



Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki  
Katedra Ochrony Powietrza

Prof. dr hab. inż.

Wioletta Przysaś

Gliwice, 14.01.2025 r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Izabeli Kielb-Sotkiewicz

pt. „MOŻLIWOŚCI POPRAWY JAKOŚCI  
MIKROBIOLOGICZNEJ ŚCIEKÓW OCZYSZCZONYCH”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Justyny Zamorskiej, prof. PRz,  
w Politechnice Rzeszowskiej na Wydziale Budownictwa, Inżynierii  
Środowiska i Architektury

### Formalna podstawa pracy

Niniejsza recenzja została opracowana na podstawie pisma Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Rzeszowskiej im. Ignacego Łukasiewicza, Pana prof. dr hab. inż. Daniela Słysia, z dnia 28 listopada 2024 r. w związku z Uchwałą Rady Dyscypliny z dnia 13 listopada 2024 r..

### Celowość podjęcia tematu

Tematyka przedstawiona w rozprawie dotyczy jakości ścieków oczyszczonych, w szczególności ich bezpieczeństwa pod względem obecności bakterii kałowych. Ma to szczególne znaczenie wobec faktu, że ludzkość w wielu regionach świata obecnie jest już zmuszona do korzystania z tego typu zasobów wody, a w regionach, w których taka konieczność jeszcze nie istnieje może ona powstać w niedługim czasie. Deficyt wody dotyczy bowiem coraz szerszej liczby ludności prawie na całym Świecie. Ograniczony dostęp do wody rzutuje również na różne sektory gospodarki, jak chociażby turystykę, przemysł, jednak w głównej mierze na rolnictwo.

Politechnika Śląska  
Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki  
Katedra Ochrony Powietrza

ul. Konarskiego 22 B, pok. 306 , 44-100 Gliwice  
+48 32 237 29 31  
[wioletta.przysas@polsl.pl](mailto:wioletta.przysas@polsl.pl)

NIP 631 020 07 36

ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230 1000 0002 0211 3056



HR EXCELLENCE IN RESEARCH



Politechniki  
Śląskiej



Katedra Ochrony  
Powietrza



Uwzględniając zatem również potrzeby przemysłu problematyka zapewnienia odpowiedniej jakości mikrobiologicznej ścieków oczyszczonych podjęta w dysertacji jest niezwykle ważna, bowiem ponowne wykorzystanie ścieków staje się jedną z kluczowych strategii poszukiwania nowych zasobów wody.

Jednocześnie należy pamiętać, że wprowadzenie ścieków, nawet spełniających parametry fizykochemiczne, nie zapewnia pełnego bezpieczeństwa odbiornikowi i istotnie może wpłynąć na jego stan, a w szczególności biologię. Ładunek mikroorganizmów wprowadzanych z tego typu ściekami do odbiornika nie pozostaje obojętny dla składu mikroflory autochtonicznej, a także rzutuje na możliwość wykorzystania jego zasobów.

Badania wpływu zastosowania biopreparatów oraz innych metod higienizacji i dezynfekcji, w tym w systemach łączonych, wpisują się zatem dobrze w obecne trendy badawcze mające na celu zapewnienie poprawy jakości mikrobiologicznej ścieków oczyszczonych, w szczególności eliminacji patogenów. Tego rodzaju etap oczyszczania ścieków jest bowiem coraz częściej stosowany, a także staje się koniecznością w tych regionach, które korzystają z tego typu wody w celach rolniczych, także w miejscach, w których odbiorniki mają istotne znaczenie rekreacyjne. Jednocześnie tematyka dobrze wpisuje się w wymagania Parlamentu Europejskiego i Rady UE.

### **Ogólna charakterystyka rozprawy**

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 291 stron maszynopisu. Praca ma strukturę typową dla tego rodzaju prac, zatem po spisie treści i wykazie najważniejszych definicji w pracy umieszczono część teoretyczną, mającą za zadanie uzasadnić słuszność podjęcia tematu. Następnie zdefiniowano tezy, cele i zakres prac. Część teoretyczną zamyka obszerna analiza literatury.

Druga część pracy dotyczy bezpośrednio badań, w tym metodyki stosowanej, a także uzyskanych wyników, ich dyskusji oraz podsumowania i przyszłych planów badawczych. W dalszej kolejności przedstawiono spis wykresów, rysunków i tabel, a także załączniki przedstawiające wyniki uzyskane podczas obszernych analiz. Pracę zamykają abstrakty w wersji polskiej i angielskiej oraz spis literatury.

