

Prof. dr hab. Joanna Kostecka

Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Technologiczno- Przyrodniczy,
Katedra Podstaw Rolnictwa i Gospodarki Odpadami,
e-mail: jkostecka@ur.edu.pl

Rzeszów, 29.04. 2025 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marka Klimasza pt. „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie”

Przedmiot recenzji

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska mgr Marka Klimasza, pt. „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie”, wykonana pod kierunkiem dr hab. Anny Grobelak, profesor Politechniki Częstochowskiej.

Oceniana w tej recenzji rozprawa ma być podstawą do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka. Recenzja została wykonana w odpowiedzi na pismo Prodziekana ds. nauki Wydziału Infrastruktury i Środowiska, Pana dr hab. inż. Pawła Mirka, prof. PCz, z dnia 18.03. 2025 roku (pismo RWiS.BOD. 511.4.2025.1.1).

Podstawa formalna wykonania recenzji

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marka Klimasza, pt. „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie” została wykonana na podstawie umowy zawartej pomiędzy Politechniką Częstochowską, z siedzibą przy ul. J.H. Dąbrowskiego 69, 42-201 Częstochowa, reprezentowaną przez Prorektora ds. Nauki - prof. dr hab. inż. Witold Elsner, Dziekana - dr hab. inż. Jurand Bień, prof. PCz, przy kontrasygnacie finansowej Kwestora mgr inż. Magdaleny Krauze (z dnia 4 kwietnia 2025, znak RN-UC-30/25), a recenzentem pracy doktorskiej - prof. dr hab. Joanną Kostecką, Uniwersytet Rzeszowski. Recenzja została opracowana na bazie egzemplarza pracy doktorskiej, którą otrzymano wraz z umową.

1. Przedstawienie podstawowych danych o kandydacie:

- data uzyskania tytułu magistra oraz nazwa jednostki organizacyjnej, w której tytuł ten został nadany;

Mgr Marek Klimasz w roku 2018 ukończył studia licencjackie UŁ na wydziale Biologii i Ochrony Środowiska (z pracą pt. „Różnorodność gatunkowa węży z rodzaju *Morelia*”); w roku 2021 uzyskał tytuł magistra na kierunku Biologia, w specjalizacji biologii stosowanej i molekularnej UŁ (praca „Wpływ kadmu na aktywność S-transferazy glutationowej i peroksydację lipidów w siewkach pszenicy *Triticum aestivum*, w latach 2019-2021); w 2019 roku ukończył studia podyplomowe w kwalifikacji Przygotowania Pedagogicznego Uczelni Nauk Społecznych w Łodzi; w roku 2021 rozpoczął studia w Szkole Doktorskiej Politechniki Częstochowskiej na Wydziale Infrastruktury i Środowiska, w dyscyplinie Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka.

Pracę doktorską realizowano we współpracy z Jagiellońskim Centrum Innowacji, w którym, zgodnie z informacją doktoranta, wykonano pomiary mikroplastiku oraz analizę jego zawartości w tkankach dżdżownic.

- informacja czy kandydat ubiegał się uprzednio o nadanie stopnia doktora, w tym – o ile wynika to z dokumentacji sprawy – informacja o przebiegu i zakończeniu wcześniejszego postępowania;

Nie wg dostarczonej dokumentacji

- przebieg pracy naukowo-zawodowej (miejsce pracy, zajmowane stanowiska);

Nic mi oficjalnie nie wiadomo o miejscu pracy doktoranta; natomiast reprezentując Politechnikę Częstochowską doktorant (w latach 2012-2024) brał udział w 9 konferencjach krajowych oraz międzynarodowych (6 razy z prezentacjami wyników prowadzonych badań). Jako przewodniczący koła naukowego Gene In Use aktywnie uczestniczył w organizacji warsztatów, pokazów oraz konferencji

(8 wydarzeń). W roku 2023 brał udział w projekcie „Odpady to też zasoby”, w ramach programu „Koła naukowe tworzą innowacje” - finansowanego ze środków Ministra Edukacji i Nauki. Pan mgr Marek Klimasz jest obecnie autorem i współautorem 9 artykułów, podstawę do ubiegania się o stopień doktora stanowi 7 z nich; m.in. opublikowanych w Toxics i Applied Science.

2. Przedstawienie informacji o ocenianej rozprawie doktorskiej:

- tytuł rozprawy doktorskiej stanowiącej podstawę ubiegania się w aktualnym postępowaniu o nadanie stopnia doktora;

Tytuł dysertacji: „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie”

- ocena układu rozprawy doktorskiej, w tym informacje o jej poszczególnych częściach składowych;

Przedstawiona przez doktoranta dysertacja „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie” ma formę zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych. Właściwy maszynopis (nazywany przez doktoranta przewodnikiem) obejmuje 91 stron i zawiera **informacje wstępne, literaturowe opracowanie problemu badawczego, przewodnik po publikacjach doktoranta, wnioski i bibliografię** wspomnianego opracowania. W jego skład wchodzi ponadto: wykaz skrótów, streszczenie, summary, spis tabel, rysunków oraz wykresów, opis dorobku naukowego i działalności naukowo dydaktycznej oraz jako załączniki; 7 publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora.

WSTĘP do swojego opracowania doktorant rozpoczyna słusznym stwierdzeniem, że obecność plastiku w otoczeniu człowieka i jego przedostawanie się do środowiska w formie mikro i nanoplastiku, są często źródłem nierzetelnych i nie popartych dowodami naukowymi informacji, przez co mogą wywoływać dezinformację i skrajne emocje. Doktorant tworzy też tło dla swoich badań powołując się na obostrzenia prawne, badania nad nowymi rodzajami biodegradowalnych tworzyw, finansowaniem już istniejących analiz, a także niesymetryczny udział państw świata w produkcji tych tworzyw i ostatecznie mikroplastiku. Podkreśla kontrowersje informacyjne w zakresie analizowanych problemów związanych z obecnością mikroplastiku i wiąże je z różnicami poboru prób, czy też różną dokładnością aparatury pomiarowej, która wobec intensywnego rozwoju technik, technologii oraz unowocześnianiu metod badawczych, stosunkowo szybko eliminuje użyteczność artykułów opublikowanych w latach znacznie wcześniejszych. Wobec wagi problemu, liczba publikacji na temat mikroplastiku w środowisku może być zilustrowana funkcją liniową o silnej tendencji wzrostowej.

Wspomniane treści uzasadniają podjęcie własnych badań doktoranta, a ja pragnę dodatkowo podkreślić, że mają one szczególną wartość także wobec konieczności uaktualniania wiedzy dla utrzymywania ekosystemów i zasobów przyrody w dobrej jakości, łącznie z ich odtwarzaniem, a to w czasie Dekady Restytucji Ekosystemów (2021-2030) stanowi szczególnie istotny element tworzenia uwarunkowań dla zrównoważonego/ odpowiedzialnego rozwoju lokalnych, regionalnych i globalnej cywilizacji.

W ostatnich dekadach obserwujemy wzrost świadomości na temat konsekwencji przemysłowej i rolniczej działalności, co wynika z edukacji oraz programów wspierających zrównoważone praktyki. Intensywna antropopresja prowadzi przecież do zanieczyszczenia powietrza, wód, utraty bioróżnorodności a także często do zanieczyszczenia i degradacji zasobów gleby. Jak nigdy dotąd możemy korzystać z rozwoju społeczeństwa, kultury materialnej, stopnia opanowania środowiska przyrodniczego i nagromadzenia instytucji społecznych. Ponosimy jednak także wysokie koszty tego rozwoju cywilizacyjnego i wygodniejszego życia.

