

prof. dr hab. inż. Joanna Surmacz-Górska
Katedra Biotechnologii Środowiskowej
Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki
Politechnika Śląska

ul. Akademicka 2, 44-100 Gliwice, tel.: 32 237 29 15; e-mail: joanna.s.gorska@polsl.pl

Gliwice, 29.06.2020

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Justyny Michalskiej

pt.: *Wpływ bioaugmentacji osadu czynnego wyselekcjonowanymi szczepami bakterii oraz ich konsorcjum na efektywność procesu oczyszczania zafenolowanych odcieków ze stawu Kalina*

Przedstawiona do recenzji praca została wykonana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Agnieszki Mrozik.

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Prodziekana ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego prof. dr hab. Piotra Świątka z dnia 18 maja 2020 r. Recenzję przygotowałam w oparciu o obowiązujące przepisy, w tym o Ustawę z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595), z późniejszymi zmianami z dnia 18.03.2011 roku (Dz. U. Nr 84, poz.455), w związku z art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. poz. 1669).

Krótką charakterystyką rozprawy

Pani Justyna Michalska przedstawiła rozprawę doktorską w postaci jednotematycznego cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych posiadających Impact Factor. W skład cyklu wchodzi:

1. Michalska J., Greń I., Mrozik A. 2018. Cele, strategie i ocena efektywności bioaugmentacji osadu czynnego zdefiniowanymi mikroorganizmami w usuwaniu toksycznych związków chemicznych. *Postępy Mikrobiologii*, 57 (2), 125-137. IF = 0,298, MNiSzW = 20.
2. Michalska J., Mrozik A. 2018. Zastosowanie bioaugmentacji w procesach biologicznego oczyszczania ścieków i utylizacji osadów. *Ochrona Środowiska*, 40 (1), 35-44. IF = 0,836, MNiSzW = 40.
3. Michalska J., Greń I., Żur J., Wasilkowski D., Mrozik A. 2019. Biological cotreatment of the Kalina pond leachate on laboratory sequencing batch reactor operation and activated sludge quality. *Water*, 11 (8), 1-24. IF = 2,524, MNiSzW = 70.
4. Michalska J., Piński A., Żur J., Mrozik A. 2020a. Selecting bacterial candidates for the bioaugmentation of activated sludge to improve the aerobic treatment of landfill leachate. *Water*, 12 (1), 1-26. IF = 2,524, MNiSzW = 70.
5. Michalska J., Żur J., Piński, A. Mrozik A. 2020b. Analysis of the bioaugmentation potential of *Pseudomonas putida* OR45a and *Pseudomonas putida* KB3 in the

sequencing batch reactors fed with the phenolic landfill leachate. Water, 12 (3), 1-21.
IF = 2,524, MNiSzW = 70.

Sumaryczny IF wynosi 8,706 (łączna liczba punktów MNiSzW – 270). Zgodnie z oświadczeniami wszystkich współautorów udział Doktorantki w wyżej wymienionych publikacjach można uznać za wiodący i istotny zarówno dla opracowania koncepcji badań, ich przeprowadzenia, jak i analizy wyników i przygotowania manuskryptów. Potwierdzeniem wiodącej roli Doktorantki w przygotowaniu publikacji do druku jest fakt pełnienia przez Nią roli autora korespondencyjnego w 4 publikacjach, w tym w 3 przedstawiających wyniki badań własnych. Należy też podkreślić, że badania w przedstawionym do oceny cyklu publikacji zostały wykonane w ramach projektu pozyskanego przez Doktorantkę w konkursie PRELUDIUM.

Cykl przedstawionych artykułów został w pracy poprzedzony autoreferatem, w którym Doktorantka przedstawiła wprowadzenie do tematyki rozprawy, cel przeprowadzonych badań, metodykę badań, syntetyczne omówienie uzyskanych wyników i ich dyskusję oraz spis wykorzystanej w tej części pracy literatury. Praca tradycyjnie została zakończona podsumowaniem, streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz oświadczeniami Doktorantki i Jej współautorów.

