

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. **Agnieszki Garlickiej**

pt. „ **Wpływ hydrodynamicznej dezintegracji zagęszczonych osadów nadmiernych na przebieg i efektywność procesu fermentacji metanowej**”

wykonanej pod kierunkiem Promotora dr hab. inż. Adama Muszyńskiego, prof. uczelni oraz Promotora pomocniczego - dr inż. Katarzyny Umiejewskiej, prof. uczelni na Wydziale Instalacji Budowlanych, Hydrotechniki i Inżynierii Środowiska Politechniki Warszawskiej w Warszawie

1. Podstawa prawna recenzji

Podstawą wykonania recenzji była uchwała Rady Dyscypliny Inżynierii Środowiska, Górnictwa i Energetyki nr 45/III/2022 przekazana pismem Przewodniczącego Dyscypliny prof. dr hab. inż. Tomasza Wiśniewskiego Nr. RND-IŚGiE/43/2022 z dnia 28 kwietnia 2022r.

2. Ogólna charakterystyka rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. **Agnieszki Garlickiej** pt. „**Wpływ hydrodynamicznej dezintegracji zagęszczonych osadów nadmiernych na przebieg i efektywność procesu fermentacji metanowej**” została wydana drukiem jako 139-stronicowe zwarte opracowanie. W dysertacji wyróżniono: wstęp, przegląd literatury, cele i zakres pracy, metodykę badań, analizę wyników wraz z dyskusją i wnioski. Na końcu zamieszczono spis literatury, rysunków i tabel natomiast na początku - streszczenie w języku polskim i angielskim.

We *Wstępie* nakreślono problematykę przeróbki osadów ściekowych z odzyskiem energii jaką jest fermentacja metanowa i jej modyfikacje. Następnie na 20 stronach zamieszczono przegląd literatury podzielony na dwa rozdziały. W części metodycznej opisano zakres badań, metodykę badań technologicznych, stanowiska badawcze, metodykę analityczną, metodologię badań mikrobiologicznych oraz metody obliczeniowe. W punkcie 6. na 65 stronach opisano wyniki badań, ich dyskusję oraz na podstawie wyników badań sformułowano wnioski. W spisie literatury znajduje się 197 pozycji; w tym 172 – zagranicznych co stanowi 87%. Większość cytowanych prac zostało opublikowane w ostatnich latach. W spisie literatury znajduje się 5 współautorskich publikacji Doktorantki w tematyce związanej z badaniami opisanymi w dysertacji. Proporcja pomiędzy opisem danych literaturowych a opisem wykonanych eksperymentów i wyników jest właściwa (1:3). Uwzględniając powyższe można stwierdzić, że układ pracy jest prawidłowy i zgodny z przyjętymi zasadami redagowania rozpraw doktorskich.

3. Ocena szczegółowa rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Garlickiej została zatytułowana „**Wpływ hydrodynamicznej dezintegracji zagęszczonych osadów nadmiernych na przebieg i efektywność procesu fermentacji metanowej**”. Jak już pisano, informacje zaczerpnięte z literatury podzielono na dwa rozdziały, w których kolejno scharakteryzowano proces fermentacji metanowej oraz metody dezintegracji osadów ściekowych. W opisie fermentacji metanowej stosowanym do przeróbki osadów ściekowych i innych odpadów biodegradowalnych przedstawiono zalety i wady tego procesu. Jest on stosowany do rozkładu złożonych związków organicznych zawartych w osadach ale jednocześnie jest źródłem energii odnawialnej pochodzącej z rozkładu tych związków. Przedstawiono poszczególne fazy procesu oraz opisano czynniki mające wpływ na jego przebieg. Wśród czynników abiotycznych wymieniono wewnętrzne i zewnętrzne oraz parametry procesowe, podając najkorzystniejsze warunki dla prawidłowego przebiegu procesu. Opisano także konsorcja mikroorganizmów (bakterie, archeony), które odgrywają najważniejszą rolę w przemianach związków organicznych występujących w ustalonej kolejności. W tabeli zestawiono fazy procesu i przypisane im grupy ekofizjologiczne mikroorganizmów z podziałem na domeny, typ, klasę, rząd, rodzinę i rodzaj. Więcej szczegółowych informacji podano w odniesieniu do metanogenów uwzględniając ich udział w mezofilowej i termofilowej fermentacji osadów, odpadów lub ich mieszanin. W drugim rozdziale przeglądowym opisano procesy dezintegracji substratów kierowanych do fermentacji. Poszczególnym metodom dezintegracji przyporządkowano zalety i wady. Wśród metod mechanicznych wymieniono nieprawidłowo wirówki dezintegracyjne i młyny kulowe, które są urządzeniami (nie metodami). Schematycznie przedstawiono oczyszczalnię ścieków wraz z zaznaczonymi punktami stosowania procesu dezintegracji osadów. Cennym elementem tej części pracy są informacje dotyczące energochłonności procesu dezintegracji osadów. Dezintegracja jest stosowana w celu zwiększenia efektywności produkcji biogazu/metanu i ubytku związków organicznych, ale tylko w nielicznych badaniach uwzględnia się energochłonność procesu. W jeszcze mniejszej ilości eksperymentów uzyskiwano dodatni bilans energii. Nieliczne są także szczegółowe badania mikrobiologiczne bioróżnorodności zbiorowisk mikroorganizmów, które biorą udział w procesie fermentacji, oparte o amplifikację DNA. Uzasadnia to podjęcie badań opisanych w rozprawie.