Przekształcamy zasoby Ziemi (zużywamy minerały, paliwa kopalne, trzebimy lasy, osuszamy stępy, mokradła oraz dziesiątkujemy gatunki roślin i zwierząt), a także zanieczyszczamy gleby, wody powierzchniowe i podziemne oraz powietrze w tempie wzrostu wykładniczego, przy czym jednym z negatywnych efektów antropopresji, z którym musimy się borykać, są skutki nieumiejętnego i nieodpowiedzialnego gospodarowania odpadami plastikowymi.

Choć plastik w środowisku funkcjonowania człowieka ma pewne oczywiste zalety (na przykład jest lekki, tani, wodoodporny, i do jego wytworzenia i recyklingu zużywa się mniej energii niż w przypadku innych materiałów), z drugiej strony, jego obecność daje także bardzo liczne negatywne skutki, takie jak zanieczyszczenie oceanów, powietrza i gleby, zagrożenie dla dzikiej przyrody, oraz wpływ na zdrowie człowieka. W te właśnie zagadnienia wpisuje się problematyka dysertacji.

Mgr Marek Klimasz wiąże swoje badania nad plastikiem w środowisku glebowym z organizmami go zamieszkującymi - dżdżownicami. Decyzję uzasadnia przywołując kilka pozycji stosunkowo aktualnej literatury. Dżdżownice są rzeczywiście doskonałymi organizmami biotestowymi; spełniają kryterium 5P (ang: 5R), są stosunkowo duże, liczne i łatwe do znalezienia i zidentyfikowania. Są szeroko rozpowszechnione w glebie i raczej nieruchome. Mają pełny kontakt z glebą. Zamieszkują ją i wykorzystują jako źródło pożywienia. Substancje toksyczne mogą przyczyniać się do zamierania fauny glebowej lub wpływać na szybkość wzrostu osobników, ich dojrzewanie, rozmnażanie i zachowanie. Ksenobiotyki mogą być gromadzone w tkankach dżdżownic. Dotyczy to metali ciężkich, pestycydów, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, dioksyn, oleju napędowego, benzyny ołowiowej, substancji ropopodobnych, a także mikroplastiku.

Po trochę dziwnym podziale na motywację podjęcia tematu i dalej uzasadnieniu podjęcia tematu, opracowany przez doktoranta prawidłowo wstęp kończy się sformułowaniem:

Celu i założeń rozprawy doktorskiej (chyba warto było by tu wyodrębnić jako elementy składowe wskazane przez niego a) szczegółowe cele biologiczne, b) szczegółowe cele techniczne, c) cel użyteczny rozprawy. W tym miejscu postawione zostają także *trzy hipotezy*:

- a) istnieje możliwość wykorzystania analizy tkankowej wybranych gatunków dżdżownic jako wskaźnika gleby zanieczyszczonej mikroplastikiem,
- b) istnieje możliwość wykorzystania mikroskopii ramanowskiej do precyzyjnego określenia wielkości cząsteczkowej oraz mapowania przestrzennego tworzyw w tkankach dżdżownic,
- c) stężenie mikroplastiku w glebie koreluje ze stężeniem mikroplastiku w tkankach dżdżownic, a korelację tą można wykorzystać w sposób użyteczny. Wszystkie te elementy zostaną ocenione poniżej.

Kolejną część przekazanego mi do oceny maszynopisu stanowi rozdział **PROBLEM BADAWCZY**, który stanowi rodzaj przeglądu literatury. Doktorant charakteryzuje:

1/ pochodzenie i klasyfikację mikroplastiku w środowisku, podkreślając jego złożoność rodzajową, różnorodność kształtu, barwy, gęstości oraz rozmiaru, a także stały rozwój przemysłu tworzyw i powstawanie nowych materiałów o odmiennych właściwościach, 2/ migrację i jego rozprzestrzenianie w środowisku, zwracając uwagę na brak kontroli nad rozprzestrzenieniem się mikroplastiku w środowisku przyrodniczym, jego mobilność hydrologiczną oraz atmosferyczną, a także rosnące stężenie w glebach nawożonych osadami ściekowymi, 3/ wpływ mikroplastików na organizmy, szczególnie różne gatunki zwierząt i roślin oraz brak wiedzy na temat ich długotrwałej ekspozycji na to zanieczyszczenie, czy problem bezpośredniego wpływu mikroplastiku na stres oksydacyjny, zaburzenia wzrostu oraz reprodukcji, spadek masy organizmów oraz uszkodzenia tkankowe. Istotnym elementem tej części pracy jest podrozdział 4/ - metody badania mikroplastiku w glebie. Doktorant zestawia znane mu informacje na temat przygotowania próbek (a/ ich prawidłowej homogenizacji, b/ usuwania z nich materii organicznej), identyfikacji mikroplastiku (a/ analiza ilościowa, b/ termoanaliza).

Wg doktoranta ważnym powodem dla podejmowania kolejnych badań nad mikroplastikiem w środowisku jest fakt złożoności i heterogeniczności środowiska glebowego oraz brak standardowej metody do określenia zawartości w nim tworzyw sztucznych (co umożliwiłoby także interpretację badań z różnych ekosystemów a w konsekwencji ułatwiło decyzje podejmowane na rzecz przyjmowanych rozwiązań inżynierii środowiska, w tym ochrony i rekultywacji gleb).

W podrozdziale 5/ zaprezentowano wpływ mikroplastiku na perspektywę i potrzeby działań w inżynierii środowiska, ekonomii oraz rolnictwo. Doktorant zwraca uwagę na brak wyznaczonej perspektywy ograniczania wykorzystywania tworzyw sztucznych, na przykład w rolnictwie. Twierdzi, że gospodarka obiegu zamkniętego (GOZ) oraz regulacje „Zielonego Ładu” mogą w znacznym stopniu przyczynić się do wykorzystywania osadów ściekowych w rolnictwie nie tylko pod uprawy roślin przeznaczonych dla zwierząt czy pastwiska, ale też pod grunty orne roślin przeznaczonych dla ludzi, co oznacza, że zanieczyszczenie gleb mikroplastikiem i wpływ na organizmy może stanowić w przyszłości rosnące zagrożenie. W odniesieniu do osadów ściekowych nie jest to jednak w pełni zgodne z moją i dostępną wiedzą, z której wynika, że w stosunku do rolniczego stosowania osadów ściekowych już obowiązują istotne restrykcje a dodatkowo przygotowywane są dalsze, bardziej ostro zabraniające nawet także bezkrytycznego ich stosowania przyrodniczego.

W rozdziale **przewodnik po artykułach** znajdują się: 1/ klasyfikacja i rodzaje mikroplastików, 2/ migracja mikroplastików w środowisku, 3/ oczyszczalnie ścieków jako źródło mikroplastiku

w środowisku, 4/ mikroplastik w glebach, 5/ zastosowanie mikroskopii ramanowskiej w celu mapowania mikroplastiku i nanoplastiku w tkankach dżdżownic, 6/ mapowanie mikroplastiku w tkankach dżdżownic jako metoda oceny zanieczyszczenia środowiska. Omówię tą część pracy realizując kolejne zadanie recenzenta.

