

Wpłynęło dnia:

03. 10. 2023

**Dziekanat Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK**

Kraków, 15 września 2023 r.



**UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE**

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś pt. „Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów”.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś przygotowana pod kierunkiem Promotora Pana dr hab. Pawła Kaszyckiego, profesora Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, lokuje się w nurcie ważnych naukowo, bardzo pożądanym, trudnym i ambitnym badań złożonych mechanizmów bioremediacji zanieczyszczeń występujących w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem drobnoustrojów. Co więcej, Autorka podejmuje zaniechaną, bo trudną, ale bardzo nagłą problematykę zagospodarowania cieczy pofermentacyjnych z wykorzystaniem drobnoustrojów.

Doktoranka wyraziła zmysł analityczny w ocenie zjawisk globalnych zachodzących w biosferze Ziemi opierając się na wstępnym założeniu, że w przyszłości będzie narastał problem deficytu energii w wyniku kurezących się zasobów paliw kopalnych w skali globalnej. Jednocześnie zwraca uwagę na rosnącą w ostatnich dekadach emisję dwutlenku węgla do atmosfery. Wobec tych zjawisk dużego znaczenia nabierają odnawialne źródła energii (OZE). Wśród wielu technologii wytwarzania energii Autorka wyróżniła produkcję biometanu i biowodoru przez drobnoustroje wykorzystujące szeroki zakres różnych odpadów – przemysłowych, rolniczych, hodowlanych, domowych i innych. Interesujące, że w produkcji biogazu notuje się w ostatniej dekadzie duży postęp, zarówno w konstruowaniu specjalistycznych instalacji technicznych – reaktorów/biotanków fermentacyjnych oraz uzupełniających instalacji oczyszczania biogazu z towarzyszących odpadów toksycznych, wśród których występują substancje biogenne generujące niekorzystne zjawiska w środowisku, jak eutrofizacja zbiorników wody i obniżanie bioróżnorodności flory i fauny, a w przypadkach zbiorników wody pitnej dla aglomeracji miejskich – obniżanie jakości wody konsumpcyjnej. W dysproporcji do osiągnięć technicznych obserwuje się brak w pełni satysfakcjonujących wyników badań mikrobiologicznych – konstruowania typów genetycznych i profili fenotypowych szczepów o pożądanym technologicznie właściwościach, konstruowania agregatów lub konsorcjów, jak również ich kwalifikacji do swoistych parametrów cieczy odpadowych.

Prof. dr hab. farm.

Jacek Międzobrodzki

Mikrobiolog,
Diagnosta laboratoryjny,
Specjalista zdrowia publicznego

Zakład Mikrobiologii

Wydział

Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

PL 30-387 Kraków

ul. Gronostajowa 7

tel. +48(12) 664 63 71

tel. +48(12) 664 63 83

fax. +48(12) 664 69 02

jacek.miedzobrodzki@uj.edu.pl

Odpowiedzią na przedstawione powyżej wyzwania jest oceniana dysertacja Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś, która podjęła się ambitnego zadania przeprowadzenia badań nad opracowaniem metod zagospodarowania cieczy pofermentacyjnych powstających w procesach produkcji biogazu i biowodoru z wykorzystaniem drobnoustrojów. Jest to o tyle interesujące zadanie badawcze, że do chwili rozpoczęcia prac -nie zaproponowano dostatecznie skutecznych metod oczyszczania niekorzystnych obciążających produktów towarzyszących fermentacji metanowej; a dodatkowo brak publikacji, a nawet wiarygodnej dokumentacji naukowej dotyczącej utylizacji cieczy odpadowych w produkcji biowodoru. Doktorantka wykazała ambicje i odwagę podejmując się opracowania efektywnych metod neutralizacji niekorzystnych odpadów. Jest to ważny kierunek badań, a przedłożona do oceny dysertacja przedstawia nowatorskie podejście o wysokich wartościach naukowych i praktycznych.

