnej masy roślin i masy słomy, niemniej brano także pod uwagę inne istotne cechy użytkowe tj. masę nasion, wysokość roślin, długość techniczną, długość wiech oraz

ogólną zawartość tłuszczu w nasionach. Do dalszych analiz wybrano po jednym najlepszym genotypie z każdej formy użytkowej. Wybrane kombinacje krzyżowania charakteryzowały się najwyższą masą słomy i największą wartością długości technicznej.

Następnie wytypowane linie Inu uprawnego poddano obróbce fizycznej i chemicznej celem sprawdzenia, która z badanych linii charakteryzuje się najwyższą zawartością cukrów redukujących, a także jak zmienia się udział procentowy poszczególnych składników chemicznych pod wpływem działania zastosowanego reagenta alkalicznego. Parametry obróbki wstępnej wytypowano na podstawie doświadczenia badawczego zdobytego w trakcie realizacji badań opisanych w publikacji **P2**. Surowiec rozdrobniono w młynie nożowym na sicie o wielkości oczek 2 mm, a następnie poddano działaniu 2%-owego wodorotlenku sodu w temperaturze 90 °C w czasie 5 godzin. Wykonano test enzymatyczny przy użyciu enzymu Flashzyme Plus 200 w ilości 20 FPU i oznaczono zawartość uwolnionych cukrów redukujących metodą Millera z kwasem DNS przy użyciu spektrofotometru UV-VIS. Zaobserwowano, że największą zawartością cukrów redukujących, charakteryzowała się linia Inu włóknistego, która wyniosła 248,1 mg·g<sup>-1</sup>. Z kolei najbardziej odporna na działanie alkaliczne okazała się linia oleista. Jednak różnica między tymi formami nie była zbyt duża i wynosiła 27,3 mg·g<sup>-1</sup>, co stanowiło 11% wartości uzyskanej dla Inu włóknistego.

Oceny składu chemicznego surowca nie poddanego obróbce, jak i po niej, dokonano przy zastosowaniu metod TAPPI. Analiza ta pozwoliła odpowiedzieć na pytanie czy doszło do zmiany udziału procentowego najważniejszych składników chemicznych (Tabela 3).

Tabela 3. Skład chemiczny biomasy Inu (% s.m.)

Linie Inu	Próbki	Celuloza	Hemicelulozy	Lignina
Oleista	BP	37,42 ± 0,20	31,89 ± 0,41	17,83 ± 0,43
	AP	47,82 ± 0,70	23,79 ± 0,51	20,30 ± 0,60
Dwucelowa	BP	39,94 ± 0,10	32,19 ± 0,42	18,44 ± 0,10
	AP	49,20 ± 0,56	23,11 ± 0,54	21,26 ± 0,04
Włóknista	BP	42,17 ± 0,29	32,10 ± 0,63	16,93 ± 0,31
	AP	51,40 ± 0,58	24,32 ± 0,55	19,86 ± 0,30

BP: przed obróbką, AP: po obróbce

Najwyższym udziałem procentowym celulozy po procesie zasadowej obróbki wstępnej charakteryzowała się linia Inu włóknistego i wynosił on ponad 51%, co potwierdziły zaprezentowane wcześniej wyniki zawartości cukrów redukujących. Warto jednak podkreślić, że pozostałe linie cechowały się tylko o kilka procent niższym udziałem celulozy. Poza tym obróbka alkaliczna spowodowała częściową degradację hemicelulozy dla wszystkich form Inu na podobnym poziomie. Z kolei w przypadku udziału procentowego ligniny, biomasa Inu zachowała się podobnie jak opisywana w publikacji **P2** biomasa konopi i nie udało się wykazać zmniejszenia zawartości ligniny po procesie obróbki wstępnej. Analogicznie jak w przypadku konopi odnotowano pozorny wzrost udziału procentowego ligniny. Ostatecznym potwierdzeniem skuteczności przeprowadzonej obróbki wstępnej była analiza morfologii biomasy. Zaobserwowano, że reagent alkaliczny naruszył zwartą strukturę biomasy, a także widoczne było częściowe oczyszczenie powierzchni. Stwierdzono, że wstępna obróbka alkaliczna pozytywnie wpływa na dostępność enzymatyczną i strawność biomasy Inu, a ostatnia faza prowadzonych badań miała na celu sprawdzenie czy



surowiec wykazuje zwiększoną podatności na dalsze etapy procesu otrzymywania bioetanolu.

Biomasa wytypowanych linii Inu po wstępnej obróbce, została poddana procesowi jednoczesnej hydrolizy i fermentacji (SSF). Warunki procesu zostały określone na podstawie badań optymalizacyjnych wykonanych dla biomasy konopi i opisanych w publikacji **P2**. Proces przeprowadzono w temp. 37°C przez 72 godziny, co pozwoliło na synergistyczne działanie enzymu Flashzyme Plus 200 i drożdży gorzelniczych *Saccharomyces cerevisiae*. Stężenie etanolu określone zostało metodą HPLC. Największą zawartość etanolu uzyskano z biomasy Inu włóknistego i wynosiła ona 8,72 g·L<sup>-1</sup>, a najniższą z formy oleistej 7,65 g·L<sup>-1</sup>. Z kolei różnica między stężeniem etanolu z formy oleistej i dwucelowej (8,18 g·L<sup>-1</sup>) wynosiła około 0,5 g·L<sup>-1</sup>, czyli tyle samo, co między formą dwucelową a włóknistą. Co ważne, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w przypadku żadnej z badanych form. Ponadto należy zauważyć, że wartości stężenia etanolu uzyskane z biomasy Inu mieszczą się w podobnym przedziale, jak w odniesieniu do biomasy konopi. Jak już wspominałam poziom plonowania Inu uprawnego jest niższy w porównaniu z konopiami czy sorgo, jednak skład procentowy głównych komponentów chemicznych stanowi o „atrakcyjności” tego gatunku jako surowca do celów energetycznych.

Reasumując, na podstawie zawartości cukrów redukujących oraz analizy składu chemicznego po wstępnej obróbce alkalicznej, a także po przeprowadzeniu procesu SSF stwierdzono, że wszystkie wybrane formy Inu mogą być obiecującym surowcem do produkcji bioetanolu. Dodatkowo należy zauważyć, że uprawa i przetwarzanie Inu mogą być neutralne dla środowiska i harmonijnie zintegrowane z biogospodarką o obiegu zamkniętym.

Kolejnymi potencjalnymi surowcami do wytwarzania bioetanolu stały się rośliny inwazyjne, a badania pozwalające na określenie ich możliwości energetycznych opisałam w publikacji **P4** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego. W pracy przebadalam gatunki roślin inwazyjnych w kierunku ich wykorzystania do produkcji bioetanolu, w tym przeanalizowałam ich skład chemiczny, a także określiłam, z których roślin uzyskano najwyższą zawartość etanolu lignocelulozowego.

Inwazje biologiczne stanowią bardzo istotne zagrożenie globalne zarówno dla przyrody jak i gospodarki. Rośliny inwazyjne zakłócają procesy ekologiczne, powodują zmiany w użytkowaniu gruntów, a także są jedną z głównych przyczyn utraty różnorodności biologicznej na świecie. W związku z tym, wiele instytucji światowych i europejskich zobowiązuje się do zwalczania gatunków obcych, które zagrażają ekosystemom, siedliskom przyrodniczym lub rodzimym gatunkom. Podjęcie próby wyeliminowania gatunków inwazyjnych, niesie za sobą potrzebę zagospodarowania powstałej biomasy, która jest najczęściej uznawana za bioodpady. Biomasa niektórych inwazyjnych gatunków obcych została już przebadana pod kątem przydatności do produkcji biopaliw, takich jak: bioolej, biogaz, biodiesel lub biopaliwo stałe, w tym brykiet lub pellet, jednak do chwili obecnej właściwie nie istnieją badania dotyczące wykorzystania roślin inwazyjnych do produkcji etanolu lignocelulozowego.

W prezentowanych badaniach wybrano europejskie inwazyjne taksony z rodzaju: *Reynoutria* (*R. japonica*, *R. sachalinensis* i *R. ×bohemica*), *Solidago* (*S. canadensis* L. i *S. gigantea*) oraz *Spiraea* (*S. tomentosa* L.), wytwarzające dużą ilość biomasy nadziemnej i tworzące wielkopowierzchniowe monodominujące drzewostany. Plon suchej masy badanych roślin wynosił nawet do 38 Mg·ha<sup>-1</sup>. Biomase zebrano w 2021 roku z obszarów zdominowanych przez gatunki obce w obrębie ich wtórnego zasięgu w zachodniej Polsce. Rośliny zbierano w pełnym sezonie wegetacyjnym. Świeżą

biomasę nadziemną każdego z badanych gatunków zebrano i suszono w temperaturze 50-55°C przez 24 godziny.

Biomasę wszystkich wytypowanych roślin inwazyjnych w pierwszej kolejności poddano analizie składu chemicznego. Oprócz udziału procentowego celulozy, hemiceluloz i ligniny, badano także zawartość pozostałych składników chemicznych biomasy w tym substancji ekstrakcyjnych, popiołu oraz pentozanów (Tabela 4). Wszystkie analizy wykonywano według metod TAPPI.

Tabela 4. Skład chemiczny biomasy roślin inwazyjnych (% s.m.)

Gatunek roślin	Substancje ekstrakcyjne	Popiół	Pentozany	Celuloza	Hemicelulozy	Lignina
<i>Reynoutria japonica</i>	16,14 ± 0,33	9,49 ± 0,01	15,98 ± 0,15	31,94 ± 0,77	20,87 ± 0,64	20,18 ± 0,17
<i>Reynoutria sachalinensis</i>	21,16 ± 0,55	5,77 ± 0,01	20,09 ± 0,52	29,57 ± 0,49	29,80 ± 0,72	19,17 ± 0,11
<i>Reynoutria ×bohemica</i>	19,72 ± 0,21	6,58 ± 0,09	20,51 ± 0,42	31,71 ± 0,95	34,48 ± 0,57	19,41 ± 0,40
<i>Solidago canadensis</i>	14,42 ± 0,52	2,39 ± 0,01	20,07 ± 0,46	38,95 ± 0,67	23,78 ± 1,17	28,68 ± 0,13
<i>Solidago gigantea</i>	13,27 ± 0,26	4,93 ± 0,01	18,54 ± 0,30	38,50 ± 0,18	29,59 ± 0,21	24,79 ± 0,22
<i>Spiraea tomentosa</i>	14,19 ± 0,32	6,95 ± 0,01	16,70 ± 0,16	32,32 ± 0,09	22,46 ± 0,82	23,63 ± 0,12

Udział procentowy celulozy w badanych gatunkach inwazyjnych mieścił się w granicach od 29,57% w *Reynoutria sachalinensis* do 38,95% w *Solidago canadensis*. Wysoką zawartość celulozy równą 38,50% charakteryzowało się również *Solidago gigantea*. Pozostałe trzy gatunki wykazywały podobne zawartości celulozy (31,7-32,3%). Natomiast udział procentowy ligniny w próbkach roślin inwazyjnych wynosił 19,17% w przypadku *Reynoutria sachalinensis* oraz 28,68% w przypadku *Solidago canadensis*. Zawartość hemiceluloz wahała się od 20,87% w *R. japonica* do 34,48% w *R. ×bohemica*. Wysoką zawartość tych związków wykazywały również *R. sachalinensis* i *S. gigantea*, odpowiednio 29,80% i 29,59%. Udział procentowy pentozanów okazał się typowy dla biomasy roślinnej i mieścił się w zakresie od 15,98% do 20,51%. Zawartość substancji ekstrakcyjnych w badanych roślinach była bardzo wysoka i wahała się od 13,27% dla *S. gigantea* do 21,16% dla *R. sachalinensis*. Tak wysoki udział procentowy tych substancji może wynikać z dużej zawartości chlorofilu i substancji fenolowych. Z kolei popiół w biomacie roślinnej jest klasyfikowany jako produkt uboczny i stanowi niewielki ułamek procentowy suchej masy roślin. Badane gatunki inwazyjne zawierały dużą ilość popiołu wynoszącą od 2,39% dla *S. canadensis* do 9,49% dla *R. japonica*.