- ocena zastosowanego piśmiennictwa w ramach rozprawy doktorskiej:

Bibliografia części przewodnikowej monografii zawiera 93 pozycje, anglojęzyczne. Prawie połowa (44%) z nich to publikacje bardzo aktualne (opublikowane po roku 2020), pozostałe pozycje literatury mają zasięg 15lecia, najstarsza jest z roku 2008 (nr 50). Zgromadzono tu pozycje literatury wpisujące się w omawiany problem. Osobny zbiór piśmiennictwa, stanowią zestawy pozycji literatury przypięte do poszczególnych publikacji ze współautorstwem doktoranta, w przyjmujących je do druku czasopismach naukowych i platformach. Siedem artykułów zostało wydrukowane po przejściu właściwych dla tych czasopism progów recenzyjnych.

Bibliografia części przewodnikowej monografii nie została niestety uporządkowana wg alfabetu, czego absolutnie nie uzasadnia sposób ich cytowania w tekście, i co bardzo utrudnia ich odnalezienie na liście i ocenę. Zapis bibliograficzny wymagał starannego poprawienia w konsekwentnie przyjętej i realizowanej zasadzie (o niestaranności może świadczyć choćby porównanie zapisu przykładowego zestawu par niespójnie zapisywanych pozycji - 1 i 7; 1 i 4; 7 8 i 13- przyjęcie zapisu et al. nasuwa pytanie czy doktorant miał tą pozycję w ręku?; 8 i 9; 15 i 16; pozycja 6 i 13 reprezentują jeszcze inny rodzaj nieuporządkowania zapisu

Nie wyczyszczono zapisu pozycji 70 i 73 pozostawiając nieuzasadnione 2021a, pozycja 21; czemu tytuł tej publikacji w Appl. Sci. jest podany w języku polskim? podobnie pozycja 38 bibliografii.

Ogólnie, przykro stwierdzić, ale „groch z kapustą” - czyżby autorowi zabrakło cierpliwości na uporządkowanie tak wielu błędów, cierpliwości i staranności bardzo potrzebnej rzetelnemu badaczowi?

- wskazanie oraz ocena celu pracy kandydata:

Celem rozprawy doktorskiej było określenie możliwości zastosowania analizy tkankowej wybranych gatunków dżdżownic do oszacowania stężenia mikroplastiku w glebie jako wskaźnika oraz metody badawczej inżynierii środowiska. W założeniu znalazło się też wskazanie skutecznej procedury separacji gęstościowej oraz opisanie detekcji wybranych tworzyw sztucznych w tkankach.

Szczegółowe cele biologiczne:

- a) różnicowanie wrażliwości gatunkowej na podstawie parametrów biochemicznych dżdżownic poddanych ekspozycji na mikroplastik,
- b) określenie gatunków dżdżownic najlepiej przystosowanych do życia w glebie skażonej mikroplastikiem, a tym samym gatunków odpowiednich do dalszych badań jako wskaźnikowych dżdżownic do monitorowania mikroplastiku w glebie,
- c) określenie różnic w wynikach analizy tkanek dżdżownic pochodzących z hodowli laboratoryjnej oraz z hodowli zewnętrznej – czy autor myślał o kontenerowej???

Doktorant postawił sobie także *szczegółowe cele techniczne:*

- a) określenie skutecznej metody separacji mikroplastiku w glebie dla uzyskania próby kontrolnej,
- b) określenie parametrów analizy tkankowej i doboru odpowiedniej aparatury pomiarowej,
- c) określenie możliwych zmian parametrów fizycznych tworzyw po okresie ekspozycji na glebę oraz enzymy trawienne dżdżownic.

Jako *cel praktyczny/ użytkowy/ użyteczny rozprawy*, zapisano:

- a) określenie możliwości zastosowania tkanek dżdżownic jako bioindykatora w testowaniu gleb do oceny zawartości w nich mikroplastiku,
- b) zastosowanie specyficznych ustawień mikroskopii ramanowskiej, spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera oraz analiz optycznych do wstępnego szacowania stężenia mikroplastiku w glebie, aplikacja do szacowania mikroplastiku tkankowego u dżdżownic,
- c) wykorzystanie informacji dostarczonych przez analizę tkankową w dyscyplinie inżynierii środowiska oraz w cyklicznym monitorowaniu zanieczyszczenia gleby tworzywami sztucznymi.

Autor dysertacji wykazał zamiar weryfikowania 3 hipotez :

- a) istnieje możliwość wykorzystania analizy tkankowej wybranych gatunków dżdżownic jako wskaźnika gleby zanieczyszczonej mikroplastikiem,

- b) istnieje możliwość wykorzystania mikroskopii ramanowskiej do precyzyjnego określenia wielkości cząsteczkowej oraz mapowania przestrzennego tworzyw w tkankach dżdżownic,
c) stężenie mikroplastiku w glebie koreluje ze stężeniem mikroplastiku w tkankach dżdżownic, a korelację tą można wykorzystać w sposób użyteczny.

- wskazanie oraz ocena zastosowanych metod badawczych:

Metody badawcze zastosowane w opublikowanych artykułach, zostały zweryfikowane przez zespoły recenzentów poszczególnych systemów/ wydawnictw naukowych dopuszczających do druku 7 pozycji, na których podstawie doktorant ubiega się o przyznanie mu stopnia naukowego doktora.

Pozycja D1 [Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Migration of microplastics in agriculture and marine ecosystem: Biotechnology approaches*”. Biotechnology of Emerging Microbes, Prospects for Agriculture and Environment, Academic Press, (pp. 127-142), 2024, rozdział w monografii za 200 pkt wg listy ministerialnej, 80 pkt za rozdział (D.1.)] to współautorska praca przeglądowa, metoda badań to przegląd zgromadzonej literatury (20 pozycji) i opracowanie syntezy informacji nt obecnej klasyfikacji mikroplastików i ścieżki ich degradacji w wodzie, mikroplastików pierwotnych i wtórnych, dróg degradacji mikroplastiku, klasyfikacji tworzyw sztucznych, czynników fizycznych i chemicznych wpływających na fragmentację mikroplastiku, biodegradację mikroplastiku, rolę w biocenozie wodnej i wpływ na organizmy żywe. Skuteczne działanie badania literatury, zakończone zostało sukcesem wydawniczym.

Pozycja D2 [Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Global scale of microplastic occurrence*”, artykuł przeglądowy, opublikowany w repozytorium cyfrowym Zenodo: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14953335> (D.2.)]. Podobna metoda badawcza; analiza literatury (43 pozycje) pozwalająca podsumować najważniejsze i aktualne raporty na temat produkcji tworzyw sztucznych, recyklingu ich odpadów, mikroplastiku w zbiornikach wodnych, organizmach, glebie i atmosferze. Opracowano prognozę na przyszłość, oceniono drogi i kierunki transportu odpadów plastikowych. Podkreślono brak jednolitych procedur analitycznych i fakt, że wszystkie dostępne statystyki wskazują na ciągły popyt na tworzywa sztuczne, skorelowany ze wzrostem populacji ludzkiej i poprawą warunków życia, a nowe biodegradowalne i nadające się do recyklingu bioplastiki nadal stanowią jedynie niewielką część produkcji. Obowiązujące regulacje prawne często są sprzeczne z polityką ochrony środowiska.

