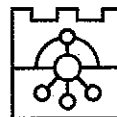




**Politechnika
Krakowska**
Jubileusz 80-lecia

Wydział Inżynierii
i Technologii Chemicznej



dr hab. inż. Katarzyna Gorazda prof. PK

Kraków, 04.01.2026 r.

Katedra Technologii Chemicznej i Analityki Środowiskowej

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Politechnika Krakowska

Ul. Warszawska 24

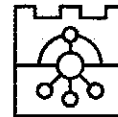
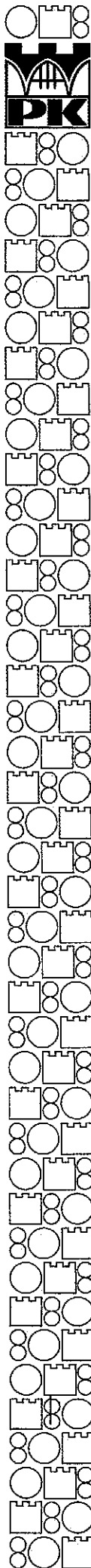
31-155 Kraków

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marcina Sojki

**pt. „Opracowanie innowacyjnego inteligentnego wieloskładnikowego
preparatu nawozowego na bazie surowców odpadowych i o spowolnionym
uwalnianiu składników”**

opracowana na zlecenie Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna
Politechniki Wrocławskiej



1. Ocena wyboru tematyki pracy

Nowoczesne rolnictwo wymaga integracji wysokiej produktywności z zasadami gospodarki obiegu zamkniętego oraz biofortyfikacją. Intensywna produkcja żywności obniża zawartość makro- i mikroelementów w glebie oraz materiale roślinnym, pogłębiając ich niedobory w diecie. Rozwiązaniem są nawozy inteligentne o spowolnionym uwalnianiu składników, tworzone z surowców odpadowych i konsorcjów mikroorganizmów glebowych promujących wzrost roślin (PGPMs), odgrywających kluczową rolę w uwalnianiu niedostępnych form składników odżywczych w glebie. Takie formułacje umożliwiają solubilizację P, Zn i transformację Se, poprawiają wartość odżywczą plonów, ograniczają straty składników i wspierają regenerację gleby, zapewniając zrównoważony rozwój rolnictwa.

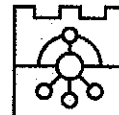
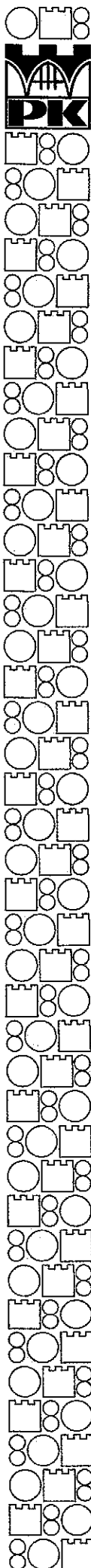
Tematyka pracy koncentruje się na zaprojektowaniu inteligentnego, stałego (granulowanego) preparatu nawozowego o spowolnionym uwalnianiu z komponentem mikrobiologicznym, przygotowanego z rolno-spożywczych surowców odpadowych oraz popiołu z osadów ściekowych. Celem było jednoczesne zwiększenie plonowania i biofortyfikacja biologiczna Zn oraz Se, przy poprawie dostępności P przez mikrobiologiczną solubilizację.

Już na poziomie ideowym jest to podejście zintegrowane: łączy strategię smart-fertilizers, gospodarkę o obiegu zamkniętym (GOZ), wykorzystanie konsorcjów mikroorganizmów promujących wzrost roślin (PGPMs: PSB/ZnSB/Se-transforming) z formą użytkową (granulat o wymaganej twardości i stabilności) i wysoką jakością agronomiczną. Takie połączenie najczęściej rozdzielnie badanych wątków (nośnik, odpad, konsorcjum mikroorganizmów o określonej żywotności w warunkach przechowywania, granulacja, oddziaływanie na rośliny) stanowi o oryginalności rozwiązania.

Innowacyjność prowadzonych badań można rozpatrywać na dwóch poziomach. Jest nią kompozycja składników nawozu, systematycznie dobrana z kilku surowców odpadowych (m.in. mączek, popiół z osadu ściekowego, plazmy, hemoglobiny, serwatki) stanowiących makronośnik oraz wyselekcjonowanych bakterii z kolekcji kultur i izolatów środowiskowych, zwiększających dostępność składników przez mikrobiologiczną solubilizację P i Zn oraz transformacje Se i produkujących związki promujące wzrost roślin. Kompozycję optymalizowano pod kątem twardości granuli, stosunku NPK, zawartości C_{org} i mikroelementów, a także weryfikowano toksyczność dla roślin oraz długą żywotność mikroorganizmów w liofilizacie po odpowiednim doborze krioprezerwantu. Natomiast efekt działania formułacji potwierdzono testami wazonowymi dla kilku gatunków roślin. Drugim poziomem nowości jest zastosowana metodyka weryfikacji jako zestaw systematycznych testów, analizy statystycznej, optymalizacji składu oraz parametrów i modelowania wyników. To bardzo szeroka, spójna i kompletna metodyka badawcza, która rzadko pojawia się w pracach o nawozach mikrobiologicznych.

