



Dr hab. Adrian Wiater, prof. UMCS
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Biologii i Biotechnologii
Instytut Nauk Biologicznych
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej

Lublin, dn. 05.05.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Kingi Proc-Pietrychy

pt. „Ocena możliwości wykorzystania *Hermetia illucens* w entomoremediacji osadów po oczyszczaniu ścieków komunalnych” wykonanej w Zakładzie Biogeochemii Środowiska Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Bieganowskiego (promotor) oraz dra inż. Piotra Bulaka (promotor pomocniczy)

Podstawa formalna opracowania recenzji

Formalną podstawą opracowania recenzji jest pismo Dyrektora Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie, Pana Prof. dr hab. Cezarego Sławińskiego z dnia 21 marca 2023 r. wraz z umową, w którym poinformował mnie, że decyzją Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie, zostałem powołany na recenzenta ww. pracy.

Ocena istotności i celowości podjętego tematu

Temat badań podjęty przez Doktorantkę, należy rozpatrywać wielopłaszczyznowo. Obecnie obserwujemy lawinowy wzrost ilości wszelkiego rodzaju zanieczyszczeń oraz odpadów, zarówno komunalnych czy przemysłowych generowanych przez działalność człowieka. Taka sytuacja stymuluje powstawanie nowych form walki z degradacją środowiska. Należy do nich, m. in. proponowana przez Unię Europejską, tzw. Gospodarka o obiegu



zamkniętym (GOZ), w której minimalizuje się zużycie surowców oraz wielkość odpadów. Uzyskuje się to poprzez tworzenie zamkniętej pętli procesów, w których odpady z jednych procesów są wykorzystywane jako surowce dla innych. Zagospodarowanie odpadów można prowadzić wielokierunkowo, np. wykorzystując do tego celu owady. Entomoremediacja, to bardzo popularny obecnie kierunek szeroko pojętej bioremediacji. Wiąże się to z faktem, że Unia Europejska sukcesywnie poszerza listę owadów dopuszczonych jako pasza dla zwierząt, źródło białka dla ludzi czy związków wykorzystywanych w przemyśle chemicznym i farmaceutycznym. Nie bez znaczenia jest również fakt, że społeczeństwo europejskie co raz łatwiej dopuszcza możliwość wykorzystania owadów w ich diecie oraz gospodarce. Szczególne znaczenie wśród zaakceptowanych przez Unię Europejską owadów ma *Hermetia illucens*, która może być z powodzeniem wykorzystywana w entomoremediacji, ponieważ wykazuje szczególną zdolność żerowania na różnorodnej biomacie odpadowej oraz bioakumulacji i biodegradacji zanieczyszczeń.

W tym kontekście tematyka badań, którą podjęła Doktorantka wydaje się niezmiernie ciekawa i stanowi uzupełnienie dotychczasowej wiedzy na temat prezentowanych zagadnień, a dodatkowo wpisuje się w promowaną obecnie Gospodarkę o obiegu zamkniętym (GOZ). Należy podkreślić, że założone cele badawcze były złożone i wielopłaszczyznowe. Realizowano je w oparciu o różne techniki analityczne oraz hodowle owadów prowadzone *in vivo*, co wymaga znajomości i umiejętności posługiwania się różnymi narzędziami laboratoryjnymi oraz pracy ze zwierzętami. Proponowane przez Doktorantkę rozwiązania mogą okazać się bardzo przydatne z punktu widzenia praktycznego, szczególnie w ujęciu wykorzystywania uciążliwych odpadów w procesie technologicznym.

Charakterystyka rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska Pani mgr Kingi Proc-Pietrychy bazuje na trzech, spójnych tematycznie pracach, które stanowią załącznik recenzowanej dysertacji. Jak zaznacza Autorka, dwa artykuły zostały opublikowane w latach 2020-2021, w renomowanych czasopismach z bazy JCR, natomiast trzeci manuskrypt jest na etapie recenzji:



- P.1. **Proc K.**, Bulak P., Wiącek D., Bieganowski A. *Hermetia illucens* exhibits bioaccumulative potential for 15 different elements – implications for feed and food production. *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT* 2020, 723, 138125.

*Impact Factor*₂₀₂₀ **7,963**; 200 punktów MEiN (2020),

- P.2. **Proc K.**, Bulak B., Kaczor K., Bieganowski A. A new approach to quantifying bioaccumulation of elements in biological processes. *BIOLOGY* 2021, 10, 345.

*Impact Factor*₂₀₂₁ **5,079**; 100 punktów MNiSW (2021),

- P.3. **Proc-Pietrycha K.**, Bulak B., Kaczor K., Bieganowski A. Entomoremediation of municipal digested sewage sludge by *Hermetia illucens* with and without the addition of optimal feed.