W pracy zamieszczono 56 wykresów, 15 rysunków, 20 tabel, oraz 47 załączników (182-260). Spis literatury obejmuje 461 pozycji, co jest rzadko spotykane w rozprawach doktorskich. Zaledwie 51 pozycji umieszczonych w wykazie jest wydanych przed rokiem 2000. Zdecydowana większość to artykuły naukowe, ale wśród pozycji cytowanych znalazły się również liczne rozporządzenia, raporty oraz około 40 stron internetowych. W dysertacji zacytowano również 5 pozycji autorskich (2) i współautorskich (3).



O aktualności cytowanej literatury może świadczyć chociażby fakt, że prawie 20% zacytowanych pozycji ukazało się w i po roku 2020. Taki dobór literatury stanowi o tym, że Doktorantka na bieżąco śledzi doniesienia literaturowe o znaczeniu międzynarodowym, obejmujące zarówno publikacje książkowe, jak również liczne doniesienia internetowe, aktualne raporty i wytyczne. Wobec powyższego należy stwierdzić, że Badaczka przygotowała rozprawę doktorską w oparciu o najnowszą literaturę dotyczącą zagadnień jakości wody, a liczba pozycji wskazuje na gruntowną analizę obecnego stanu wiedzy w tym zakresie.

Praca została przygotowana w sposób umożliwiający łatwe śledzenie i zrozumienie zarówno kontekstu oraz wyników badań. Dysertacja została napisana w sposób poprawny, a nieliczne błędy stylistyczne i niejasne sformułowania nie rzutują na całościowy, bardzo pozytywny odbiór pracy. Na szczególną uwagę zasługują pojawiające się w poszczególnych częściach badawczych podsumowania i wnioski z danego etapu badań.

### **Szczegółowe omówienie dysertacji**

W I części pracy, stanowiącej część teoretyczną, opartą na dogłębnej analizie aktualnej literatury, Badaczka przedstawiła zasadność podjętych badań w odniesieniu do wymagań stawianych ściekom obecnie i w przyszłości. W rozdziale 2 tej części znalazła się teza, cel i zakres pracy.

Doktorantka założyła, że możliwa jest higienizacja ścieków bytowych pochodzących z miejskich, komunalnych oczyszczalni ścieków rozumiana jako redukcja liczebności organizmów wskaźnikowych. To zaś bezpośrednio powinno przełożyć się na redukcję liczebności mikroorganizmów patogennych.

Wyróżniono również tezy dodatkowe, zakładające że:

- „możliwe jest złagodzenie negatywnego wpływu odprowadzanych ścieków oczyszczonych na jakość wód odbiornika;
- możliwe jest wydłużenie czasu skuteczności działania zastosowanych procesów dezynfekcji/higienizacji;
- możliwy jest wzrost potencjału ponownego wykorzystania ścieków poprzez wykorzystanie klasycznych metod dezynfekcji ścieków, takich jak ozonowanie i promieniowanie ultrafioletowe, metod biologicznych – biopreparatów, oraz metod stanowiących połączenie dwóch powyższych;
- możliwe jest wykorzystanie szybkich metod oznaczania mikroorganizmów (luminometria, cytometria przepływowa) w celu ustalania dawki stosowanego dezynfektanta, co ma kluczowe



znaczenie w szybkim reagowaniu na zmieniające się parametry jakości ścieków oczyszczonych i przekłada się na zwiększenie bezpieczeństwa sanitarnego wód odbiornika.”

Głównym celem zdefiniowanym przez badaczkę było natomiast „wykazanie, że stosowane metody dezynfekcji ścieków oczyszczonych w połączeniu z działaniem biopreparatów mogą stanowić naturalną, bezpieczną i przede wszystkim skuteczną metodę poprawy jakości mikrobiologicznej ścieków oczyszczonych”. Jak wskazała badaczka jest to związane z koniecznością poprawy jakości mikrobiologicznej ścieków głównie w odniesieniu do poprawy jakości wód odbiornika, a także w odniesieniu do ścieków mających znaleźć ponowne wykorzystanie co jest ujęte w przepisach Unii Europejskiej.

Wyróżniono również cele szczegółowe obejmujące:

- „określenie skuteczności działania biopreparatów w poprawie jakości mikrobiologicznej ścieków oczyszczonych;
- określenie efektywności dezynfekcji ścieków z zastosowaniem promieniowania UV i badanie stabilności mikrobiologicznej po tym procesie;
- określenie efektywności ozonowania i stabilności mikrobiologicznej ścieków po procesie ozonowania” stanowiące w rzeczywistości zakres prowadzonych badań.

W mojej ocenie zarówno tezy pracy, jak również cele zostały poprawnie sformułowane. Pragnę jednak podkreślić, że w przypadku jednej z zakładanych tez wymagałby dodatkowych badań, związanych z przeprowadzeniem testów na pełną skalę. Chodzi o tezę stwierdzającą, że „możliwe jest złagodzenie negatywnego wpływu odprowadzanych ścieków oczyszczonych na jakość wód odbiornika”. Jednocześnie podkreślam, iż uwaga ta ma charakter jedynie dyskusyjny.