Oceniana rozprawa doktorska została przygotowana w Katedrze Biologii Roślin i Biotechnologii na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie i wpisuje się w długofalowy projekt prowadzony przez zespół Pana dr hab. Pawła Kaszyckiego, profesora URK, obejmujący badania molekularnych mechanizmów – genetycznych i biochemicznych zachodzących między drobnoustrojami w szczególnych środowiskach obciążonych substancjami biogennymi i ksenobiotykami, w tym silnie mutagennymi lub toksycznymi, konstruowania i badania rekombinacyjnych szczepów bakteryjnych i grzybiczych prezentujących nowe cechy fenotypowe ze szczególnym uwzględnieniem aplikacji w projektach na skalę ponad laboratoryjną w terenie. Są to nowatorskie badania o dużym znaczeniu poznawczym i wdrożeniowym. Ich efektami są bardzo dobre publikacje naukowe ogłaszane w prestiżowych międzynarodowych periodykach indeksowanych w międzynarodowych bazach danych, jak International Journal of Biodeterioration & Biodegradation, Applied Microbiology and Biotechnology, Biodegradation, New Biotechnology, Ecological Engineering i in., także w rodzimych branżowych magazynach, jak Chemia i Inżynieria Ekologiczna, Przemysł Chemiczny, EPISTEME: Czasopismo Naukowo-Kulturalne, oraz przedłożona do oceny dysertacja.

Rozprawa doktorska Pani mgr M. Hałat-Łaś napisana została w języku polskim zgodnie z kanonem uniwersyteckim i składa się z konwencjonalnych części. Objętość dysertacji jest spora, gdyż liczy 164 strony. Maszynopis poprzedzony jest „Spisem treści”, „Spisem skrótów” (nie zastosowano kolejności alfabetycznej), „Spisem rycin” (w liczbie 91 na 7 stronach) i „Spisem tabel” (34 na 3 stronach). Główne części dysertacji to: „Wstęp” (37 stron), sformułowanie celów pracy (2 strony), specyfikacja użytych materiałów i stosowanych metod badawczych (21 stron), opis uzyskanych wyników (66 stron), rozdziały „Dyskusja” (12 stron), „Wnioski i weryfikacja postawionych hipotez” (1 strona) oraz streszczenia w językach polskim (2 strony) i angielskim (2 strony). Końcowy rozdział „Bibliografia” (22 strony) obejmuje 183 cytowane pozycje.

Rozdział pierwszy „Wstęp” jest bardzo dobrym wprowadzeniem do dalszych części rozprawy, znakomicie integrującym obszary badawcze przedstawione w kolejnych etapach projektu. Recenzent uważa, że po nieznacznym uzupełnieniu będzie nadawał się do publikacji jako interesująca praca przeglądowa, zważywszy na brak przeglądowej publikacji przedstawiającej w tak kompleksowy sposób złożone zjawisko z odniesieniami ekologicznymi i aplikacyjnymi technologicznymi.

Cele dysertacji zostały sformułowane jednoznacznie; są oryginalnym i wartościowym wkładem do nauki. Objęły one: i) opracowanie nowych innowacyjnych technologii oczyszczania pofermentacyjnych cieczy powstających podczas biometanizacji substratów organicznych i fermentacji wodorowej przez biokonwersję uciążliwych i toksycznych składników z użyciem wyspecjalizowanych drobnoustrojów i/lub konsorcjów mikrobiologicznych; ii) przeprowadzenie etapowych badań eksperymentalnych prób odcieków pofermentacyjnych z instalacji pracujących i modelowych, poddanych bioremediacji z udziałem wybranych różnych drobnoustrojów oraz ich kombinacji (różnych zespołów). W rozdziale tym Autorka określiła precyzyjnie szczegółowe cele w 6 punktach.

Materiały i metody badawcze opisane zostały właściwie i w sposób wystarczający, aby czytelnik mógł ocenić prawidłowość eksperymentów i wypracować własny pogląd na temat wartości naukowej przedstawionych wyników. Badania zostały rozłożone na kilka etapów w sposób logiczny, po czym konsekwentnie je realizowano. Recenzent zwraca uwagę na prawidłowy dobór szczepów drobnoustrojów z różnych grup pro- i eukariotycznych do poszczególnych etapów badań. Uznanie wzbudza inwencja Doktorantki polegająca na indywidualnym podejściu do różnych cieczy wysoko obciążonych w sensie prowadzenia zabiegów oczyszczania biologicznego z jednoczesnym poszukiwaniem możliwości poszerzenia stosowanych metod na różne próby, co więcej, imponująca jest znajomość warsztatu mikrobiologicznego polegająca na doborach bogactwa podłoży hodowlanych różnych typów i metod hodowlanych oraz biochemicznych.