Analiza składu chemicznego pozwoliła na stwierdzenie, że biomasa roślin inwazyjnych jako biomasa lignocelulozowa posiada potencjał energetyczny (m.in. wysoki udział procentowy celulozy) i może zostać poddana skutecznej biokonwersji do etanolu lignocelulozowego. Dlatego też w kolejnym etapie badań, przeprowadzono obróbkę wstępną, a następnie proces SSF. Fizyczna obróbka wstępna polegała na rozdrobieniu biomasy roślin na fragmenty o wielkości do 1 cm, a następnie zmieleniu w młynie nożowym, na sicie o wielkości oczek 2 mm. Do przeprowadzenia obróbki chemicznej zastosowano 1% wodorotlenek sodu. Stężenie reagenta chemicznego zostało wytypowane na podstawie wcześniejszych doświadczeń badawczych oraz

analizy literaturowej dotyczącej obróbki biomasy roślin zielonych i krzewów. Po 5-godzinnej inkubacji proces zatrzymano przez filtrację zawiesiny biomasy pod zmniejszonym ciśnieniem. Przygotowany hydrolizat wykorzystano jako substrat w procesie SSF, który prowadzono w kolbach Erlenmayera, przy pH 4,8 z dodatkiem enzymu Flashzyme Plus 200 w ilości  $20 \text{ FPU}\cdot\text{g}^{-1}$  oraz z dodatkiem zliofilizowanych drożdży *S. cerevisiae*, w temperaturze  $37^\circ\text{C}$  w czasie 72 godzin, na wytrząsarce laboratoryjnej (200 obr/min). Stężenie etanolu uzyskane z wytypowanych roślin inwazyjnych oznaczono metodą chromatografii cieczowej, a następnie na tej podstawie obliczono wydajność etanolu ze 100 g surowca.

Największą wydajność etanolu uzyskano z biomasy *Reynoutria ×bohemica* ( $12,24 \text{ g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$  surowca) oraz z biomasy *Reynoutria sachalinensis* ( $10,46 \text{ g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$  surowca). Trzecia pod tym względem była biomasa *Solidago gigantea*. Rozpatrując wyniki wydajności etanolu ze 100 g surowca w odniesieniu do składu chemicznego inwazyjnych gatunków roślin można zauważyć, że najwyższą wydajność etanolu lignocelulozowego uzyskano z biomasy roślin o największym udziale procentowym hemiceluloz. Wpływ na uzyskane wyniki mogła mieć również niższa zawartość ligniny w biomacie *Reynoutria ×bohemica*.

Na podstawie wydajności etanolu ze 100 g surowca obliczono wydajność etanolu z powierzchni 1 hektara, która została określona na podstawie plonu suchej masy.

Najwyższą wydajność bioetanolu stwierdzono dla *Reynoutria ×bohemica* ( $2,6 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ ), podobnie jak w przypadku wydajności ze 100 g surowca. Spowodowane to jest przede wszystkim najwyższym stężeniem etanolu, ale także najwyższym plonem suchej masy rocznej tej rośliny, który wyniósł ok.  $17 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Plon biomasy *Reynoutria ×bohemica* osiągnął poziom zbliżony do plonu biomasy konopi. O połowę niższą wydajność bioetanolu osiągnięto dla dwóch odmian inwazyjnych gatunków roślin, *Solidago canadensis* i *Solidago gigantea*, a wydajność etanolu wynosiła odpowiednio  $1,02$  i  $0,92 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ . W tym przypadku również można stwierdzić, że wydajność etanolu zależała od jego stężenia oraz rocznego plonu suchej masy, który wahał się w granicach  $9\text{-}15 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Natomiast dla pozostałych trzech gatunków roślin inwazyjnych wydajność bioetanolu kształtowała się na poziomie  $0,1\text{-}0,6 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ . W przypadku biomasy *Reynoutria sachalinensis* stężenie etanolu przekraczało  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , ale bardzo niski roczny plon suchej masy, poniżej  $4 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , spowodował bardzo niską końcową wydajność produkowanego bioetanolu. Dla biomasy *Spiraea tomentosa* wydajność etanolu obliczono na podstawie całkowitej biomasy naziemnej (tj.  $38,87 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) i wynosiła ona  $2,36 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Wydajność bioetanolu z biomasy *Reynoutria ×bohemica* osiągnęła zbliżoną wartość do wydajności z polskiej odmiany konopi Rajan i wynosiła ona ponad  $2 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ . Proces otrzymywania bioetanolu z biomasy konopi prowadzono w zbliżonych warunkach, a jedną z niewielu różnic było stężenie NaOH. Rośliny inwazyjne z uwagi na fakt, że nie są roślinami włóknistymi nie powinny być poddawane działaniu silnych zasad.

Badania przedstawione w publikacji **P4** miały na celu porównanie 6 gatunków roślin inwazyjnych pod względem ich potencjału energetycznego, w tym przede wszystkim możliwości pozyskiwania bioetanolu. Analiza składu chemicznego wykazała, że zawartość poszczególnych składników chemicznych w każdej z badanych rośliny kształtowała się na porównywalnym poziomie. Udział procentowy celulozy (ok. 30-40%) oraz hemiceluloz (ok. 20-35%) pozwolił na stwierdzenie, że biomasa może być interesującym i potencjalnym surowcem do produkcji bioetanolu. Najwyższą wydajność etanolu z hektara uzyskano dla biomasy *Reynoutria ×bohemica* i była równa  $2,6 \text{ m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ . Należy podkreślić, że produkcja bioetanolu z tych roślin to

proces, który wciąż wymaga optymalizacji technologiczno-ekonomicznej. Ponadto, aby wykorzystanie roślin inwazyjnych do celów energetycznych mogło przynieść korzyści zarówno środowiskowe, jak i ekonomiczne ważne jest prowadzenie badań nad współistniejącymi zagrożeniami, związanymi głównie z problematycznym transportem tej biomasy. Jeśli proces produkcji bioetanolu z biomasy roślin inwazyjnych zostanie odpowiednio zoptymalizowany, a podczas transportu nie będzie dochodziło do przypadkowego rozprzestrzeniania się gatunków obcych, będzie można go uznać za jedną ze skutecznych metod zagospodarowania wspomnianej biomasy.

W ostatniej publikacji **P5** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego dokonałam oceny możliwości otrzymywania etanolu lignocelulozowego z biomasy igieł sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). Pozyskana biomasa pochodziła z 20-letnich sosen rosnących na typie siedliskowym lasu - bór świeży, a gleba przygotowywana była trzema różnymi sposobami, przy zastosowaniu trzech różnych metod zagospodarowania pozostałości zrębowych. Oceniłam plon suchej masy igieł sosny, a także przeanalizowałam zmiany udziału głównych składników chemicznych biomasy igieł sosny po zastosowaniu alkalicznej obróbki wstępnej. Na zakończenie oznaczyłam wydajność etanolu pozyskanego z powierzchni 1 hektara biomasy.

Udział sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w polskich lasach jest największy i zajmuje 58,6% powierzchni lasów wszystkich form własności, w związku z tym jest głównym gatunkiem wykorzystywanym do celów gospodarczych. Biomasa leśna jako obiekt badań naukowych znajduje zainteresowanie już od wielu lat. Elementy arbomasy, w tym przede wszystkim drewno stanowią źródło energii głównie w procesie jej spalania. Istnieją jednak inne możliwości wykorzystania tego surowca, a jedną z nich jest produkcja bioetanolu z różnych części drzew, w tym właśnie z igliwia. Choć udział igliwia nie jest największy w całej masie drzewa, to jednak nie da się go pominąć, szczególnie w młodszych drzewostanach. W drzewostanach gospodarczych czynności hodowlane, w tym te związane z usuwaniem zbędnych drzew prowadzi się już od najmłodszych lat, aż do wieku rębności. Natomiast w przypadku młodszych drzewostanów, ok. 20-letnich, biomasa nie jest wykorzystywana na cele przemysłu drzewnego, a jej znaczne ilości pozostają w lesie po zabiegach hodowlanych. Dodatkowo należy zauważyć, że wpływ na ilość produkowanej biomasy ma wiele czynników, w tym czynności przygotowawcze przy odnawianiu lasu. Należą do nich m. in. zagospodarowanie pozostałości zrębowych oraz przygotowanie gleby, które można wykonywać w różny sposób.

Surowiec do prowadzonych badań pozyskano z powierzchni doświadczalnej założonej na obszarze administracyjnym Nadleśnictwa Kalisz Pomorski, na terenie leśnictwa Grzybów. Przed założeniem uprawy leśnej w 2000 roku, teren przeznaczony do odnowienia przygotowano w 9 różnych wariantach za pomocą urządzeń mechanicznych. Zastosowano 3 metody zagospodarowania pozostałości zrębowych: uprzątnięcie odpadów pozrębowych, pozostawienie odpadów, rozdrobienie wszystkich pozostałości zrębowych oraz 3 sposoby przygotowania gleby: orka pługiem LPZ-75, pług aktywny U-162 (orka pługiem aktywnym), pługofrezarka (naoranie rabatowałków pługofrezarką).

Wysuszoną biomasę igieł sosny poddano działaniu 1% roztworu NaOH. Alkaliczny proces obróbki wstępnej przeprowadzono w temperaturze 90°C w czasie 5 godzin inkubacji, po czym wykonano filtrację badanej zawiesiny pod zmniejszonym ciśnieniem. W celu zneutralizowania przesączonej biomasy przemywano ją wodą destylowaną do uzyskania pożądanego pH równego 7,0. Filtrat wykorzystano jako substrat w kolejnym etapie procesu produkcji bioetanolu. Podczas obróbki biomasy

igieł sosny zastosowano 1% stężenie zasady, podobnie jak w przypadku biomasy roślin inwazyjnych, z uwagi na delikatniejszą strukturę tej biomasy.

Przed przeprowadzeniem procesu hydrolizy i fermentacji, dokonano analizy składu chemicznego biomasy igieł sosny i sprawdzono czy struktura chemiczna badanego surowca lignocelulozowego uległa zmianie pod wpływem działania chemicznej obróbki wstępnej (Tabela 5). Analiza składu chemicznego biomasy igliwia została wykonana z zastosowaniem standardowych metod TAPPI, z wyjątkiem substancji ekstrakcyjnych, które oznaczono metodą Soxhleta.

Tabela 5. Skład chemiczny biomasy igieł sosny (% s.m.)

Biomasa igieł sosny	Substancje ekstrakcyjne	Pentozany	Celuloza	Hemicelulozy	Lignina
BP	27,67 ± 0,41	8,82 ± 0,12	38,49 ± 0,24	19,85 ± 0,98	24,81 ± 0,18
AP	2,23 ± 0,03	12,98 ± 0,14	51,90 ± 0,07	24,37 ± 0,82	20,63 ± 0,14

BP: przed obróbką, AP: po obróbce

Przeprowadzona analiza składu chemicznego wykazała, że proces obróbki chemicznej przebiegał efektywnie i spowodował widoczne zwiększenie udziału procentowego celulozy (o około 13%) oraz częściową degradację hemiceluloz (o około 5%). Co istotne, zaobserwowano także zmniejszenie udziału ligniny (o około 4%). Zawartość pentozanów w drewnie iglastym wynosi zwykle nawet 25%, ale po zastosowaniu 1% roztworu NaOH waha się od 13 do 16%. Podobne wyniki dla zawartości pentozanów uzyskano w przypadku biomasy igieł sosnowych. Z kolei udział procentowy substancji ekstrakcyjnych w badanym surowcu był bardzo wysoki i wynosił ponad 27%, a po zastosowaniu obróbki wstępnej zawartość uległa znacznemu obniżeniu, aż do 2,23%. Podobnie jak w przypadku poprzednich publikacji, przy omawianiu zmian udziału procentowego składników chemicznych w biomacie przed i po obróbce chemicznej konieczne należy zwrócić uwagę na fakt, że są to tzw. zmiany pozorne.

Przeprowadzona analiza wariancji nie wykazała istotnych statystycznie różnic we wpływie metod przygotowania gleby jak i zagospodarowania pozostałości zrębowych na plon suchej masy części nadziemnej *Pinus sylvestris* L. Nie było również interakcji między tymi czynnikami. Najwyższy średni plony suchej masy igieł sosny, stwierdzono w przypadku gleby przygotowanej sposobem orki pługiem LPZ-75 oraz dwóch metod zagospodarowania pozostałości zrębowych, czyli uprzątnięcie odpadów pozrębowych oraz pozostawienie odpadów i wynosił on odpowiednio 6,17 Mg·ha<sup>-1</sup> i 5,71 Mg·ha<sup>-1</sup>.

Proces hydrolizy enzymatycznej i fermentacji etanolowej (SSF) prowadzono w kolbach Erlenmayera, całkowita objętość przygotowanego hydrolizatu biomasy z igieł sosnowych wynosiła 40 ml. Regulację pH do pożądanej wartości równej 4,8 dokonano stosując 1 M kwas siarkowy i 1 M wodorotlenek sodu. Do kolby z biomasą poddaną wcześniej obróbce chemicznej dodano enzym Flashzyme Plus 200 w ilości 20 FPU·g<sup>-1</sup>. Następnie do tej samej kolby dodano nieuwodnione liofilizowane drożdże *S. cerevisiae*. Kolby inkubowano w temperaturze 37°C przez 72 godziny na wytrząsarce laboratoryjnej.

Wykonane analizy wariancji nie wykazały istotnych statystycznie różnic w wydajności etanolu z powierzchni 1 hektara igieł sosny, w zależności od zastosowanych metod przygotowania gleby oraz zagospodarowania pozostałości zrębowych, co wynika pośrednio z tego, że nie wykazano różnic w plonie suchej masy. Średnia wydajność etanolu z hektara igieł sosny wyniosła 0,99 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>. Najwyższą wydajność uzyskano z gleb przygotowanych z zastosowaniem pługu LPZ-75 i wyniosła 1,08 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>. Pozostałe dwie metody przygotowania gleby pozwoliły na uzyskanie

średniej wydajności etanolu na bardzo zbliżonym poziomie, odpowiednio  $0,95 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$  i  $0,94 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ . Najbardziej efektywną kombinacją pod względem wydajności etanolu z hektara biomasy igieł sosny okazała się orka pługiem LPZ-75 i uprzątnięcie odpadów pozrębowych, co dało średni plon  $1,29 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ .

Wydajność etanolu uzyskana z biomasy igieł sosny była niższa niż wydajność uzyskana z biomasy konopi czy roślin inwazyjnych, jednakże można stwierdzić, że surowiec ten charakteryzuje się dobrym składem chemicznym i skutecznie poddaje się działaniu obróbki wstępnej i dlatego może stanowić obiecujący surowiec wykorzystywany w procesie pozyskiwania bioetanolu.

W publikacji **P5** przebadalam biomasę igieł sosnowych w dziewięciu różnych wariantach. Analiza składu chemicznego pokazała, że alkaliczna obróbka wstępna skutecznie rozbija kompleks lignocelulozowy, oddzielając ligninę od polisacharydów. Opisane wyniki potwierdzają, że nastąpiło zmniejszenie udziału procentowego ligniny oraz wzrost udziału procentowego celulozy. Zaobserwowałam, że najwyższy średni plon igieł sosnowych oraz najwyższą wydajność bioetanolu z hektara igieł sosnowych uzyskano przy orce pługiem LPZ-75 (sposoby przygotowania gleby) oraz uprzątnięcie odpadów pozrębowych (sposoby zagospodarowania pozostałości zrębowych). Nie wykazałam żadnych istotnych różnic w sposobie przygotowania gleby ani w sposobie zagospodarowania pozostałości zrębowych. Natomiast udało mi się potwierdzić, że biomasa igieł sosnowych może odgrywać znaczącą rolę w procesie produkcji etanolu lignocelulozowego.

## Podsumowanie

W cyklu publikacji naukowych powiązanych tematycznie, które stanowią podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego przedstawiłam wyniki badań własnych, które koncentrują się na problematyce dotyczącej określenia możliwości pozyskiwania etanolu lignocelulozowego z wybranych surowców lignocelulozowych w tym biomasy rodzimych gatunków roślin włóknistych (*Inu uprawnego* – *Linum usitatissimum* L. i konopi siewnych – *Cannabis sativa* L.), a także biomasy sorga cukrowego, biomasy roślin inwazyjnych oraz biomasy leśnej.

Przeprowadzone badania pozwoliły mi na pozytywną weryfikację postawionych hipotez badawczych. Dowiodłam, że biomasa rodzimych gatunków roślin włóknistych, sorga cukrowego, roślin inwazyjnych oraz odpadów leśnych w postaci igieł sosny to obiecujący i efektywny surowiec do produkcji etanolu lignocelulozowego. Wydajność etanolu uzyskaną z badanych materiałów lignocelulozowych odnotowałam na poziomie od 1 do  $5 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ . Wykazałam, że pod wpływem działania zasadowej obróbki wstępnej dochodzi do zmiany udziału procentowego głównych składników chemicznych biomasy lignocelulozowej (celulozy, hemiceluloz i ligniny). Potwierdziłam, że zwiększenie udziału procentowego celulozy, a także zmniejszenie udziału procentowego ligniny i części hemiceluloz determinuje wydajność etanolu lignocelulozowego. We wszystkich prezentowanych badaniach zaobserwowałam skuteczne działanie zasadowej obróbki wstępnej, która powoduje zniszczenie krystalicznej struktury celulozy oraz oddzielenie jej od ligniny. Wpływ zasadowej obróbki na analizowany skład chemiczny najbardziej uwidocznił się we wzroście udziału procentowego celulozy, w przypadku której odnotowano ponad 60%-owy wzrost. Zauważalna była także zmiana udziału procentowego hemiceluloz, mieszcząca się w przedziale od 1 do 10%. Zmiana udziału procentowego ligniny, nie zawsze była widoczna, ale największe zmiany kształtowały się na poziomie 20%. Im

większy udział procentowy celulozy, a tym samym mniejszy udział hemiceluloz i ligniny, tym wyższa wydajność etanolu lignocelulozowego.

Należy podkreślić, że uzyskane przeze mnie wyniki badań posiadają nie tylko wartość poznawczą, ale także aplikacyjną. Produkcja biopaliw z biomasy lignocelulozowej posiada charakter innowacyjny i przyczynia się do rozwiązania kluczowego zagadnienia w produkcji biokomponentów dla biopaliw transportowych. Biomasa lignocelulozowa jest obecnie najbardziej popularnym surowcem do produkcji bioetanolu i charakteryzuje się wieloma zaletami: nie zakłóca produkcji żywności i pasz, a także nie wymaga dodatkowych gruntów rolnych i możliwe jest zapewnienie jej ciągłych dostaw. Warto jednak mieć na uwadze fakt, że nadal konieczna jest optymalizacja wszystkich etapów procesu otrzymywania etanolu z biomasy lignocelulozowej, w celu zwiększenia efektywności i opłacalności ekonomicznej. Technologie pozyskiwania etanolu lignocelulozowego powinny być przyjazne dla środowiska i skutecznie przeciwdziałać zmianom klimatu, ale również stwarzać szansę na zwiększenie konkurencyjności polskiego rolnictwa i przyczyniać się do ożywienia gospodarczego i społecznego. Uzyskane wyniki badań stanowią istotną i praktyczną informację dla rolników, producentów i odbiorców biopaliw, a także mogą być wykorzystane do opracowania prototypów oraz linii pilotażowych.

#### **Cytowana literatura:**

1. Ali S., Serba D.D., Walker D. et al. 2020. Genome-wide quantitative trait loci detection for biofuel traits in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *GCB Bioenergy* 12: 923–940.
2. Anwar Saeed M., Ma H, Yue S., Wang Q., Tu M. 2018. Concise review on ethanol production from food waste: development and sustainability. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 29: 28851-28863.
3. Ayodele B. V., Alsaffar M.A., Mustapa, S.I. 2020. An overview of integration opportunities for sustainable bioethanol production from first-and second-generation sugar-based feedstocks', *J. Clean. Prod.* 245: 118857.
4. Broda M.; Yelle D.J.; Serwańska K. 2022. Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass—Challenges and Solutions. *Molecules* 27: 8717.
5. Burczyk H., Heller K., Praczyk M. 2009. Hodowla i nasiennictwo lnu włóknistego i oleistego w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, *Hodowla Roślin i Nasiennictwo*, 4: 33-37.
6. Cavelius P., Engelhart-Straub S., Mehlmer N., Lercher J., Awad D., Brück T. 2023. The potential of biofuels from first to fourth generation. *PLoS Biol.* 21(3): e3002063.
7. Czemplik M., Szopa J. 2009. Optimizing biomedical and industrial products development based on flax, *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4 (062).
8. Dharmaraja J., Shobana S., Arvindnarayan S., Raj Francis R., Banu Jeyakumar R., Ganesh Saratale R., Ashokkumar V., Kant Bhatia S., Kumar V., Kumar G. 2023. Lignocellulosic biomass conversion via greener pretreatment methods towards biorefinery applications. *Bioresour. Technol.* 369: 128328.
9. Dz. Urz. UE L 328/82 z 21.12.2018 r.- DYREKTYWA PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (UE) 2018/2001 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie promowania stosowania energii ze źródeł odnawialnych (wersja przekształcona) – zwana RED II.
10. Gabrielle B. 2008. Significance and limitations of first generation biofuels. *J Soc Biol.* 202(3):161-5.
11. Gao Y., Xu J., Yuan Z., Jiang J., Zhang Z., Li C. 2018. Ethanol production from sugarcane bagasse by fed- batch simultaneous saccharification and fermentation at high solids loading. *Energy Sci Eng.* 6: 810–818.
12. Ingraio, C., Matarazzo, A., Gorjian, S., Adamczyk, J., Failla, S., Primerano, P., Huisingh, D. 2021. Wheat-straw derived bioethanol production: A review of Life Cycle Assessments. *Science of The Total Environment.* 781: 146751.
13. Jasiulewicz M. 2011. Rozwój bioenergetyki w rolnictwie polskim. *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 13(5): 20-24.
14. Kazimierzczak J., Wietecha J., Ciechańska D., Błoda A., Antczak T. 2014. Nanowłókna celulozowe wytwarzane z biomasy roślinnej. *CHEMIK* 68 (9): 755–760.

15. Kerckhoffs H., Renquist R. 2013. Biofuel from plant biomass. *Agron. Sustain. Dev.* 33: 1–19.
16. Królak E. 2021. Negative and positive aspects of the presence of Canadian goldenrod in the environment. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, (32): 6-12.
17. Li H.-Q., Li Ch.-L., Sang T., Xu J. 2013. Pretreatment on *Miscanthus lutarioriparius* by liquid hot water for efficient ethanol production. *Biotechnol Biofuels* 6: 76.
18. Limayem A., Ricke S.C. 2012. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Prog. Energy Combust. Sci.* 38(4): 449-467.
19. Mohr A., Raman S. 2013. Lessons from first generation biofuels and implications for the sustainability appraisal of second generation biofuels. *Energy Policy* 63(100): 114-122.
20. Montero-Lagunes M., Vinay-Vadillo J.L., Enríquez-Quiroz J.F., Jiménez-Montero A., Juárez-Lagunes F.I., Bolaños-Aguilar, E.D. Lignocellulosic biomass production in six cultivars of *Cenchrus purpureus* (Schumacher) Morrone in the tropics. *Agro Productividad*. 2022, <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i7.2334>.
21. Patra J., Basu A., Mishra A., Dhal N. K. 2017. Bioconversion of Municipal Solid Wastes for Bioethanol Production. *Biosci. Biotech. Res. Asia* 14: 3.
22. Pawlak J. 2016. Produkcja i zużycie energii odnawialnej w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem rolnictwa. *Problemy Inżynierii Rolniczej*. Z.4 (94): 67–76.
23. Rocha-Meneses L.; Raud M.; Orupöld K.; Kikas T. 2017. Second-generation bioethanol production: A review of strategies for waste valorisation. *Agron. Res.* 15: 830–847.
24. Roozeboom K.L.; Wang D.; McGowan A.R.; Propheter J.L.; Staggenborg S.A.; Rice Ch. W. 2018. Long-term biomass and potential ethanol yields of annual and perennial biofuel crops. *Agronomy Journal* 110: 74-83.
25. Takano, M., Hoshino, K. 2018. Bioethanol production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with statistical optimized cellulase cocktail and fermenting fungus. *Bioresour. Bioprocess.* 5:16.
26. Trejo M, Bhuyar P, Unpaprom Y, Dussadee N, Ramaraj R. 2022. Advancement of fermentable sugars from fresh elephant ear plant weed for efficient bioethanol production. *Environ. Dev. Sustain.* 24(5): 7377-7387.
27. Turner W.; Greetham D.; Mos M.; Squance M.; Kam J.; Du C. 2021. Exploring the bioethanol Production potential of *Miscanthus* cultivars. *Appl. Sci.* 11: 9949.
28. Wi, S.G., Cho, E.J., Lee, D.S. et al. 2015 Lignocellulose conversion for biofuel: a new pretreatment greatly improves downstream biocatalytic hydrolysis of various lignocellulosic materials. *Biotechnol Biofuels* 8: 228.
29. Wielebski F., Wójtowicz M., Spasibonek S. 2017. Zawartość tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych w oleju żółto i brązowonasiennych odmian lnu oleistego (*Linum usitatissimum* L.) w zmiennych warunkach agrotechnicznych i siedliskowych. *Fragm. Agron.* 34(2): 103–114.
30. Wieruszewski, M.; Górna, A.; Stanula, Z.; Adamowicz, K. 2022. Energy use of woody biomass in Poland: Its resources and harvesting form. *Energies* 15, 6812.
31. Wu Z., Zhang M., Wang L. et al. 2013. Biomass digestibility is predominantly affected by three factors of wall polymer features distinctive in wheat accessions and rice mutants. *Biotechnol Biofuels* 6: 183.
32. Yu Q., Wang Y., Van Le Q., Yang H. Hosseinzadeh-Bandbafha H., Yang Y., Sonne C., Tabatabaei M., Lam S.S., Peng W. 2021. An Overview on the Conversion of Forest Biomass into Bioenergy. *Front. Energy Res.* 9: 684234.

#### 4.2. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

W Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich (obecnie Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich- Państwowy Instytut Badawczy) pracuję od 2010 roku. Od początku moja działalność naukowa koncentruje się na zagadnieniach dotyczących otrzymywania bioetanolu z różnorodnej biomasy lignocelulozowej. W ramach wymienionej tematyki badawczej, co roku aktywnie uczestniczę w realizacji tematów statutowych, a także licznych projektów krajowych i zagranicznych. Ponadto jestem aktywnie zaangażowana w działalność naukową Instytutu uczestnicząc jako członek zespołów badawczych w projektach, dotyczących pozyskiwania substancji biologicznie aktywnych, izolowanych z roślin zielarskich oraz badania i oceny odporności m.in. surowców lignocelulozowych i wyrobów włókienniczych na działanie grzybów pleśniowych i mikroorganizmów glebowych.



#### 4.2.1. Osiągnięcia naukowo- badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Studia wyższe ukończyłam w 2009 roku, uzyskując tytuł magistra inżyniera na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, specjalność technologia fermentacji. Pół roku później zostałam zatrudniona na etacie asystenta w Zakładzie Ochrony Środowiska Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu. W 2012 roku zostałam pracownikiem nowo powstałego Zakładu Innowacyjnych Biomateriałów i Nanotechnologii, który w 2021 zmienił nazwę na Zakład Inżynierii Bioproduktów.

W pierwszym roku pracy naukowej w Instytucie powierzono mi rolę jednego z wykonawców międzynarodowego projektu pt. „Non –ford Crops–to –Industry schemes in EU27” realizowanego w latach 2009-2012 (akronim: *CROPS2INDUSTRY*), w którym miałam możliwość ścisłej współpracy z naukowcami z 11 krajów Unii Europejskiej m.in. z Uniwersytetu Przyrodniczego w Wiedniu, Uniwersytetu Rolniczego w Atenach czy Uniwersytetu Bolońskiego. Celem projektu było określenie potencjału produkcji roślin nieżywnościowych, które mogą być uprawiane w krajach UE, z przeznaczeniem na wybrane zastosowania przemysłowe, w tym na cele energetyczne. Do moich zadań należało określenie perspektyw wykorzystania biopaliw zaawansowanych w krajach UE do roku 2030 oraz wykorzystania do tego celu wybranych gatunków roślin włóknistych. Efektem realizowanego projektu było opracowanie międzynarodowej bazy danych, zawierającej informacje na temat struktury uprawy i możliwości wykorzystania roślin nieżywnościowych. Opracowane materiały dotyczyły takich roślin jak: sorgo, miskant, kenaf, len, konopie, mozga trzcinowata, juta czy juka. Potencjał tych roślin okazał się bardzo wysoki, gdyż stwierdzono, że ich wykorzystanie może przynieść korzyści środowisku, poprzez zmniejszenie emisji gazów cieplarnianych oraz znaczne ograniczenie ilości odpadów, a także poprawę konkurencyjności gospodarczej przemysłu. W raporcie końcowym podkreślono, że potencjał ten wymaga ścisłego powiązania nauki z rolnictwem i przemysłem, aby bariery takie jak konkurencja z produktami opartymi na paliwach kopalnych zostały całkowicie wyeliminowane. Realizacja powyższego projektu, pozwoliła mi na zdobycie wiedzy dotyczącej możliwości wykorzystania różnorodnej nieżywnościowej biomasy roślinnej do produkcji biopaliw II generacji, w tym bioetanolu. Ponadto, zaangażowanie w projekcie dało mi podstawy do rozpoczęcia wstępnych prac badawczych nad tym innowacyjnym tematem w ramach działalności statutowej, a także ukształtowało moje spojrzenie badawcze na zagadnienia dotyczące wykorzystania surowców odnawialnych.

W tym samym czasie rozpoczęłam jako wykonawca realizację projektu POIG/01.01.02-00-061/09, finansowanego z funduszy Unii Europejskiej, pt. „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych” (akronim: *Bioaktywna Żywność*). Projekt trwał od 2010 do 2012 roku. Zespół badawczy Instytutu należał do konsorcjum, w skład którego wchodziły krajowe jednostki naukowe m.in. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie i Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. Celem projektu było opracowanie innowacyjnej technologii produkcji linii produktów spożywczych ograniczających zachorowalność na choroby cywilizacyjne. Moim zadaniem była optymalizacja procesu ekstrakcji różnorodnych surowców roślinnych takich jak: korzeń i ziele pokrzywy, kłącze perzu, nasienie kozieradki, liście karczocha, owocnia fasoli, owoce aronii, liście

i pędy morwy białej, w celu odzyskania jak największej ilości czystych bioaktywnych składników, które w następnym etapie były wykorzystywane do wzbogacania produktów spożywczych. Wykonywałam wyciągi wodne, 50% wodnoetanolowe i 70% wodnoetanolowe z surowców roślinnych. Przygotowane ekstrakty oddestylowywałam, a w dalszej kolejności liofilizowałam, by w kolejnym etapie zostały poddane analizom fitochemicznym. Byłam jednym z czterech współautorów przygotowujących kilkusetstronicowy raport końcowy z prac wykonywanych przez zespół Instytutu.

**Wawro A.**, Pieprzyk – Kokocha D., Gryszczyńska A., Łowicki Z., Mikołajczak P.Ł., Grajek K. 2013. Porównanie składu polifenoli zawartych w wyciągach hydroalkoholowych liści różnych odmian morwy białej (*Morus alba L.*). Post. Fitoter. (4): 220-224.

Pieprzyk – Kokocha D., **Wawro A.**, Gryszczyńska A., Łowicki Z., Grajek K., Wesolek D. 2013. New possibilities of using mulberry silkworm feed. Sci. Bull. Escorena (7): 39-45.

Grajek K., **Wawro A.**, Pieprzyk-Kokocha D. 2015. Bioactivity of *Morus Alba L.* Extracts – An Overview. Int. J. Pharm. Sci. Res. 6(8): 3110-22.

**Wawro A.**, Pieprzyk-Kokocha D., Gryszczyńska A., Grajek K., Łowicki Z. 2016. Oznaczenie zawartości substancji biologicznie aktywnych w ekstraktach wodnych z liści i pędów morwy białej. Post. Fitoter. 17(2): 87-90.

W latach 2012-2015 roku byłam jednym z głównych wykonawców w kluczowym dla mojej dalszej działalności naukowo-badawczej projekcie Programu Badań Stosowanych PBS1/A8/9/2012 pt. „Opracowanie innowacyjnej technologii produkcji bioetanolu II generacji z biomasy sorgo i miskanta (akronim: *Sormisol*). Projekt oprócz Instytutu, realizowało kilka jednostek naukowych, w tym Katedra Biochemii i Biotechnologii oraz Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Instytut Genetyki Roślin PAN i Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu. Zespół, którego byłam członkiem zajmował się m.in. opracowaniem metody obróbki wstępnej biomasy sorgo i miskanta, a także opracowaniem metody hydrolizy enzymatycznej frakcji celulozowej. W pierwszej kolejności, prace skupiały się nad wyselekcjonowaniem najlepszych odmian spośród 15 genotypów sorgo i 4 genotypów miskanta. Selekcja odmian, które przeznaczono do dalszych badań, przeprowadzona została w oparciu o określenie ich produktywności (przyrost biomasy), a także składu chemicznego tj. zawartość celulozy, hemiceluloz i ligniny. Pozwoliło to na wybór odmian sorgo i miskanta, charakteryzujących się największą produktywnością oraz najlepszym składem chemicznym z punktu widzenia degradacji lignocelulozy. W celu zoptymalizowana technologii bioprosesowej, w dalszej kolejności wykonywałam prace zmierzające do ustalenia ostatecznych warunków obróbki wstępnej biomasy, tj. określałam proces rozdrobnienia surowca (wybór wielkości oczek sita), a także wpływ kwasu siarkowego i wodorotlenku sodu (stężenie i czas inkubacji) oraz procesu autoklawowania (temperatura i czas) na zawartość uwolnionych cukrów redukujących. Na podstawie zużycia energii elektrycznej na rozmiął surowców, zawartości uwolnionych cukrów redukujących, a także ze względu na roślinne pochodzenia surowców, najlepszy okazał się proces rozdrabniania biomasy sorgo i miskanta w młynie nożowym przy użyciu sita o wielkości oczek 4 mm. Z kolei optymalizacja wstępnej obróbki chemicznej biomasy sorgo i miskanta umożliwiła stwierdzenie, że najskuteczniejsza jest inkubacja

surowców w 1,5% wodorotlenku sodowym i temperaturze 90°C przez 5 godzin. Podstawą tego stwierdzenia był fakt, że wyższe stężenie uwolnionych cukrów redukujących z badanej biomasy uzyskano dla obróbki zasadowej w porównaniu z obróbką kwasową.

W drugim zadaniu powyższego projektu, w oparciu o enzymy komercyjne, brałam udział w opracowywaniu części składowych miksów enzymatycznych dla efektywnej hydrolizy substratu celulozowego. Składniki tych miksów zostały wybrane na podstawie oznaczenia aktywności celulolitycznej i ksylanolitycznej, metodami NREL. Następnie uczestniczyłam w badaniach nad opracowaniem tych miksów enzymatycznych dla hydrolizy jako oddzielnego procesu poprzedzającego proces fermentacji, czyli SHF (preparaty o wyższej temperaturze działania 55 °C) i dla hydrolizy jako procesu zachodzącego jednocześnie z fermentacją, czyli SSF (preparaty dostosowane do warunków fermentacji etanolowej 38°C). Najefektywniejszym preparatem zarówno dla procesu SHF, jak i SSF biomasy sorgo i miskanta okazał się preparat enzymatyczny Flashzyme Plus 200.

Prowadziłam także prace badawcze nad optymalizacją parametrów procesu hydrolizy (SHF i SSF) biomasy sorgo i miskanta, określając stężenie substratu, dawkę preparatu enzymatycznego, dawkę drożdży, a także temperaturę, odczyn i czas hydrolizy. Na tym etapie badań miałam możliwość zapoznania się z działaniem nowatorskiego oprogramowania do projektowania eksperymentów Design-Expert®(DX) dzięki któremu, metodą płaszczyzny odpowiedzi, określano wspomniane optymalne parametry hydrolizy enzymatycznej. Kryterium oceny skuteczności procesu hydrolizy było oznaczenie ilości uwolnionej glukozy i celbiozy metodą HPLC.

Wykonane badania pozwoliły na stwierdzenie, że zastosowanie skutecznej metody obróbki wstępnej trudno biodegradowalnej biomasy sorgo i miskanta, a następnie optymalnej hydrolizy enzymatycznej gwarantującej konwersję celulozy i hemiceluloz do cukrów prostych, może pozytywnie wpływać na wydajność procesu fermentacji etanolowej. Wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektu *Sormiol*, były podstawą do moich dalszych prac badawczych nad optymalizacją procesu otrzymywania bioetanolu z biomasy lignocelulozowej.

**Wawro A.**, Batog J., Pieprzyk – Kokocha D., Skibniewski Z. 2013. Efektywność obróbki mechanicznej biomasy sorgo i miskanta w produkcji bioetanolu II generacji. CHEMIK (67)10: 927- 934.

Batog J., Pieprzyk-Kokocha D., **Wawro A.**, Skibniewski Z. 2016. Chemical processes (acidic and alkaline) in saccharification of sorghum biomass for biofuel production. Cellul. Chem. Technol. 50 (3-4): 397-400.

Pieprzyk-Kokocha D., **Wawro A.**, Batog J. 2016. Hydrolysis process of biomass sorghum and miscanthus with the use of cellulolytic enzymes for ethanol production. Cellul. Chem. Technol. 50 (3-4): 401-404.

Batog J., **Wawro A.**, Pieprzyk-Kokocha D. 2016. Wydajność fizyko-chemicznej obróbki biomasy sorgo i miskanta w produkcji bioetanolu II generacji. Przem. Chem. 95(9): 1679-1682.

Burczyk H., Batog J., Frankowski J., **Wawro A.** 2017. Plonowanie wybranych odmian sorga uprawianych w plonie głównym i wtórnym do produkcji bioetanolu. Zag. Doradz. Rol. (4): 70-79 (opublikowana po uzyskaniu stopnia doktora).

W ramach projektu *Sormisol*, realizowałam także prace badawcze w zespole, którego kierownikiem był prof. dr hab. Włodzimierz Grajek z Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Zespół Profesora Grajka opracowywał technologię fermentacji etanolowej cukrów sześciowęglowych z hydrolizatów enzymatycznych oraz fermentacji mlekowej cukrów pięciowęglowych. Moim zadaniem było wyselekcjonowanie nieopisanych dotąd szczepów drożdży gorzelniczych o właściwościach umożliwiającym przeprowadzenie w sposób efektywny procesu jednoczesnej hydrolizy enzymatycznej i fermentacji etanolowej (SSF). Powyższe badania, stały się podstawą mojej rozprawy doktorskiej pt. „Ulepszanie właściwości technologicznych drożdży gorzelniczych *Saccharomyces cerevisiae* metodą tasowania genomowego”, a promotorem został prof. dr hab. Włodzimierz Grajek. Do badań nad genetycznym ulepszaniem drożdży wybrałam drożdże gorzelnicze wyizolowane z gorzelnii pod Poznaniem, adaptowane do podwyższonej temperatury. Genetyczne ulepszanie drożdży obejmowało: mutagenizację chemiczną, utworzenie biblioteki szczepów rodzicielskich, następnie etap protoplastyzacji, fuzji powstałych protoplastów i regeneracji uzyskanych fuzantów oraz analizę genomu. Wykonałam łącznie trzy cykle tasowania, podczas których uzyskałam ponad 200 fuzantów, a w ostateczności wytypowałam 3 szczepy o ulepszonych właściwościach fenotypowo–technologicznych. W celu ich identyfikacji i różnicowania przeprowadziłam analizę polimorfizmu genomowego DNA. Analizę genomu hybryd przeprowadziłam metodą PCR. Po przeprowadzonej analizie rozdziału fragmentów DNA wyjściowych szczepów drożdży oraz ich hybryd stwierdziłam, że zastosowane primery pozwoliły na różnicowanie pomiędzy macierzystymi genomami a fuzantami. Zaobserwowałam także, że po jednej z fuzji całe potomstwo stabilnie odziedziczyło wytworzoną zmianę. Przeprowadzone przeze mnie prace badawcze zakończyły się uzyskaniem nowego szczepu drożdży gorzelniczych z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* o podwyższonej termotolerancji, osmotolerancji i odporności na toksyny. Praca doktorska, którą obroniłam 11 kwietnia 2017 roku, została wyróżniona przez Radę Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

**Wawro A.**, Rzeszutek A., Bartkowiak Ż., Pieprzyk–Kokocha D., Grajek W. 2015. Optymalizacja mutagenizacji chemicznej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* z użyciem metanosulfonianu etylu (EMS). *Nauka Przyr. Technol.* 9, 3, #34.

Brałam także udział jako wykonawca w projekcie Programu Badań Stosowanych nr PBS1/A8/10/2012 pt. Opracowanie preparatów eubiotycznych dla zwierząt gospodarskich (akronim: *EUBIOTYKI*). Projekt był realizowany w latach 2012-2015 w ścisłej współpracy trzech jednostek- Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Katedry Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej oraz Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, a także jednego partnera przemysłowego JHJ sp. z o.o. Celem projektu było opracowanie i przebadanie preparatów eubiotycznych, zawierających probiotyki i inne składniki takie jak: antyoksydanty, olejki eteryczne czy substancje antybakteryjne, jako alternatywy dla antybiotykowych stymulatorów wzrostu w żywieniu zwierząt gospodarskich. Moim zadaniem było zoptymalizowanie i przygotowywanie ekstraktów wodnych i wodno-etanolowych z wybranych rodzimych surowców zielarskich, w tym z rumianku, bazylii,

kminku, tymianku, szalwii czy lebiodki. Zdobyte we wcześniejszym projekcie doświadczenie badawcze, wykorzystałam optymalizując proces ekstrakcji. Gotowe ekstrakty oddestylowywałam i poddawałam procesowi liofilizacji. Prawdliwość przeprowadzenia procesu ekstrakcji weryfikowano na podstawie oceny wyekstrahowanych surowców pod względem aktywności antybiotycznej, a te najbardziej efektywne wyprodukowano w skali półtechnicznej i poddawano analizie fitochemicznej.

Do czasu obrony pracy doktorskiej uczestniczyłam łącznie w 19 konferencjach naukowych, w tym w 11 międzynarodowych, wygłaszając 3 referaty i prezentując 11 posterów.

#### 4.2.2. Osiągnięcia naukowo- badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie rozprawy doktorskiej kontynuowałam prace badawcze i rozwojowe w temacie pozyskiwania bioetanolu z różnorodnej biomasy lignocelulozowej, a także nawiązywałam ścisłą współpracę naukową z innymi jednostkami, co pozwoliło mi na pogłębianie moich zainteresowań naukowych.

Od 2017 roku w ramach Działalności Statutowej prowadziłam badania nad optymalizacją metody pozyskiwania bioetanolu z biomasy lignocelulozowej roślin będących przedmiotem prac badawczych Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich tj. sorgo, konopi i lnu. Moje badania skupiały się przede wszystkim na doskonaleniu metod obróbki wstępnej biomasy sorgo odmiany Sucrosorgo 506, poprzez porównanie efektywności obróbki kwasowej, alkalicznej i biologicznej z wykorzystaniem enzymu lakazy i jej mediatorów (ABTS, HBT i NHA). Wyniki tych prac zostały opisane w publikacji **P1** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego. Ponadto, realizowałam prace w kierunku wykorzystania technik ulepszania genetycznego drożdży gorzelniczych w celu podniesienia wydajności procesu fermentacji alkoholowej, w tym m.in. z biomasy sorgo (**Zał. 8; A2 i A6**). Prowadziłam także badania dotyczące określenia ilości bioetanolu uzyskanego z biomasy trzech różnych odmian sorgo uprawianych w plonie głównym i wtórnym. Przeprowadzone badania wykazały istotne różnice odmianowe pod względem produktywności etanolu. Za najbardziej wydajną uznano odmianę Sucrosorgo 506, która może być polecana do uprawy na biomasę zarówno w plonie głównym jak i wtórnym (**Zał. 8; A4**). Moje badania dotyczyły także określenia możliwości wykorzystania biomasy sorga ziarnowego. W tym celu przeprowadziłam analizę w kierunku pozyskiwania bioetanolu z pięciu odmian biomasy sorgo tj. ASV KS 61B (ASV), Farmsugro 180 (FAR), GK Emese (GK), Sweet Caroline (SC), and Sweet Susana (SS). Były one produktem odpadowym zbioru nasion. W pierwszej kolejności oznaczono plon odmian sorgo w trzyletnim okresie wegetacji, a następnie udział procentowy celulozy, hemiceluloz i ligniny oraz wydajność etanolu pozyskaną z powierzchni 1 hektara biomasy sorgo. Zaobserwowano, że najwyższy średni plon dla wszystkich odmian, z wyjątkiem GK Emese, uzyskano w drugim roku doświadczenia. Natomiast wydajność bioetanolu z hektara biomasy była najwyższa dla odmiany Sweet Caroline i wynosiła 9,48 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>. Ponadto stwierdzono istotne różnice w zawartości ligniny i hemicelulozy dla wszystkich badanych odmian we wszystkich latach oraz w zawartości celulozy w pierwszym i trzecim roku. W rezultacie stwierdziłam, że biomasa sorga ziarnowego może stanowić wydajny surowiec wykorzystywany w procesie otrzymywania bioetanolu (**Zał. 8; A9**). Ponadto,

opracowywałam możliwości efektywnego pozyskiwania bioetanolu z biomasy najnowszej krajowej odmiany konopi włóknistych – Henola, w zależności od różnych warunków nawożenia mineralnego. Odmiana ta charakteryzuje się istotnie wyższym plonem nasion, w porównaniu z pozostałymi odmianami znajdującymi się w krajowym rejestrze i jednocześnie niższym plonem słomy. Z tego powodu głównym surowcem pozyskiwanym z upraw odmiany Henola są nasiona, natomiast pozostała biomasa może stanowić surowiec do produkcji bioetanolu. Próbki wspomnianej biomasy konopnej pozyskane były z trzech wariantów doświadczenia nawozowego. Po przeprowadzeniu wszystkich etapów procesu otrzymywania etanolu lignocelulozowego stwierdzono, że najmniejsza zawartość bioetanolu została uzyskana w przypadku konopi nawożonych azotem, fosforem i potasem, a najwyższa w przypadku konopi nawożonych tylko fosforem i potasem, dla których wydajność etanolu w przeliczeniu na plon słomy wynosił  $2,7 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$  (**Zał. 8; A8**).

**Wawro A\***. 2018. Genome shuffling as an alternative method of improving the properties of distillery yeast. *Postępy Mikrobiol.* 57(3): 278-285 (**Zał. 8; A1**).

\*autor korespondencyjny

Batog J., **Wawro A.** 2019. Process of obtaining bioethanol from sorghum biomass using genome shuffling. *Cellul. Chem. Technol.* 53(5-6): 459-467 (**Zał. 8, A2**).

Batog J., Frankowski J., **Wawro A.**, Łacka A. 2020. Bioethanol production from biomass of selected sorghum varieties cultivated as main and second crop. *Energies* 13: 6291 (**Zał. 8; A4**).

**Wawro A.\*** 2021. Improvement of Acetic Acid Tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* by Novel Genome Shuffling. *Appl. Biochem.* 57 (2) 180–188 (**Zał. 8; A6**).

\*autor korespondencyjny

Frankowski J., **Wawro A.**, Batog J., Burczyk H. 2021. New Polish oilseed hemp cultivar Henola—cultivation, properties and utilization for bioethanol production. *J. Nat. Fibers* 7283-7295 (**Zał. 8; A8**).

Frankowski, J. **Wawro, A.\***, Batog, J., Szambelan, K.; Łacka, A. 2022. Bioethanol Production Efficiency from Sorghum Waste Biomass. *Energies* 15: 3132 (**Zał. 8; A9**).

\*autor korespondencyjny

W latach 2017-2020 jako jeden z wykonawców w ramach Programu Wieloletniego MRiRW pt. „Odbudowa i zrównoważony rozwój produkcji oraz przetwórstwa naturalnych surowców włóknistych dla potrzeb rolnictwa i gospodarki”, prowadziłam badania nad opracowaniem efektywnej technologii otrzymywania bioetanolu drugiej generacji z biomasy konopi o zwiększonych wartościach użytkowych. Badania obejmowały różne odmiany biomasy konopi włóknistych jednopiennych wyhodowanych w Instytucie- Białobrzeskie, Tygra, Rajan i Henola. W pierwszym etapie konieczna była ocena produktywności biomasy badanych odmian konopi, a także oznaczenie składu chemicznego, co potwierdzone zostało dodatkowo analizą zmian na powierzchni biomasy oraz analizą widm FTiR. Następnie w oparciu o doświadczenie badawcze z poprzednich lat oraz doniesienia literaturowe prowadzono optymalizację procesu mechanicznej i chemicznej obróbki wstępnej biomasy konopi wszystkich badanych odmian. Wybrano dwie odmiany, dla których były prowadzone dalsze prace badawcze w kierunku wyboru kompleksu enzymatycznego w procesie SHF i SSF, a także wytypowania zakresów parametrów hydrolizy enzymatycznej i fermentacji etanolowej biomasy konopi w procesie SHF oraz

optymalizacji parametrów procesu SSF. Badania te szczegółowo zostały opisane w publikacji **P2** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, a także w artykułach (**A3 i A5; Zał. 8**). Warto podkreślić, że wynikami badań uzyskanymi w tym projekcie zainteresował się koncern naftowy LOTOS S.A., który planował budowę pilotażowej instalacji do produkcji bioetanolu z biomasy konopnej. Współpraca została potwierdzona podpisaniem listu intencyjnego pomiędzy Grupą Lotos a Instytutem Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich.

Gieparda W., Batog J., **Wawro A.** 2019. Obróbka wstępna biomasy konopi w procesie otrzymywania bioetanolu. *Przem. Chem.* 98(12): 1958—1961.

**Wawro A.\***, Batog J., Gieparda W. 2019. Chemical and Enzymatic Treatment of Hemp Biomass for Bioethanol Production. *Appl. Sci.* 9: 5348 (**Zał. 8; A3**).

\*autor korespondencyjny

**Wawro A.\***, Batog J., Gieparda W. 2020. Efektywność enzymatycznej konwersji biomasy sorgo i konopi do glukozy. *Przem. Chem.* 99(12): 1731-1734 (**Zał. 8; A5**).

\*autor korespondencyjny

Równolegle, w latach 2018 – 2021 jako członek zespołu badawczego, realizowałam prace badawcze w międzynarodowym projekcie w ramach ERA-NET CO-FUND FACCE SURPLUS 2, pt. „Zintegrowany system bioremediacji - biorafinacja wykorzystująca gatunki halofitów”. Partnerami, którzy ściśle współpracowali z naszym zespołem w tym projekcie byli m.in.: Uniwersytet Nauk Rolniczych i Medycyny Weterynaryjnej w Bukareszcie oraz Narodowy Instytut Badań i Rozwoju dla Nauk Biologicznych w Bukareszcie. W skład konsorcjum wchodziła także firma Bioten Ltd. Celem projektu była uprawa wybranych gatunków halofitów na glebach zasolonych dla opracowania nowych łańcuchów wartości z pozyskanej biomasy tj. biokompozytów, bioetanolu i brykietów. Moim zadaniem było przebadanie pozyskanej biomasy pod kątem możliwości wykorzystania jej do produkcji bioetanolu. Spośród kilku gatunków halofitów, już w pierwszym etapie projektu wybrano kostrzewę trzcinową (*Festuca arundinacea*) oraz konopie włókniste odmiany Białobrzeskie. W przeciwieństwie do biomasy konopi, biomasa kostrzewy była nieznanym mi dotąd surowcem roślinnym, stąd konieczne było przede wszystkim zoptymalizowanie mechanicznej i chemicznej obróbki wstępnej. Kostrzewę poddano obróbce kwasowej (1-2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), zasadowej (1,5-3% NaOH) i obróbce gorącą wodą (135 °C). Z kolei w przypadku konopi parametry wybrano w oparciu o wcześniejsze doświadczenia badawcze. Na podstawie ilości cukrów redukujących pozyskanych podczas procesu obróbki różnymi metodami zaobserwowano, że najbardziej efektywna jest obróbka alkaliczna z 1,5% NaOH. Co ciekawe kostrzewa trzcinowa okazała się rośliną bardziej podatną na działanie chemicznej obróbki wstępnej niż konopie odmiany Białobrzeskie. Potwierdzeniem skuteczności obróbki była analiza składu chemicznego biomasy halofitów przed i po obróbce oraz porównanie udziału procentowego celulozy, hemiceluloz i ligniny. Pozwoliło to na stwierdzenie, że widoczny wzrost udziału procentowego celulozy i częściowa degradacja hemiceluloz, może wpłynąć pozytywnie na wydajności konwersji biomasy konopi i kostrzewy do bioetanolu. Jednak do ostatecznych wniosków konieczne było zoptymalizowanie etapu hydrolizy enzymatycznej i fermentacji etanolowej. Proces ten z określonymi parametrami przeprowadzono w skali wielkolaboratoryjnej, a następnie oznaczono stężenie etanolu metodą HPLC, co

potwierdziło, że biomasa kostrzewy trzcinowej wykazuje nieco większą podatność na działanie enzymów i mikroorganizmów niż konopie odmiany Białobrzeskie. Przy tych samych zoptymalizowanych parametrach przeprowadzono proces otrzymywania bioetanolu dla biomasy kostrzewy i konopi z gleb zasolonych. W tym przypadku również okazało się, że z biomasy kostrzewy możliwe jest uzyskanie nieco wyższego stężenie etanolu niż z biomasy konopi. Ostatecznie po przeanalizowaniu wyników stwierdzono, że ze względu na nieduże różnice w zawartości etanolu, oba surowce uprawiane zarówno na terenach niezasolonych jak i zasolonych mogą stanowić potencjalny surowiec do produkcji bioetanolu (**Zał. 8; A7 i A10**). Zanieczyszczenie środowiska przez nadmierne zasolenie gleb może być spowodowane przyczynami naturalnymi i działaniami antropogenicznymi. Takie gleby mają niższą lub zerową przydatność do tradycyjnej produkcji rolniczej, wpływając na spadek gospodarki regionalnej. Stąd też, uzyskane wyniki z pewnością przyczynią się do wzrostu wykorzystania gruntów nieprzydatnych dla rolnictwa.

W ramach powyższego projektu prowadziłam także badania nad szczepem drożdży gorzelniczych *S. cerevisiae*, odpornym na stresy środowiskowe. Prace były poniekąd kontynuacją badań, które prowadziłam w ramach rozprawy doktorskiej i skupiały się na sprawdzeniu ulepszonych cech fenotypowych dwóch nowo powstałych fuzantów drożdży, podczas procesu SSF biomasy kostrzewy i konopi w bioreaktorze (2000 cm<sup>3</sup>). Oba fuzanty produkowały etanol na podobnym poziomie, choć podatność biomasy konopi odmiany Białobrzeskie na ich działanie było nieznacznie wyższe niż biomasy kostrzewy.

Batog J., Mańkowski J., Buchwald W., Baraniecki P., Bujnowicz K., Kołodziej J., Adamczak A., Bilińska E., Frankowski J., Gieparda W., Mordalski R., Rojewski S., **Wawro A.**, Mackiewicz-Talarczyk M. 2019. Uprawa wybranych gatunków halofitów celem remediacji gleb zasolonych i pozyskania biomasy roślinnej do produkcji bioproduktów. W: Praktyczne aspekty rekultywacji, rewitalizacji i remediacji. Pod red. Z. Bukowskiego, G. Maliny, Wyd. Uniwersytetu im. Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz, 4, 47-57.

Batog J., Mańkowski J., Buchwald W., Baraniecki P., Bujnowicz K., Kołodziej J., Adamczak A., Bilińska E., Frankowski J., Gieparda W., Mordalski R., Rojewski S., **Wawro A.**, Mackiewicz-Talarczyk M. 2020. Zintegrowany system bioremediacji - biorafinacja z wykorzystaniem gatunków halofitów, prace zrealizowane w 2019 roku. Biuletyn Informacyjny Polskiej Izby Lnu i Konopi - Len i konopie, 34, 2-7.

Batog J., Bujnowicz K., Gieparda W., **Wawro A.\***, Rojewski S. 2021. Effective utilisation of halophyte biomass from saline soils for biorefining processes. *Molecules*, 26: 5393 (**Zał. 8; A7**).

\*autor korespondencyjny

Batog J., **Wawro A.\***, Bujnowicz K., Gieparda W., Bilińska E., Pietrowiak A., Rojewski S., Adamczak A. 2023. Utilization of *Festuca arundinacea* Schreb. Biomass with Different Salt Contents for Bioethanol and Biocomposite Production. *Appl. Sci.* 13: 8738 (**Zał. 8; A10**).

\*autor korespondencyjny

W 2021 roku realizowałam prace badawcze w ramach jednego z zadań Dotacji Celowej, przyznanej przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, pt. Ocena potencjału aplikacyjnego lnu i konopi zgodnie z zasadą kaskadowego wykorzystania roślin włóknistych. Celem badań było porównanie linii włóknistych, oleistych i dwucelowych lnu uprawnego (*Linum usitatissimum* L.) w kierunku ich wykorzystania do produkcji bioetanolu. Badania, które prowadziłam, skupiały się na przeprowadzeniu obróbki fizyko-chemicznej biomasy wybranych form lnu włóknistego, oleistego i dwucelowego,



a następnie analizie jej składu chemicznego przed i po obróbce oraz określeniu morfologii powierzchni biomasy lnianej. Prace badawcze zakończyły się oznaczeniem zawartości etanolu i oceną, która z form lnu uprawnego może stanowić potencjalny surowiec do otrzymywania etanolu lignocelulozowego. Wyniki powyższych badań zostały zaprezentowane w publikacji **P3**, wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego.

W 2021 roku podjęłam ścisłą współpracę z dr Łukaszem Łopusiewiczem z Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych, Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Prowadziliśmy badania w kierunku wykorzystania wyłoków z nasion roślin oleistych, które są pozostałością w procesach produkcji oleju, do otrzymywania bioetanolu. Pracowaliśmy między innymi nad czarnuszką, słonecznikiem, wiesiołkiem i sezamem. Makuchy poddawane były chemicznej obróbce wstępnej zarówno z zastosowaniem kwasu, jak i zasady oraz gorącej wody. W dalszej kolejności sprawdzano zawartość cukrów redukujących metodą Millera z kwasem dinitrosalicylowym. Obecnie trwają badania, w celu zwiększenia wydajności procesu obróbki wstępnej dla poszczególnych wyłoków, które stanowią trudny materiał badawczy.

Z kolei na początku 2022 roku, rozpoczęłam ścisłą współpracę z Katedrą Botaniki i Siedliskoznawstwa Leśnego oraz Katedrą Chemicznej Technologii Drewna, Wydziału Leśnego i Technologii Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Zainteresowała mnie możliwość wykorzystania potencjału energetycznego biomasy roślin inwazyjnych z gatunku *Reynoutria*, *Solidago* oraz *Spiraea* i zagospodarowania jej jako przyszłego surowca w procesie otrzymywania bioetanolu. Rośliny inwazyjne stanowią coraz większy problem i przynoszą duże straty przyrodnicze, a próby rozwiązania tego problemu, są niezwykle istotne w kontekście ochrony różnorodności biologicznej. W ramach tej współpracy wykonano szczegółową analizę składu chemicznego wytypowanych gatunków obcych, a także określono ciepło spalania i wartość opałową. Na koniec przeprowadzono proces otrzymywania bioetanolu z kilku gatunków roślin inwazyjnych. Opisana współpraca z Katedrą Chemicznej Technologii Drewna oraz Katedrą Botaniki i Siedliskoznawstwa, zaowocowała wydaniem publikacji o zasięgu międzynarodowym, która weszła w skład osiągnięcia naukowego (**P4**).

W czerwcu 2022 roku uzyskałam finansowanie trzyletniego projektu badawczego złożonego w ramach konkursu SONATA 17 do Narodowego Centrum Nauki, pt.: Jak skład chemiczny biomasy odpadowej z konopi siewnych (*Cannabis sativa* L.) wpływa na możliwość jej wykorzystania w bioproduktach (nr projektu 2021/43/D/NZ/01215). W projekcie tym pełnię rolę zarówno kierownika jak i wykonawcy. Celem projektu jest określenie wpływu składu chemicznego słomy jednopiennych i dwupiennych konopi siewnych na efektywność przetwarzania biomasy odpadowej jako surowca do otrzymywania zaawansowanych biopaliw i biokompozytów. Należy podkreślić, że dotychczas nie prowadzono badań nad porównaniem biomasy form jednopiennych i dwupiennych pod kątem ich wykorzystania w bioproduktach. W projekcie zaplanowane jest także wstępne określenie zasad dziedziczenia cech warunkujących wysoką jakość biomasy dla jej dalszego przerobu na podstawie analizy nowo wytworzonych linii i odmian rodzicielskich. Efektem końcowym projektu, będzie określenie optymalnych metody wykorzystania przemysłowego odpadowej biomasy konopnej. Oczekiwany rezultat to bezpośredni wpływ na zwiększenie atrakcyjności upraw konopi przemysłowych

poprzez opracowanie możliwości całkowitego, wszechstronnego wykorzystania roślin oraz poprawę ekonomiki produkcji rolnej, dzięki zagospodarowaniu biomasy odpadowej w różnych gałęziach przemysłu i stworzenie synergii pomiędzy rolnictwem i przemysłem.

W 2022 roku podjęłam także ścisłą współpracę z Katedrą Ekonomiki i Techniki Leśnej Wydziału Leśnego i Technologii Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Analiza struktury chemicznej i potencjału energetycznego roślin inwazyjnych zachęciło mnie do podjęcia kolejnego tematu, tym razem dotyczącego wykorzystania odpadowej biomasy leśnej, w tym igieł sosnowych. Igły sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) stanowią znaczącą część biomasy pochodzącej z zabiegów hodowlanych (czyszczenia i trzebieży wczesnych), którą można by zagospodarować jako surowiec do produkcji bioetanolu. Prace badawcze dotyczące tego zagadnienia skupiały się nie tylko na szczegółowej analizie składu chemicznego i przeprowadzeniu procesu pozyskiwania bioetanolu, ale także na określeniu wydajności plonu i zmian stężenia etanolu w biomacie igieł pozyskanych z drzew rosnących na glebie o różnym sposobie przygotowania i różnych metodach zagospodarowania pozostałości zrębowych. Opisana współpraca zakończyła się wydaniem publikacji, które weszła w skład osiągnięcia naukowego **(P5)**.

Pod koniec 2022 roku rozpoczęłam też ścisłą współpracę z Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowym Instytutem Badawczym, z Zakładem Roślin Oleistych – Oddziałem w Poznaniu. Jak już wspominałam we wprowadzeniu, len oleisty jest użytkowany głównie na nasiona, ale pozostająca na polu słoma odpadowa może stanowić surowiec do wykorzystania na cele energetyczne. Znając potencjał energetyczny lnu z doświadczeń badawczych prowadzonych w Dotacji Celowej w 2021 roku, poddałam biomase szczegółowym badaniom, analizując potencjał plonotwórczy oraz wydajność otrzymywania bioetanolu nowych linii lnu oleistego w porównaniu z odmianami referencyjnymi. Obecnie opracowywane są materiały, a w przyszłym roku planowane jest opublikowanie wyników badań w międzynarodowym czasopiśmie.

Jako wykonawca realizuję także prace w ramach projektów zagranicznych i krajowych, będących poza głównym nurtem moich zainteresowań badawczych. Pierwszy z nich to projekt w ramach programu Horyzont 2020 - INN-PRESSME pt. "Open innovation ecosystem for sustainable plant-based nano-enabled biomaterials deployment for packaging, transport and consumer goods" (realizowany w latach 2021-2025 przez 26 partnerów z krajów UE), którego celem jest opracowanie i wdrożenie biomateriałów i udostępnienie procesów nanotechnologicznych firmom i użytkownikom, w celu przejścia od walidacji w laboratorium do prototypów w środowiskach przemysłowych. Drugi, to projekt przyznany w ramach konkursu 1/1.1.1/2021 Szybka Ścieżka pt. „Opracowanie biodegradowalnej maseczki typu drugiego składającej się z włókien naturalnych”, którego realizacja rozpoczęła się w styczniu 2022 roku, a zakończenie przewidziane jest na koniec sierpnia br. Celem projektu jest opracowanie technologii produkcji oraz wdrożenie do produkcji częściowo biodegradowalnych i ekologicznych maseczek ochronnych. Doświadczenie badawcze z zakresu mikrobiologii przemysłowej, zdobyte podczas realizacji pracy doktorskiej, wykorzystuję w wyżej wymienionych projektach. W obu wykonuję badania mikrobiologiczne, w tym ocenę odporności wytworzonego materiału na działanie grzybów i bakterii, a także ocenę aktywności antybakteryjnej produktów względem

wybranych mikroorganizmów, w szczególności chorobotwórczych. Zajmuję się także badaniem odporności wytworzonych materiałów na działanie mikroorganizmów glebowych, co pozwala na ocenę stopnia biodegradowalności włókniny naturalnej.

Mańkowski J., Zimniewska M., Gieparda W., Romanowska B., Kicińska-Jakubowska A., Kołodziej J., Foksowicz-Flaczyk J., Rojewski S., Bujnowicz K., Przybylska P., Kwiatkowska E., Masud Alam MD., Różańska W., **Wawro A.**, Hołderna-Kędzia E. 2023. Development of a Layer Made of Natural Fibers to Improve the Ecological Performance of the Face Mask Type II. *Materials* 16(16): 5668.

W dalszej perspektywie badawczej planuję kontynuowanie prac nad pozyskiwaniem bioetanolu II generacji z biomasy lignocelulozowej. Interesującym problemem badawczym wydaje się być porównanie jednopiennych i dwupiennych genotypów konopi siewnych (*Cannabis sativa* L.) pod względem wydajności bioenergetycznej, a w ramach form dwupiennych – określenie różnic pomiędzy osobnikami męskimi (płaskoniami) i żeńskimi (głowaczami). Wyniki tych badań mogą być pomocne w optymalizacji upraw konopi przemysłowych, dając możliwość pełnego wykorzystania całych roślin i zwiększenia efektywności ekonomicznej. Ponadto ciekawa z punktu widzenia wykorzystania na cele bioenergii, jest czeremcha amerykańska, która pomimo tego, że nie znajduje się na liście gatunków inwazyjnych występujących na terenie UE, to jednak przez leśników jest traktowana jako chwast leśny i jeden z najbardziej inwazyjnych gatunków zagrażających bioróżnorodności ekosystemów leśnych. Duży przyrost biomasy tej rośliny może spowodować, że czeremcha będzie surowcem energetycznym łatwym do pozyskania w krótkim czasie. Stąd też niedawno podjęłam ścisłą współpracę z Katedrą Hodowli Lasu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, gdzie prowadzone są wieloletnie badania nad zwalczaniem czeremchy amerykańskiej, aby rozpocząć prace nad określenia jej potencjału energetycznego.

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

W 2015 roku nawiązałam ścisłą współpracę z dr. Alejandro Rodriguezem Pascuałem z Uniwersytetu w Kordobie, który umożliwił mi odbycie 2-tygodniowego stażu naukowego w Instytucie Inżynierii Chemicznej wspomnianego Uniwersytetu. Instytut ten od lat prowadzi badania m.in. w zakresie biorafinacji materiałów linocelulozowych, technologii fermentacji czy odzysku odpadów rolno-spożywczych. Wizyta naukowa na Uniwersytecie w Kordobie pozwoliła mi zapoznać się z nowatorskimi metodami badawczymi z zakresu biokonwersji różnorodnych surowców lignocelulozowych, a także ze specjalistycznym sprzętem, m.in. fermentorami półokresowymi i ciągłymi. Zdobytą wiedzę i doświadczenie wykorzystałam podczas prowadzenia prac badawczych, realizowanych w ramach realizowanej pracy doktorskiej, a także w późniejszej działalności naukowo-badawczej, w tym w projektach krajowych i zagranicznych (**Zał. 7; nr 1**).

W marcu 2022 roku odbyłam 3-tygodniowy staż naukowy w Katedrze Chemicznej Technologii Drewna Wydziału Leśnego i Technologii Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, podczas którego zdobyłam wiedzę m.in. z zakresu

obsługi specjalistycznej aparatury wykorzystywanej do oznaczania składu chemicznego różnorodnej biomasy lignocelulozowej. Poznane w czasie stażu metody analiz składu chemicznego zostały wykorzystane w badaniach opisanych w publikacji **P4**, która wchodzi w skład osiągnięcia naukowego (**Zał. 7; nr 2**).

W ramach współpracy z IHAR-PIB w marcu 2023 roku odbyłam 1-miesięczny staż naukowy, podczas którego brałam udział w pracach z zakresu genetyki i hodowli roślin oleistych w tym Inu. Podczas stażu przygotowywałam nasiona Inu oleistego do siewu w szkółkach hodowlanych, miałam także możliwość wykonywania analiz biochemicznych nasion Inu (m.in. oznaczania kwasów tłuszczowych) z wykorzystaniem chromatografii gazowej, a także spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIRS) oraz metod ekstrakcji roślinnego DNA i testów genetycznych. Zapoznałam się również z badaniami molekularnymi w tym m.in. mapowaniem genetycznym (**Zał. 7; nr 3**).

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

### 6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

W latach 2014-2018 przygotowywałam i prowadziłam zajęcia z zakresu biotechnologii środowiskowej dla uczniów klas akademickich III LO im. św. Jana Kantego w Poznaniu.

W latach 2016-2023 sprawowałam opiekę nad praktykantami/stażystami z Wydziału Rolniczego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-Państwowego Instytutu Badawczego oraz Wydziału Technologii Materiałowych i Wzornictwa Tekstyliów Politechniki Łódzkiej.

Pomimo tego, że Instytut nie prowadzi działalności dydaktycznej, uczestniczyłam jako współprowadząca w zajęciach seminaryjnych (anglojęzycznych) dla studentów II stopnia kierunku Agronomii. Przeprowadziłam także wykład akademicki oraz zajęcia w formie warsztatów w zakresie możliwości wykorzystania biomasy konopi do celów energetycznych. Zajęcia anglojęzyczne odbywały się w ramach przedmiotu Integrated Nutrient Management dla studentów IV roku kierunku Rolnictwo na Wydziale Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

### 6.2. Osiągnięcia organizacyjne

W latach 2016-2017 byłam członkiem Rady Naukowej IWNiRZ.

Od 2019 roku byłam zastępcą przewodniczącego, a od 2020 roku jestem przewodniczącą Rady Młodych Naukowców Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich - Państwowego Instytutu Badawczego.

W latach 2021-2022 byłam członkiem Komitetu Naukowego oraz Przewodniczącą Komitetu Organizacyjnego cyklicznej Ogólnopolskiej Konferencji Młodych Naukowców pt. „Nowoczesne rolnictwo dla biogospodarki” organizowanej przez Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich - Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu. Byłam głównym koordynatorem i współprowadzącą sesje referatowe i posterowe.

### 6.3. Osiągnięcia popularyzatorskie

W 2022 roku podczas III Krajowych Dni Pola w Poświętnem, odbywała się konferencja dotycząca transferu wiedzy do praktyki rolniczej pt. „Praktyczne wykorzystanie wyników badań prowadzonych na rzecz rolnictwa ekologicznego”. W trakcie wspomnianej konferencji wygłosiłam referat zamawiany pt. „Biomasa roślinna jako surowiec w procesie pozyskiwania etanolu celulozowego”.

Po uzyskaniu stopnia doktora uczestniczyłam łącznie w 17 konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych, podczas których wygłosiłam 7 referatów i zaprezentowałam 6 posterów.

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

W celu podnoszenia swoich kompetencji zawodowych i umiejętności w pierwszych latach pracy zawodowej uczestniczyłam w licznych szkoleniach, kursach oraz sympozjach.

Dwukrotnie w latach: 2013 oraz 2016 otrzymałam dotacje na badania naukowe służące rozwojowi młodych naukowców finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

W 2013 roku ukończyłam 3-semestralne niestacjonarne studia podyplomowe przygotowania pedagogicznego na Wydziale Ekonomiczno – Społecznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Od 2017 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Oddziału w Poznaniu.

W 2018 r. jako jeden z reprezentantów Instytutu, podjęłam ścisłą współpracę ze Spółką Lotos Biopaliwa sp. z o.o. (Grupa Lotos S.A.), która została udokumentowana w postaci podpisanego listu intencyjnego w zakresie planowanych wspólnych prac nad bioetanolom drugiej generacji z biomasy konopnej. Jako członek zespołu badawczego, wraz z przedstawicielami Lotos Biopaliwa, pracowałam nad przygotowaniem wspólnego projektu do Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach POIR 2014-2020 w konkursie Szybka Ścieżka. Ostateczne złożenie projektu nie doszło do skutku, ze względu na zmiany własnościowe w Grupie Lotos S.A.

Od lutego 2022 roku jestem członkiem Komitetu Redakcyjnego czasopisma Journal of Natural Fibers (wydawnictwo Taylor & Francis; IF 3.507). Pełnię także funkcję redaktora pomocniczego (Associate Editor) i biorę czynny udział w pracach redakcyjnych.

W trakcie dotychczasowej pracy naukowej, wykonałam 34 recenzje w wysokopunktowanych czasopismach międzynarodowych, takich jak: Acta Biochimica Polonica (1), Waste and Biomass Valorization (1), Biomass and Bioenergy (2), Energies (13), Processes (7), Fermentation (3), Agronomy (2), Sustainability (2), Journal of Natural Fibres (2), Horticulturae (1).

Jestem także współautorem projektu wynalazczego Know-How nr PWI/2023/4, pt. „Proces otrzymywania bioetanolu z biomasy lignocelulozowej”. Pakiet niepatentowanych informacji dotyczy opisu efektywnej metody pozyskiwania bioetanolu z różnorodnej biomasy lignocelulozowej.

**Zbiornicze zestawienie dorobku naukowego**

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje **26** oryginalnych prac twórczych, **3** prace przeglądowe, **18** posterów oraz **10** referatów konferencyjnych.

W okresie **przed uzyskaniem stopnia doktora** na mój dorobek naukowy składało się **7** oryginalnych prac twórczych i **2** prace przeglądowe. Łączna suma uzyskanych przeze mnie punktów zgodnie z listą czasopism MNiSW wynosiła **99**, a sumaryczny Impact Factor był równy **3,573**. Znaczne zwiększenie dorobku naukowego nastąpiło po uzyskaniu stopnia doktora.

**Po uzyskaniu stopnia doktora** na mój opublikowany dorobek naukowy składają się **2** prace indywidualne i **17** prac współautorskich w tym **1** współautorstwo w rozdziale monografii, z czego w **10** publikacjach jestem pierwszym autorem lub autorem korespondencyjnym. Spośród **18** oryginalnych prac twórczych i **1** pracy przeglądowej, **15** zostało wydanych w języku angielskim, w tym **17** w czasopismach z „Listy Filadelfijskiej”. Łączna suma uzyskanych przeze mnie punktów zgodnie z listą czasopism MEiN z uwzględnieniem cyklu powiązanych tematycznie publikacji wynosi **1660**. Sumaryczny Impact Factor moich publikacji według listy Journal Citation Reports (JCR) wynosi **43,535**.

Opublikowane artykuły wg bazy *Web of Science* cytowane były **76** razy. Mój indeks Hirscha wg bazy *Web of Science* wynosi **5** (na dzień 10.07.2023).

.....  
(podpis wnioskodawcy)