W dalszej części tego rozdziału opisano problem badawczy, który starała się rozwiązać Badaczka oraz zakres pracy obejmujący część literaturową i część eksperymentalną.

W części literaturowej, obejmującej rozdziały 3-7, omówiono w kolejności regulacje prawne obowiązujące w kraju i za granicą, związane z oczyszczaniem i dezynfekcją ścieków (rozdział 3), praktyki stosowane w Polsce i na świecie dotyczące zarówno dezynfekcji ścieków, jak również ich ponownego wykorzystania (rozdział 4), zagrożenia jakie wynikają z braku higienizacji ścieków, związane z obecnością w nich wirusów, bakterii, pierwotniaków, pasożytów oraz grzybów (rozdział 5), możliwości eliminacji mikroorganizmów ze ścieków stosując metody biologiczne, fizyczne i chemiczne (rozdział 6) i wreszcie techniki stosowane w oznaczaniu mikroorganizmów, uwzględniając zarówno metody hodowlane, molekularne, jak również luminometrię i cytometrię przepływową wykorzystane przez Doktorantkę w przeprowadzonych badaniach (rozdział 7).



Druga część pracy obejmowała doświadczenia prowadzone przez badaczkę. W pierwszej kolejności zdefiniowano przedmiot badań, a więc opisano oczyszczalnie ścieków, z których pobierano ścieki oczyszczone do eksperymentów laboratoryjnych. Wykazano dwie oczyszczalnie (jedna umiejscowiona w Tarnobrzegu, a druga, znacznie większa, w Rzeszowie). W rozdziale 2 zaprezentowano metodykę badań w tym sposób poboru próbek ścieków oczyszczonych, wykorzystane w badaniach biopreparaty (12 różnych biopreparatów), konfiguracje w jakich prowadzono poszczególne serie badawcze, metodykę badania działania promieniowania UV w dezynfekcji ścieków oczyszczonych, metodykę badań skuteczności działania ozonu, sposób określania stabilności mikrobiologicznej ścieków po przeprowadzonych procesach dezynfekcji, ocenę wpływu biopreparatów na jakość mikrobiologiczną ścieków po dezynfekcji. W podrozdziale 2.3 opisano metodykę oznaczeń wskaźników fizykochemicznych i wskaźników mikrobiologicznych. W tej części pracy brakuje jednak zdefiniowania używanych przy omawianiu wyników tzw. serii badawczych. Niejasne jest jak w poszczególnych seriach przygotowywano próbki ścieków oczyszczonych i skąd one pochodziły w danych badaniach.

W rozdziale 3 części doświadczalnej zaprezentowano uzyskane wyniki. W rozdziale 3.1 przedstawiono wartości minimalne i maksymalne parametrów fizykochemicznych ścieków pobranych z obu oczyszczalni ścieków. W rozdziale 3.2 omówiono wyniki badań z biopreparatami ACS ODO\_1 i Bio-Trakt PLus, w szczególności wpływ stosowania dawki na liczebność bakterii typu *coli* oraz *E. coli*, zmiany RLU wiązanych z ATP oraz wyniki badań cytometrycznych, wpływ czasu działania 4 różnych preparatów na powyższe parametry ścieków oczyszczonych, oraz wpływ dodatkowego natleniania na skuteczność usuwania bakterii z grupy *coli* przy zastosowaniu biopreparatu ACS ODO\_1.

Analizie poddano również wpływ zastosowania różnych form biopreparatów na usunięcie bakterii z grupy *coli*, obejmujące chociażby formę płynną czy zliofilizowaną, wprowadzenie biopreparatu z podłożami o różnym składzie, czy też bez podłoża. Ponadto w rozdziale 3.2 zaprezentowano również wyniki oznaczania liczebności paciorkowców kałowych w próbkach z probiotykami, analizy molekularne próbek z biopreparatami oraz wyniki zmian pH, barwy i mętności prób poddanych higienizacji z wykorzystaniem biopreparatów. Po omówieniu wyników badań przeprowadzono dyskusję tej części badawczej i wysunięto pierwsze wnioski z obserwacji. Jednocześnie stwierdzono, że zastosowanie biopreparatów nie przyniosło zakładanych efektów, bowiem w większości przypadków zastosowane biopreparaty wykazały działanie stymulujące rozwój i odbudowę populacji bakterii typu *coli*. Co również istotne wykazano, że zastosowanie



biopreparatów pogorszyło w większości przypadków takie parametry oczyszczonych ścieków jak barwa i mętność.