Pozycja D3 [Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Oczyszczanie ścieków jako źródło mikroplastiku w środowisku*”, w; Nowatorskie rozwiązania w inżynierii środowiska i energetyce - perspektywa zrównoważonego rozwoju, pod redakcją I. Zawieja, Wyd. Politechniki Częstochowskiej, 2024, rozdział w monografii za 80 pkt., 20 pkt. za rozdział (D.3.)], to kolejny artykuł współautorski na podstawie przeglądu wybranej literatury (43 pozycje). Zastosowano krytyczny przegląd wyników wcześniejszych badań naukowych. Na tej podstawie stworzono aktualną syntezę informacji o skali wytwarzania osadów ściekowych, kierunkach ich zagospodarowania, a także – na podstawie analiz niezależnych jednostek, zawartości w nich mikroplastiku. W artykule podkreślono, że pomimo niewielkich stężeń oraz rozmiarów cząsteczkowych odnajdywanych tworzyw sztucznych, sumarycznie ich ilość jest znacząca, a przy niemal zerowej biodegradowalności, stężenie na obszarach wykorzystujących osady ściekowe będzie rosło. Na podstawie dostępnych danych publikacyjnych, opisano średnią wydajność wybranych oczyszczalni ścieków w różnych krajach.

Pozycja D4 [Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Methods for separation and classification of microplastics in soil*”; to kolejny współautorski artykuł przeglądowy, opublikowany w repozytorium cyfrowym Zenodo: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14952942>. (D.4.)]. Na podstawie literatury (39 pozycji) autorzy podsumowali stan wiedzy w obszarze analizy zanieczyszczenia mikroplastikiem gleby. Ze względu na fakt, że gleba nie jest homogeniczną lecz dynamicznie zmienną strukturą, zbadanie zawartości mikroplastiku w niej określili słusznie jako wyzwanie. Przywołują też fakt, że znane metody termiczne lub oparte na stosowaniu różnicowanych odczynników, nie zawsze są skuteczne, często zmieniając kolor, strukturę lub właściwości tworzyw sztucznych, co skutkuje niewiarygodnymi wynikami. Opisują więc współczesne metody oddzielania i identyfikacji mikroplastiku w glebie, a także techniki przygotowywania próbek stosowane przez różnych badaczy. Kompilacja wielu istotnych faktów pozwoliła im podkreślić pilność i wagę opracowania jednolitych procedur analitycznych (standardowych).

Pozycja D5 [Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Effects of microplastics on selected earthworm species*” Toxics, MDPI, Volume 13, Issue 3, artykuł badawczy za 70 pkt wg listy ministerialnej, 2025. (D.5.)].

Celem badania było porównanie wrażliwości 5 gatunków dżdżownic: *Lumbricus terrestris*, *Dendrobaena veneta*, *Eisenia andrei*, *Eisenia fetida* oraz *Aporrectodea caliginosa* wobec różnych mikroplastików. Jako jedni z pierwszych, autorzy wykorzystali w metodzie badania zmieszana frakcję mikroplastiku (polietylen PE, polistyren - PS, poliamid - PA, politereftalan etylu - PET)), a także zmienne warunki hodowlane (1 miesiąc i 3 miesiące przebywania dżdżownic w podłożu) dla określenia wynikających z tego różnic wpływu na stres oksydacyjny, respirację, przeżywalność oraz florę bakteryjną w jelitach dżdżownic. Metoda tego badania była złożona. Badaniem pilotażowym objęto najpierw mikroplastik o różnej wielkości (1-5 μm , 10-20 μm , 32-38 μm , 38-45 μm , 53-63 μm z Cospheric LLC, którego właściwości dokładnie opisano) śledząc drogi migracji jego cząstek z gleby do ciała dżdżownic i określając ich dokładne położenie w tkankach (mapowanie przestrzenne). Po uzyskaniu wstępnych informacji, że po około 30 dniach istnieje prawdopodobieństwo wykrycia ich cząstek w tkankach, zaprojektowano badanie główne (w podłożu wymieszano różne tworzywa, o różnej wielkości). Badanie miało także na celu wyłonienie 2 najbardziej odpowiednich gatunków dżdżownic do śledzenia obecności i wpływu mikroplastiku. W badaniach wykorzystano respirometr Echo, przeznaczony do badania respiracji bezkręgowców dla oszacowania wpływu mikroplastiku na ich wymienię gazową.

Podsumowując, artykuł wskazał na wpływ różnych rodzajów mikroplastiku, w różnym stężeniu oraz w różnym zakresie czasu na wszystkie objęte badaniem gatunki dżdżownic, należących do odmiennych grup ekologicznych (ekomorfologicznych). Innowacyjnością było zastosowanie do badań mieszaniny mikroplastików. Uzyskane wyniki pozwoliły wyłonić najlepiej przystosowane do życia w glebie zanieczyszczonej mikroplastikiem gatunki: *L. terrestris* oraz *D. veneta*. W kolejnych artykułach D.6. oraz D.7. gatunki te posłużyły do mapowania przestrzennego oraz analiz statystycznych obejmujących korelacje stężeń mikroplastiku w glebie i tkankach. Określono, że stężenie 1% mikroplastiku miało znaczący, negatywny wpływ przejawiający się podwyższonym stężeniem GST, zmniejszonym współczynnikiem przeżywalności osobniczej, a także znacznym zubożeniem obfitości flory bakteryjnej w jelitach dżdżownic (przeprowadzono posiewy mikrobiologiczne). Szczegółowe informacje dotyczące parametrów uzyskanych w badaniach, specyfikacji wykorzystanej aparatury oraz przebiegu eksperymentu znaleźć można w artykule (D.5.).

Pozycja D6 [Marek Klimasz, Anna Grobelak, „Accumulation of spherical microplastic in earthworm tissues- mapping using Raman microscopy”, Applied Science, 2024.14,10117, opublikowany artykuł badawczy za 40 punktów wg listy ministerialnej (D.6.)]. Artykuł opisuje metodyczne zastosowanie mikroskopii/ spektroskopii ramanowskiej w detekcji mikroplastiku oraz przedstawia szereg ilustracji dla pełniejszego zobrazowania wyników. Z wykorzystaniem niestandardowych ustawień aparatury pomiarowej stwierdzono, że akumulacja mikroplastiku oznaczała trwałe haczykowanie cząstek tworzywa w tkance mięśniowej dżdżownicy. Mikroskopia ramanowska posłużyła też jako narzędzie do określenia wielkości cząstek tworzywa oraz widma emisji dla poszczególnych tworzyw oraz mapowania przestrzennego, co okazało się sukcesem metodycznym.

Analiza tkanek wymagała opracowania ich metodycznego przygotowania do analizy, konieczne było nie tylko jej pocięcie oraz wstępne oznaczenie mikroplastiku mikroskopią optyczną w badaniu pilotażowym. Metodycznym sukcesem okazywały się kolejne działania: ustawienie kolejno linii lasera i wzbudzenia fali, wykorzystanie obiektywu o konkretnym powiększeniu, dobranie rozdzielczości spektralnej, liczby akumulacji, czasu widma, mocy promieniowania lasera, kroków pomiarowych, rozdzielczości przestrzennej oraz gęstości próbkowania. Przyjmując prowadzącą do sukcesu badawczego metodykę, wykonano wiele pomiarów w niskiej gęstości próbkowania oraz szerokim zakresie widma dla uzyskania różnych obrazów fluorescencji tkanki, dzięki czemu zostały one wykorzystane jako tło w kolejnych badaniach.