Oryginalność naukowa wyraża się w jednoczesnym:

- doborze efektywnych składników formułacji a w szczególności konsorcjum bakterii *P. putida* i *B. megaterium*, stanowiących biologicznie aktywny składnik preparatu, w połączeniu z surowcami pochodzenia odpadowego tj. popiół z osadu czynnego oraz mączka rybna,
- optymalizacji składu i cech mechanicznych granuli nawozu z parametrami funkcjonalnymi tj. profil uwalniania składników, biodostępność, korzystny wpływ na wzrost oraz plonowanie roślin, biofortyfikację plonów i parametry biochemiczne gleby,
- obserwacji mechanizmu solubilizacji i transformacji biologicznej analizowanych składników,



co uzupełnia dotychczas prowadzone badania. Wiele z tych projektów kończy na „półproduktach” ciekłych lub proszkach a w recenzowanej pracy zaproponowano pełnowartościowy produkt aplikacyjny, scharakteryzowany i opisany zgodnie z obowiązującymi regulacjami.

Biorąc pod uwagę strategiczność pierwiastków tj. P, Zn czy Se oraz konieczność transformacji rolnictwa w kierunku gospodarki obiegu zamkniętego z silnym naciskiem na biofortyfikację, wzrost plonów dobrej jakości i utrzymania parametrów biochemicznych gleby, podjęta tematyka pracy jest aktualna i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jednocześnie odpowiada na realne potrzeby rynku i polityk UE. Zaproponowane rozwiązanie jest innowacyjne i wnosi wkład w dziedzinę nauk inżynierjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna.

2. Ogólna charakterystyka i struktura rozprawy

2.1. Część literaturowa

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawarta została na 206 stronach i podzielona na dziesięć rozdziałów. W przeglądzie piśmiennictwa autor wprowadza w zagadnienia realizowane w pracy badawczej opierając się na 186 pozycjach literaturowych, w tym jednej współautorstwa Doktoranta.

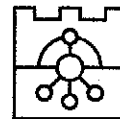
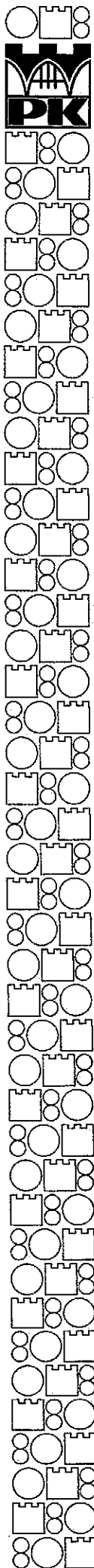
Część teoretyczna obejmuje wprowadzenie do problemu badawczego. Doktorant scharakteryzował pojęcie „głodu ukrytego”, znaczenie P, Zn, Se dla roślin i zdrowia człowieka oraz sposoby ich uzupełniania w diecie. W dalszej części porównał strategie nawożenia naturalnego, syntetycznego i inteligentnego podkreślając znaczenie preparatów inteligentnych, które zapewniają spowolnione lub kontrolowane uwalnianie składników, minimalizując ich straty i wspierając regenerację gleby. Preparaty nowej generacji łączą zalety nawozów organicznych i mineralnych z mikroorganizmami, wpisując się w zasady gospodarki obiegu zamkniętego i rolnictwo regeneracyjne wymagające rozwiązań zwiększających żywotność mikroorganizmów i potencjału aplikacyjnego.

W dysertacji dużo uwagi poświęcono nawozom inteligentnym- formulacjom o kontrolowanym profilu uwalniania składników odżywczych, osiąganym przez zastosowanie kompozytów polimerowych, otoczek siarkowych i inhibitorów oraz przez bioformulacje. W wariantach biologicznych opisano enkapsulację, immobilizację konsorcjów mikroorganizmów, liofilizację z krioprezerwacją utrzymującą aktywność mikroorganizmów. W tej części scharakteryzowano również mechanizmy zwiększania biodostępności składników pokarmowych tj. produkcja kwasów organicznych (glukonowy, 2-ketoglukonowy itd.), protonacja i chelatacja, produkcja sideroforów, enzymów (fitazy, kwaśne fosfatazy, C-P liazy), oraz procesy REDOX.

W obliczu wyczerpujących się surowców naturalnych do produkcji nawozów i problemów z ciągłością w łańcuchu dostaw szczególną uwagę zwrócono na alternatywne źródła składników odżywczych, waloryzację surowców odpadowych przez kompostowanie i fermentację, wskazując alternatywy dla naturalnych fosforów.

Autor przedstawia też koncepcję podejścia zintegrowanego - wytwarzanie granul z surowcami odpadowymi i mikroorganizmami promującymi wzrost roślin (PGPMs) w układzie o spowolnionym uwalnianiu.

Przegląd zawiera pozycje od prac klasycznych (Arnon 1949; Dubois 1956; Bergmeyer 1967) po aktualne opracowania (2021–2025), co wskazuje na horyzont czasowy z wyraźnym akcentem ostatnich lat. Zakres jest merytorycznie uzasadniony: od fizykochemii ryzosfery po aspekty aplikacyjne i prawne.



