

Lublin, 09.04.2018

prof. dr hab. Magdalena Frąć  
Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego  
Polskiej Akademii Nauk  
Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina  
Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej  
ul. Doświadczalna 4  
20-290 Lublin

Recenzja

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Ilony Wrońskiej**  
**pt. „Dobór mikroorganizmów o zwiększonej aktywności enzymatycznej przydatnych**  
**w optymalizacji procesu zagospodarowania odpadów drobiarskich”**  
**(promotor: prof. dr hab. inż. Krystyna Cybulska – Zachodniopomorski Uniwersytet**  
**Technologiczny w Szczecinie)**

wykonana na podstawie uchwały nr 302 Rady Wydziału Kształtowania Środowiska  
i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia  
23 marca 2018 roku (pismo Dziekana Wydziału z dnia 26.03.2018 roku)

**1. Ocena problematyki badawczej rozprawy**

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Ilony Wrońskiej dotyczy badań nad opracowaniem efektywnej szczepionki mikrobiologicznej do degradacji odpadów drobiarskich i jej wpływu na wydajność produkcji biogazu i uzysk metanu. Głównym celem przeprowadzonych badań było określenie liczebności i właściwości metabolicznych wybranych grup mikroorganizmów w odpadach przemysłu drobiarskiego, wybór mikroorganizmów najbardziej aktywnych, ich identyfikacja oraz stworzenie szczepionki mikrobiologicznej usprawniającej przetworzenie i zagospodarowanie tych odpadów.

Zagospodarowanie odpadów drobiarskich należy do jednych z ważniejszych narastających problemów, ponieważ w ostatnich latach obserwuje się wzrost powstającej masy tych odpadów. Utylizacja odpadowych produktów drobiarskich jest procesem złożonym i wymaga szeregu działań zapewniających ich odpowiednie przetworzenie. Jedną z możliwości wykorzystania odpadów drobiarskich jest ich zgazowanie w procesie fermentacji metanowej, jednak ze względu na utrudniony rozkład konieczne jest poszukiwanie metod wstępnej obróbki tego typu odpadów w celu zwiększenia efektywności produkcji biogazu.

Biotransformacja odpadów drobiarskich z udziałem wyselekcjonowanych mikroorganizmów stwarza możliwość odpowiedniego przetworzenia tych odpadów, umożliwiając bardziej efektywne wykorzystanie jako substratów do procesu fermentacji metanowej. Chociaż w ostatnich latach prowadzone były intensywne prace badawcze w zakresie zagospodarowania odpadów organicznych, w tym drobiarskich i ich przetwarzania z udziałem mikroorganizmów, duża różnorodność surowców odpadowych oraz różnice w ich właściwościach sprawiają, że unieszkodliwienie tych odpadów należy wciąż do nierozwiązanych problemów naszego kraju. Praca ma charakter poznawczy, gdyż wnosi nowe informacje na temat bioróżnorodności i składu mikroorganizmów zasiedlających odpady drobiarskie. Aplikacyjny charakter pracy dotyczy opracowania szczepionki mikrobiologicznej dla poprawy efektywności procesu fermentacji metanowej tych odpadów.

Biorąc pod uwagę powyższe względy, a także aktualne trendy zagospodarowania produktów ubocznych z różnych gałęzi przemysłu, uważam podjęcie przez Panią mgr inż. Ilonę Wrońską badań ukierunkowanych na tę problematykę za celowe i w pełni uzasadnione.

## 2. Formalna analiza rozprawy

W skład przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej wchodzi spójny tematycznie zbiór pięciu publikacji naukowych:

- **Iłona Wrońska**, Krystyna Cybulska. 2017. The number of keratinolytic microorganisms in feathers after slaughter poultry. *Proceedings of ECOpole*, 11(1): 113-119.
- **Iłona Wrońska**, Krystyna Cybulska. 2016. Presence of microorganisms at various stages of poultry wastes management Part I. Keratinolytic microorganisms. *Journal of Ecological Engineering*, 17(5):43-48.
- **Iłona Wrońska**, Krystyna Cybulska. 2016. Presence of microorganisms of selected enzyme groups in various stages of poultry waste compost formation Part II. Substrate: protein, fat, and starch. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 328(39)3:247-254.
- **Iłona Wrońska**, Krystyna Cybulska. 2017. Metabolic potential of bacteria strains isolated from poultry industry waste. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 338(44)4: 241–246.
- **Iłona Wrońska**, Krystyna Cybulska. Quantity and quality of biogas produced from the poultry sludge optimized by filamentous fungi with high enzymatic activity. *Ecological Chemistry and Engineering S. vol 25*, 2018.

We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, a drugim autorem jest Promotor. Z przedstawionych oświadczeń Doktorantki i Promotora wynika, że rola mgr inż. Ilony Wrońskiej w przygotowaniu tych prac była wiodąca, a jej indywidualny wkład obejmował przeprowadzenie badań, wykonanie wykresów i obliczeń, opracowanie, analizę i interpretację wyników oraz przygotowanie manuskryptów poszczególnych prac.

Publikacje umieszczone w rozprawie doktorskiej objęto wspólnym tytułem „Dobór mikroorganizmów o zwiększonej aktywności enzymatycznej przydatnych w optymalizacji procesu zagospodarowania odpadów drobiarskich”. Rozprawie, złożonej z siedmiu rozdziałów, nadano strukturę obejmującą: **wstęp (1)**, w którym nakreślono problem zagospodarowania odpadów drobiarskich oraz metody ich obróbki i przekształcania, **cel i zakres badań (2)**, w którym Doktorantka podkreśliła potrzebę stworzenia szczepionki mikrobiologicznej usprawniającej przetworzenie odpadów drobiarskich, **materiał i metody (3)**, gdzie opisane zostały typy badanych odpadów, schematy prowadzonych eksperymentów oraz zastosowane metody badawcze. Następne części rozprawy to **omówienie prac własnych (4)**, rozdział obejmujący 5 podrozdziałów, w których Doktorantka kolejno prezentuje i interpretuje wyniki badań przedstawione w poszczególnych publikacjach naukowych, **wnioski (5)**, **literatura (6)** oraz **jednotematyczny cykl publikacji – załączniki (7)**, w którym przedstawione są oświadczenia Doktorantki i Promotora oraz manuskrypty prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Ponadto, na początku rozprawy znajdują się **streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim**. Praca w takim układzie liczy 71 stron. Tytuł ocenianej rozprawy doktorskiej jest precyzyjny i w pełni odpowiada jej treści.

### 3. Merytoryczna analiza rozprawy

Pierwszy rozdział rozprawy stanowi „Wstęp”, w którym Doktorantka przedstawiła aspekty związane z szybkim rozwojem przemysłu drobiarskiego w Polsce i zagrożenia zwiększonej produkcji tych odpadów, a także podjęła dyskusję na temat konieczności ich unieszkodliwienia. Scharakteryzowała rodzaje masy odpadowej, pochodzącej z branży drobiarskiej oraz trudności przechowywania i gromadzenia tych odpadów, wynikające z ich określonego składu chemicznego oraz związane z zagrożeniem sanitarnym. W rozdziale tym Doktorantka podkreśliła zalety odpadów drobiarskich w kontekście przetwarzania w procesie beztlenowej utylizacji tych odpadów. Przytoczyła też znaczenie biologicznej obróbki odpadów, wskazując na potencjał wysoce aktywnych mikroorganizmów w degradacji odpadów drobiarskich, podkreślając niskie nakłady energetyczne i niewielką ilość produktów



ubocznych powstających podczas takiej obróbki i unieszkodliwiania odpadów. Omówienie problematyki związanej z tematem rozprawy, zebrane we wstępie, choć niezbyt rozbudowane, jest ciekawe i wprowadza czytelnika w zagadnienia przedstawione w pracy.

Podkreślić należy powiązanie badań aplikacyjnych i poznawczych, z uwagi na to, że praca koncentruje się na opracowaniu efektywnej szczepionki mikrobiologicznej do degradacji odpadów drobiarskich, z uwzględnieniem ich zagospodarowania w procesie fermentacji metanowej, a także obejmuje szereg badań poznawczych obejmujących określenie liczebności, bioróżnorodności i właściwości metabolicznych mikroorganizmów występujących w drobiarskich produktach odpadowych. Stąd też cel badań został sformułowany w sposób precyzyjny, łącząc dobrze dwa aspekty: poznawczy i aplikacyjny. Cel pracy sformułowany jest poprawnie, wyznaczając wyraźnie kierunek badań, a zakres rozprawy w kolejnych podpunktach przedstawia powiązane ze sobą w logiczny sposób etapy prowadzonych badań i jest adekwatny do przyjętego celu rozprawy doktorskiej.

Kolejny rozdział rozprawy „Materiały i metody” obejmuje opis materiału badawczego, zastosowanych metod badawczych oraz prowadzonych eksperymentów, które bardziej szczegółowo zostały omówione w przedstawianych kolejno publikacjach wchodzących w zbiór prac rozprawy doktorskiej. W rozdziale tym przedstawiono szeroki wachlarz odpadów z przemysłu drobiarskiego, które zostały poddane badaniom, w tym pióra kurze, kacze, gęsie oraz indycze, szlam, osad biologiczny oraz kompost, stanowiący końcowy produkt przetwarzania odpadów drobiarskich. W rozdziale tym przedstawiono metody badań poszczególnych grup mikroorganizmów o zróżnicowanych właściwościach do rozkładu skrobi, tłuszczu, kazeiny i keratyny, a także sposób określania tzw. indeksu aktywności poszczególnych mikroorganizmów. Omówiono sposób selekcji 4 szczepów grzybów, które zostały następnie wykorzystane do opracowania mikrobiologicznej szczepionki do degradacji odpadów drobiarskich. W rozdziale przedstawiono etapy badań, które obejmowały: identyfikację grzybów, charakterystykę fizykochemiczną osadu biologicznego z odpadów drobiarskich, opis doświadczenia, w którym testowano wpływ grzybów, aplikowanych wcześniej do substratu wprowadzanego do fermentora, na wydajność produkcji biogazu oraz przedstawiono analizę statystyczną uzyskanych wyników. Na podkreślenie zasługuje odpowiedni dobór metod zapewniający przeprowadzenie kompleksowych badań, w wyniku których Doktorantka opracowała szczepionkę mikrobiologiczną, ułatwiającą prowadzenie fermentacji metanowej odpadów drobiarskich, uzyskując pozytywne jej działanie na wydajność produkcji biogazu.

W rozdziale „Omówienie prac własnych” Doktorantka opisała w sposób syntetyczny wyniki badań uzyskane i szczegółowo przedstawione, w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Wyniki badań własnych przedyskutowała z dostępnymi danymi z literatury. Opis wyników stanowi dobre wprowadzenie do kolejnych rozdziałów, podkreśla logiczne powiązanie i spójność poszczególnych prac wchodzących w skład rozprawy. W tej części pracy Doktorantka omówiła uzyskane wyniki i skomentowała rezultaty kolejnych eksperymentów. Pierwsze dwie prace poruszają problematykę dotyczącą liczebności mikroorganizmów keratynolitycznych w odpadach przemysłu drobiarskiego, odpowiednio piórach różnych gatunków drobiu oraz szlamie, osadzie biologicznym i kompoście z odpadów po produkcji drobiu. Doktorantka w tych pracach wykazała przydatność różnych pożywek mikrobiologicznych w badaniach skriningowych związanych z izolacją mikroorganizmów keratynolitycznych z drobiarskich produktów odpadowych. Ponadto, w pracach omówiono liczebność mikroorganizmów keratynolitycznych na różnych etapach przetwarzania i zagospodarowania odpadów. Kolejna praca dotyczy określenia liczebności mikroorganizmów posiadających właściwości do rozkładu tłuszczu, białka i skrobi w odpadach z produkcji drobiarskiej. Doktorantka przeanalizowała zmiany liczebności badanych mikroorganizmów w zależności od rodzaju testowanych produktów odpadowych (szlam, osad biologiczny, kompost). W pracy czwartej Doktorantka określiła potencjał metaboliczny 100 szczepów bakteryjnych wyizolowanych z odpadów drobiarskich, spośród których wyselekcjonowała 8 izolatów o najwyższej aktywności hydrolitycznej, które zostały użyte w optymalizacji osadu biologicznego, który został następnie poddany zgazowaniu w procesie fermentacji metanowej. W ostatniej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące wpływu opracowanej szczepionki mikrobiologicznej na efektywność produkcji biogazu z odpadów pochodzących z produkcji drobiarskiej i jego parametry jakościowe, w tym zawartość metanu. Doktorantka wykazała 20% wzrost produkcji biogazu i 28% wzrost zawartości metanu w biogazie po zastosowaniu opracowanej szczepionki mikrobiologicznej z udziałem grzybów strzępkowych, przy jednoczesnym obniżeniu zawartości  $\text{NH}_3$  i  $\text{H}_2\text{S}$ . Jest to część pracy, w której Doktorantka prawidłowo scharakteryzowała efekty badań. W ramach przeprowadzonych badań wykazała, że szczepionka mikrobiologiczna powoduje wyraźną intensyfikację degradacji odpadów drobiarskich, wskazując na możliwość efektywnej i bezpiecznej dla środowiska degradacji tych odpadów.