Po zapoznaniu się z przedstawionym przeglądem danych literaturowych można stwierdzić, że wszystkie aspekty zagadnienia ściśle związanego z przedmiotem badań własnych zostały wnikliwie rozpoznane i opisane przez Doktorantkę. Przegląd literatury oparty na aktualnych, głównie zagranicznych artykułach jest wykonany i przedstawiony ze szczególną starannością. Świadczy to o dobrych predyspozycjach Autorki do zgłębiania tematu. Dokonano bowiem szczegółowej analizy dotychczasowych doniesień na podstawie szerokiego przeglądu publikacji innych naukowców, cytując przy tym prace współautorskie.

Po przeglądzie literatury wprowadzającym czytelnika w tematykę pracy, sformułowano cel, tezę i zakres pracy. Celem głównym była „ocena możliwości zwiększenia efektywności fermentacji metanowej poprzez zastosowanie procesu hydrodynamicznej dezintegracji zagęszczonych osadów nadmiernych przed ich wprowadzeniem do komory fermentacyjnej”. Tezę natomiast sformułowano w następujący sposób: „Proces hydrodynamicznej dezintegracji zagęszczonych osadów nadmiernych zwiększa efektywność fermentacji metanowej przy zachowaniu dodatniego bilansu energetycznego”. Uwzględniając dane dotyczące intensyfikacji procesu fermentacji opisane w literaturze obliczanie bilansu energetycznego stanowi ważny element przeprowadzonych badań. Zakres badań obejmował:

- Ocenę wpływu dezintegracji hydrodynamicznej zagęszczonych osadów nadmiernych oraz przefermentowanych na przebieg i efektywność procesu fermentacji metanowej
- Ocenę wpływu dezintegracji hydrodynamicznej zagęszczonych osadów nadmiernych i kiszonki z kukurydzy na przebieg i efektywność procesu fermentacji/kofermentacji
- analizę zbiorowisk mikroorganizmów odpowiedzialnych za proces fermentacji metanowej osadów i mieszaniny osadów z kiszonką kukurydzy
- ocenę wpływu dezintegracji hydrodynamicznej zagęszczonych osadów nadmiernych na reflokulację.

W kolejnym rozdziale (piątym) opisano koncepcję badań, scharakteryzowano materiały badawcze, aparaturę oraz przebieg dezintegracji i badań technologicznych. Następnie opisano metodykę analityczną stosowaną podczas badań czyli oznaczanie wskaźników fizykochemicznych wody, badania mikrobiologiczne oraz metodologię analizy obrazu. Przedstawiono także metody obliczeniowe stosowane do obróbki wyników. Koncepcję badań przedstawiono w tabeli wyszczególniając do każdego etapu cele cząstkowe, sposób realizacji i rezultaty. Badania podzielono na 5 części (16 serii badawczych) zróżnicowanych pod względem gęstości energii, substratu poddawanego dezintegracji, sposobu dezintegracji oraz rodzaju substratu poddawanego fermentacji metanowej. Badania prowadzono z wykorzystaniem osadów z trzech oczyszczalni ścieków o zróżnicowanej wartości RLM. Brakuje jednak informacji czy pobrano próbki jednokrotnie, czy wszystkie eksperymenty były wykonane z wykorzystaniem osadów z trzech oczyszczalni, a oznakowanie próbek jest dość skomplikowane. Dezintegrację prowadzono z użyciem dwóch aparatów różniących się konstrukcją. Do badań technologicznych posłużyły dwa fermentory laboratoryjne oraz stanowisko do wyznaczania potencjału wytwórczego metanu złożone z 15 reaktorów z opomiarowaniem pozwalającym na pomiar metanu, temperatury i ciśnienia. W opisie badań technologicznych wyszczególniono jedynie dwa etapy badań nad produkcją biogazu. W pierwszym proces fermentacji prowadzono po uprzedniej dezintegracji osadu nadmiernego, który mieszano z surowym i z inokulum. W drugim – dezintegrację stosowano dla osadów przefermentowanych w pierwszym etapie. W celu sprawdzenia reflokulacji, dla wybranych próbek przeprowadzono badania mikroskopowe kłaczek osadów dezintegrowanych oraz nie poddawanych temu procesowi. W badaniach fizykochemicznych