W mojej ocenie teoretyczna część dobrze buduje fundamenty hipotez, jest spójna a bogate tabele i schematy skutecznie porządkują wiedzę. Zabrakło w tej części podsumowania prac badawczych nad preparatami nawozowymi na bazie surowców odpadowych, zawierającymi bakterie zdolne do solubilizacji składników odżywczych i wskazania problemów badawczych do rozwiązania. Właściwym byłoby porównanie stosowanych dotychczas w literaturze szczepów bakterii, konsorcjów, nośników oraz uwzględnienie problemów technicznych jakie pojawiły się podczas integracji wszystkich składników w jednym preparacie, jak również wyników badań nad ich właściwościami i działaniem. Literatura ta jest uwzględniona w podsumowaniach każdej części badawczej, ale w mojej ocenie chociaż krótkie podsumowanie dotychczas przeprowadzonych badań powinno znaleźć się w tej części pracy ułatwiając czytelnikowi zrozumienie zasadności sformułowania hipotez badawczych i zakresu badań.

2.2. Cel zakres pracy i metodyka badawcza

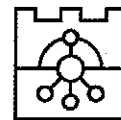
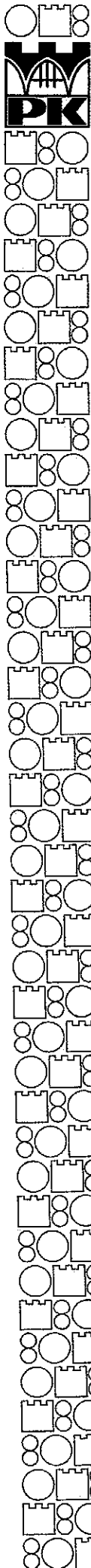
W rozdziale 2 w syntetyczny sposób zdefiniowano cel pracy, zakres badań i sformulowano hipotezy badawcze: jedną główną i cztery szczegółowe oraz w sposób schematyczny przedstawiono cztery etapy badań.

Za cel główny Autor stawia opracowanie stałej, wieloskładnikowej formułacji nawozowej wykorzystując rolno-spożywcze surowce odpadowe, popiół z osadów ściekowych oraz bakterie solubilizujące składniki odżywcze, która wpływa na zwiększenie plonu i zawartości Zn oraz Se w roślinach.

Badania podzielono na cztery powiązane części. W pierwszej z nich selekcjonowano i pozyskiwano szczepy bakterii wykazujące zdolność solubilizacji P i Zn, odporne na warunki abiotyczne i zwiększone stężenie Se, jednocześnie podatne na krioprezervację oraz zdolne do koegzystencji z innymi szczepami i roślinami uprawnymi. W części drugiej scharakteryzowano odpadowe surowce rolno-spożywcze i popiół, określono ich skład pierwiastkowy i zawartość substancji organicznej. Wybrano materiały o wysokiej zawartości P, Zn i Se i oceniono ich kompatybilność z mikroorganizmami w podłożu płynnym; uwzględniając wpływ dawki na uwalnianie składników. W fazie trzeciej opracowano granulaty z różnych mieszanin surowców odpadowych, oceniono ich podatność na mikrobiologiczną solubilizację w podłożu płynnym i fazie stałej. Następnie zoptymalizowano skład formułacji pod kątem proporcji składników i odporności na ściskanie, tworząc granulaty nawozowe z liofilizatem bakterii. W ostatniej części oceniono właściwości wytworzonego nawozu w warunkach rzeczywistych: dobrano dawkę nawozu, wykonano 9-dniowy test kiełkowania rzodkiewki i testy wazonowe, analizując wpływ preparatu na wzrost i jakość roślin.

Wysunięto hipotezy badawcze, że opracowany preparat będzie bezpieczny, poprawi plon i zawartość P, Zn, Se. Zastosowane mikroorganizmy zwiększą biodostępność składników (solubilizacja P/Zn, transformacja Se), będą kompatybilne i trwałe w liofilizacie, a surowce odpadowe zapewnią składniki odżywcze i podatność na granulację. Aplikacja optymalnej dawki wytworzonego preparatu poprawi wzrost i odporność roślin oraz gleby.

Opis metodyki badawczej i stosowanych materiałów oraz aparatury zawarto w części praktycznej pracy w rozdziale 3, 4 i 5. W tej części umieszczono również informacje o zastosowanych metodach analitycznych i instrumentalnych (rozdział 4). Metodyka została prawidłowo dobrana do zakresu realizowanych prac i analiz. Doktorant posługiwał się zróżnicowanymi metodami analitycznymi począwszy od metod kalorymetrycznych przez mineralizację mikrofalową po analizę



FT-IR, SEM dla określenia zmian strukturalnych materiałów stałych czy ICP OES w celu weryfikacji składu. Do hodowli roślin wykorzystano fitotron a do analizy bryły korzeniowej wykorzystano system *WinRhizo*. Proces badawczy spełnia rzetelne kryteria eksperymentalne tj. ilość powtórzeń, wykonana analiza statystyczna, selekcja testów: Shapiro-Wilka, Browna-Forsythe'a, Tukey, Kruskala-Wallisa. Na uwagę zasługuje modelowanie uzyskanych wyników w celu opisu zmian stężenia rozpuszczonego P, Zn, Se oraz wzrostu bakterii podczas solubilizacji, wpływu dawki surowca na specyficzną szybkość wzrostu bakterii czy opisu żywotności bakterii w liofilizacji.