Ocena merytoryczna rozprawy

Zasadność podjętej tematyki.

Doktorantka podjęła się trudnego zadania poprawy efektywności współoczyszczania ścieków silnie zanieczyszczonych substancjami pochodzącymi z działalności przemysłowej ze ściekami miejskimi w miejskiej oczyszczalni ścieków pracującej w technologii osadu czynnego. Jako metodę poprawy efektywności współoczyszczania wybrała bioaugmentację osadu czynnego wcześniej wyselekcjonowanymi bakteriami o przebadanych i sprawdzonych właściwościach metabolicznych i fizjologicznych.

Obiektem, który posłużył do badań była oczyszczalnia ścieków miejskich Klimzowiec oczyszczająca ścieki miejskie pochodzące z kilku sąsiednich miast oraz silnie zanieczyszczone wody stawu Kalina gromadzącego od wielu lat odcieki z poprzemysłowej hałdy odpadów Zakładu Chemicznego Hajduki S.A. Doktorantka trafnie określiła zagrożenia wynikające ze współoczyszczania ze ściekami miejskimi ścieków tego typu wskazując na pogorszenie efektów oczyszczania, zakłócenia w funkcjonowaniu oczyszczalni, pogorszenie bioróżnorodności i aktywności osadu czynnego. Dobrze też rozpoznała trudności związane z wybraną przez siebie metodą poprawy sprawności działania osadu czynnego współoczyszczającego ścieki miejskie i przemysłowe.

Należy podkreślić, że w Polsce niestety znajduje się więcej takich zakładów przemysłowych, których nieprawidłowe postępowanie z odpadami i niewłaściwa gospodarka ściekowa

doprowadziły do powstania zagrożeń ekologicznych podobnych w skutkach do tych obserwowanych w przypadku stawu Kalina. Jako przykład wystarczy podać skutki działalności bydgoskiego ZACHEMu. Dlatego uważam, że podjęte przez Doktorantkę badania mające na celu poprawę skuteczności bioaugmentacji osadu czynnego oczyszczalni Klimzowiec odpowiednio wyselekcjonowanymi mikroorganizmami są zasadne nie tylko z punktu widzenia poszerzenia wiedzy, ale mają również znaczenie aplikacyjne.

Omówienie i uwagi dotyczące przyjętych celów badawczych i uzyskanych wyników.

Mgr Justyna Michalska postawiła przed sobą następujące cele badawcze:

1. Określenie wpływu ścieków pochodzących ze stawu Kalina na efekty współoczyszczania ze ściekami miejskimi w oczyszczalni Klimzowiec w tym na stan bioróżnorodności i kondycję mikroorganizmów osadu czynnego;
2. Wytypowanie mikroorganizmów potencjalnie przydatnych do bioaugmentacji osadu czynnego w celu poprawy efektów pracy osadu czynnego i sprawdzenie ich przydatności do rozkładu zanieczyszczeń obecnych w ściekach stawu Kalina;
3. Weryfikację efektów bioaugmentacji osadu czynnego wybranymi bakteriami.

W pierwszych dwóch artykułach opublikowanych w *Postęпах Mikrobiologii* i *Ochronie Środowiska* Doktorantka dokonała przeglądu literatury, w którym się skupiła na możliwościach bioaugmentacji osadu czynnego. W pierwszym artykule przeanalizowała wykorzystanie pojedynczych szczepów bakterii, grzybów mikroskopowych oraz konsorcjów mikroorganizmów, a także mikroorganizmów modyfikowanych genetycznie i biopreparatów handlowych, a w kolejnym artykule skupiła się na możliwościach bioaugmentacji w obrębie oczyszczalni ścieków. Artykuły te kończą się wnioskami, które pozwoliły Doktorantce na sformułowanie własnych celów badawczych, których wyniki przedstawiła w kolejnych trzech artykułach opublikowanych w czasopiśmie *Water*.

Trzeci artykuł poświęcony został skutkom współoczyszczania ścieków miejskich i ścieków ze stawu Kalina. Doktorantka badania przeprowadziła w reaktorach typu SBR, w których zastosowała jedynie fazę tlenową (47 godzinną) i wiek osadu wynoszący 32 dni. Oceniała wpływ 3,5 i 5,5% udziału ścieków ze stawu Kalina w oczyszczanych ściekach biorąc pod uwagę efekty oczyszczania, zmiany liczebności bakterii, zmiany aktywności dehydrogenaz i niespecyficznych esteraz, zmiany w profilu fizjologicznym mikroorganizmów, a także zmiany w profilu kwasów tłuszczowych osadu czynnego. Uzyskane wyniki potwierdziły pogorszenie efektów oczyszczania na skutek dodatku ścieków ze stawu Kalina. Dzięki zastosowanym różnorodnym metodom analitycznym Doktorantka wykazała istotę toksycznego wpływu ścieków ze stawu Kalina na bakterie osadu czynnego polegającą nie tylko na zmniejszeniu liczebności bakterii heterotroficznych w osadzie czynnym, ale również na zmianach w bioróżnorodności osadu czynnego i zdolności do wykorzystywania niektórych substratów.

W mojej ocenie ten etap badań, choć nie przyczyniał się do rozwiązania problemu, a jedynie pozwalał rozpoznać stan możliwych zmian w osadzie czynnym pod wpływem

współczyszczania ścieków ze stawu Kalina jest bardzo ważny, gdyż potwierdził dzięki uzyskanym wynikom przekonanie wielu specjalistów, że współczyszczanie tego typu ścieków ze ściekami miejskimi nie jest rozwiązaniem spełniającym wymogi najlepszej dostępnej techniki.

Jednocześnie analizując metodykę przeprowadzonych badań nasuwa się pytanie, jak samo ograniczenie warunków pracy osadu czynnego jedynie do tlenowych w porównaniu z panującymi na oczyszczalni ścieków Klimzowiec anaerobowo – anoksydacyjno - tlenowymi (technologia Bardenpho) ograniczyło bioróżnorodność osadu czynnego użytego jako inoculum. Dlaczego zdecydowano się na odmienne niż typowe warunki pracy osadu czynnego na oczyszczalniach miejskich?

Moją uwagę zwrócił też sposób przedstawienia zmian aktywności osadu czynnego pod wpływem współczyszczania ścieków ze stawu Kalina. Doktorantka zauważyła znaczne spadki aktywności dehydrogenaz i esteraz w przeliczeniu na zawiesinę ogólną. Jednocześnie zauważyła, że w reaktorze, w którym były współczyszczane ścieki stężenie zawiesiny organicznej i liczebność heterotrofów istotnie spadły. Stąd nasuwa się pytanie, czy zmiany aktywności dehydrogenaz i esteraz nie byłyby lepiej wyrażone, gdyby aktywności podawać w przeliczeniu na również oznaczaną zawiesinę organiczną, lepiej odzwierciedlającą ilość biomasy w reaktorze.

Do mniej istotnych, drobnych usterek zaliczyć można podane w Tabeli 2 dopuszczalne wartości dla ścieków odprowadzanych do wód lub do ziemi niezgodne z aktualnie obowiązującymi od 2014 roku.

Moim zdaniem najciekawszym artykułem w recenzowanej pracy jest czwarty w kolejności artykuł, w którym Doktorantka przedstawiła szerokie badania służące wytypowaniu mikroorganizmów nadających się do bioaugmentacji osadu czynnego w celu poprawy współczyszczania ścieków miejskich ze ściekami ze stawu Kalina.

Pani mgr Justyna Michalska bardzo dobrze rozpoznała jakie cechy muszą mieć bakterie, które będą zdolne trwale wejść w skład kłaczków osadu czynnego i wspomóc autochtoniczne bakterie osadu czynnego w rozkładzie zanieczyszczeń wniesionych do bioreaktorów razem ze ściekami ze stawu Kalina. Wytypowała 10 różnych szczepów bakterii, które poddała ocenie stosując liczne kryteria przydatności bakterii do bioaugmentacji osadu czynnego. Oceniała nie tylko ich zdolność do rozkładu związków fenolowych, ale również zdolność do autoagregacji i co-agregacji, zdolność do produkcji bioflokulantów, biosurfaktantów, sideroforów, cząsteczek sygnałowych, polisacharydów zewnątrzkomórkowych, a także hydrofobowość i chemotaksję. Z grona badanych szczepów bakterii wytypowała dwa – *Pseudomonas putida* OR45a i *Pseudomonas putida* KB3, dla których przeprowadzone badania genomów pozwoliły na identyfikację genów odpowiedzialnych za kodowanie enzymów uczestniczących w metabolizmie węglowodorów aromatycznych. W tym artykule Doktorantka potwierdziła swoje umiejętności związane z planowaniem eksperymentów, wykorzystaniem różnych technik analitycznych, jak również analizą uzyskanych rezultatów. Lektura tego artykułu

nasuwa natomiast pytanie, dlaczego Doktorantka nie spróbowała wyizolować i przebadać bakterii obecnych w ściekach stawu Kalina. Być może wśród nich też znalazłyby się bakterie przydatne w bioaugmentacji osadu czynnego oczyszczalni Klimzowiec.

W ostatnim, piątym artykule Doktorantka poddała ocenie przydatność wytypowanych wcześniej dwóch szczepów bakterii do bioaugmentacji osadu czynnego w celu poprawy efektów współoczyszczania ścieków ze stawu Kalina ze ściekami miejskimi. Przepadała efekty bioaugmentacji każdym szczepem osobno i stosując je razem jako konsorcjum. W tym przypadku udział ścieków ze stawu Kalina wynosił 3,5; 5,5 i 12,5%. Pod względem technologicznym metodyka badań była taka sama jak w artykule trzecim, stąd i w tym przypadku ponownie pojawia się wątpliwość, a zrazem ciekawość, jak zastosowanie jedynie tlenowych warunków w bioreaktorach wpłynęło na końcowy efekt badań jakim jest wskazanie szczepu *P. putida* KB3 jako najbardziej obiecującego dla bioaugmentacji osadu czynnego oczyszczalni Klimzowiec.

Pozostałe drobne błędy edytorskie i językowe zaznaczono bezpośrednio w tekście pracy i przekazano Doktorantce.

Wymienione powyżej uwagi i komentarze nie podważają mojej wysokiej oceny dla wartości naukowej ocenianej rozprawy, co pozwala mi sformułować poniższą ocenę końcową.

Konkluzja końcowa

Swoją rozprawą doktorską Pani mgr Justyna Michalska udowodniła samodzielność w prowadzeniu badań naukowych. Zrealizowała dobrze przemyślane i zaplanowane badania nad bioaugmentacją osadu czynnego wybranymi szczepami bakterii w celu poprawy efektywności oczyszczania silnie toksycznych ścieków stawu Kalina na oczyszczalni ścieków miejskich. Przeprowadziła szereg logicznie wynikających z siebie eksperymentów, stosując szeroki wachlarz analiz łączących wiedzę z zakresu mikrobiologii, biologii molekularnej, chemii i biotechnologii ścieków. Ponadto wykazała się poprawną analizą uzyskanych wyników i właściwie sformułowała wnioski. Wykazała się także umiejętnością organizowania prac badawczych pozyskując środki na ich finansowanie. Dodatkowo należy podkreślić, że uzyskane wyniki mają nie tylko wartość poznawczą, ale również aplikacyjną. Wytypowane przez Panią mgr Justynę Michalską szczepy bakterii mają właściwości powalające na ich wykorzystanie zarówno w oczyszczalni Klimzowiec jak i w innych oczyszczalniach zasilanych ściekami bogatymi w węglowodory aromatyczne.

Dlatego uważam, że oceniana praca pt.: *Wpływ bioaugmentacji osadu czynnego wyselekcjonowanymi szczepami bakterii oraz ich konsorcjum na efektywność procesu oczyszczania zafenolowanych odcieków ze stawu Kalina* spełnia wymagania ustawowe i w związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony, a także wnioskuję o jej wyróżnienie.