Najważniejsze osiągnięcia Pani mgr M. Hałat-Łaś to: i) zoptymalizowanie biologicznych metod oczyszczania cieczy pofermentacyjnych z użyciem różnych grup drobnoustrojów w oparciu o określone właściwości fizykochemiczne odcieków; ii) badania bioremediacji w procesach jedno- i dwuetapowym z użyciem różnych drobnoustrojów oraz ich kombinacji w postaci różnych konsorcjów; iii) mikrobiologiczna i biochemiczna parametryzacja odcieków i określenie kondycji osadu czynnego; iv) skonstruowanie wysoce aktywnego, unikatowego konsorcjum mikrobiologicznego o szerokich właściwościach, będącego w fazie rejestracji i certyfikacji; v) wysoka wartość aplikacyjna opracowanych rozwiązań z perspektywą wprowadzenia do systemów produkcji biogazu i biowodoru.

Są to poważne osiągnięcia naukowe. Recenzent nie zauważył w pracy błędów metodycznych. Przyjęte zadania badawcze zostały przez Doktorantkę zrealizowane w całości. Pani mgr M. Hałat-Łaś uzyskała obfite wyniki, które sprawnie przedstawiła dzieląc rozdział „Wyniki” na kilka podrozdziałów ilustrowanych 25 tabelami i 75 rycinami.

W związku z interesującymi wynikami uzyskanymi w czasie realizacji badań nasuwa się kilka pytań, które recenzent z przyjemnością przedyskutuje z Doktorantką w trakcie obrony: 1) zmienności fenotypowe drobnoustrojów, tzw. plastyczność biochemiczna, która jest wykorzystywana w praktykach bioremediacyjnych i innych – jakie mają podstawy genetyczne w rozumieniu zmienności genetycznej bakterii? 2) pisze Pani o oddziaływaniach ksenobiotyków na drobnoustroje, czy oddziałują one pośrednio przez drobnoustroje na człowieka, oraz czy wpływają bezpośrednio na wyższe organizmy? 3) czy drobnoustroje stosowane w zabiegach bioremediacyjnych oddziałują niekorzystnie na wyższe organizmy?

Biorąc pod uwagę dużo uzyskanych przez Doktorantkę wyników o wysokiej wartości poznawczej, kolejny rozdział „Dyskusja” wymagał szczególnej dyscypliny i logiki. Doktorantka wywiązała się sprawnie z tego zadania. Krytycznie komentowała swoje osiągnięcia odnosząc

się do wiedzy i wyników innych autorów. Zważywszy na wyniki zajmujące 66 strony i dyskusje na 21 stronach, a więc pokaźne objętościowo rozdziały, trafnymi decyzjami Doktorantki było podzielenie rozdziału „Dyskusja” na podrozdziały z tytułami i ryciną – schematem poglądowym oraz rozdziału 6. „Wnioski – weryfikacja postawionych hipotez”; w tym ostatnim recenzent widziałby inną, bardziej adekwatną nazwę, jak „Podsumowanie i wnioski”. W rozdziale tym Doktorantka w 8 punktach w zwięzłej formie przedstawiła konkluzje wynikające z osiągniętych wyników. Kolejne rozdziały to streszczenia w językach polskim i angielskim, nie budzące zastrzeżeń recenzenta. Ostatni rozdział „Bibliografia” obejmuje 183 pozycje na 22 stronach, w większości oryginalnych publikacji. Jest to dowód bardzo dobrego przygotowania Doktorantki do przeprowadzonych badań.