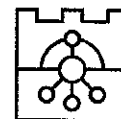
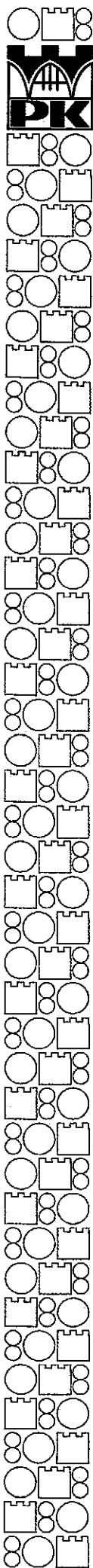
W rozdziale 5 zawarto informacje o stosowanych materiałach i opisano metodykę badawczą wykorzystaną w poszczególnych częściach pracy. Opisano 16 szczepów bakterii, 8 z Polskiej i Niemieckiej Kolekcji Mikroorganizmów oraz 8 izolatów środowiskowych. Opisano metodykę selekcji mikroorganizmów począwszy od przeprowadzania testów wrażliwości na Se, solubilizacji Zn i P, produkcji związków promujących wzrost roślin, kompatybilności szczepów bakterii, wpływu bakterii na kiełkowanie nasion po dobór krioprezerwantu i wytwarzanie liofilizatu bakterii. W tej części zawarto również informacje o surowcach odpadowych i metodyce analizy ich podatności na solubilizację mikrobiologiczną. Wyjaśniono sposób i etapy w jakich opracowana została formuła nawozowa począwszy od granulacji przez testy mikrobiologicznej solubilizacji w podłożu płynnym oraz w fazie stałej, na komercyjnym podłożu uniwersalnym, po optymalizację. Ocena właściwości użytkowych formuły objęła testy doboru dawki nawozu, testy kiełkowania, testy wazonowe w uprawie rzodkiewki oraz pora, cebuli, pomidora i papryki.

Metodyka badań została dobrana adekwatnie do celu badawczego pracy integrując metody mikrobiologiczne, chemiczne, instrumentalne i technologiczne wraz z modelowaniem procesów co potwierdza wysokie kompetencje badawcze Doktoranta o charakterze interdyscyplinarnym.

2.3. Wyniki badań, dyskusja i wnioski

Wyniki badań oraz ich dyskusję zawarto na 122 stronach pracy w rozdziale 6 i poparto 56 tabelami oraz zobrazowano na 41 wykresach, 15 zdjęciach i 4 schematach. W rozdziale 7 podsumowano badania i przedstawiono perspektywy dalszych działań oraz zweryfikowano postawione hipotezy badawcze. Rozdział 8 przedstawia 12 najważniejszych wniosków wysuniętych z przeprowadzonych badań.

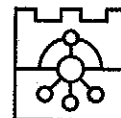
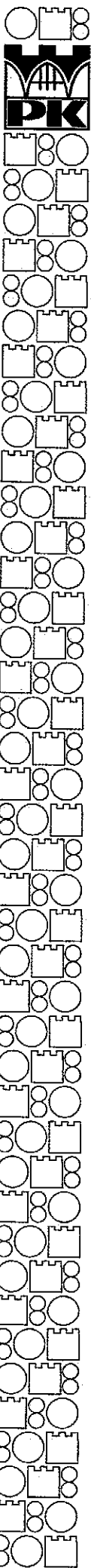
W pierwszym etapie pracy badawczej (podrozdział 6.1) skupiono się na doborze i charakterystyce mikroorganizmów do założonych zastosowań czyli odpornych na warunki abiotyczne i wykazujących zdolność do solubilizacji P i Zn jednocześnie promujących wzrost roślin, kompatybilnych w konsorcjum i posiadających odpowiednio wysoką żywotność w liofilizatach. Utworzono kolekcję 16 szczepów bakterii, pozyskanych z krajowych i zagranicznych kolekcji kultur oraz wyizolowanych z gleby rolnej. Analiza taksonomiczna wykazała obecność bakterii z gromady *Proteobacteria*, *Actinobacteria* oraz *Firmicutes*, w które zasobne są gleby rolne. Oceniono wrażliwość bakterii na różne formy Se: Se (0) Se (+IV) i Se (+VI), w stężeniach 10-600 mM w podłożach agarowych. Badano ich zdolność do solubilizacji P z fosforanu triwapnia $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ w stężeniu 5 g/l oraz solubilizacji Zn z węglanu cynku (6,445 g/l ZnCO_3) w podłożu agarowym i analogicznie w podłożu płynnym. Uwzględniając średnicę makrokolonii (CD), strefy przejaśnienia (ZD) określono współczynnik solubilizacji (SI) oraz stężenia składników w roztworach. Ocenę solubilizacji P przeprowadzono również dla surowca odpadowego- popiołu z osadu ściekowego w podłożu płynnym.