Zastosowanie mikroskopii ramanowskiej zdaje się być powszechne i wykorzystywane również w kontekście badań mikroplastiku, jednak autorzy tych badań zwykle nie dostarczają pełnych ilustracji, dokumentującej zawartość mikroplastiku w tkance, a jedynie dokumentują go z wyizolowanego już materiału, badając najczęściej czyste tworzywo o znanych właściwościach i strukturze. W artykule D6 przedstawiono obraz zarówno tkanki czystej - bez zawartości tworzyw sztucznych (formując obraz kontrolny jak i obrazy dokumentujące obecność mikroplastików w tkance, co zapewne wymagało wielu powtórzeń, w różnych zakresach widma i pozwoliło na precyzyjne określenie zawartości tworzywa oraz jego przestrzennej lokalizacji. Kolejny etap prac obejmował analizę jakościową dla szczegółowego określenia składu chemicznego i tym samym rodzaju mikroplastiku.

Pozycja D7 [Marek Klimasz, Andrzej Kacprzak, Anna Grobelak: „Evaluation of the quantitative concentration of microplastic in *Dendrobaena veneta* and *Lumbricus terrestris* tissues from laboratory and environmental

culture", Applied Science, 12. applsci-3460617, 2025, opublikowany artykuł badawczy za 40 punktów wg listy ministerialnej (D.7.)].

Artykuł prezentuje metodę szacowania stężenia mikroplastiku w glebie na podstawie analizy tkankowej dżdżownic oraz modelowanie matematyczne dla potwierdzenia korelacji stężenia mikroplastiku w glebie/tkankach. Dwa gatunki dżdżownic: *Dendrobaena veneta* i *Lumbricus terrestris*, poddano wpływowi mieszanej frakcji mikroplastiku w różnych stężeniach i zbadano w celu określenia możliwej korelacji w akumulacji w tkankach i możliwych zmian strukturalnych w tworzywach sztucznych pod wpływem enzymów trawiennych dżdżownic. Za pomocą spektrometrii FTIR i fluorescencji plastiku określono zawartość polimerów w tkankach dżdżownic i udokumentowano istotne różnice w akumulacji cząstek plastiku w hodowanych tkankach dżdżownic w skali mikro- i makro.

Artykuł jest źródłem informacji o mikroplastiku, dżdżownikach jako mieszkańcach gleby narażonych na jego oddziaływanie i będących bio wskaźnikiem zanieczyszczenia nim gleby, rozważa akumulację mikroplastiku i możliwości jego wykrywania. Opisane zostały specyficzne ustawienia parametrów analitycznych mikroskopu o zmiennych obiektach, zakresie widma oraz barwie filtrów. Metoda została opracowana na podstawie dostępnych publikacji. Wszystkie szczegóły metody opisano w artykułach.

- ocena części rozprawy doktorskiej dotyczącej omówienia wyników badań:

Wśród złożonych do oceny jako zbiór 7 opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych trzy mają charakter eksperymentu, pozostałe to artykuły przeglądowe.

Obecność mikroplastiku w środowisku przyrodniczym stanowi poważne zagrożenie dla wszystkich organizmów i jest przedmiotem dyskusji wielu paneli tematycznych. Ważne jest zrozumienie mechanizmów rozprzestrzeniania się tego zanieczyszczenia; powstawania odpadów plastiku, ich fragmentacji, migracji i ostatecznie wpływu na ekosystemy. Obecnie nadal nie znane są skuteczne i ekonomicznie opłacalne metody separacji mikroplastiku oraz jego biodegradacji. Dlatego wyniki badań są ważne:

Biologicznie;

Przyjęto badanie biotestem a wrażliwość dżdżownic, poddanych ekspozycji na mikroplastik określano analizami stresu oksydacyjnego, wymiany gazowej, śmiertelności osobniczej (oraz całościowo populacyjnej), a także cechami flory bakteryjnej jelit dżdżownic zmieniającej się w obecności mikroplastiku. Wyniki badań są ważną wskazówką, które gatunki charakteryzują się najwyższą odpornością na stres wywołany obecnością mikroplastików i które można w związku z tym traktować jako organizmy biotestowe. Z pomiędzy pięciu zastosowanych w badaniach gatunków dżdżownic wyłoniono dwa, określono różnice stopnia akumulacji mikroplastiku w tkankach tych gatunków hodowanych w dwóch wariantach hodowli laboratoryjnej oraz kontenerowej (D.7.)

Technicznie;

- Określono skuteczną metodę separacji mikroplastiku z gleby, dla uzyskania próby kontrolnej,
- Określono możliwość analizy tkankowej i doboru odpowiedniej aparatury pomiarowej dla określenia skuteczności tego procesu. W artykule numer D.6. oraz D.7. zweryfikowano i opisano użyteczne metody optyczne, mikroskopowe oraz separacyjne,
- Określono możliwe zmiany struktur fizycznych tworzyw po okresie ekspozycji na glebę oraz enzymy trawienne dżdżownic. W czasie trwania wszystkich eksperymentów nie wykazano zmian strukturalnych, będących skutkiem warunków glebowych oraz wpływem dżdżownic,
- Określono możliwości zastosowania tkanek dżdżownic jako bioindykatora w testowaniu gleb do oceny zawartości w niej mikroplastiku,
- Zastosowano specyficzne ustawienia mikroskopii ramanowskiej, spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera oraz analiz optycznych do wstępnego szacowania stężenia mikroplastiku w glebie; aplikacja do szacowania tkankowego dżdżownic pod kątem zawartości mikroplastiku,
- Wykorzystano informacje dostarczone przez analizę tkankową w dyscyplinie inżynierii środowiska oraz w cyklicznym monitorowaniu zanieczyszczenia gleby tworzywami sztucznymi.

Utylitarnie;

Wyniki o znaczeniu utylitarnym można potwierdzić na podstawie publikacji D.6 oraz D.7, w których tkanki dżdżownic poddane analizie dostarczyły informacji na temat zawartości w nich tworzyw sztucznych oraz silnej korelacji ilościowej względem występującego stężenia w podłożu i tkankach dżdżownic (hipoteza trzecia str 18).

Wyniki badań potwierdziły hipotezy rozprawy doktorskiej

- Istnieje możliwość wykorzystania analizy tkankowej wybranych gatunków dżdżownic jako wskaźnika gleby zanieczyszczonej mikroplastikiem,
 - Istnieje możliwość wykorzystania mikroskopii ramanowskiej do precyzyjnego określenia wielkości cząsteczkowej oraz mapowania przestrzennego tworzyw w tkankach dżdżownic,
- Odpowiednie ustawienie aparatury pozwala na detekcję mikro i nanoplastiku, co może stanowić podstawę nowej analizy w skali krajowej i międzynarodowej dla stosowania tkanek dżdżownic w testowaniu jakości środowiska,
- Stężenie mikroplastiku w glebie koreluje ze stężeniem mikroplastiku w tkankach dżdżownic, a korelację tą można wykorzystać w sposób użyteczny.
- Stwierdzono, że dla wybranych tworzyw istnieje silna korelacja stężeń.

Innowacyjność rozprawy doktorskiej

Innowacyjność rozprawy doktorskiej wiąże się z zastosowaniem zmieszanej frakcji mikroplastiku złożonej z tworzyw o odmiennych właściwościach (takich jak gęstość, kształt oraz rozmiar cząsteczek), wobec fizjologicznie różniących się od siebie gatunków dżdżownic. Innowacyjne było także badanie flory bakteryjnej w przewodzie pokarmowym dżdżownic, podobnie jak analiza z wykorzystaniem respirometru Echo i udokumentowanie różnic wynikających z ekspozycji na mikroplastik, przedstawione zarówno w wersji opisowej jak i graficznej. Natomiast nowością i innowacyjnością w kwestii technicznej było zastosowanie FTIR oraz mikroskopii ramanowskiej o niestandardowych ustawieniach do mapowania przestrzennego zakumulowanych cząsteczek plastiku, określenia ich wielkości czy rodzaju oraz przedstawienie wyników w formie modelu determinacji wielomianu.