W rozdziale 3.3 Badaczka przedstawiła wyniki badań zastosowania promieniowania UV w dezynfekcji ścieków oczyszczonych. W badaniach uwzględniono wpływ dawki promieniowania na skuteczność eliminacji mikroorganizmów mierzonych jako wartość zewnątrzkomórkowego ATP i całkowitego ATP, a także liczbę komórek martwych i żywych analizowanych przy użyciu cytometrii przepływowej. W dalszej kolejności przeanalizowano stabilność mikrobiologiczną ścieków poddanych promieniowaniu UV w temperaturach 4 i 20°C, przy czym w drugim przypadku w modyfikacjach z i bez dodatkowego naświetlania. Badania te miały na celu wykazanie m.in. czy promieniowanie na tyle zabezpiecza próbki aby nie doszło do zmiany informacji genetycznej bakterii. W przypadku tych eksperymentów analizowano wpływ promieniowania na bakterie psychrofilne, mezofilne, bakterie przetrwalnikujące i bakterie typu *coli*. W dalszym etapie badań przeanalizowano wpływ dodatku biopreparatów na utrzymanie efektu dezynfekcji. Pozytywny efekt uzyskano jednak jedynie dla jednego z wykorzystanych biopreparatów. Również ta część pracy zakończona została dyskusją oraz podsumowaniem uzyskanych wyników. Badania wykazały, że istnieje zagrożenie odbudową populacji bakterii *coli* w ściekach zdezynfekowanych, a dodatek biopreparatu efekt procesu dezynfekcji wydłużał, jednak w określonych warunkach jego stosowania, czyli po oddzieleniu mikroorganizmów biopreparatu od samego podłoża.

W rozdziale 3.4 Doktorantka omówiła wpływ zastosowania różnych dawek ozonu na efektywność procesu dezynfekcji mierzonej zmianami liczebności bakterii psychro- i mezofilnych, bakterii typu *coli* i *E. coli*. Wykazano, że aby uzyskać pełną eliminację mikroorganizmów niezbędny jest czas 11 minut ekspozycji na ozon. Podobnie jak w przypadku badań dotyczących promieniowania UV również w tym przypadku przeanalizowano stabilność mikrobiologiczną ścieków po procesie dezynfekcji w 3 temperaturach (4, 15 i 28°) oraz wpływ zastosowania biopreparatu A7 na utrzymanie tego efektu. Wyniki przedyskutowano i podsumowano również po tej części pracy wskazując, że również w tym przypadku nie zaobserwowano trwałego działania ozonu, bowiem stwierdzono odbudowę populacji mikroorganizmów potwierdzającą brak stabilności mikrobiologicznej próbek poprocesowych.

Taka forma przedstawienia wyników, ich dyskusja i podsumowanie potwierdza dobre przygotowanie Badaczki do pracy naukowej, odpowiednie planowanie eksperymentów i odpowiedni dobór metodyki badań. Jednocześnie należy podkreślić umiejętność interpretacji złożonych zjawisk i wyników analiz.



Część badawczą kończy rozdział stanowiący podsumowanie badań, w tym wnioski oraz plany rozwijania tematyki rozprawy. W podsumowaniu Doktorantka stwierdziła, że możliwa jest higienizacja ścieków oczyszczonych, jednak tylko przy zachowaniu ściśle określonych warunków. Znaczenie ma tutaj zarówno dobór odpowiedniego biopreparatu, jak również dawka, a samo podłoże, stanowiące często integralny element biopreparatu, może efektywność procesu osłabiać. Jednocześnie potwierdzono wysoką skuteczność wykorzystania promieniowania UV oraz ozonu w procesie dezynfekcji ścieków, zwracając uwagę na fakt, że niestety procesy te nie zapewniają długotrwałej stabilności mikrobiologicznej oczyszczonych ścieków. W przypadku promieniowania UV stwierdzono również, że proces jest bardziej efektywny w niskich temperaturach. Badaczka udowodniła też, że aplikacja mikroorganizmów wyizolowanych z biopreparatu bogatego w bakterie kwasu mlekowego pozwala wydłużyć efekt działania dezynfekcji i ograniczyć możliwość odtwarzania populacji bakterii z grupy *coli*. Podobne zależności uzyskano również w przypadku ozonu. Jednocześnie stwierdzono, że możliwy jest wzrost potencjału wykorzystania ścieków poddanych dezynfekcji z wykorzystaniem ozonu i promieniowania UV, a także biopreparatów, w szczególności przy połączeniu obu procesów. Dodatkowym wnioskiem z badań było stwierdzenie, że możliwe jest wykorzystanie luminometrii i cytometrii przepływowej jako szybkich metod ustalania dawki dezynfektanta, co ma kluczowe znaczenie, bowiem pozwala szybko reagować na zmieniające się parametry ścieków oczyszczonych. Wnioski końcowe (sumarycznie 22) z badań przedstawiono w 3 częściach odpowiadających poszczególnym metodom stosowanym w celu poprawy parametrów ścieków oczyszczonych. Część badawczą zamknął podrozdział dotyczący dalszych kierunków badań obejmujący bardzo ambitne plany badawcze skupione m.in. na długoterminowych testach pozwalających na ocenę wpływu biopreparatów na ekosystemy wodne, opracowaniu zaawansowanych biopreparatów, badaniach możliwości łączenia różnych technologii oczyszczania i dezynfekowania ścieków, optymalizacji procesów trzeciego i czwartego stopnia oczyszczania ścieków, doskonaleniu metod oznaczania bakterii, w tym bakterii typu *coli* zarówno z wykorzystaniem metod hodowlanych, jak i cytometrii przepływowej czy luminometrii.

