

Wpłynęło dnia:

05. 09. 2023

Dziekanat Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK



Politechnika Łódzka



Katedra Biotechnologii Środowiskowej

Łódź, 29 sierpnia, 2023 r.

dr hab. inż. Justyna Szulc
Katedra Biotechnologii Środowiskowej
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej pt. „Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów”

wykonanej przez: Panią mgr Małgorzatę Hałat-Łaś w Katedrze Biologii Roślin i Biotechnologii na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

pod kierunkiem: dr hab. Pawła Kaszyckiego, prof. URK

Podstawa wykonania recenzji

Recenzja została wykonana w oparciu o Uchwałę nr RD-69/2023 Rady dyscypliny „rolnictwo i ogrodnictwo” Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie w sprawie wyznaczenia recenzentów w związku z postępowaniem wszczętym celem nadania stopnia naukowego doktora Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś przekazaną pismem prof. dr hab. inż. Marcina Rapacza - Przewodniczącego Rady z dnia 5 lipca 2023.

Recenzja uwzględnia wymogi zawarte w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669).

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma strukturę typową dla tego rodzaju opracowań. Dysertacja obejmuje 164 strony maszynopisu obejmującego 9 rozdziałów głównych, w tym 2-stronnicowy wstęp, 24-stronnicowy przegląd literatury, hipotezy i cele badawcze, 21-stronnicowy opis materiałów i metod badawczych, 67 stron prezentacji wyników i 12 stron dyskusji. Pracę kończą wnioski weryfikujące postawione hipotezy, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografia. Uzupełnienie pracy stanowi spis skrótów, rycin oraz tabel.

Praca jest obszerna, co wynika z zakresu podjętych przez Doktorantkę badań i prezentacji wyników w postaci 91 rycin oraz 34 tabel. **Przyjęta w pracy kolejność rozdziałów i ich objętość jest prawidłowa pod względem formalno-merytorycznym.**

Cytowane piśmiennictwo obejmuje 183 pozycje literaturowych (w tym 73% anglojęzycznych i 27% polskojęzycznych) wykazanych na 12 stronach. Bibliografia obejmuje przede wszystkim prace naukowe publikowane w renomowanych czasopismach z tzw. „listy filadelfijskiej” (np. Bioresource Technology; Renewable Energy; Environmental Science and Pollution Research; Waste Management and Research; Scientific Reports; Bioprocess and Biosystems Engineering), jak również publikacje w czasopismach branżowych (np. Aura; Czysta Energia; Inżynieria Ekologiczna), monografie naukowe, rozprawy doktorskie, dane statystyczne krajowe i międzynarodowe oraz akty prawne dotyczące zagadnień poruszanych w rozprawie. Zdecydowana większość cytowanej literatury to publikacje z ostatnich 10 lat z nielicznymi wyjątkami (po 1 publikacji z 1987, 1989, 1995 roku oraz po 2 z lat 1998 i 2002). Na uwagę zasługuje fakt, że cytowana literatura obejmuje 4 prace, w których Doktorantka jest współautorką co wskazuje na Jej dojrzałość naukową.

Wprowadzenie do treści rozprawy

Potrzeba oszczędzania ograniczonych zasobów energii nieodnawialnej oraz konieczność zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych przyczyniły się w ostatnich latach do zwiększenia zainteresowania energią ze źródeł odnawialnych (OZE).

Obecnie uznaje się, że najbardziej przyjaznymi środowisku i ekonomicznie uzasadnionymi technologiami wytwarzania energii są produkcja biogazu (fermentacja metanowa) i biowodoru (fermentacja ciemna). Niekwestionowaną zaletą tych technologii jest fakt, iż jako substraty do wytwarzania energii mogą być wykorzystywane uciążliwe dla

środowiska odpady m.in. z gospodarstw domowych, oczyszczalni ścieków, rolnictwa czy przemysłu rolno-spożywczego.