wykonywano oznaczenia pH, ChZT, zasadowości, stężenia LKT i azotu amonowego w cieczach nadosadowych. Wyznaczono także zawartość suchej masy, w tym – masy organicznej oraz ilość biogazu i jego składników takich jak CH₄, CO₂, O₂, H₂, H₂S. Badania mikrobiologiczne bioróżnorodności zbiorowisk mikroorganizmów prowadzone były poza uczelnią w ramach współpracy z naukowcami z uczelni duńskiej. Metodologię oceny reflokulacji poprzez analizę obrazu wykonano we współpracy z naukowcami z innego Wydziału Politechniki Warszawskiej. Wyniki badań analitycznych zostały wykorzystane do obliczeń matematycznych stopnia dezintegracji, wydajności uwalniania związków organicznych z kłaczków osadu czynnego, jednostkowej produkcji biogazu i metanu oraz zmiany tych wartości, a także stężenia wolnego amoniaku. Z punktu widzenia technologicznego zwykle podawane są także wyniki obliczeń produkcji biogazu/metanu w odniesieniu do suchej masy organicznej oraz stopień rozkładu substancji organicznych podczas procesu fermentacji/kofermentacji. Do obróbki statystycznej otrzymanych wyników badań zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA (testy Levene'a, Tukeya) w programie Statistica.

W punkcie 6. zawarto opis wyników i ich dyskusję. Punkt ten podzielono na cztery podpunkty odpowiadające zakresowi badań. W podpunkcie 6.1 opisano wpływ hydrodynamicznej dezintegracji osadów nadmiernych oraz przefermentowanych prowadzonej przy różnej wartości gęstości energii na proces fermentacji metanowej. W pierwszej kolejności opisano dezintegrację osadów nadmiernych przy gęstości energii wynoszącej 70, 140 i 210 kJ/L. Przebieg fermentacji monitorowano kontrolując stężenie azotu amonowego, wolnego amoniaku, pH, LKT, zasadowość przez okres 23, 27 lub 31 dób w 2-dobowych przedziałach czasowych. Codziennie dokonywano pomiaru objętości biogazu/metanu, a wyniki przedstawiono na przejrzystych wykresach. Również w formie wykresów przedstawiono wartości obliczeniowe sumarycznej ilości biogazu oraz metanu, produkcję biogazu w odniesieniu do suchej masy organicznej. Wyznaczono ponadto zależność wzrostu biogazu/metanu w przypadku dezintegracji substratu od energii właściwej oraz stopnia dezintegracji. Ze względu na niejednoznaczne wyniki i ujemny bilans energetyczny procesu, przeprowadzono eksperyment polegający na zastosowaniu dezintegracji osadów przy mniejszych wartościach gęstości energii (10, 70 kJ/L) oraz dezintegracji osadów przefermentowanych w warunkach laboratoryjnych i ponownej ich fermentacji. Proces fermentacji kontrolowano wykonując wszystkie wybrane wskaźniki. Otrzymane wyniki także nie były jednoznaczne, co potwierdza także analiza statystyczna. W następnej kolejności (pkt.6.2) opisano wyniki nad wpływem hydrodynamicznej dezintegracji na przebieg procesu kofermentacji mieszaniny osadów ściekowych i kiszonki kukurydzy. Badania prowadzono dla dwóch proporcji zmieszania oraz dezintegracji jednego lub obu składników. Odnotowano wzrost produkcji metanu w granicach 9-15%, ale nie uzyskano dodatniego bilansu energetycznego. W celu weryfikacji otrzymanych wyników podjęto próbę wyjaśnienia przyczyny tego zjawiska. Przeprowadzono porównawcze badania mikroskopowe struktury kłaczków osadu poddawanych lub nie dezintegracji hydrodynamicznej. Analiza obrazu wykonana została metodą