Szczepy charakteryzowały się tolerancją na podwyższone stężenia różnych form selenu, brakiem toksyczności Se(0) oraz zróżnicowaną wrażliwością na Se (+VI) i (+IV), co potwierdza ich zdolność adaptacyjną do warunków stresowych. Zaobserwowano redukcję utlenionych form Se do Se(0), wskazując na potencjał biofortyfikacyjny. Trzy szczepy – *Pseudomonas putida*, *Bacillus megaterium* i *Pseudomonas moraviensis* – wykazały zdolność solubilizacji fosforu, a *P. putida* dodatkowo Zn, osiągając najwyższe stężenia rozpuszczonych składników w hodowlach płynnych. Dziewięć szczepów efektywnie rozpuszczało P z popiołu z osadu ściekowego, co potwierdza możliwość ich wykorzystania w połączeniu z surowcami odpadowymi. Po wstępnej selekcji wybrano 7 szczepów bakterii do przeprowadzenia testów produkcji związków promujących wzrost roślin: sideroforów, kwasu indolilo-3-octowego (IAA) i amoniaku (NH_4^+). Najbardziej efektywne okazały się izolaty *P. putida*, *P. moraviensis* i *B. megaterium*. Ostatecznie po ocenie wzajemnej kompatybilności konsorcjum *P. putida* i *B. megaterium*, nietoksyczne dla kiełkowania rzodkiewki, wyłoniono jako bioaktywny komponent preparatu zwiększającego biodostępność składników pokarmowych; opracowano także jego skuteczną metodę liofilizacji z sacharozą jako krioprezerwantem.

W drugim etapie badań skupiono się na wyborze surowców odpadowych pochodzenia rolno-spożywczego oraz ocenie ich podatności na solubilizację (podrozdział 6.2). Brano pod uwagę skład pierwiastkowy oraz obecność C_{org} jak również kompatybilność i podatność na solubilizację mikrobiologiczną. Z 11 surowców (m.in. mączki mięsno-kostnej, rybnej, krewetkowej, muszlowej; suszonej hemoglobiny i plazmy krwi; serwatki; popiołu z osadu ściekowego) wytypowano najbardziej zasobne w P, Zn i Se i kompatybilne z mikroorganizmami. Wykonano analizę wielopierwiastkową ICP OES, dla wybranych wstępnie surowców zmierzono zawartość wilgoci, materii organicznej, C całkowity, organiczny i nieorganiczny, N całkowity, pH i gęstość nasypową. W połączeniu z mikrobiologiczną solubilizacją P, Zn i Se w podłożu płynnym (dawka surowca 1–25 g/l, czas 7 dni) oraz analizą pH, potencjału REDOX, aktywności fosfatazy i kinetyką uwalniania składników (P/Zn/Se) wytypowano dwa surowce do dalszych badań. Był to popiół z osadu ściekowego oraz mączka rybna. Mączka rybna i hemoglobina były dodatkowo zasobne w materię organiczną i N. Testy wykazały, że P i Zn w tych surowcach występowały w formach trudno dostępnych, lecz skutecznie solubilizowanych przez bakterie, natomiast Se był redukowany lub włączany do biomasy. Mechanizm solubilizacji P obejmował obniżenie pH oraz aktywność kwaśnej fosfatazy, zależną od rodzaju surowca, dawki i szczepu. Wykazano, że *Pseudomonas putida* szybciej obniżała pH, natomiast *Bacillus megaterium* wykazywała wyższą aktywność enzymatyczną, szczególnie przy zastosowaniu mączki rybnej. Największą efektywność solubilizacji uzyskano przy zastosowaniu konsorcjum obu szczepów, co potwierdza zasadność ich łącznego wykorzystania w formulacji nawozowej. Analiza FTIR oraz SEM wykazały zmiany powierzchni matrycy po solubilizacji wskazując zarówno na mechanizmy chemiczne jak i biologiczne. Jako mieszaninę surowców dającą najbardziej „zrównoważone” uwalnianie składników uznano: Popiół z osadu czynnego (P), Mączkę rybną (R), Hemoglobinę (H) i Sacharozę (S).

W trzeciej części badań (podrozdział 6.3) opracowano technologię wytwarzania granulowanego preparatu nawozowego, łączącego właściwości nawozu organiczno-mineralnego i biostymulatora mikrobiologicznego. W pierwszej fazie skupiono się na doborze proporcji surowców w celu uzyskania odpowiedniej funkcjonalności produktu czyli granulki o odporności na ściskanie przekraczającej 30 N. Najlepszy preparat poddano testom solubilizacji w podłożu płynnym (w dawka 1-25g/l, czas 10 dni) oraz w fazie stałej (dawka 1 i 10%, czas 103 dni) analizując stężenia składników P, Zn, Se, wzrost bakterii, aktywność kwaśnej fosfatazy, pH oraz potencjał REDOX.