Pomimo niekwestionowanych korzyści płynących z wykorzystywania biogazu i biowodoru, wadą tych procesów jest powstawanie trudnej do zagospodarowania odpadowej pulpy pofermentacyjnej, a w szczególności jej uwodnionej frakcji tzw. cieczy pofermentacyjnej. Jest to odciek poprzemysłowy, silnie obciążony materią organiczną i związkami biogennymi, charakteryzujący się niezwykle zmiennym składem i zazwyczaj wysoką toksycznością wobec drobnoustrojów allochtonicznych i osadu czynnego biologicznych oczyszczalni ścieków. Skutkuje to licznymi zagrożeniami środowiskowymi, a przede wszystkim ogromnymi trudnościami związanymi ze stosowaniem konwencjonalnych technik oczyszczania tego typu odpadów.

Dlatego też wprowadzenie cieczy pofermentacyjnych do środowiska wiąże się z koniecznością przedsięwzięcia odpowiednich działań, mających na celu eliminację substancji biogennych jak również obniżenie stężenia substancji toksycznych i zmniejszenie obciążenia związkami węgla organicznego.

Dotychczas nie opracowano wystarczająco skutecznych metod oczyszczania cieczy pofermentacyjnych powstających podczas fermentacji metanowej. W przypadku fermentacji ciemnej istnieje luka literaturowa w tym zakresie, która uzasadnia poszukiwanie efektywnych sposobów oczyszczania odpadów płynnych z produkcji biowodoru.

Przedłożona do recenzji praca podejmuje problematykę zagospodarowania cieczy pofermentacyjnych powstałych w wyniku produkcji biogazu i biowodoru z wykorzystaniem różnych technologii (modelowych instalacji produkcji biogazu i biowodoru, biogazowni rolniczych i działających w oczyszczalni ścieków) i rozmaitych substratów (osadów ściekowych, ścieków poubojowych, wysłodków buraczanych, pomiotu drobiowego). Badania realizowane przez Panią mgr Małgorzatę Hałt-Łaś w niniejszej dysertacji były prowadzone we współpracy z Politechniką Łódzką oraz Uniwersytetem Jagiellońskim w Krakowie.

Ocena merytoryczna pracy

Recenzowana rozprawa doktorska rozpoczyna się od „Wprowadzenia”, które spełnia wszystkie przesłanki do podjęcia niniejszych badań i stanowi rzeczowe uzasadnienie pracy naukowej zatytułowanej „Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów”.

Następnie, w części teoretycznej dokonano „Przeglądu literatury”. W jej pierwszej części Autorka uwzględniła aspekty związane z bioremediacją, wskazując na przewagę metod bioremediacyjnych nad innymi sposobami unieszkodliwiania zanieczyszczeń, przedstawiając stosowane technologie bioremediacyjne w praktyce środowiskowej oraz definiując czynniki warunkujące ich skuteczność. W kolejnej części opisała problem zanieczyszczenia wód i eutrofizacji zbiorników wodnych, podkreślając negatywny wpływ ścieków przemysłowych i odpadów (w tym cieczy pofermentacyjnych) potencjalnie zawierających wysokie stężenia substancji biogennej i innych ksenobiotyków na środowisko naturalne. Ostatnia część przeglądu literatury dotyczy odnawialnych źródeł energii, w której Doktorantka wyczerpująco charakteryzuje definicję OZE i ich źródła skupiając się docelowo na dwóch: biogazie i biowodorze w kontekście zasad gospodarki w obiegu zamkniętym, technologii produkcji, substratów wykorzystywanych do ich produkcji oraz odpadów poprodukcyjnych – mas i odcieków pofermentacyjnych.

Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorantka potraktowała tę część pracy holistycznie, udowadniając swoją szeroką wiedzę w dyscyplinie „rolnictwo i ogrodnictwo”. Dzięki temu udało Jej się nakreślić szczegółowo problem naukowy oraz przedstawić jego potencjalne rozwiązania wraz z ich wszystkimi wadami i zaletami. Czytając tę część pracy recenzentka zapoznaje się nie tylko z informacjami naukowymi pochodzącymi z prac przeglądowych, ale także z wynikami badań ekspertów, trendami statystycznymi i technologicznymi oraz prawodawstwem związanym z tematyką energetyczną i odpadową. Podsumowując można stwierdzić, że dokonany przegląd literatury świadczy o przemyślanym podejściu Autorki do podjętej tematyki i uzasadnia wybór tematu pracy.

Kolejny rozdział rozprawy doktorskiej obejmuje „Badania własne”, które rozpoczynają się od przedstawienia hipotez i celów badawczych. W recenzowanej pracy sformułowano 4 hipotezy badawcze znajdujące swoje pełne uzasadnienie we wcześniej omówionym przeglądzie piśmiennictwa.

Cel główny pracy doktorskiej został dobrze określony i obejmował „opracowanie nowych, innowacyjnych, wariantowych technologii wstępnego oczyszczania cieczy pofermentacyjnych poprzez biokonwersję uciążliwych i potencjalnie toksycznych składników z użyciem wyspecjalizowanych konsorcjów mikrobiologicznych”. Cel ten został uzupełniony o 6 celów szczegółowych, które w opinii recenzentki w przypadku celów nr 3 „Testowanie toksyczności odcieków względem wybranych drobnoustrojów allochtonicznych[...]” i 4 „Prace nad selekcją i adaptacją, a następnie badania monokultur bakterii allochtonicznych pozyskanych z gleby i wód zanieczyszczonych antropogenicznie pod

kątem ich zdolności do usuwania zanieczyszczeń w cieczach pofermentacyjnych” stanowią w obecnej postaci bardziej zakres badań niż konkretne cele naukowe i powinny zostać przerehabilitowane.

Kolejny rozdział rozprawy doktorskiej obejmuje „Materiały i metody”, w którym Autorka przedstawia użyte do badań ciecze pofermentacyjne, mikroorganizmy i ich konsorcja oraz osad czynny, wymienia stosowane podłoża mikrobiologiczne i odczynniki chemiczne oraz opisuje wykorzystywane metody badawcze i analityczne. **Metodologia badawcza jest dobrze przemyślana i właściwie dobrana, co z uwagi na szeroki zakres badań oraz różnorodność materiału badawczego i biologicznego, z pewnością nie było łatwym zadaniem dla Autorki. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania zostały zaplanowane w sposób logiczny a ich przebieg został opisany zrozumiale i skrupulatnie, (pomimo stosowania wielu wariantów eksperymentów), a jednocześnie zwięźle. Jedynym, aczkolwiek niewielkim mankamentem tego rozdziału, w opinii recenzentki, jest brak tabeli zbiorczej, w której znajdowałyby się skróty nazw badanych odcieków i ich pochodzenie, co ułatwiłoby interpretację dalszych rozdziałów. Z uwagi na ciekawość recenzentki, proszę o wyjaśnienie kilku kwestii metodycznych:**

- rozdział 3.2.1.3 Odcieki pofermentacyjne po fermentacji ciemnej (wodorowej) „W celu inaktywacji niepożądanych składników, konsorcja po pobraniu poddano przed zaszczerpieniem do bioreaktorów fermentacji ciemnej wstępnej obróbce termicznej w temperaturze 80°C przez 1,5 godziny.” – proszę o wyjaśnienie jakie „niepożądane składniki” Doktorantka miała na myśli i czy takie postępowanie z konsorcjami nie spowoduje dezaktywacji form wegetatywnych mikroorganizmów i uzyskania jedynie przetrwalników bakteryjnych.
- rozdział 3.2.2.6 Konsorcjum SB „Wszystkie bakterie wchodzące w skład SB należą do grupy PGPB (bakterii sprzyjających wzrostowi roślin, ang. *Plant Growth-Promoting Bacteria*), znanych z poprawiania właściwości gleby i pozytywnego wpływu na rozwój roślin” – proszę o informację czy to stwierdzenie sformułowano na podstawie danych literaturowych czy raczej badań własnych nad szczepami wchodzącymi w skład konsorcjum.
- rozdział 3.2.4.1 Monitoring mikrobiologiczny [...] „Do zestawu jałowych probówek odmierzano po 4,5 lub 5 mL jałowej soli fizjologicznej. Następnie w celu uzyskania 10-krotnego rozcieńczenia odmierzano 0,5 mL hodowli drobnoustrojów, natomiast w celu uzyskania 100-krotnego rozcieńczenia, 50 µL zawiesiny komórek” – powyższy opis jest