Kolejny rozdział rozprawy stanowią „Wnioski”, w tej części Doktorantka podsumowuje wyniki badań formułując 6 trafnych wniosków. Na końcu pracy znajduje się spis literatury,



obejmujący 47 pozycji z zakresu zagospodarowania odpadów organicznych, fermentacji metanowej oraz właściwości hydrolitycznych mikroorganizmów i ich wykorzystania w degradacji odpadów. Ostatni rozdział rozprawy stanowi „Jednotematyczny cykl publikacji – załączniki”, w którym Doktorantka kolejno przedstawiła pięć wspomnianych wcześniej publikacji naukowych oraz umieściła oświadczenia współautorów, potwierdzające udział i indywidualny wkład w powstanie prac.

Podczas czytania i analizy rozprawy nasunęły mi się pewne sugestie i uwagi, które w tym miejscu chciałabym przytoczyć:

- w moim odczuciu zbyt pobieżnie potraktowano charakterystykę fizykochemiczną odpadów drobiarskich, brakuje też informacji o ewentualnym występowaniu lub braku obecności związków szkodliwych w badanych materiałach odpadowych z przemysłu drobiarskiego;
- dyskusyjne wydaje się nazewnictwo niektórych określeń użytych w pracy np. zamiast „ilość bakterii”, „ilościowe określenie drobnoustrojów” bardziej odpowiednie są określenia „liczba bakterii”, „liczebność mikroorganizmów”, ponieważ są one policzalne, zamiast „zidentyfikowano metodą amplifikacji fragmentu 16S rDNA” powinno być „zidentyfikowano metodą amplifikacji i sekwencjonowania fragmentu 16S rDNA”;
- bardzo wartościowe byłoby dodatkowe określenie aktywności enzymatycznej mikroorganizmów wykorzystanych do opracowania szczepionki mikrobiologicznej na podstawie badań biochemicznych, a także sprawdzenie obecności genów kodujących aktywność enzymów zaangażowanych w degradację odpadów drobiarskich. Proszę o informację czy takie badania były prowadzone lub czy są planowane w przyszłości;
- w ocenie metabolicznej szczepów określono ich właściwości do rozkładu skrobi, kazeiny, tłuszczu i keratyny. Istnieje oczywiście możliwość szerszej analizy właściwości hydrolitycznych mikroorganizmów. Proszę zatem o wyjaśnienie czym kierowała się Autorka w wyborze określonych właściwości metabolicznych mikroorganizmów;
- w opisie eksperymentu dotyczącego fermentacji metanowej zabrakło informacji o pojemności komór fermentacyjnych, w których prowadzono badania. Proszę o uzupełnienie tej informacji;

Przedstawione uwagi mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na pozytywny odbiór rozprawy doktorskiej.

#### 4. Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, dotyczącego biologicznej degradacji i zagospodarowania odpadów z przemysłu drobiarskiego, z uwzględnieniem opracowania mikrobiologicznej szczepionki wspomagającej przetwarzanie tych odpadów.

Doktorantka zaprezentowała dobrą znajomość problematyki rozprawy, wykazała umiejętność samodzielnego wykonywania badań naukowych, opanowała warsztat badawczy z zakresu mikrobiologii, a także wykazała się zdolnością do opracowania i interpretacji uzyskanych wyników. Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Ilony Wrońskiej jest opracowaniem wnoszącym istotny wkład w kierunki degradacji i zagospodarowania odpadów drobiarskich. Recenzowaną rozprawę oceniam pozytywnie podkreślając, że wskazane uwagi i sugestie nie wpływają istotnie na jej wartość merytoryczną.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Ilony Wrońskiej spełnia warunki wymagane Ustawą z dnia 14 marca 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 marca 2011 roku (Dz. U. Nr 84, poz. 455) i wnioskuję o jej dopuszczenie do publicznej obrony. Ponadto, biorąc pod uwagę aktualność podjętej problematyki oraz dużą wartość utylitarną i poznawczą pracy wnioskuję o wyróżnienie jej nagrodą.

*Magdalena Frąc*  
prof. dr hab. Magdalena Frąc

Lublin, 09.04.2018