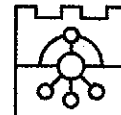
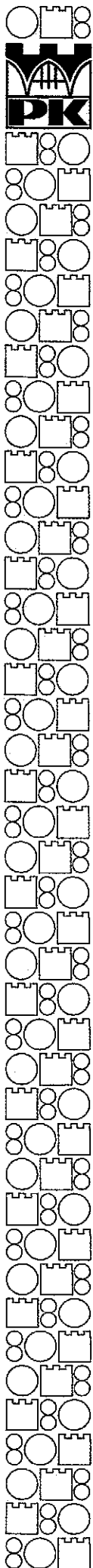
Surowcami były: popiół z osadu czynnego (38,6–51,4%), mączka rybna (21,4–28,6%), hemoglobina (0–15%) oraz sacharoza (15–40%) w roli lepiszcza i krioprezerwantu. Wytworzono 15 mieszanin granulatów, zachowując zróżnicowane proporcje lepiszcza (20–40%) i surowców (60–80%) w celu uniknięcia problemów technologicznych. Granulację prowadzono w granulatorze talerzowym a suszenie w temperaturze 30°C. Odporność granulatów na ściskanie (R) była kluczowym parametrem oceny jakości – dziewięć mieszanin osiągnęło $R > 30$ N, umożliwiając aplikację mechanicznymi rozsiewaczami. „Zrównoważona” formuła (20S/10H/25R/45P) wykazała skuteczną solubilizację P i Zn oraz redukcję Se w hodowlach z konsorcjum mikroorganizmów, nie powodując toksyczności dla bakterii. Solubilizacja mikroorganiczna w fazie stałej wykazała, że dodatek bakterii zwiększał przekształcanie składników do form rozpuszczalnych i dostępnych, które pozostawały w glebie w nietrwałych formach, prawdopodobnie związanych z biomasą mikroorganizmów co zmniejszyło ich wymywalność.

W kolejnej fazie otrzymano jednolite liofilizaty szczepów *P. putida* i *B. megaterium* w sacharozie jako krioprezerwancie, zachowujące wysoką żywotność wynoszącą odpowiednio $2,77 \times 10^9$ jtk/g i $2,65 \times 10^8$ jtk/g.

Zależność odporności na ściskanie mieszanin surowców opisano modelem kubicznym co pozwoliło odtworzyć zależność twardości granul od ich składu i przeprowadzić optymalizację wielokryterialną. Finalnie opracowano „optymalną” mieszaninę surowcową (22,71S/15,00H/26,61R/35,68P), charakteryzującą się wysoką wytrzymałością mechaniczną i równowagą składników odżywczych. Analogicznie preparat poddano badaniom solubilizacji mikrobiologicznej w fazie ciekłej z zachowaniem tych samych parametrów co dla mieszaniny zrównoważonej i porównując uzyskane wyniki. Badania potwierdziły, że „optymalna” mieszanina była podatna na solubilizację przez konsorcjum mikroorganizmów, co zwiększało stężenie P i Zn a Se ulegał reakcjom redukcji. Większy udział sacharozy stabilizował spadek pH, wynikający z produkcji kwasów organicznych oraz sprzyjał namnażaniu bakterii i aktywność kwaśnej fosfatazy, zapewniając efektywną solubilizację nawet przy niższych dawkach.

Ostatecznym efektem tego etapu był preparat „NawLiof” – innowacyjny granulát łączący funkcje nawozu organiczno-mineralnego i biostymulatora zawierający liofilizowane bakterie w ilości 22,71 % oraz preparat „NawPusty” (bez bakterii) jako optymalna mieszanina surowców o analogicznej ilości sacharozy. Preparaty scharakteryzowano pod kątem zawartości składników, odporności na ściskanie, makro- i mikroelementów oraz metali toksycznych i żywotności bakterii.

Ostatnia czwarta części badań (podrozdział 6.4) stanowi ocenę skuteczności agronomicznej granulowanego preparatu z nastawieniem na dobór najlepszej jego dawki oraz analizą jego wpływu na promowanie wzrostu roślin i pobieranie składników pokarmowych w testach kiełkowania oraz testach wazonowych przeprowadzanych przez 10 tygodni w kontrolowanych warunkach w fitotronie dla pięciu odmian roślin. Etap obejmował: dobór dawki od 0,1–10% w/w i parametry 9 dniowych kiełków rzodkiewki tj. długość korzenia oraz pędu, zliczano liczbę wykiełkowanych nasion, mierzono masę świeżą oraz masę suchą i obliczono % kiełkowania czy udział masy suchej. Wykazano, że dawka 0,25% zapewnia najlepsze rezultaty i dla niej przeprowadzono 9-dniowe testy kiełkowania w 6 grupach (BezDod - kontrola, NawPusty, NawLiof, Liofilizat, NawOrg na bazie obornika, NawMin – zawierający sole nieorganiczne N,P i K). Dodatkowo przeprowadzono pomiary stężenia cukrów rozpuszczalnych oraz stężenia chlorofili i karotenoidów w liściach a suchą masę roślin po mineralizacji poddano analizie zawartości P, Se, Zn.



Wyniki wskazały, że NawLiof zapewnia istotnie lepsze kiełkowanie i wzrost, większą biomasę, bardziej rozwinięty system korzeniowy i podwyższoną zawartość Zn oraz P w plonie, przewyższając NawPusty (rola samego nośnika) oraz NawMin/NawOrg (krótkoterminowość, mniejsza biodostępność).

Mieszanina NawLiof zapewniła wzrost liczby bakterii, spadek pH i zmienność aktywności kwaśnej fosfatazy w glebie. Część składników była dostępna od początku, a bakterie, korzystając z wilgotności i źródeł C i N, uwalniały składniki z puli trudno dostępnej.