niejasny, proszę o zweryfikowanie 10-krotnych serii rozcieńczeń i wyjaśnienie dlaczego stosowano rozcieńczenia 10 i 100-krotne jeżeli w wynikach liczba oznaczonych mikroorganizmów tą metodą wynosi $10^5 - 10^7$ jtk/mL.

Kolejny rozdział to „Wyniki badań” i jest obszernym, 67-stronicowym opracowaniem rezultatów eksperymentów uzyskanych przez Doktorantkę, opatrzonym atrakcyjnymi graficznie tabelami i rycinami. Rozdział ten zawiera 4 podrozdziały główne w zależności od rodzaju badanych cieczy pofermentacyjnych (z fermentacji metanowej w laboratoryjnej instalacji modelowej, z instalacji biometanizacji gnojowicy świńskiej w biogazowni rolniczej, z fermentacji osadów ściekowych z oczyszczalni ścieków oraz z fermentacji ciemnej prowadzonej w modelowej instalacji wytwarzania biowodoru) i szereg podrozdziałów nawiązujących do etapów badań w rozdziale "Materiały i metody”.

Autorka odnotowała wartości chemicznego zapotrzebowania tlenu dla badanych odcieków w szerokim zakresie od 400 do ponad 40 000 mg O₂/L. Podobnie duże różnice stwierdziła w analizach liczebności mikrobioty autochtonicznej: od obserwacji nielicznych, pojedynczych szczepów bakterii po wielogatunkowe biocenozy o liczebności rzędu 10^7 jtk/mL. Wspólną cechą badanych cieczy była zawartość związków azotu i fosforu, jednak i w tym przypadku stężenia i wzajemne proporcje C:N:P różniły się znacząco. Istotnym wątkiem prezentowanych wyników było udowodnienie dużej zmienności właściwości fizykochemicznych oraz oddziaływania na przeżywalność mikroorganizmów badanych cieczy, co Doktorantka przypisuje różnymi technologiami fermentacji oraz odmiennym surowcom. Autorka wykazała, że ciecze pofermentacyjne powstałe w wyniku fermentacji metanowej (produkcji biogazu) są wysokoobciążone związkami biogennymi, w szczególności azotem amonowym. Natomiast ciecze po procesie fermentacji ciemnej zawierają dużą ilość materii organicznej, w tym wysokie stężenia lotnych kwasów tłuszczowych, mogą również, w zależności od warunków prowadzenia procesu, charakteryzować się wysokimi stężeniami związków fosforu. Ponadto w pracy wykazano, że badane ciecze pofermentacyjne charakteryzują się wysoką toksycznością wobec większości mikroorganizmów allochtonicznych i osadu czynnego. Przeprowadzone badania dowiodły, że odcieki wykazywały zróżnicowaną toksyczność względem wybranych drobnoustrojów: monokultur bakterii (*Pseudomonas* sp. 18 i *Zoogloea ramigera*), konsorcjów mikrobiologicznych (konsorcjum SB i biopreparat ZB-01) oraz szczepów drożdży konwencjonalnych (*Saccharomyces cerevisiae*) i niekonwencjonalnych (*Candida* sp. D11, *Hansenula polymorpha*, *Trichosporon* sp., *Yarrowia lipolytica*).

Wysoki poziom dywersyfikacji cieczy pofermentacyjnych wymagał od Doktorantki indywidualnego podejścia - wobec których prowadziła różne zabiegi biologicznego oczyszczania, poszukując przy tym możliwości poszerzenia zastosowanych metod w stosunku do pozostałych rodzajów odpadów.

Autorka zaprezentowała wyniki biologicznych metod oczyszczania cieczy pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów allo- i autochtonicznych. W pracy zastosowano szczepy drożdżowe i bakteryjne, jak również konsorcja bakteryjne i mieszane biocenozy bakteryjno-drożdżowe i bakteryjno-algowe. Testowano ponadto możliwości prowadzenia bioremediacji w procesie jedno- oraz dwuetapowym, angażując na poszczególnych etapach różne szczepy drobnoustrojów heterotroficznych i fotoautotroficznych.

W swoich badaniach mgr Małgorzata Hałat-Łaś potwierdziła możliwość stosowania mikroorganizmów allo- i autochtonicznych w procesie oczyszczania cieczy pofermentacyjnych. Uzyskała wysoką wydajność eliminacji głównych zanieczyszczeń: substancji biogennych i związków organicznych, jak również obniżoną toksyczność względem mikroorganizmów środowiskowych i osadu czynnego. Ponadto, w oparciu o drobnoustroje wyizolowane z odcieków po fermentacji wodorowej Doktorantka przygotowała uniwersalne konsorcjum, którego efektywność działania przewyższała wszystkie pozostałe testowane warianty mikroorganizmów i ich mieszanin. Na podkreślenie zasługuje fakt, że opracowane konsorcjum podlega obecnie rejestracji i certyfikacji środowiskowej (Atest Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego PZH – Państwowego Instytutu Badawczego).

Pragnę zwrócić uwagę na wysoki potencjał aplikacyjny proponowanych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Małgorzata Hałat-Łaś rozwiązań. Opracowane metody biologicznego oczyszczania cieczy pofermentacyjnych po optymalizacji będą mogły być z powodzeniem zaimplementowane do systemów produkcji biogazu i biowodoru. W szczególności opracowane i atestowane konsorcjum będzie mogło być wykorzystane jako biopreparat ukierunkowany na inicjację procesu biooczyszczania z przeznaczeniem do zastosowania w ściekach wysokoobciążonych materią organiczną i związkami biogenymi, przede wszystkim w cieczach powstałych po produkcji biowodoru.

Otrzymane wyniki zostały dobrze i ostrożnie zinterpretowane z uwzględnieniem stanowiska krytycznego. Zdolność do właściwej interpretacji tak dużej ilości wyników w tej części pracy wskazuje, że Autorka posiada doświadczenie przydatne do planowania i realizacji badań naukowych, a także interpretacji otrzymanych wyników, co jest oczekiwane od osób ze stopniem naukowym doktora.

Do tej części pracy mam sugestię dotyczącą prezentacji w tabelach z charakterystyką fizykochemiczną, dodatkowo parametru C:N. Ponieważ Doktorantka, w omówieniu wyników, wielokrotnie powołuje się na ww. parametr odsyłając do tabel, byłoby ułatwieniem dla czytelnika gdyby znajdował się on w tabelach.

Proszę także o wyjaśnienie dotyczące tabeli 33 – co oznacza w czwartej kolumnie numer NCBI? Czy dotyczy on depozycji sekwencji nukleotydowych/aminokwasowych badanych szczepów? A może jest to numer szczepu referencyjnego na podstawie którego ustalono przynależność taksonomiczną? Co prawda w metodyce znajduje się adnotacja „informacja o dopasowanych i zidentyfikowanych gatunkach drobnoustrojów została skierowana do bazy danych taksonomii National Center for Biotechnology Information (NCBI) zarządzanej przez NCBI / GenBank <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>). Na koniec, każdy szczep otrzymał określony numer identyfikacyjny taksonomii NCBI”, ale nie jest to jednoznacznie wyjaśnione.