- informacje dotyczące praktycznego zastosowania uzyskanych wyników badań:

Uzyskane w rezultacie aktywności doktoranta wyniki mogą być brane pod uwagę jako elementy złożonej analizy procesów akumulacji mikroplastiku w układzie gleba – organizmy glebowe: dżdżownice. Wyniki badań dają także pogląd w zakresie potrzeb pilnego znalezienia i testowania standardowej metody badania tego problemu. Zagadnienia te są bardzo istotne dla oceny różnych ekosystemów glebowych pod kątem zanieczyszczenia mikroplastikiem. Osiągnięte wyniki mogą więc przyczynić się do uzupełniania podstaw praktycznych działań inżynierów środowiska dla ochrony abiotycznej i biotycznej części gleby, tak istotnego środowiska, gdzie zaczyna się i kończy się procesów gwarantujących recykling życia planety Ziemia. Analiza elementów migracji mikroplastików w glebie jest istotną częścią rozpoznawania dróg niekontrolowanego rozprzestrzeniania się odpadów plastiku, a w konsekwencji mikroplastiku i nanoplastiku także w wodach oceanicznych, morskich i śródlądowych oraz w powietrzu i organizmach żywych. Prace przeglądowe doktoranta dostarczają także danych w zakresie skali występowania mikroplastiku w natężeniu globalnym. Doktorant wraz ze współautorką, dyskutują ponadto brak optymistycznej prognozy ograniczania ich występowania.

Osiągnięciem ocenianych prac jest także fakt opisanie skutecznej metody segregacji mikroplastików z gleby i ich klasyfikacji, co może być brane pod uwagę w rozwoju analiz monitoringu środowiska i w zakresie metody prac inżynierów środowiska, górnictwa i energetyki, bo wszystkie te działania oddziałują na środowisko- szczególnie środowisko glebowe.

W prowadzonych eksperymentach doktorant wykorzystał nowoczesny sprzęt - mikroskopię Ramana, do precyzyjnego mapowania akumulacji mikroplastików w tkankach dżdżownic, co otwiera nowe możliwości dla metod badania organizmów zamieszkujących glebę.

- informacja o ewentualnych nieprawidłowościach, które pojawiły się w ocenianej rozprawie doktorskiej:

Niedoskonałością w tekście przewodnika pracy doktorskiej jest przywołanie współpracy z Katedrą Bezkręgowców Uniwersytetu Jagiellońskiego bez podania współpracujących osób; katedry o tej nazwie nie odnaleziono. Podobnie - informacja, że pracę zrealizowano we współpracy z Jagiellońskim Centrum Innowacji, w którym wykonano pomiary mikroplastiku oraz analizę jego zawartości w tkankach dżdżownic / bez podania osób kontaktowych?

Wątpliwości budzi dysproporcja jakości języka pomiędzy przyjętymi do druku publikacjami a maszynopisem opracowanego przewodnika, przyjęcie perspektywy opisu znacznej części tekstu w pierwszej osobie, zamiast bezosobowo. Język części przewodnikowej jest nieco „napuszony”, osobiście

przeszkadza mi operowanie przez doktoranta pierwszą formą osobową (co chyba, jeśli już, to łatwiej akceptowane jest w naukach humanistycznych).

Wielokrotnie używane: środowisko naturalne już właściwie nie istnieje. Poprawniej byłoby używać określenia środowisko przyrodnicze (bo nawet głębiny mórz i oceanów zmieniły się w antropocenie i nie ma już właściwie środowiska naturalnego), tak jak nie powinno się używać określenia zdrowa żywność (każda powinna mieć cechy zdrowej), bo to zwykle chodzi o żywność wysokiej jakości.

Nie ilość publikacji a liczba publikacji (np. str. 13).

Słowo wiarygodność opublikowanych artykułów (ta przecież nie powinna się zmieniać), raczej zastąpić określeniem wartość (str. 13).

Grupy ekologiczne – eko-morfologiczne (str. 15).

We wstępie pracy pojawia się dziwny podział myśli na motywację a dodatkowo na uzasadnienie podjęcia tematu/ niepotrzebne.

Str. 24 wiersz 2 od góry / jest kraje Europejskie powinno być kraje europejskie.

Tabela 1 (str. 21) brak źródła, co się powtarza przy innych tabelach.

Stwierdzam niedociągnięcia w prawidłowym wyłanianiu i oznaczaniu rozdziałów i podrozdziałów w tekście maszynopisu przewodnika opracowanego przez doktoranta. Dotyczy to zarówno wstępu, jak i rozdziału problem badawczy, gdzie w podrozdziale 4/ - metody badania mikroplastiku w glebie. Doktorant nie wyodrębnia prawidłowo danych na temat przygotowania próbek (powinno być: a/ ich prawidłowej homogenizacji, b/ usuwania z nich materii organicznej), identyfikacji mikroplastiku (także powinno być jako podrozdziały a/ analiza ilościowa, b/ termooanaliza).

Podobnie strony 65-72, wskazują na problemy doktoranta z dokonywaniem syntezy. Str. 65, wiersz 18 od góry; sformułowano następujące wnioski; str. 69 - ponownie wprowadzono wnioski.

Str. 10 jest *Apporectoda Caliginosa*, str. 48 maszynopisu pracy doktoranta jest *Aporrectodea caliginosea*, w publikacji w druku jest także błędnie *Apporectoda caliginosa*, ponownie w maszynopisie str. 54 jest *Aporrectodea caliginosea* powinno być *Aporrectodea caliginosa*.

Błędy stylu w maszynopisie są liczne, np. str. 55 i 56. W oświadczeniu o współautorstwie można przeczytać: mój udział polegał na przygotowaniu osobników, przeprowadzeniu eksperymentów oraz badań... czym te ostatnie się różnią?

Zamieszczając w przewodniku do wydrukowanych publikacji rysunek 14 (str. 58), pt. „Wykorzystanie mikroskopii ramanowskiej dla zobrazowania przesunięcia widma dla wybranych tworzyw” i zaznaczając, że jest to rysunek nie będący częścią publikacji, doktorant być może wskazuje na możliwość przygotowania kolejnego artykułu relacjonującego badanie, czego serdecznie życzę jemu i potencjalnym współautorom. Będzie to okazja do starannego przygotowania tekstu kolejnego artykułu.

- ocena, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego:

Rozprawa dotyczy obecności mikroplastiku w glebie i skupia się na metodach ich ilościowego szacowania z wykorzystaniem wybranych gatunków dżdżownic. Dżdżownice stanowią od dawna znany biotest do wskazań wielu zanieczyszczeń środowiska, także mikroplastikiem, ale sprawdzając ten fakt, doktorant i współautorzy poddali ocenie wpływ mieszanej frakcji mikroplastiku w różnych stężeniach na te organizmy glebowe. Określili korelację stężeń mikroplastiku w glebie i jego akumulacji w tkankach dżdżownic, a także możliwe zmiany strukturalne w tworzywach sztucznych pod wpływem enzymów trawiennych dżdżownic. Za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) i fluorescencji plastiku określono zawartość polimerów w tkankach dżdżownic i udokumentowano istotne różnice w akumulacji cząstek plastiku w tkankach dżdżownic hodowanych w skali mikro- i w kontenerach.