Sumaryczny współczynnik wpływu IF (ang. *Impact Factor*) zgodnie z rokiem opublikowania dla wszystkich prac osiągnął wartość 13,042; natomiast ilość punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki przyznana dla czasopism, w których zostały one zamieszczone to 300. Prace będące podstawą rozprawy doktorskiej są wieloautorskie, a liczba współautorów w każdej z prac to 4 osoby. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, a Jej udział w ich realizacji i przygotowaniu, zgodnie z oświadczeniami współautorów był wiodący. Określenie wkładu własnego Doktorantki przeprowadzono bardzo rzetelnie, a dołączenie dodatkowych informacji w Oświadczeniach współautorów (Rozdział 8), sprawia że są one w pełni transparentne. Moim zdaniem, brakuje jednak określenia udziału procentowego Doktorantki w poszczególnych pracach. Według zamieszczonych informacji wynika, że Doktorantka, m. in., brała udział w przygotowaniu koncepcji eksperymentów, przeprowadziła samodzielnie większość badań i opracowywała wyniki eksperymentów, współuczestniczyła w przygotowaniu koncepcji współczynnika BAI, przeprowadziła analizę baz bibliograficznych w celu potwierdzenia miarodajności nowego współczynnika bioakumulacji oraz brała udział w przygotowywaniu manuskryptów i ich korekcie.

Układ przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej jest przejrzysty i posiada format charakterystyczny dla tego typu prac, opartych na monotematycznym cyklu publikacji. Całość rozprawy obejmuje 8 głównych rozdziałów (48 stron). Układ Rozprawy przedstawia się następująco:



- streszczenie (w języku polskim i angielskim),
- spis treści,
- lista publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej,
- wprowadzenie,
- cel rozprawy doktorskiej oraz hipotezy badawcze,
- materiały i metody,
- omówienie wyników publikacji oraz dyskusja,
- podsumowanie i wnioski,
- teksty publikacji,
- bibliografia,
- oświadczenia współautorów.

Moim zdaniem, Autorka powinna włączyć do Rozprawy dodatkowy rozdział Wykaz skrótów, a także przedstawić na końcu Autoreferatu perspektywę dalszych kierunków badań nad rozpoczętym tematem. Ponadto, Rozprawa powinna zawierać krótką prezentację dokonań naukowych Doktorantki, co stanowiłoby dodatkową, cenną informację dla Recenzentów.

Zaprezentowane na początku Rozprawy doktorskiej Streszczenie oraz Wprowadzenie, bardzo dobrze wprowadzają w tematykę badań. Lektura tych rozdziałów, pozwala na szybkie zorientowanie się w zakresie opracowania oraz celowości podjęcia badań opisanych w załączonym cyklu prac (Rozdział 6). Głównym celem badawczym recenzowanej rozprawy była ocena możliwości wykorzystania *Hermetia illucens* w entomoremediacji osadów po oczyszczaniu ścieków komunalnych. Dodatkowo, w ramach celu głównego, Doktorantka postawiła sobie również cele szczegółowe, które dotyczyły:

- oceny potencjału do bioakumulacji wybranych pierwiastków w organizmie *H. illucens* na różnych etapach jej rozwoju w warunkach optymalnych,
- oceny możliwości wykorzystania osadu pofermentacyjnego po oczyszczaniu ścieków komunalnych jako substratu dla larw *H. illucens*,
- oceny bioakumulacji pierwiastków występujących w osadzie pofermentacyjnym po oczyszczaniu ścieków komunalnych w organizmie *H. illucens* na różnych etapach jej rozwoju,
- oraz, zaproponowania nowej wielkości fizycznej opisującej bioakumulację w doświadczeniach laboratoryjnych, w których organizmy najpierw hodowane były na jednej karmie, a następnie przeniesione i hodowane na innej.