### **Merytoryczna ocena rozprawy**

Pracę, jako całość, oceniam pozytywnie. Analiza stanu wiedzy, poparta badaniami własnymi Doktorantki, stanowi dobrą podstawę do podjęcia dalszych wyzwań naukowych. Tematyka podjętych badań jest aktualna, a uzyskane rezultaty dostarczają cennych informacji dotyczących



efektywności procesu higienizacji, jak również możliwości łączenia różnych procesów dezynfekcji z higienizacją, w celu ograniczenia wprowadzenia organizmów patogennych do odbiornika.

Na szczególną uwagę zasługuje:

- wykorzystanie szeregu biopreparatów oraz modyfikacja formy i stężenia podczas ich wprowadzania do ścieków oczyszczonych w celu zweryfikowania możliwości ich zastosowania do higienizacji;
- wykazanie, że stosowane zgodnie z procedurą biopreparaty nie zawsze przynoszą oczekiwany rezultat, zatem konieczne jest dostosowanie procesu do panujących warunków;
- powszechnie stosowane procesy dezynfekcji z wykorzystaniem promieniowania UV i ozonu przynoszą oczekiwane rezultaty, jednak ich efekt może nie być utrzymywany zbyt długo, dlatego też należy wziąć pod uwagę możliwość zwiększenia stabilności efektu dezynfekcyjnego z wykorzystaniem odpowiedniej mikroflory stosowanej jako biopreparat.

Badaczka w pracy zastosowała szereg metod badawczych, co wskazuje na dobrą znajomość warsztatu badawczego, w szczególności w zakresie mikrobiologii. Zastosowana w pracy metodyka jest aktualna i została wykorzystana w logicznej sekwencji planowanych doświadczeń, potwierdzając dobre przygotowanie Pani mgr inż. Izabeli Kiełb-Sotkiewicz do realizacji badań naukowych.

#### **Uwagi, w tym o charakterze edytorskim i dyskusyjnym:**

W pracy dostrzeżono nieliczne przypadki błędów redakcyjnych, interpunkcyjnych (niepotrzebne przecinki lub ich braki, czy nie zamknięcie otwartych nawiasów) i pojedyncze niewłaściwe sformułowania, jednak nie umniejszają one wartości pracy. Większość z nich przedstawiono poniżej.

#### Uwagi o charakterze głównie edytorskim:

- W związku z dużą ilością danych, w tym analiz wykorzystanych przez badaczkę, spis skrótów na początku stanowiłby cenny element pracy. Dla przykładu dla niezaznajomionego z tematyką brakuje rozwinięcia skrótów TCC i ICC (str. 72), MUCT na str. 77, czy też nazw reaktorów na str. 33 (MBR, MBBR, SBR, BFM). Proszę o rozwinięcie wspomnianych skrótów.