Z przeprowadzonych badań oraz dyskusji z przedmiotową literaturą wynikają oryginalne wnioski:

Dotyczące gatunków dżdżownic wykorzystywanych w badaniach: wykazano zróżnicowanie gatunkowe wrażliwości na zanieczyszczenia mikroplastikiem u dżdżownic w obrębie grup eko morfologicznych. Najgorzej ekspozycję na tworzywa sztuczne znosiła *Aporrectodea caliginosa*, w stosunku do *Eisenia fetida* oraz w przypadku *Eisenia andrei*, wykazano obiecująco wyższy wskaźnik odporności na mikroplastik. Należy jednak pamiętać, że gatunki te są relatywnie małe, a tym samym ilość pobieranego przez nie pożywienia jest niewielka, co może skutkować zmniejszoną akumulacją tkankową. Dodatkowo, gatunki te preferują żerowanie w kompostach, oborniku czy też rozkładających się liściach i ściółce, przez co analiza pod kątem głębszego profilu gleby może być obarczona błędem oceny. *Lumbricus terrestris* oraz *Dendrobaena veneta* są to gatunki duże, aktywnie drążą tunele i żerują w głębi

gleby, dodatkowo są odporne na wiele czynników i są powszechne w różnych glebach. Wykazano najlepsze cechy tych gatunków dla roli w bioindykacji mikroplastiku.

Wyniki przeprowadzonych badań mogą wskazywać nowy kierunek działań praktycznych w obrębie dyscypliny inżynierii środowiska oraz stanowić metodę wstępnego szacowania zawartości mikroplastiku w glebie.

Dotyczące stosowanej metodyki: Zastosowanie mikroskopii optycznej wraz z filtrami barw oraz dedykowanym oprogramowaniem daje obiecujące wyniki w rozpoznawaniu tworzyw sztucznych, wykorzystanie odpowiednich przesłon oraz wykonanie kilku zdjęć pozwala odróżnić tworzywo na tle tkanki. Jest to skuteczna, wstępna metoda szacowania obecności większych cząstek mikroplastiku – jednak została potwierdzona tylko w obrębie stosowanych tworzyw.

- Mikroskopia ramanowska jest zaawansowaną metodą pomiarową, a jako urządzenie charakteryzuje się zróżnicowaniem wyposażenia (różnice laserów, spektrografów, rodzajów obrazowania, detektorów i oprogramowaniu oraz jego aktualizacjach). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na możliwość dobrania konkretnych ustawień dla wysokiej precyzji i możliwości wykorzystania tej aparatury, także do analizy tkanek, czyli materiału, do którego ta aparatura nie była pierwotnie przeznaczona (dla powtarzalności wyników badania, należy korzystać z ustawień opisanych w artykule, jest nowatorskie).
- Aparatura FTIR wykorzystana w badaniu oraz połączona z bazą danych jest skutecznym narzędziem określenia rodzaju tworzywa. Dodatkowo, jest to metoda szybka, pozwalająca na wykonanie kilkunastu powtórzeń dla jednej próbki w ciągu jednej godziny. Wspomniana baza danych, jest otwarta na aktualizacje systemowe oraz nowo opisywane tworzywa, co otwiera nowe możliwości badawcze. Pomimo faktu, że badane próbki były zmieszane ze sproszkowaną tkanką, co w konsekwencji wywoływało tło obrazu, pomiary były skuteczne, a wyniki potwierdzone literaturą (co jest osiągnięciem doktoranta).
- Separacja gęstościowa mikroplastików z wykorzystaniem odczynników nie powiodła się w pracy, przy czym przedstawiono kilka powodów uzasadnienia. Jest to metoda skuteczna w przypadku tworzyw o niskiej gęstości, niezwiązanych z innymi związkami / substancjami oraz dla dużych cząstek. Tym samym, szybka i skuteczna oraz powtarzalna metoda określenia stężenia mikroplastiku o zróżnicowanej frakcji w glebie wciąż jest dziedziną niepoznaną i wymaga dalszych prac badawczych.
- Metodą skuteczną w przypadku trawienia materiału organicznego, jakim była zliofilizowana oraz sproszkowana tkanka dżdżownicy było potraktowanie jej stężonym H_2O_2 (opisane w artykule).
- Wybarwianie czerwienią nilu dało zakładane rezultaty, jest to dobrze poznana metoda, opisywana w wielu artykułach, która pozwala na uzyskanie barwy tworzyw i przez to łatwiej ich klasyfikacji.

Pozostałe wnioski:

Wg przeprowadzonych badań, szacowanie akumulacji mikroplastików w tkankach powinno dotyczyć określonego przedziału wielkości ich cząsteczek, przykładowo 10 mikrometrów – 100 mikrometrów; wydaje się, że nie ma podstaw by obrazować cząstki o większym rozmiarze. Korelacja akumulacji tworzyw w tkankach różni się, wykazano, że w najmniejszym stopniu akumulowany był polistyren.

Na uwagę zasługuje podkreślenie faktu, że wszystkie osobniki dżdżownic, jako organizmy żywe, na każdym etapie postępowania były traktowane z należyтым szacunkiem. Wszystkie procedury przy pozyskiwaniu tkanek przeprowadzono w sposób humanitarny. Dżdżownice spełniły ważną rolę dla poznawania zanieczyszczeń środowiska mikroplastikiem. Wykorzystane osobniki dżdżownic przyczyniły się do rozwoju nauki; do rozwoju praktycznych metod działania inżynierii środowiska.

- ocena, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej:

Przegląd literatury; zarówno w części przewodnikowej maszynopisu, jak i w publikacjach przyjętych do druku powinien stanowić potwierdzenie dla zdobytej przez doktoranta wiedzy (obejmuje 93 artykuły bibliografii przewodnika a 20, 43, 43, 39, 46, 24 i 53 w publikacjach wydrukowanych. Ponieważ rozprawą doktorską jest część samodzielna oraz wyodrębniona część pracy zbiorowej, moja recenzja zawiera ocenę indywidualnego wkładu kandydata w powstanie prac zbiorowych (zgodnie z oświadczeniami kandydata, promotorki pracy oraz jednego współautora). Jest to we wszystkich przypadkach jego prac już wydrukowanych udział w zebraniu literatury do jej przeglądu, zestawieniu danych, analizie treści oraz w redagowaniu manuskryptu.

W przypadku artykułów opartych o doświadczenie, doktorant musiał wykazać się umiejętnościami organizacji badań: przygotowywał do analizy dżdżownice (myślę, że także prowadził ich hodowlę) i tkanki dżdżownic, przeprowadzał eksperyment, zbierał wyniki, opracowywał je i brał udział w redagowaniu manuskryptu. Tutaj ocena wkładu waha się w granicach 60-80%.

1. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Migration of microplastics in agriculture and marine ecosystem: Biotechnology approaches*”, 2024, (udział 80%).
2. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Global scale of microplastic occurrence*”, xxxx, (udział 70%).
3. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Oczyszczanie ścieków jako źródło mikroplastiku w środowisku*”, 2024, (udział 60%).
4. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Methods for separation and classification of microplastics in soil*”, 2025, (udział 80%).
5. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Effects of microplastics on selected earthworm species*”, *Toxics*, 2025, (udział 80%).
6. Marek Klimasz, Anna Grobelak: „*Accumulation of spherical microplastic in earthworm tissues- mapping using Raman microscopy*.” *Applied Science*, 2024, (udział 65%).
7. Marek Klimasz, Andrzej Kacprzak, Anna Grobelak: „*Evaluation of the quantitative concentration of microplastic in *Dendrobaena veneta* and *Lumbricus terrestris* tissues from laboratory and environmental culture*”, *Applied Science*, 2025, (udział 60%).