Pierwsza z prac (P.1), stanowiących cykl spójnych i uzupełniających się publikacji, dotyczyła odpowiedzi na pytanie, jakie pierwiastki mogą podlegać bioakumulacji w biomasie *H. illucens* oraz czy bioakumulacja ta różni się w zależności od stadium rozwoju osobnika. W tym celu określono zawartość 21 różnych pierwiastków, tj. mikro- i makroelementów, wybranych toksycznych metali ciężkich oraz kilku pierwiastków nieistotnych fizjologicznie, w karmie podawanej owadom oraz w biomasie larw, poczwerek, imago, a także w wylinkach *H. illucens*. Wyniki analiz z wykorzystaniem spektroskopii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP–OES (iCAP Series 6500, Thermo Scientific, USA), wykazały wyraźnie, że takie pierwiastki jak Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Se, Zn ulegały bioakumulacji w biomasie owadów we wszystkich stadiach rozwojowych oraz w ich wylinkach. Natomiast w przypadku Al, As, Co, K, Pb i Si, nie zaobserwowano takiego zjawiska na żadnym etapie rozwoju *H. illucens*. W przypadku Ca, Cd, Ga, Mn, P i S pierwiastki te były akumulowane tylko w niektórych stadiach rozwojowych owadów, bądź tylko w ich wylinkach. Do najciekawszych rezultatów badań opisanych w tej pracy należy zaliczyć również fakt, że Doktorantka wykazała po raz pierwszy bioakumulację nieistotnych fizjologicznie pierwiastków, takich jak Ba, Bi i Ga w biomasie *H. illucens*, oraz spostrzeżenie że rtęć była jedynym toksycznym metalem ciężkim, który bioakumulował się we wszystkich stadiach rozwojowych owada i w jego wylince.

Badania opisane w kolejnej pracy (P.2) są w pewien sposób pokłosiem badań zaprezentowanych w publikacji pierwszej. Doktorantka wykazała w niej, że larwy żerujące nawet na nieskażonej biomasie akumulują w swoim organizmie niektóre pierwiastki. I dlatego, jak stwierdziła Autorka, do właściwej oceny bioakumulacji pierwiastków w biomasie owadów hodowanych w różnych warunkach (matecznych i doświadczalnych) nie wystarczy zastosowanie klasycznego wskaźnika bioakumulacji BAF. Doktorantka zaproponowała nową miarę, nazwaną indeksem bioakumulacji (BAI), który uwzględnia początkowy poziom badanych pierwiastków wprowadzanych do systemu eksperymentalnego wraz z biomasą organizmu. Zaproponowany współczynnik (BAI), pozwala na lepsze scharakteryzowanie zjawiska bioakumulacji i skorygowanie wniosków wyciągniętych na podstawie klasycznej wielkości BAF.

Trzecia część pracy (P.3) zamykająca cykl publikacji, opierała się na wynikach badań uzyskanych w dwóch omówionych już publikacjach. W tym manuskrypcie, Autorzy postawili



sobie pytanie, czy larwy *H. illucens* mogą być stosowane do utylizacji komunalnych, przefermentowanych osadów ściekowych powstałych w procesie oczyszczania ścieków. Jak wykazano przefermentowany osad ściekowy (POŚ) nie stanowił idealnej karmy dla larw *H. illucens*, jednak dodatek 20% karmy dla ryb (KD) do osadów ściekowych (POŚ+KD) istotnie zwiększył wykorzystanie otrzymanego pożywienia (1,35 razy). Dodatkowo, suplementacja paszy, karmą dla ryb, wyraźnie skróciła czas stadium larwalnego *H. illucens*. Co ciekawe, w wariancie z samym przefermentowanym osadem ściekowy przepoczwarczenie nie wystąpiło w ogóle. Ocena bioakumulacji według wielkości BAF wykazała, że tylko niewielka liczba pierwiastków, m. in. Ag, Ca, Cd, K, Mg i Mn uległa związaniu w biomase larw *H. illucens*. Natomiast BAI wykazał bioakumulację 25 pierwiastków z wyjątkiem: B, Cr, K, Mg, Mn, P, S i Si. Jak wykazano, dodatek karmy dla ryb do paszy owadów, znacząco zwiększał stopień bioakumulacji niektórych pierwiastków. Należy również wyróżnić, ciekawe spostrzeżenie dokonane przez Doktorantkę dotyczące wylinek owadów. Autorka stwierdziła, że są one najlepszym materiałem do akumulacji dużej ilości pierwiastków, w tym bardzo pożądanym z punktu widzenia człowieka. Doktorantka wykazała, że wylinki *H. illucens* zawierały dużą ilość Ag (44,40 mg·kg⁻¹ s.m.), która nie ustępowała ilości tego pierwiastka w wydobywanych w kopalniach rudach srebra.