- W pracy pojawia się wiele jednostek stosowanych w przypadku opisywania objętości ścieków. Warto trzymać się układu SI powszechnie przyjętego w tego typu pracach. Dla przykładu na str. 7 mamy w pierwszej kolejności podawane objętości jako mld m<sup>3</sup>, a dalej pojawia się jednostka dam<sup>3</sup>. Na str. 30 pracy podano niepotrzebnie w jednostce l (jtk/l ml), jednocześnie poniżej zastosowano dla odmiany cm<sup>3</sup> zamiast ml.
- Spis literatury wymaga uzupełnienia czy też poprawienia w niektórych pozycjach: w pozycjach 21 i 364, 366, 367 nie podano pełnych danych dostępowych (czy jest to zasób internetowy, dokumentacja znajdująca się na miejscu w przedsiębiorstwie czy też inne), w pozycji 185 nie podano pełnego roku wydania publikacji, w pozycjach 275, 349, 354 brakuje roku wydania, w pozycjach 76, 82, 105, 198 rok wydania powinien być zapisany czcionką pogrubioną zgodnie z przyjętym w pracy schematem.
- W tabeli 1 w kolumnie kraj pojawiają się miasta oraz stany (Floryda, Kalifornia, Abu Zhabi), dlatego też należałoby bądź to zmienić nazwę tej kolumny, bądź też nazwy te podać po wcześniejszym uzupełnieniu o kraj jak podano w przypadku chociażby Belgii.
- Skrót sp. czy spp. w odniesieniu do mikroorganizmów podaje się bez stosowania kursywy.
- Na str. 34 użyto niefortunnego sformułowania dotyczącego „obniżki” liczebności bakterii czy też obniżki *Salmonella*.
- Na str. 38 należy uzupełnić nazwę wirusa - powinno być wirus gorączki Zachodniego Nilu oraz poprawić nazwę poliowirusy na wirusy polio lub poliowirusy.
- W tabeli 4 przy *E. coli* podano, że jest to bakteria, ale już przy pozostałych bakteriach czy innych organizmach nie podano do jakiej grupy są klasyfikowane. Jednocześnie często w tabelach pojawia się stosowanie kursywy dla formy niesklasyfikowanej, co nie powinno mieć miejsca. Dlatego również w tabeli 14 organizmy niesklasyfikowane powinny być zapisane bez kursywy.
- Str. 68 powinno być SSC (ang. *side scatter*).
- W pracy pojawiają się często uproszczone sformułowania takie jak odbudowa/rekonstrukcja bakterii/mikroorganizmów. Należałoby je zastąpić innym sformułowanie, chociażby odbudowa populacji bakterii/mikroorganizmów.
- W załączniku 24c nazwy łacińskie powinny być podane kursywą (poza zapisem unclassified) jednocześnie proszę o wyjaśnienie co oznaczają numery od 1 do 12 w tymże załączniku w części b i c.



- Należy doprecyzować tytuł załączników 37 i 40. Należy również zmienić nazwy kolumn w załączniku 47 - w pierwszej kolumnie podane jest bowiem próbka poddana określonej dawce ozonu, a barwa jest zapisana w kolumnie drugiej.

- Należy przeformułować dwa ostatnie podpunkty na stronie 30. Pierwszy dotyczy ekosystemów (Zagrożenia dla ekosystemów żyjących w wodzie), drugi zanieczyszczeń bakteryjnych, a właściwie bakteriami.

- Tytuł rozdziału 5.3 należałoby zmienić na „Charakterystyka wybranych mikroorganizmów obecnych w ściekach”, jednocześnie zmienić zapis, że powietrze jest naturalnym środowiskiem dla wirusów, bowiem powietrze jest również dla tej grupy mikroorganizmów jedynie środkiem transportu.

- Na str. 90 stwierdzono, że „Pomiar długość fali dla spektrofotometru wynosił 600 nm.”. Proszę o podanie prawidłowego opisu.

- Praca zawiera szereg różnych wyników związanych z ilością wykonanych przez Badaczkę analiz. Tym bardziej w takiej sytuacji ważny jest odpowiedni opis rysunków. Warto aby były one bardzo precyzyjne. Dotyczy to chociażby wykresu 4 czy rysunku 8 oraz szeregu innych. Dla przykładu wykres 19, w szczególności część b można przedstawić dokładniej umieszczając modyfikując opis osi y i wskazując na nim, że chodzi o udział procentowy. Obecny zapis może być mylący wskazując jako jednostkę nie [%] ale cząstki.

#### Uwagi o charakterze dyskusyjnym:

1. Proszę po wyjaśnienie zdania na str. 9 dotyczącego nawadniania terenów rolniczych. Badaczka podała, że: do nawadniania w rolnictwie zużywa się około 4,5 mln ha ścieków oczyszczonych.

2. Sformułowanie „Bakterie szpitalne są śmiertelne, ponieważ często ulegają mutacji, aby uodpornić się na antybiotyki” wydaje się być zbyt mocne w swojej wypowiedzi. Należałoby przereklamować to zdanie.

3. Zdanie „Dodatkowo należy pamiętać, że naturalne zanieczyszczenia typowe dla obszarów ludzkich osiedli – odprowadzane z gospodarstw domowych i instytucji publicznych ścieki bytowo-gospodarcze, resztki żywności, ścieki przemysłu rolno-spożywczego itp. – są podatne na mineralizację przez drobnoustroje.” na stronie 33 należałoby poprawić. Owszem są one podatne na biodegradację, ale ta nie zawsze wiąże się z pełną mineralizacją.

4. Proszę o rozwinięcie wątku dotyczącego kierowania przez światło i tlen procesami samooczyszczania na str. 33: „W stawach ściekowych zachodzą procesy samooczyszczania,



wynikające z interakcji procesów fizycznych i biochemicznych, kierowanych przez światło i tlen, oraz z udziałem mikroorganizmów wodnych, zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych.”

5. Akapit rozdziału 5.3 należałoby zrewidować: „Natomiast istnieją także obiekty takie jak wiroidy i priony, które nie spełniają tych klasycznych definicji życia, gdyż w przeciwieństwie do organizmów żywych nie posiadają budowy komórkowej i nie wykazują podstawowych funkcji życiowych, takich jak odżywianie czy oddychanie. Dlatego też nie są zaliczane do królestwa żywych organizmów.”

6. Na str. 39 badaczka stwierdziła, że patogeny „mogą powodować infekcje poprzez aerację”. Proszę o wyjaśnienie.

7. Proszę o zrewidowanie zapisów fragmentu pracy na str. 49: „Biopreparaty mikrobiologiczne przeznaczone do oczyszczania ścieków często zawierają bakterie z rodziny *Pseudomonas* lub *Bacillus*, znane z aktywnego udziału w naturalnych procesach samooczyszczania w wodzie i glebie. W biopreparatach ich stężenie jest znaczne – przykładowo 1 g kultur bakteryjnych może zawierać od  $10^4$  do  $10^9$  bakterii. Proces produkcji biopreparatów opiera się na hodowli bakterii w kontrolowanych warunkach na pożywkach, a następnie szybkim ich wysuszeniu w warunkach mezofilnych, co skutkuje przejściem bakterii w formę przetrwalnikową.”. O ile zgadzam się z tym stwierdzeniem w przypadku bakterii z rodzaju *Bacillus* to już w przypadku *Pseudomonas* nie mogę się zgodzić.

8. Na str. 58 znajduje się niefortunne sformułowanie „mechanizm odrastania komórki” sugerujące, że komórka może po zniszczeniu zostać odbudowana, co nie jest prawdą. Do innych niefortunnych sformułowań należą: „W kontekście dezynfekcji wirusowej rozważane są różne aspekty tego działania, takie jak atak oksydacyjny na białka ochronne pokryte ozonem” (str 61). „Rozwój badań cytometrycznych pozwolił na szybką i skuteczną analizę ekologicznych badań mikrobiologicznych naturalnych siedlisk wodnych, a ponadto gleb [304,305].”Proszę o wyjaśnienie powyższych zapisów i ich skorygowanie.

9. W części metodycznej pracy i wynikowej brakuje mi informacji na temat poboru prób ścieków, a dokładniej jak często je pobierano na oczyszczalniach i jak przygotowywano ścieki do kolejnych serii pomiarowych. Nie jest jasne czym właściwie są podawane w poszczególnych częściach pracy serie, a dokładniej jakie ścieki, czy też ich mieszaniny wykorzystywano w tych badaniach. Czy wyniki są z próby w jakiś sposób uśrednionej, czy też obejmują swoim zakresem pojedyncze próby



(w tym przypadku ile) i z jakich oczyszczalni. Proszę o przybliżenie tej części procedury badawczej.

10. Proszę o wyjaśnienie w jaki sposób prowadzono dodatkowe natlenianie prób oraz przybliżenie informacji dotyczących zakresu temperatur inkubacji próbek. W przypadku testów badania utrzymywania się efektu dezynfekcji UV i ozonem stosowano różne temperatury. Czym było to podyktowane?

11. W części metodycznej przy ocenie obecności bakterii z grupy *coli* wymieniono szereg metod oznaczania: metoda płytkowa Kocha z wykorzystaniem posiewu wgłębnego, metodą filtrów membranowych, metodą fermentacyjno-probówkowa (NPL). proszę o wyjaśnienie czy stosowana procedura była każdorazowo taka sama? Czy przy każdej analizie wykonywano wszystkie 3 rodzaje posiewów w celu oznaczenia obecności bakterii z grupy coli?

12. Wniosek „Potwierdzono, że szybkie techniki oznaczania mikrobiologicznego (ATP, FCM) umożliwiają regulację dawki ozonu w zależności od jakości dezynfekowanych ścieków.” należy zapisać inaczej, bowiem nie tyle badania te umożliwiają, co ułatwiają czy przyspieszają możliwość regulacji dawki ozonu dzięki szybszemu uzyskaniu wyników.