autorską. Wykazano, że jest możliwa jest reflokulacja i ponowne łączenie kłaczków osadu po upływie 24 godzin od dezintegracji a stopień reflokulacji zależy od charakterystyki osadów. W ostatniej części badań wykonano identyfikację zbiorowisk mikroorganizmów, które biorą udział w procesie fermentacji mezofilowej. Badania te stanowią znaczny wkład w zakres analityczny eksperymentów i były możliwe dzięki współpracy z zagranicznym ośrodkiem naukowym. Są cennym uzupełnieniem analiz fizyczno-chemicznych substratów poddawanych mezofilowej fermentacji. Badania te prowadzono metodą sekwencjonowania amplikonu DNA. Bioróżnorodność oceniono na podstawie obliczonych wartości wskaźnika Shannona. Wykryto 38 typów drobnoustrojów, 483 rodzaje, 578 gatunków. Spośród tej ilości bakterie stanowiły znaczną większość (35 typów, 471 rodzajów, 561 gatunków). Pozostałe mikroorganizmy sklasyfikowano jako archeony (3 typy, 12 rodzajów, 17 gatunków). Porównanie względnej liczebności bakterii i archeonów przedstawiono w formie wykresu pudełkowego. Porównano bioróżnorodność (mikroorganizmów, bakterii, archeonów) na podstawie ww. wskaźnika. Analiza porównawcza zbiorowisk mikroorganizmów sporządzona na podstawie analizy głównych składowych PCA wykazała zależność pomiędzy ich strukturą a charakterystyką substratu (właściwości fizyczno-chemiczne osadów, parametry procesu fermentacji w różnych oczyszczalniach). Jednak skład mikrobioty pod względem głównych grup bakterii był stabilny– wykazano, że dominowało 5 typów bakterii stanowiąc 57-72% wszystkich drobnoustrojów. Należy podkreślić, że wśród zidentyfikowanych gatunków bakterii zwykle występujących w warunkach mezofilowej fermentacji wykryto także takie, których funkcja nie została dotychczas dokładnie określona w warunkach beztlenowych. Były też takie gatunki, które występowały licznie jedynie w substratach pobranych z konkretnego obiektu. Bioróżnorodność mikroorganizmów z domeny metanogenów była mniejsza niż bioróżnorodność bakterii. Dominowały archeony z pięciu rodzajów metanogenów chociaż zidentyfikowano kilkanaście gatunków. W tym przypadku również, podobnie jak w odniesieniu do bakterii, odnotowano występowanie konkretnych gatunków specyficznie w próbkach z różnych obiektów. Szeroka analiza mikrobiologiczna z wykorzystaniem sekwencjonowania nie potwierdziła znaczącego wpływu procesu dezintegracji na skład mikrobioty ale wykazała, że skład zbiorowiska mikroorganizmów zależy od właściwości fizyczno-chemicznych substratu poddawanego fermentacji.

Końcowy punkt rozprawy to rozdział zatytułowany *Wnioski*. Sformułowano 6 następujących wniosków, które dotyczą przeprowadzonych eksperymentów:

- 1. Wniosek potwierdza wpływ dezintegracji hydrodynamicznej osadów nadmiernych na wzrost jednostkowej produkcji biogazu i metanu (do 152 %) lecz przy stosunkowo wysokich wartościach gęstości energii (140, 210 kJ/L). Jednak nie uzyskano dodatniego bilansu energetycznego.
- 2. wniosek dotyczy reflokulacji, jako powodu braku wzrostu produkcji metanu przy niskich tzn. 10, 35 i 70kJ/L wartościach gęstości energii

- 3. wniosek dotyczy możliwości uzyskania 15% wzrostu produkcji biogazu podczas kofermentacji mieszaniny osadów ściekowych i kiszonki kukurydzy uprzednio poddanych dezintegracji hydrodynamicznej
- 4. Wniosek wskazuje na możliwość uzyskania dodatkowej ilości biogazu podczas fermentacji osadów uprzednio przefermentowanych po ponownej dezintegracji hydrodynamicznej
- 5. Wniosek dotyczy zależności składu zbiorowisk mikroorganizmów od pochodzenia inokulum i rodzaju substratu
- 6. Dotyczy analizy mikrobiologicznej z wykorzystaniem sekwencjonowania genu 16SrRNA, która wskazała że niezależnie od substratów, inokulum i parametrów procesowych dominowały bakterie należące do 5 typów i archeony – 2 rzędów metanogenów a zbiorowiska bakterii charakteryzowały się większą bioróżnorodnością niż archeony.