W kolejnej części rozprawy doktorskiej zamieszczona została „Dyskusja”. Na uwagę zasługuje przygotowanie przez Autorkę w tej części pracy propozycji możliwych sposobów zagospodarowania cieczy pofermentacyjnych powstających zarówno podczas biometanizacji substratów organicznych, jak i fermentacji wodorowej w postaci schematu postępowania. Doktorantka przygotowała schemat w oparciu o dane literaturowe i rezultaty badań własnych, co pozwala usystematyzować i zwizualizować sekwencje prac wykonanych w ramach Jej pracy doktorskiej.

Dyskusja ma ona charakter przyczynowo-skutkowy w odniesieniu do uzyskanych wyników. **Doktorantka w sposób dojrzały, z dużym znawstwem problemu skonfrontowała w niej wyniki badań własnych z doniesieniami wcześniej opublikowanych prac.** Na uwagę zasługuje duży obiektywizm w weryfikacji swoich obserwacji z doniesieniami innych autorów, co pozwoliło na uwypuklenie spójności, jak również zidentyfikowanie elementów nowości w obecnej pracy.

Na podstawie uzyskanych wyników autorka sformułowała szczegółowe wnioski, które podsumowują najważniejsze etapy badań i wyniki uzyskane w niniejszej pracy. **Wnioski są prawidłowo opracowane i zgodne z postawionymi początkowo hipotezami badawczymi oraz celami szczegółowymi. Analizując wnioski nasuwa się następujące pytanie:** we wniosku nr 3 Doktorantka stwierdza „Ciecze pofermentacyjne wykazują dużą zmienność składu, właściwości fizykochemicznych oraz ekotoksyczności; ich heterogeniczność zależy głównie od użytych w procesie fermentacji surowców i metod uzdatniania”. Doktorantka prowadziła testy, w których badała przeżywalność mikroorganizmów w środowisku cieczy

odciekowych wnioskując pośrednio o ich toksyczności. Czy Doktorantka rozważała przeprowadzenie bezpośrednich testów ekotoksyczności na przykład z wykorzystaniem testów kryptobiotycznych (np. z zastosowaniem organizmów wodnych, takich jak rozwielitki, glony, czy też mikroorganizmów – bakterii *Vibrio fischeri*) lub na liniach komórkowych (np. pstrąga tęczowego) oraz wyznaczenie odpowiednich wskaźników ekotoksyczności (np. stężeń EC₅₀ lub IC₅₀)?

Pracę doktorską wieńczy abstrakt w języku polskim oraz angielskim.

Najprawdopodobniej ze względu na obszerność opracowania Autorka nie uniknęła błędów o charakterze stylistycznym i edycyjnym np.:

- „Staunsek C:N:P” – powinno być „stosunek” (str. 6),
- „ko–substratu” powinno być „kosubstratu” (str. 32),
- „optymalny stosunek mieści to ok. 20” (str. 33),
- Ryc. 8 (str. 39) jest złożona z 6 zdjęć, dlatego powinna być szczegółowo opisana,
- brak autorstwa/źródła dla Ryc.12, 14, 15 (tu również powinno być podane podłoże i czas inkubacji),
- skróty zastosowane w równaniach (np. ATP, ADP, Pi) na str. 37 i 38 powinny być wyjaśnione,
- nieujednolicony zapis: „Gram-ujemne” i „gram ujemne” oraz „Gram-dodatnie” i „gram dodatnie”; podobnie płytki „Petriego” i „Petri’ego”,
- „dane współpracowników z Politechniki Łódzkiej, prace koordynowane przez prof. „Sebastiana Borowskiego” (str. 40) podobnie „przez grupę współpracujących badaczy z WBBiB, UJ, pod kierunkiem prof. Przemysława Malca. (str. 50) – informacje powinny zawierać pełen stopień i tytuł naukowy przy powoływaniu się pierwszy raz na wskazane osoby,
- hipoteza 2 brzmi „do likwidacji czynników toksycznych w nich zawartych” (str. 45), a powinno być raczej do „unieszkodliwiania” lub „degradacji” lub „bioremedjacji” lub „obniżania stężeń”
- cel szczegółowy nr 5 „Dobór bioróżnorodnych konsorcjów bakteryjnych, drożdżowych, bakteryjnodrożdżowych oraz bakteryjno-drożdżowych z komponentą mikroskopowych glonów” (str. 46), sformułowanie „z komponentą” jest dyskusyjne, proponuję zastąpić „z komponentem”, lub „z dodatkiem” lub przereklamować,

- „stosowane jako selektywne podłoże do izolacji i oczyszczania szczepów drożdży” (str. 55) sformułowanie „oczyszczania” wydają się być nietrafne, proponuję zamienić na „pasażowanie”/lub „przesiewanie”/ lub „aktywację”,
- „morfotypów kolonii rozwijanych” (str. 58), powinno być „kolonii wyrosłych”,
- „Przetestowano wariantowe biotechnologie, których celem jest przyjazne
- środowisku zagospodarowanie cieczy pofermentacyjnych” (str. 19); „wariantowe biotechnologie” nie jest trafnym określeniem,
- „w celu uzyskania czystych linii bakteryjnych” (str. 123) – lepiej brzmiałoby „czystych kultur” lub „czystych szczepów”,
- tabele w wynikach powinny być opatrzone wyjaśnieniami dotyczącymi oznaczeń użytych do analizy statystycznej wyników.

W pracy recenzentka wykryła także, aczkolwiek mało istotne, błędy techniczne związane z cytowaną literaturą:

- „Urząd” (zamiast Urząd) Regulacji Energetyki 2021 (str. 30) pozycja 167 w spisie literatury,
- Kwaśny J. i in. 2012 (niepotrzebny inicjał imienia, z dopiskiem „i in.” lub bez dopisku, który wg spisu literatury powinien być obecny), (str. 31 i 32),
- Libudzisz Z. i in. (str. 20); Liu S. i in. 2019 (str. 23). Kucharska K. i in. 2019 (str. 39) Beopoulos A. 2008 (str. 145),
- Kozłowski 2016 (brak dopisku „i in.”) (str. 18),
- Miksch. i in. 2010 powinno być Miksch i Sikora 2010 (str. 138),
- Pozycja literaturowa „Raport NIK” powinna być zacytowana w tekście w sposób umożliwiający jej łatwiejsze odnalezienie w spisie literatury (str. 25, pozycja 128 w spisie literatury); podobnie „European Green Deal 2020” (str. 29, poz. 92),
- Cytowana pozycja „Weiland, 2010” powinna brzmieć „Weiland 2010”,
- Niewłaściwa edycja literatury od pozycji 100 i dalej,
- Brak w spisie literatury pozycji: Supel i in. 2013; (str. 21, 23, 51); Wu i in. 2020 (str. 35); Borowski i in. 2015 (str. 47).

Nie zacytowano następujących pozycji:

- 16 (Borowski S., Weatherley L. 2013. Co-digestion of solid poultry manure with municipal sewage sludge. *Bioresource Technology*, 142, 345-352, doi:10.1016/j.biortech.2013.05.047),
- 26 (Cieciura-Włoch W., Binczarski M., Tomaszewska J., Borowski S., Domański J., Dziugan P., Witońska I. 2019. The use of acidic hydrolysates after furfural production from sugar waste biomass as a fermentation medium in the biotechnological production of hydrogen. *Energies*, 12(3222), 1-18, doi: 10.3390/en1217322),
- 49 (European Commission. 2021. ASSET Study on hydrogen generation in Europe: overview of costs and key benefits. Dostępne online: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/c4000448-b84d-11eb-8aca-01aa75ed71a1/language-en>),
- 62 (Hałat-Łaś M., Kaszycki P., Malec P., Jedynek P., Borowski S. 2016. Microbial consortia for treatment of anaerobic sludge digester supernatants generated by a laboratory model fermentation system. *New Biotechnology*, 33, 138. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.06.1201>, 67 (Huijan J., Yuan Q., Rein A. 2016. Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae-bacteria consortia, *Environmental science*, 2(1), 1275089, doi: 10.1080/23311843.2016.1275089),
- 72 (Jedynek P., Burczyk J., Borowski S., Kaszycki P., Hałat-Łaś M., Kędra M. i in. 2018. Mikroglony jako czynnik inicjujący oczyszczanie odcieku pofermentacyjnego, powstającego przy produkcji biogazu. *Przemysł chemiczny*, 97(12), 2106-2109, doi:10.15199/62.2018.12.18),
- 73 (Jedynek P., Mungunkhuyag K., Burczyk J., Waloszek A., Kędra M., Hałat-Łaś M. i in. 2016. Effect of ammonium on growth and photosynthetic activity in selected strains of microalgae dedicated for treatment of effluents from anaerobic fermentation. *New Biotechnology*, 33, 136, doi: 10.1016/j.nbt.2016.06.1194),
- 75 (Jiang Y., Su M., Li D. 2014. Removal of sulfide and production of methane from carbon dioxide in microbial fuel cells – microbial electrolysis cell (MFCs–MEC) coupled system. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172, 5, 2720–2731, doi: 10.1007/s12010-013-0718-9)
- 98 (Krysztoforski M. 2011. Sporządzanie kompostów i biopreparatów. *Centrum*

Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, ISBN: 978-83-60185-79-7)

- 113 (Łagocka A., Kamiński M., Cholewiński M., Pospolita W. 2016. Korzyści ekologiczne ze stosowania pofermentu z biogazowni rolniczych jako nawozu organicznego. *Kosmos*, 65, 601-607)
- 159 (Tam N.F.Y., Wong Y.S. 1996. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. *Bioresource technology*, 57, 45-50, doi: 10.1016/0960-8524(96)00045-4)
- 161 (Tang C.Y., Criddle C.S., Leckie J.O. 2007. Effect of flux (trans membrane pressure) and membranes properties on fouling and rejection of reverse osmosis and nano filtration membranes treating perfluorooctane sulfonate containing wastewater. *Environmental Science and Technology*, 41, 2008-2014, doi: 10.1021/es062052f).

Powyższe uwagi jednakże w żaden sposób nie wpływają na jakość pracy przedstawionej do oceny. **Według mojej opinii cel naukowy recenzowanej pracy został zrealizowany. Rozprawę doktorską oceniam pozytywnie.**

Wnioski końcowe

Praca doktorska Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś „Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów” jest bardzo wartościowym opracowaniem naukowym o charakterze poznawczym oraz wysoce aplikacyjnym stanowiącym oryginalne rozwiązanie aktualnego problemu naukowego. Dysertację oceniam bardzo dobrze, doceniając jej znaczenie dla sektora gospodarki odpadami, pozyskiwania energii odnawialnej oraz ochrony środowiska naturalnego. Pragnę również podkreślić szeroki zakres prac eksperymentalnych, trud wniesionej pracy, konsekwencję i dociekliwość naukową Doktorantki.

Za największe osiągnięcie przedstawionej mi do oceny dysertacji uważam wytworzenie funkcjonalnego konsorcjum mikroorganizmów DFMC, stanowi innowacyjne rozwiązanie o wysokim potencjale aplikacyjnym do oczyszczania odcieków z fermentacji metanowej i ciemnej.

W mojej opinii przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania merytoryczne i formalne stawiane pracom doktorskim zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca

2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669).

W związku z powyższym, zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny „rolnictwo i ogrodnictwo” Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z wnioskiem o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś do dalszych etapów w postępowaniu doktorskim.

Justyna Smic