13. Na wykresach 38 - 40 przedstawiono liczebności bakterii. W opisie osi y znajduje się wartość w tysiącach. Jednak w treści rozdziału Badaczka stwierdza, że: „Do oceny stabilności mikrobiologicznej po procesie dezynfekcji UV zastosowano ścieki po dezynfekcji o następującej jakości mikrobiologicznej: bakterie psychrofilne: max 2jtk/100cm<sup>3</sup> (UV40) i 1x10<sup>1</sup>jtk/100cm<sup>3</sup> (UV100), bakterie mezofilne: max 5jtk/100cm<sup>3</sup> (UV40) i 1,9x10<sup>1</sup>jtk/100cm<sup>3</sup> (UV100) oraz formy przetrwalnikujące max 2jtk/100cm<sup>3</sup> (UV40) i 5jtk/100cm<sup>3</sup> (UV100).” co nie jest w zgodzie z wynikami przedstawionymi na wykresach. Proszę o wyjaśnienie jaka była zatem ta liczebność i co stanowiło próbę kontrolną?

14. Wykres 38 wskazuje, że w samych ściekach oczyszczonych liczebność bakterii typu *coli* spadła do 0 bez konieczności stosowania dezynfekcji. Czy zatem w opinii Badaczki konieczna jest dezynfekcja ścieków?

15. Na wykresie 41 obserwowany jest znaczny wzrost zawartości cząstek dla 7 min czasu ozonowania. Jednocześnie dla krótszych czasów i dla dłuższego wartości te są niższe. Czy istnieje jakieś wytłumaczenie zaistniałej sytuacji? Jednocześnie stwierdzenie „Analiza cytometrii przepływowej FCM (wykresy 41-44) koreluje z wynikami analizy ATP. Wraz ze zwiększeniem dawki dezynfektanta (czasu kontaktu) rośnie liczebność populacji LNA, charakteryzującej bakterie



martwe i/lub uszkodzone. Jednocześnie maleje populacja bakterii żywych HNA.” nie do końca znajduje odzwierciedlenie w wynikach przedstawionych na rysunkach. Proszę o ustosunkowanie się do tej uwagi.

### **Wniosek końcowy**

W podsumowaniu niniejszej recenzji pragnę stwierdzić, że treść rozprawy jest zgodna z tytułem, a zakładane tezy zostały zweryfikowane w oparciu o szereg odpowiednio dobranych analiz. Oceniając przedstawioną do zrecenzowania rozprawę doktorską pragnę podkreślić, że:

1. Podjęta tematyka badawcza jest aktualna i dobrze wpisuje się w dyscyplinę inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka;
2. Odpowiedni dobór metod analitycznych i ich wykorzystanie w celu weryfikacji założonych tez, a także szeroki wachlarz analiz jakie zastosowano w celu potwierdzenia lub zaprzeczenia zakładanym tezom stanowi o dobrym warsztacie badawczym Pani mgr inż. Izabeli Kielb-Sotkiewicz;
3. Znajomość i umiejętność przedstawienia aktualnego stanu wiedzy w tej tematyce, a także umiejętność interpretowania otrzymanych wyników badań i wnioskowania na ich podstawie potwierdza dobre przygotowanie do pracy naukowej.

Przedstawione powyżej uwagi o charakterze dyskusyjnym nie wpływają na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej, która stanowi wartościowe opracowanie naukowe. Praca stanowi istotny dorobek Doktorantki i wkład w rozwój dyscypliny, w szczególności w zakresie inżynierii środowiska, jednocześnie stanowiąc dobry punkt wyjścia do rozwijania technik analitycznych pozwalających na szybkie reagowanie na zanieczyszczenia mikrobiologiczne w ściekach oczyszczonych, a także do tworzenia procedur i metod pozwalających na zoptymalizowanie procesu higienizacji i dezynfekcji ścieków. Wyniki badań zaprezentowane w pracy znacząco wzbogacają stan wiedzy dotyczący możliwości stosowania różnych procesów w celu zapewnienia bezpieczeństwa ścieków oczyszczonych, a tym samym bezpieczeństwa zdrowotnego osób korzystających z odbiornika tych ścieków.

**Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Izabeli Kielb-Sotkiewicz zatytułowana „Możliwości poprawy jakości mikrobiologicznej ścieków oczyszczonych” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez obowiązujące**



**ustawowe przepisy (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce), ponieważ potwierdza dobrą ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie Inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka, umiejętność planowania i samodzielnego prowadzenia badań naukowych oraz wnioskowania, a także prezentuje oryginalne rozwiązanie problemu badawczego. W związku z tym rozprawa ta stanowi podstawę do nadania stopnia naukowego doktora. Wnoszę zatem o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora oraz dopuszczenie do publicznej obrony pracy.**

**Jednocześnie zgłaszam formalny wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Izabeli Kielb-Sotkiewicz.**

**Prof. dr hab. inż. Wioletta Przysaś**