W testach wazonowych rzodkiewki, pora, cebuli, pomidora i papryki, NawLiof poprawiał wzrost roślin, zwiększając masę świeżą i suchą oraz pobieranie P, Zn i Se (dla rzodkiewki). Obserwowano spadek pH, wzrost ilości bakterii i aktywności fosfatazy, co potwierdza większą aktywność biologiczną. Preparat zwiększał efektywność wykorzystania składników i ograniczał ich straty w glebie.

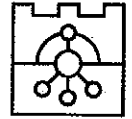
Dyskusja zawarta w pracy konfrontuje wyniki badań z opublikowaną literaturą w omawianym zakresie. Wnioski końcowe są adekwatne do prezentowanych danych spójne, jasno wynikające z przeprowadzonych badań.

3. Pytania i uwagi dyskusyjne

Podczas analizy rozprawy doktorskiej przedstawionej do recenzji nasunęły się poniższe pytania i uwagi, które mają charakter otwartej dyskusji i nie obniżają mojej bardzo pozytywnej oceny pracy, mogą jednak pomóc w jej zrozumieniu i odbiorze:

Pytania

1. Czy pobór 1g próbki gleby z próby 2kg zapewnia reprezentatywność i jest zgodny z zasadami poboru i pomniejszania próbek gleby (PN-R-04031:1997 czy zaleceniami ISO 18400)?
2. Jakie były przesłanki do wyboru stężeń Se w zakresie 10-600 mM podczas oceny tolerancji i odporności bakterii na różne formy Se na podłożu agarowym?
3. Jakie były masy próbek 11 surowców odpadowych wskazanych w tabeli 17 i jaki schemat poboru próby reprezentatywnej i pomniejszania stosowano. W przypadku popiołu z osadu ściekowego, proszę podać czasookres w którym próba została pobrana do badań.
4. Na stronie 89 zawarto zdanie „Ze względu na, jednorodność i powtarzalność składu, do badań wytypowano popiół z osadu czynnego”. Proszę o jego poparcie danymi literaturowymi lub badaniami.
5. Czy w przypadku opisów i porównań wyników solubilizacji oprócz posługiwania się wartością stężeniową w mg/l można wyliczyć „wydajność solubilizacji” jako procent uwolnionego składnika (P, Zn, Se) w stosunku do jego początkowej ilości w surowcu wprowadzonym do układu? Byłoby to szczególnie pomocne kiedy porównywane są różne dawki wprowadzonego nawozu czy surowców powodując wzrost stężenia składników w badanych układach co niekoniecznie wiąże się z ich solubilizacją.
6. Czym kierowano się w doborze proporcji surowców w granulatach: popiół (P) od 38,6 do 51,4% m/m, mączka rybna (R) od 21,4 do 28,6% m/m, hemoglobina suszona (H) od 0 do 15% m/m oraz zmielona sacharoza (S) od 15 do 40% m/m w rozdziale 6.3.1.
7. Proszę o wyjaśnienie dlaczego stosunek surowców w granulacie o składzie 20S/10H/25R/45P jest korzystny (str. 112).
8. Proszę o wyjaśnienie czy uzyskano powtarzalność procesu granulacji.



9. Czym kierowano się w doborze dawki (0, 1 lub 10%) „zrównoważonej” mieszaniny surowców w testach solubilizacji mikrobiologicznej? Czy próbą odniesienia nie powinna być również próbka samego surowca w dawce 1 i 10% bez dodatku bakterii?
10. Czy opracowana koncepcja jest rzeczywiście praktycznym przykładem wdrożenia zasad rolnictwa cyrkularnego (wniosek 12) w kontekście poziomów oceny dojrzałości technologii według definicji UE oraz ISO 16290:2013?

Uwagi:

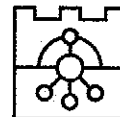
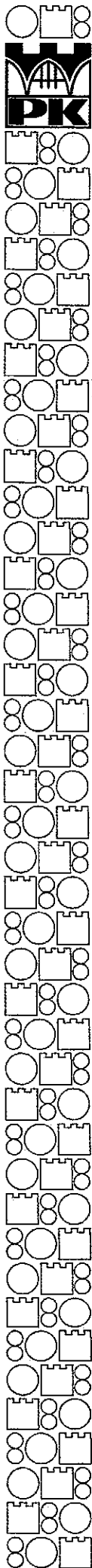
1. Str.70. „Z przedstawionych danych wynika, że bardzo szybko, bo już pierwszego dnia, stężenie Zn osiągnęło wartość równowagową” – czy można wysunąć taki wniosek, skoro nie było analizy innego punktu między 0 a 1 dniem.
2. Str.74, „*P. putida*, *P. moraviensis* także w przypadku popiołu uwolniły znaczne ilości P”. Jakże konkretnie i jaki to udział procentowy w stosunku do fosforu wprowadzonego z surowcem?
3. Sens zdania „Zdolność do zwiększania C_{P205} z popiołu stwierdzono”
4. Częste posługiwanie się zwrotami „najmniej, najwięcej, znaczne ilości, nieznacznie dłuższy” bez podania analitycznych różnic liczbowych czy procentowych (np. str. 74, 75,79) .
5. Tytuły wykresów nie zawsze są autonomiczne, a same wykresy nie zapewniają czytelności w niektórych przypadkach. Wykresy 9 - 14 są w mojej ocenie nieczytelne, nie wyjaśniono skrótów P_p i B_m+P_p , B_m ; na wykresach 23-25 zawarto dużą ilość danych w podobnych oznaczeniach kolorystycznych, co uniemożliwia ich interpretację, nie wyjaśniono również skrótu T . Podobnie w tytułach wykresów 27-29, 38.
6. Tytuły tabel nie zawsze są autonomiczne i zawierają niewyjaśnione skróty np. tabela 24, 25, 27, 31, 42, 46, 49, 50, 52, 53, 60.
7. Docelowo ustalone dawki nawozów powinny być przeliczone z % na kilogramy na hektar (kg/ha).