Uwzględniając bardzo szeroki zakres badań mikrobiologicznych można było więcej informacji o tych badaniach zamieścić we wnioskach końcowych. Analizując treść pracy, opis wyników i podsumowanie należy stwierdzić, że teza została w części udowodniona, cele zostały osiągnięte i udokumentowane wynikami badań. Na podkreślenie zasługuje zakres badań, który jest bardzo szeroki, a do badań pobierano materiały z czterech obiektów (trzech oczyszczalni ścieków i gospodarstwa produkującego kiszonkę kukurydzy). Doktorantka pobierając rzeczywiste próbki podjęła się trudnego zadania, gdyż wyniki z takich badań często są niepewtarzalne i trudne do jednoznacznej interpretacji. Praca ma charakter analityczno-technologiczny z możliwością wykorzystania wyników badań w praktyce. Na podkreślenie zasługuje część analityczna obejmująca identyfikację mikroorganizmów na podstawie sekwencjonowania ampikonu DNA, które nie są prowadzone rutynowo. Doktorantka dokonała opisu i interpretacji wyników, uzupełniając je rysunkami, tabelami i zdjęciami i porównała je z wynikami innych badaczy opisanymi w literaturze. Tematyka doktoratu wpisuje się w aktualne problemy inżynierii środowiska w zakresie intensyfikacji przeróbki osadów z pozyskiwaniem biogazu. Rozprawa charakteryzuje się kompleksowym podejściem do oceny wpływu dezintegracji hydrodynamicznej substratów na efektywność procesu fermentacji/kofermentacji mezofilowej z uwzględnieniem bilansu energetycznego i identyfikacji mikroorganizmów.

4. Uwagi edycyjne

Podkreślając profesjonalne podejście Doktorantki do zagadnienia, zarówno w kwestii przeglądu literatury jak i organizacji badań a także opisu wyników, w rozprawie znalazły się nieliczne niedociągnięcia edycyjne. Nie mają one jednak wpływu na ocenę strony merytorycznej rozprawy. Uwagi edycyjne to przykładowo:

- W całej pracy często tabele lub rysunki znajdują się za tekstem, w którym jest odwołanie co utrudnia czytelność pracy (n.p. tab. 2.2 znajduje się 2 strony za odwołaniem),

- Nieprawidłowe sformułowania: „atrakcyjna metodą ...jest”, „procesem o wysokiej wrażliwości” (str.27), „mikroorganizmy odpowiedzialne za prowadzenie procesu” (tab. 5.1), tytuł 6.4 oraz w tekście rozprawy
- Str. 43 – „dzienna produkcja metanu”
- Str. 50 – wzór 5.6 – nieprawidłowy zapis równania
- W tekście pracy podawano zakres gęstości energii 70-210kJ/L, ale badano tylko 3 wartości z tego przedziału (70, 140 i 210 kJ/L)
- „przebieg procesu ściśle uzależniony” (str.52), „efektywność procesu...ściśle uzależniona” (str.81),

5. Zagadnienia do wyjaśnienia w czasie obrony:

- Przedstawić metodykę obliczania bilansu energetycznego procesu fermentacji
- Zinterpretować wyniki obliczeń wartości ilorazu LKT/zasadowości dla substratu po procesie
- Wyjaśnić na jakiej podstawie przyjęto udział inokulum w substracie przeznaczonym do fermentacji oraz proporcje składników do kofermentacji
- Wyjaśnić co oznacza „analiza podatności osadów na proces fermentacji” – jakie wskaźniki/kryteria przyjmuje się do oceny osadów podatnych/niepodatnych na ten proces
- Zinterpretować w odniesieniu do literatury, obciążenie komory ładunkiem zanieczyszczeń organicznych oraz gęstość energii w odniesieniu do suchej masy organicznej substratu
- Podać wskazania dla projektantów instalacji przeróbki osadów wynikające z badań (zakres wartości dla parametrów procesowych dezintegracji, zakres analiz substratu, inne).

5. Wniosek końcowy

Odnosząc się do aktualnie obowiązujących przepisów prawnych (Dz. U 2003, Nr 65 poz. 595, Dz. U z 2018r. poz. 1669) rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką Promotora, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w danej dyscyplinie naukowej, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Na podstawie przekazanej do recenzji rozprawy doktorskiej, stwierdzam, że opracowanie otrzymane do recenzji spełnia podane warunki. Treść rozprawy potwierdza wiedzę teoretyczną Doktorantki, a sprecyzowanie tezy, celu i zakresu badań, ich zaplanowanie i opis a także interpretacja wyników świadczą o dojrzałości naukowej Doktorantki i umiejętności do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Zatem wnioskuję do Rady Dyscypliny Inżynierii Środowiska, Górnictwa i Energetyki Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie mgr inż. Agnieszki Garlickiej do dalszego postępowania kwalifikacyjnego przewidzianego w procedurze do uzyskania stopnia doktora nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka.

Marta Ambaszewska - dziekan