Ocena strony językowej i edytorskiej. *Oceniana praca została przygotowana bardzo starannie. Tekst jest napisany dobrym zwięzłym językiem; zdania są pełne i zrównoważone. Czytanie pracy budzi zainteresowanie czytelnika. Jednak szczegółowa analiza wykazała kilka uchybień: i) numerowanie stron powinno zacząć się od „Wstępu”; ii) zjawiska policzalne są określane pojęciem „zmniejsza” zamiast „obniża”, „zwiększa” zamiast „podnosi” na str. 21, 25, 64, 96, 143, 147; jest „niewielka liczba genomów” zamiast „niewysoka”, str. 41, 42; iii) rozpoczynanie zdania od skrótu, str. 41 i od nazwy łacińskiej, str. 49, 145; iv) stosowanie żargonów, „ta bakteria”, str. 49 x 2, jest to słowo przejęte błędnie z języka angielskiego, prawidłowo „bakterie” lub „gatunek”; podobnie słowo „kultury” prawidłowo „hodowle” i „monokultury” prawidłowo „hodowle jednogatunkowe” str. 49 x 2, str. 52; v) nie „zdjęcia” lecz „fotografie”, str. 69, 74; vi) w tekście brak odniesienia do Ryc. 9 str. 42, Ryc. 15 str. 64, Tabeli 12 str. 72; vii) brak objaśnień rycin na str. 13 i 16 na 6 fotografiach, str. 53 i opisu Ryc. 19 na str. 74. Recenzent także zwrócił uwagę na braki i uchybienia w cytowaniach publikacji zauważone na linii tekst – rozdział „Bibliografia”: a) brak w wykazie pozycji Antosz i in. 2003 cytowanej na str. 18, Supel i in. 2013 str. 51, Zeb i in. 2014 oraz Tenuta i in. 2002 str. 137, Podkówka i in. 2012 str. 138, Zinjarde i in. 2014 str. 105, Mun i in. 2006 str. 144, brak kolejności alfabetycznej w cytowaniach pozycji 93 i 94 str. 158, poz. 115-119 str. 160, poz. 181-183 str. 164, brak dokumentów: European Green Deal 2020, Departament Energii USA 2020 i Komisja Europejska 2021 str. 135.*

Są to jednak drobiazgi nie wpływające na wysoką wartość merytoryczną dysertacji; w całej pracy nie natrafiono na ani jeden błąd stylistyczny czy ortograficzny. Natomiast zauważalną zaletą dysertacji jest duża znajomość przepisów i regulacji prawnych i administracyjnych, związanych z tematyką aplikacyjną badań Autorki, polskich i międzynarodowych, przejawiona w cytowaniu ustaw polskich oraz dokumentów rządowych amerykańskich i komisji europejskich.

Podsumowanie. Rozprawa doktorska przedłożona do zaopiniowania spełnia wymogi formalne i zwyczajowe stawiane pracom doktorskim i stanowi nowość naukową. Prezentuje dużo oryginalnych wyników badań eksperymentalnych w oparciu o odważną koncepcję. Zastosowane metody badawcze zweryfikowane w praktyce diagnostycznej pozwoliły zrealizować cele badań co wniosło poważny wkład w zrozumienie badanych zjawisk. Spełnione są również warunki określone 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 (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Recenzent wnosi do Rady Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kollątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt. „*Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów*”. (Uzasadnienie jest załączone).

Kraków, 15 września 2023 r.



Uzasadnienie

wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Małgorzaty Hałat-Łaś pt. „*Bioremediacja zanieczyszczeń w eutrofizowanych cieczach pofermentacyjnych z wykorzystaniem mikroorganizmów oraz ich konsorcjów*”.

1. Głęboka znajomość współczesnych wyzwań związanych z potrzebami energetycznymi i biologicznymi powiązanych z metodami pozyskiwania energii, z niekorzystnymi konsekwencjami, ich eliminowaniem z użyciem aktywności drobnoustrojów oraz odważne podjęcie trudnego projektu badawczego w sposób kompleksowy, od fermentacji do konsorcjów i ich aplikacji.
2. Określenie czynników toksycznych obecnych w cieczach powstałych po produkcji biogazu i biowodoru oraz opracowanie skutecznych metod ich usuwania.
3. Ambitne i odważne konstruowanie *de novo*, jak również praktyczne zastosowanie konsorcjów mikrobiologicznych – bakteryjnych, bakteryjno-drożdżowych i bakteryjno-glonowych w badaniach nad usuwaniem substancji toksycznych obecnych w odciekach przemysłowych oraz wyznaczenie kierunków dalszych badań.
4. Wartości aplikacyjne wyników wraz ze skonstruowaniem uniwersalnego konsorcjum mikrobiologicznego zdolnego do oczyszczania cieczy po fermentacji ciemnej, będącego w trakcie certyfikacji atestowej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny – Państwowego Instytutu Badawczego.

Kraków, 15 września 2023 r.