W pracy występują drobne potknięcia językowe i edytorskie tj.: „16 bakterii” zamiast „16 szczepów bakterii”; „uzyskano więcej C_{P205} ”; „Rośliny zużywają NH_4^+ na cele nawozowe”; „bakterie z rodzaju *Pseudomonas*”; „*P. putida* osiągnęła C_{Zn} powyżej 0,2 mg/l”; „jony P_i ”; „Wskazuje się również na możliwość produkcji przez mikroorganizmy glebowe, które polisacharydami zatykają pory gleby”; „...potwierdziło jej potencjał jako surowce do produkcji preparatu nawozowego”; „procesowanie surowców”; „Analiza chemiczna potwierdziła ich wysoką zawartość kluczowych składników”.

4. Ocena końcowa

Rozprawa przedstawiona do recenzji została przygotowana w sposób bardzo przemyślany i zorganizowana w logicznym ciągu badawczym. Przeprowadzona analiza literatury, oparta na aktualnych i uznanych źródłach, stanowi wprowadzenie do zagadnień podejmowanych w pracy i potwierdza innowacyjny charakter podjętej tematyki oraz wskazuje na istotne znaczenie uzyskanych rezultatów.

W mojej opinii cel pracy został osiągnięty, mgr inż. Marcin Sojka opracował stałą, wieloskładnikową formułę nawozową wykorzystując rolno-spożywcze surowce odpadowe, popiół z osadów ściekowych oraz bakterie solubilizujące składniki odżywcze, która wpływa na zwiększenie plonu i zawartości Zn oraz Se w roślinach.



W pracy przedstawionej do recenzji Doktorant rozwiązał oryginalny problem naukowy a za najważniejsze jej osiągnięcia uważam:

1. Autorską koncepcję zintegrowanej „granuli bioreaktorowej” w postaci formulacji nawozu NawLiof stanowiącej stały preparat łączący surowce odpadowe z konsorcjum mikroorganizmów promujących wzrost roślin, zapewniający biofortyfikację składników, działający jako inteligentny nawóz organiczno-mineralny o wysokiej wartości nawozowej i biostymulującej.
2. Kompleksową charakterystykę szczepów bakterii do założonych zastosowań, wyselekcjonowanie kluczowych szczepów *Pseudomonas putida* i *Bacillus megaterium*, tworzących kompatybilne konsorcjum o najwyższym potencjale solubilizacyjnym i biostymulacyjnym, odporne na stres środowiskowy.
3. Optymalizacja składu preparatu pod kątem jego właściwości aplikacyjnych osiągnięta przez identyfikację najlepszych surowców odpadowych oraz zapewnienie stabilnej solubilizacji i aktywności mikroorganizmów poprzez równowagę między zawartością C_{org} i składników mineralnych w granuli o potwierdzonej odporności mechanicznej i aktywności biologicznej.
4. Potwierdzenie działania preparatu w warunkach rzeczywistych – wzrost biodostępności P i Zn, ograniczenie wymywania składników, poprawa aktywności enzymatycznej i liczebności mikroorganizmów w glebie, zwiększenie plonów i poprawa kondycji roślin, biofortyfikacja P, Zn i Se w częściach jadalnych.

Sposób analizy literatury, zastosowana metodyka badawcza oraz uporządkowany tok prac dowodzą, że mgr inż. Marcin Sojka posiada wiedzę teoretyczną charakterystyczną dla reprezentowanej dziedziny nauk inżynieryjno-technicznych oraz jest przygotowany do samodzielnego planowania badań i prowadzenia pracy eksperymentalnej. Doktorant płynnie wykorzystał różne techniki badawcze osiągając cele zawarte w pracy a także wykazał się zdolnością syntetycznej prezentacji wyników, ich dyskusji i interpretacji oraz wyciągania prawidłowych wniosków, co potwierdza jego kompetencje w prowadzeniu badań naukowych. Dysertacja wnosi istotny wkład poznawczy i aplikacyjny w zagadnienia dyscypliny inżynieria chemiczna, została przygotowana w bardzo dobrym, czytelnym układzie i dopracowana edytorsko.

Uwzględniając powyższą ocenę, uważam, że rozprawa mgr inż. Marcina Sojki zatytułowana: „Opracowanie innowacyjnego inteligentnego wieloskładnikowego preparatu nawozowego na bazie surowców odpadowych i o spowolnionym uwalnianiu składników” spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim w Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1669) z późniejszymi zmianami. Wnoszę o przyjęcie niniejszej rozprawy i dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów postępowania i publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę jakość merytoryczną i poznawczą pracy oraz jej wysoki poziom, wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

dr hab. inż. Katarzyna Gorazda prof. PK