Podsumowując ten etap, stwierdzam, że treść recenzowanej pracy odpowiada tytułowi a sposób jej zredagowania oceniam jako bardzo dobry. Cel główny oraz poszczególne cele cząstkowe zostały zrealizowane poprawnie, a założone hipotezy badawcze zostały potwierdzone. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę stanowią nowoczesny i oryginalny wkład w rozwój szeroko pojętych nauk biologicznych. Do największych zalet recenzowanej pracy zaliczyłbym próby suplementowania paszy larw *H. illucens*, dodatkiem przefermentowanego osadu ściekowego. To działanie wpisuje się w ideę „zero waste” oraz model Gospodarki o obiegu zamkniętym (GOZ), co wskazuje na innowacyjny charakter przeprowadzonych badań. Ponadto, na podkreślenie zasługuje opracowany przez Doktorantkę nowy indeks bioakumulacji (BAI), który zapewne na stałe zdomowi się w opracowaniach naukowych i będzie obok wskaźnika BAF, wykorzystywany do analizy bioakumulacji pierwiastków. Biorąc pod uwagę, przedstawione wyżej fakty, można jednoznacznie stwierdzić, że mgr Kinga Proc-Pietrycha w swojej pracy doktorskiej nie dążyła do rozwiązania problemu



jedynie z zakresu nauk podstawowych, lecz zajęła się zagadnieniem holistycznie, co ma istotne przełożenie na praktyczny potencjał pracy.

W mojej opinii, przedstawioną pracę doktorską należy ocenić wysoko. Niemniej jednak, lektura recenzowanej pracy nasuwa pewne pytania/uwagi do dyskusji w trakcie dalszych etapów obrony doktorskiej:

- Uważam że Doktorantka w Rozdziale „2. Cel rozprawy doktorskiej oraz hipotezy badawcze” powinna ograniczyć się jedynie do przedstawienia celów i hipotez badawczych, natomiast wyjaśnienie zawłości badań powinna przedstawić w Rozdziale „4. Omówienie wyników publikacji oraz dyskusja”.

- str. 20. Autorka opisując skład karmy dla ryb, pisze „Zawierała: 52,0% węglowodanów, 3,5% tłuszczu, 24,0% białka, 7,0% włókna, 7,0% popiołu oraz 6,5% sacharydów.”. Zakradł się tu błąd, ponieważ sacharydy to węglowodany.

- str. 22. Dlaczego w trakcie przygotowywania paszy dla owadów zmielono tylko składniki wariantu wzbogaconego karmą dla ryb? Czy różna tekstura paszy nie wpływa na jej pobieranie przez owady?

- str. 24. W dziesiątej linii od dołu brak jednostek temperatury (C).

- str. 35. Autorka opisując zmniejszenie ilości suchej masy paszy dla owadów, w wariantach z osadem ściekowym oraz POŚ+KD, podaje wyniki z różnych dni eksperymentu, tj. odpowiednio, 113 i 28. Czym jest to spowodowane i czy można porównywać te rezultaty?

- str. 36. Jak Doktorantka wytłumaczy fakt, że larwy *H. illucens* żywiące się karmą opartą wyłącznie o przefermentowany osad ściekowy nie ulegały przepoczwarzeniu?

- Doktorantka wykazała, że suplementowanie paszy na bazie POŚ karmą dla ryb wpływa pozytywnie na wiele parametrów życiowych *H. illucens*. Jednak w swoich badaniach Autorka stosowała jedynie 20% dodatek KD. Czy były prowadzone jakieś badania optymalizacyjne w tym aspekcie?

Uwagi edytorskie, językowe, redakcyjne i inne

Recenzowana rozprawa doktorska napisana jest poprawnym językiem, układ i struktura pracy jest prawidłowa. Praca jest również dobrze przygotowana od strony edycyjnej. Niemniej



jednak Doktorantce zdarzają się błędy edytorskie oraz językowe, m. in. gramatyczne, interpunkcyjne oraz stylistyczne.

Wobec szerokiego zakresu prezentowanych badań i bardzo wartościowych wyników, które zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, przedstawione powyżej uwagi w żaden sposób nie umniejszają wartości całej pracy i nie mają istotnego znaczenia dla mojej wysokiej oceny rozprawy doktorskiej mgr Kingi Proc-Pietrychy.

Podsumowanie i Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pani mgr Kingi Proc-Pietrychy, stanowi jednolity cykl trzech prac, które prezentują badania Doktorantki na drodze do wykorzystania owadów *Hermetia illucens* w bioakumulacji różnych pierwiastków oraz możliwości zagospodarowania do tego celu uciążliwych odpadów z oczyszczalni ścieków. Doktorantka wykazała się odpowiednią wiedzą teoretyczną oraz posiadaniem umiejętności samodzielnego prowadzenia eksperymentów naukowych i prawidłowego interpretowania wyników.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja doktorska Pani mgr Kingi Proc-Pietrychy, pt. „Ocena możliwości wykorzystania *Hermetia illucens* w entomoremediacji osadów po oczyszczaniu ścieków komunalnych” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.) i dlatego wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Kingi Proc-Pietrychy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, z uwagi na dużą wartość naukową wyników badań opublikowanych w wysokopunktowanych czasopismach naukowych wnioskuję również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.



dr hab. Adrian Wiater, prof. UMCS