Łącznie współautorzy artykułów wydrukowanych zgromadzili 250 punktów. Jest to poziom znaczący. Pozytywną ocenę skuteczności i umiejętności doktoranta może także wspierać fakt, że badania realizował ze środków grantu uniwersyteckiego BS/PB-400/301/22 w ramach projektu Studenckie Koło Naukowe GeneInUse oraz projektu studenckiego nr SKN/SP/496788/2021 finansowanego przez Ministra Edukacji i Nauki z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie koła naukowe kreują innowacje”.

Kandydat, jak wskazuje w zestawieniu danych o sobie, brał także udział w dwóch szkoleniach pogłębiających jego wiedzę w zakresie inżynierii środowiska: „ABC Gospodarki Obiegu Zamkniętego”, „Problematyka zanieczyszczenia wód w Polsce i UE”.

Ocena końcowa

W ramach studiów w Szkole Doktorskiej Politechniki Częstochowskiej, mgr Marek Klimasz opanowywał nową wiedzę. Realizował się w działaniach organizacji warsztatu badań, przeprowadzając badania, także zbierał ich wyniki i przeprowadzał ich ocenę. Pracował też organizacyjnie w Kole Naukowym Gene In Use. Był więc aktywny w zdobywaniu szeregu umiejętności towarzyszących tym działaniom. Po zakończeniu procesu kształcenia, badań i opublikowaniu ich wyników, przygotował manuskrypt pracy doktorskiej, który w jego przypadku ma formę zbioru powiązanych tematycznie artykułów naukowych wskazujących na realizację badań na temat „Analiza tkankowa wybranych gatunków dżdżownic jako metoda szacowania stężenia mikroplastiku w glebie”. Właściwy maszynopis pracy doktorskiej (nazywany przez doktoranta przewodnikiem) przeprowadza recenzenta przez jego działania i eksperymenty, wskazując na postawione sobie cele badawcze (spełniane w płaszczyźnie problemów biologicznych, technicznych i mających znaczenie dla praktyki w inżynierii środowiska).

Cele badań doktoranta zostały osiągnięte, co pozwoliło na sformułowanie wniosków z przeprowadzanych eksperymentów. W wydrukowanych artykułach wraz ze współautorami sprawnie przedyskutował swoje wyniki badań z informacjami z literatury, także tej najbardziej aktualnej. Łącznie, ze współautorami artykułów wydrukowanych, zgromadził 250 punktów, w czym zadeklarował potwierdzone 60-80% udziału.

W moim odczuciu, istotnym wynikiem rozprawy mgr Marka Klimasza i ważnym osiągnięciem badań tutaj prezentowanych jest:

- Wykazanie zróżnicowania gatunkowego we wrażliwości na zanieczyszczenia mikroplastikiem u dżdżownic w obrębie grup eko- morfologicznych (*Aporrectodea caliginosa* > *Eisenia fetida* oraz *Eisenia andrei* > *Lumbricus terrestris* oraz *Dendrobaena veneta*). Wskazano dwa ostatnie, duże gatunki jako posiadające najlepsze cechy do roli w bioindykacji mikroplastiku w głębszym profilu gleby. Wyniki te mogą wskazywać nowy kierunek działań praktycznych w obrębie dyscypliny inżynierii środowiska oraz stanowić element metod szacowania zawartości mikroplastiku w glebie. Interpretacja wyników zastosowania pozostałych gatunków dżdżownic jako bioindykatorów odpowiednio dobieranych problemów zanieczyszczenia gleby mikroplastikiem także otwiera ścieżki nowych badań.
- Zastosowanie mikroskopii optycznej wraz z filtrami barw oraz dedykowanym oprogramowaniem w rozpoznawaniu tworzyw sztucznych zastosowanych w doświadczeniach, wykazało, że wykorzystanie odpowiednich przesłon oraz wykonanie określonych zdjęć, pozwala odróżnić tworzywo mikroplastiku na tle tkanki ciała organizmów biotestowych. Może być więc stosowane jako skuteczna, wstępna metoda szacowania obecności większych cząstek mikroplastiku.

- Wskazanie mikroskopii ramanowskiej, w której badacz dysponuje zaawansowaną i zróżnicowaną metodą pomiarową (różnice laserów, spektrografów, rodzajów obrazowania, detektorów i oprogramowaniu oraz jego aktualizacji), jako możliwości do analizy tkanek, czyli materiału, do którego ta aparatura nie była pierwotnie przeznaczona. Przeprowadzone badania pozwoliły na dobranie konkretnych ustawień dla wysokiej precyzji nowego wykorzystania tej aparatury (co nadaje im charakter nowatorski).

- Wykazanie, że połączony z bazą danych spektrometr FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*; przyrząd do analizy widm w podczerwieni) jest skutecznym narzędziem określania rodzaju tworzywa, pomimo faktu, że badane próbki były zmieszane ze sproszkowaną tkanką, a to w konsekwencji wywoływało tło obrazu. Pomiary były skuteczne, a wyniki potwierdzone literaturą. Metoda okazała się szybka (pozwala na wykonanie kilkunastu powtórzeń dla jednej próbki w ciągu godziny). Wspomniana baza danych, jest otwarta na aktualizacje systemowe oraz nowo opisywane tworzywa, co otwiera nowe możliwości badawcze.

- Wykazano skuteczność metody trawienia materiału organicznego (zliofilizowana oraz sproszkowana tkanka dżdżownic) stężonym H_2O_2 . Wybarwienie czerwienią nilu także dało zakładane rezultaty, pozwalając na uzyskanie barwy tworzyw i przez to łatwej ich klasyfikacji.

Wymienione w recenzji osiągnięcia doktoranta wskazują na jego ogólną wiedzę w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka, umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, zawierają duży ładunek nowych interesujących rezultatów, które mogą przyczynić się do praktycznego działania w ochronie gleb i łańcuchów pokarmowych. Pokazują także potrzeby i kierunki dalszych badań.

Forma ocenianej rozprawy jest poprawna - stanowi ją praca pisemna. Manuskrypt pracy doktorskiej posiada streszczenie w języku angielskim. Działania doktoranta wskazują na umiejętność samodzielnego organizowania i prowadzenia pracy naukowej, a w przypadku przygotowania współautorskich publikacji, świadczą o umiejętności uczestnictwa w pracy zespołowej. Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej to warunek stawiany rozprawom doktorskim.

Ja, niżej podpisana, mam więc prawo stwierdzić, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Marka Klimasza spełnia wymagania ustawowe (ustawa z dnia 3 lipca 2018 r. – przepisy wprowadzające ustawę Prawo o Szkolnictwie Wyższym zawarte w Dz. U. poz. 1669) w dyscyplinie Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka.

Rozprawa spełnia również wymagania określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024. 0.1571 t.j.).

Wnioskuję o dopuszczenie mgr Marka Klimasza do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.

Prof. dr hab. Joanna Kostecka

Dodatkowe pytanie dla doktoranta

Proszę spróbować zbilansować obecność plastiku w tworzeniu cywilizacji XXI wieku a mikroplastiku i nanoplastiku w środowisku przyrodniczym i organizmach żywych.



PODPIS ZAUFANY

JOANNA
KOSTECKA
29.04.2025 21:27:42 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym