Dr hab. inż. Piotr Dziugan, prof. PŁ

Łódź, 27 Listopad 2022

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Trawczyńskiej

Nowoczesne metody kontroli procesu dla zapewnienia jakości i wydajności produkcji etanolu

Recenzja została opracowana na zlecenie Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Promotor rozprawy doktorskiej: Prof. dr hab. inż. Henryk Jeleń.

I. Zawartość rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje 215 stron w jednym tomie; składa się z następujących części:

1. Spis treści
2. Streszczenie
3. Abstrakt
4. Wstęp
5. Część literaturowa
6. Cel i zakres pracy
7. Metody badań
8. Część wynikowa
9. Wnioski
10. Bibliografia
11. Załączniki

II. Cel i zakres rozprawy

Praca jest podzielona na część badawczą i wdrożenie przemysłowe, przy czym **celem naukowym** jest „wprowadzenie nowoczesnych technik analitycznych do kontroli procesu technologicznego i zastąpienie dotychczasowych co umożliwi lepsze poznanie procesu, a w konsekwencji poprawę jego wydajności oraz stabilizację parametrów jakościowych i ilościowych produktu finalnego".

Celem utylitarnym jest „Kontrola procesów fermentacji przy użyciu wdrożonych metod instrumentalnych w instalacji półprzemysłowej opracowanej w zakładzie do prowadzenia fermentacji klasycznej oraz pod próżnią.

Zakres rozprawy został przedstawiony w streszczeniu. Praca koncentruje się na opracowaniu, rozwoju i implementacji przemysłowej opracowanej metodyki monitoringu surowców, produktów i procesów fermentacyjnych.

Metody zostały wdrożone do harmonogramu badań laboratorium zakładowego Ima Polska S.A., zastępując dotychczasowe klasyczne rozwiązania. Opracowane metody pozwalają uzyskać znacznie szersze spektrum wyników i charakterystykę zmian poszczególnych związków w krótszym czasie niż dotychczas. Wpływają one na stabilizację parametrów technologicznych oraz poprawę i stabilność produktu finalnego.

Cel rozprawy jest sformułowany w sposób jasny i precyzyjny, a zawarty w recenzowanej rozprawie doktorskiej materiał badawczy, w postaci kompleksowo przeprowadzonych badań i analiz, w pełni odpowiada sformułowanemu celowi oraz zakresowi rozprawy.

III. Treść rozprawy

W **Streszczeniu** przedstawionym w języku angielskim i polskim, Autorka omawia zakres zrealizowanych prac.

W Rozdziale **Część literaturowa**, Doktorantka omawia historię produkcji alkoholu etylowego oraz przepisy prawne, rozporządzenia i normy regulujące. Opisała surowce wykorzystywane do produkcji alkoholu etylowego z podziałem na: zbożowe, zawierające cukier oraz przemysłowe. Przedstawiła proces technologiczny produkcji alkoholu etylowego z uwzględnieniem produkcji z surowców skrobiowych oraz produktów fermentacji etanolowej. Scharakteryzowała proces technologiczny produkcji alkoholu etylowego w zakładzie Ima Polska S.A. oraz metodologię kontroli procesu fermentacji alkoholowej..

Rozdział **Cel i zakres pracy** poświęcono przedstawieniu omówionym już celom naukowemu i utylitarnemu oraz zakresowi pracy.

W rozdziale **Metody badań**, przedstawiono opis opracowanych metod badań: identyfikacji lotnych zanieczyszczeń spirytusu metodą chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID); nielotnych produktów fermentacji alkoholowej: kwasów organicznych, cukrów redukujących, dekstryn granicznych, glicerolu oraz alkoholu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC); składu surowców zbożowych: białka, skrobi, tłuszczu, wilgotności, popiołu, włókna surowego przy użyciu spektrofotometrii w bliskiej podczerwieni (NIR), w odniesieniu do metod referencyjnych; aminokwasów techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz analizy związków lotnych za pomocą kompletnej dwuwymiarowej chromatografii gazowej ze spektrometrią mas czasu przelotu (GCxGC-ToFMS). Zaprezentowano kryteria opracowanych metod, przedstawiono aparaturę i proces analizy. Przedstawiono również obszerną walidację metod przeprowadzoną w celu scharakteryzowania najważniejszych parametrów, takich jak: określenie limitów oznaczalności i detekcji, określenie liniowości, powtarzalności odtwarzalności oraz specyficzności opracowanej metody.

Rozdział **Część wynikowa** poświęcono przedstawieniu wdrożenia opracowanych metod badawczych w zakładzie Ima Polska SA w celu kontroli procesu technologicznego. Wykorzystano je do oceny surowców na etapie przyjęcia do zakładu (metoda spektrofotometrii w bliskiej podczerwieni, NIR). Opracowana metoda pozwoliła określić zależności między stosowanym surowcem a wydajnością procesu technologicznego. Opracowane metody kontroli nielotnych produktów oraz aminokwasów w procesie fermentacji etanolowej (metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, HPLC) wykorzystano do kontroli jakościowej i ilościowej zanieczyszczeń powstających w procesie fermentacji. Metody oparte na chromatografii gazowej (GC) posłużyły zarówno do kontroli procesów,

destylacji, rektyfikacji oraz odwadniania, jak i do kontroli produktów finalnych zgodnie z normami prawnymi oraz specyfikacjami klienta. Ponadto określono przydatności metody GC x GC-MS do monitorowania związków lotnych i ich roli w procesie fermentacji oraz określono parametry fermentacji przy użyciu wdrożonych metod instrumentalnych w instalacji półprzemysłowej opracowanej w zakładzie do prowadzenia fermentacji klasycznej oraz pod próżnią.

Przeprowadzone badania umożliwiły wdrożenie nowych metod badawczych do harmonogramu badań laboratorium zakładowego Ima Polska S.A., zastępując dotychczasowe klasyczne rozwiązania. Opracowane metody pozwalają uzyskać znacznie szersze spektrum wyników i charakterystykę zmian poszczególnych związków w krótszym czasie niż dotychczas. Wpływają one na stabilizację parametrów technologicznych oraz poprawę i stabilność produktu finalnego.

Rozprawę kończy rozdział **Wnioski** gdzie w sposób syntetyczny podsumowano uzyskane w rozprawie wyniki oraz sformułowano pięć najistotniejszych wniosków.

Bibliografia została podzielona na trzy części. Pierwsza zawiera 141 pozycji literaturowych w tym 42 pozycje z okresu ostatnich 10 lat. Druga część zawiera wykaz 16 aktów prawnych UE i polskich, trzecia przywołuje 50 aktów normatywnych powiązanych z tematyką rozprawy.

Ostatnim elementem pracy są **załączniki** w liczbie 10 w formie tabel z wynikami badań i 8 schematów technologicznych

IV. Oryginalność rozprawy

Rozprawa cechuje się logicznym, uporządkowanym układem treści, który odbiega nieco od standardu dla typowych prac eksperymentalnych o charakterze naukowo-badawczym. Jest to podyktowane specyfiką doktoratu wdrożeniowego, który z założenia musi być oparty o rozwiązanie konkretnego celu ważnego z punktu technologii stosowanej w zakładzie przemysłowym. I ta praca dokładnie wpisuje się w założenia stawiane pracom wdrożeniowym. W pracy wyraźnie określono jakie problemy kierownictwo zakładu wskazało doktorantce do rozwiązania i na tych zagadnieniach opiera się praca doktorska Pani Aleksandry Trawczyńskiej.

Technologia produkcji alkoholu etylowego jest bodaj najlepiej rozpracowanym procesem biotechnologicznym, a jego produkcja i konsumpcja rozpowszechnione są na całym świecie. Ma to swoje konsekwencje w ogromnej różnorodności napojów alkoholowych i dużej konkurencji producentów na rynku światowym i regionalnym. Pomimo dużych starań w rozwoju wolnego rynku coraz częściej mamy do czynienia z silnym protekcjonizmem i ochroną rynków lokalnych. Można to osiągnąć stosując odpowiednią politykę celną i podatkową. Nowym mechanizmem protekcjonistycznym są wprowadzane restrykcyjne normy jakościowe, które skutecznie ograniczają dostęp części przedsiębiorstw do danego rynku. Z drugiej strony w dążeniu do poprawy jakości swoich wyrobów, odbiorcy alkoholu przemysłowego także zwracają coraz większą uwagę na jego jakość.

Biorąc pod uwagę znaczenie gospodarcze etanolu, europejskie i krajowe instytucje regulacyjne wprowadziły szereg aktów prawnych i norm dotyczących obrotu i jakości produkowanego etanolu. Doktorantka w swojej pracy bardzo sumiennie zebrała zarówno akt prawne i normy w zestawieniu bibliograficznym co jest cennym akcentem w rozprawie. Normy obowiązujące producentów etanolu niejednokrotnie są dość zachowawcze i często nie nadążają za rosnącymi wymaganiami odbiorców.
Z drugiej strony obserwujemy niesamowicie dynamiczny rozwój technik analitycznych pozwalających z bardzo dużą precyzją analizować badane surowce i produkty. Jednostkami wiodącymi pod względem zaawansowanej analityki są ośrodki naukowe, które w pierwszej kolejności testują i wprowadzają nowe techniki. Jednak przedsiębiorstwa coraz częściej mając na uwadze omówione powyżej uwarunkowania rynkowe, sięgają po zaawansowaną analitykę wyprzedzając obowiązujące unormowania. I temu właśnie jest poświęconą praca Pani Aleksandry Trawczyńskiej..

V. Wartości poznawcze pracy

Istotna wartość poznawcza recenzowanej rozprawy to opracowanie pięciu metod analitycznych ukierunkowanych ściśle na technologię wytwarzania etanolu metodą fermentacyjną. Obejmują one opracowanie metody badania składu surowców zbożowych: białka, skrobi, tłuszczu, wilgotności, popiołu, włókna surowego przy użyciu spektrofotometrii w bliskiej podczerwieni (NIR) w odniesieniu do metod referencyjnych, a następnie wdrożenie opracowanej metody do badań surowców na etapie przyjęcia do zakładu. Nowa metoda pozwala na określenie zależności między stosowanym surowcem a wydajnością procesu technologicznego. Opracowanie metody badania identyfikacji lotnych zanieczyszczeń spirytusu metodą chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID), a następnie wdrożenie opracowanej metody do badań zakładowych w celu kontroli jakościowej i ilościowej zanieczyszczeń powstających w procesie: fermentacji, destylacji, rektyfikacji oraz odwadniania, jak i kontroli produktów finalnych zgodnie z normami prawnymi oraz specyfikacjami klienta. Opracowanie metody badania nielotnych produktów fermentacji alkoholowej: kwasów organicznych, cukrów redukujących, dekstryn granicznych, glicerolu oraz alkoholu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej oraz wdrożenie opracowanej metody do badań kontroli procesu fermentacji alkoholowej. Adaptację metody badania aminokwasów techniką HPLC, a następnie wdrożenie metody do kontroli procesu fermentacji alkoholowej. Określenie przydatności metody GCxGC-ToFMS do monitorowania związków lotnych i ich roli w procesie fermentacji..

Zaprezentowane w rozprawie rezultaty wnoszą istotny wkład poznawczy w dziedzinie Technologia Żywności i Żywienia i dla praktyki przemysłowej produkcji etanolu.

VI. Wartości użytkowe pracy

Recenzowana rozprawa ma niewątpliwie walor aplikacyjny, wynikający z aktualności poruszanych zagadnień, związanych z wprowadzaniem wysokich wymagań jakościowych dla etanolu konsumpcyjnego. Na szczególną uwagę zasługują rozwiązania:

- Wprowadzenie analiz metodami instrumentalnymi do kontroli procesu wytwarzania spirytusu

i badania jego jakości co przełożyło się na lepszą kontrolą procesów technologicznych oraz na poprawą jakości produktu końcowego. W szczególności umożliwiło porównanie ilościowe kluczowych metabolitów fermentacji klasycznej z fermentacją pod próżnią.

- Wprowadzenie kontroli składu surowca użytego do fermentacji etanolowej metodą spektrofotometrii w bliskiej podczerwieni (NIR) - zwiększa efektywność ekonomiczną procesu, pozwala uzyskać stałą wydajność etanolu oraz wpływa na jakość produktu.
- Wprowadzenie do analiz techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej pozwoliło na kontrolę kluczowych dla monitorowania procesu fermentacji parametrów – zawartości węglowodanów, kwasów organicznych, etanolu, dekstryn granicznych. Pozwala to na wykrywanie niestabilności procesów,
- Modernizacja linii produkcji alkoholu surowego, alkoholu etylowego rektyfikowanego oraz alkoholu etylowego odwodnionego o odbiór frakcji (przedgony/pogony) wpłynęła na poprawę jakości produktu końcowego, co wykazały metody użyte do monitorowania procesu destylacji i rektyfikacji oparte na GC.

Podsumowując, pragnę jeszcze raz podkreślić wartość użyteczną przeprowadzonych badań porównawczych i wdrożenia do praktyki przemysłowej nowych metodyk monitorowania procesu technologicznego produkcji etanolu..

VII. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

VII. 1. Uwagi o charakterze merytorycznym

W rozprawie zaprezentowano oryginalne oraz kompleksowe ujęcie zagadnienia co stanowi niewątpliwie osiągnięcia naukowe Doktorantki. Poniższe uwagi nie umniejszają mojej pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej.

Uwagi ogólne:

1. Na stonie 99 znajduje się taki opis – „Ponadto z przedstawionych wyników można wywieść, że duży wpływ na wydajność procesu fermentacji ma wilgotność kukurydzy. Zahamowanie rozwoju bakterii mlekowych i octowych przełożyło się na zwiększenie wydajności etanoli o kilka procent”. W pracy Doktorantka nie przedstawiła badań mikrobiologicznych, które uzasadniały by powyższe twierdzenie. Bardzo proszę o rozwinięcie tego tematu.

2. Bardzo proszę o wyjaśnienie co Pani miała na myśli pisząc akapit na stronie 113 - Na etapie fermentacji etanolowej (KF) zauważalny był wzrost aminokwasów, wynikający z rozkładu skrobi wskutek wzrostu w wywarze ilości białka o raz aminokwasów. Drożdże wymagają w procesie propagacji azotu, czyli zawartość aminokwasów w fermentującym procesie fermentacji uważana jest za jeden z najważniejszych czynników wpływające na skład wyższych alkoholi.

3. Wracając do fermentacji etanolowej, w pracy porównuje doktorantka proces w warunkach ciśnienia atmosferycznego oraz pod obniżonym ciśnieniem i w podsumowaniu twierdzi, że „w fermentacji tempo wzrostu drożdży różni się w obu warunkach, natomiast w przypadku

fermentacji próżniowej gęstość komórek jest większa niż w fermentacji w atmosferze. Szybsza produkcja alkoholu doprowadziła do lepszego wykorzystania cukru w fermentacji pod próżnią" (str.146). Proszę o podanie na podstawie jakich danych wnioskuje Pani o tempie wzrostu drożdży, czy może Pani podać czasy trwania lag fazy i maksymalnej szybkości wzrostu tych mikroorganizmów?

Myślę, że porównanie parametrów mikrobiologicznych z fizykochemicznymi dało by pełniejszy obraz do porównania tych dwu różnych procesów.

Uwagi drobniejsze:

Praca zawiera nieliczne błędy literowe oraz sformułowania, które mogą pochodzić ze slangu przemysłowego jednak w rozprawie doktorskiej powinno się ich unikać.

1. Str. 103. „Całkowicie wyczerpana z alkoholu zawiesina zwana już wywarem".
2. Str. 103. „uśrednianie kadzi fermentacyjnej."
3. Str. 140 „zmiany zachodzące w kwasach organicznych"
4. Str. 144 „Z przedstawionego wykresu widać lepszy proces scukrzania."
5. Str. 139 i 140 czy rysunki 42 i 43 nie są zamienione ?
6. Na rysunkach 42 i 43 brak jest opisów osi.
7. Opisy zamieszczone w Części wynikowej pracy od strony 115 do 119, oraz opis wpływu metanolu na organizm człowieka lepiej by pasowały w części literaturowej.
8. W wielu miejscach Doktorantka stosuje skróty myślowe jak np. wzrost aminokwasów na str.113. Bardziej prawidłowo należało by napisać wzrost stężenia, wzrost zawartości aminokwasów itp. Ta maniera pomijania zwrotu „zawartość" występuje częściej w pracy i warto przy przygotowywaniu publikacji zwrócić na to uwagę.

VII. 2. Uwagi porządkowe

Rozprawa doktorska przygotowana jest starannie pod względem edytorskim i językowym. Struktura i plan pracy są poprawne.

VIII. Uwagi końcowe

Praca napisana jest w sposób zrozumiały, zamieszczono w niej wiele szczegółowych informacji pozwalających na dokładne przeanalizowanie materiału badawczego. Powyższe uwagi krytyczne mają na celu jedynie pomoc w wykorzystaniu przedstawionego materiału dla dalszych prac nad zagadnieniem przemysłowego monitoringu procesu wytwarzania etanolu.

IX. Wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Przedstawiona do oceny rozprawa przygotowana w ramach „doktoratu wdrożeniowego" jest wartościową pracą naukową. Doktorantka wykazała się umiejętnością formułowania problemów badawczych i rozwiązywania ich przy użyciu metod eksperymentalnych właściwych przedstawianej dziedziny, w tym nowoczesnych technik analitycznych. Na szczególne wyróżnienie zasługuje oryginalne porównanie przebiegu fermentacji pod ciśnieniem atmosferycznym i w warunkach

obniżonego ciśnienia w instalacji ćwierćtechnicznej.

Podsumowując, pozytywnie oceniam dorobek Doktorantki w zakresie technologii żywności i żywienia.

Przedstawiona rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz pokazuje, że kandydatka posiada ogólną wiedzę teoretyczną i doświadczalną w dyscyplinie naukowej - Technologia Żywności i Żywienia w wymaganym zakresie. Potwierdza, że Doktorantka opanowała również umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Zaprezentowana w rozprawie analiza stanowi rozwiązanie zadania naukowego i spełnia w moim przekonaniu wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzam, że:

Rozprawa doktorska **mgr inż. Aleksandry Trawczyńskiej** spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone przez Ustawę z dnia 3 lipca 2018 r. *Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2018 r., poz.1669), Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2020 r., poz. 85); **i wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.**

Piotr Dziugan

Dr hab. inż. Piotr Dziugan prof. PŁ