

Prof. dr hab. Agnieszka Gałuszka
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
Instytut Chemii
Zakład Chemii Analitycznej i Geochemii Środowiska
ul. Uniwersytecka 7
25-406 Kielce

Kielce, 24.07.2023 r.

Recenzja pracy doktorskiej pt. *„Ocena skuteczności zastosowania sieci pajęczych poprzez wykonanie badań porównawczych (pyłomierz vs. sieci pajęczce) przy ocenie jakości powietrza wybranego regionu”* napisanej przez mgr inż. Agnieszkę Trzynę pod kierunkiem dr hab. Justyny Rybak, prof. PWr oraz dr hab. Macieja Górki prof. UWr na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej

Wprowadzenie

Recenzja została wykonana na podstawie pisma nr RDND08/79/2023, skierowanego przez Przewodniczącą Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka, dr hab. inż. Roberta Króla, prof. PWr, w dniu 12 czerwca 2023 r. w imieniu Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka, w sprawie powołania mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Agnieszki Trzyny pt. *„Ocena skuteczności zastosowania sieci pajęczych poprzez wykonanie badań porównawczych (pyłomierz vs. sieci pajęczce) przy ocenie jakości powietrza wybranego regionu”*.

Temat rozprawy dotyczy porównania metod oceny jakości powietrza z wykorzystaniem bioindykacji i standardowych technik stosowanych w monitoringu środowiska. Celem pracy było sprawdzenie czy metody standardowe stosowane do monitoringu powietrza dostarczają spójnych danych z tymi, uzyskanymi z wykorzystaniem sieci pajęczych jako naturalnych próbników aerozoli atmosferycznych. Nowością naukową jest porównanie właściwości bioindykacyjnych transplantowanych plech porostu *Hypogymnia physodes* z wynikami badań sieci pajęczych. Badania przeprowadzono głównie w okolicach huty miedzi Legnica. Oprócz badań biomonitoringowych przeprowadzono również, w celach porównawczych, analizy aerozoli pobieranych próbnikiem aktywnym.

Ocena rozprawy doktorskiej

Rozprawa ma formę zbioru ośmiu wieloautorskich, powiązanych tematycznie artykułów naukowych, z których siedem zostało opublikowanych w języku angielskim, a jeden w języku polskim. W rozprawie doktorskiej publikacje są poprzedzone streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz opisem przeprowadzonych badań, ich wyników oraz podsumowaniem i

wnioskami w języku polskim wraz z wykazem publikacji spoza rozprawy doktorskiej oraz cytowaną w części opisowej literaturą (42 pozycje).

Publikacje włączone do rozprawy w większości zostały opublikowane w renomowanych specjalistycznych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Są to, w kolejności zawartej w rozprawie, artykuły:

1. Stojanowska, A., Zeynalli, F., Wróbel, M., Rybak, J. (2023). The use of spider webs in the monitoring of air quality—A review. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 19(1), 32-44.
2. Górka, M., Trzyna, A., Lewandowska, A., Drzeniecka-Osiadacz, A., Miazga, B., Rybak, J., Widory, D. (2023). The impact of seasonality and meteorological conditions on PM_{2.5} carbonaceous fractions coupled with carbon isotope analysis: Advantages, weaknesses and interpretation pitfalls. *Atmospheric Research*, 290, 106800.
3. Stojanowska, A., Rybak, J., Bożym, M., Olszowski, T., Białowicz, J. S. (2020). Spider webs and lichens as bioindicators of heavy metals: A comparison study in the vicinity of a copper smelter (Poland). *Sustainability*, 12(19), 8066.
4. Stojanowska, A., Mach, T., Olszowski, T., Białowicz, J. S., Górka, M., Rybak, J., Rajfur, M., Świsłowski, P. (2021). Air pollution research based on spider web and parallel continuous particulate monitoring—A comparison study coupled with identification of sources. *Minerals*, 11(8), 812.
5. Bartz, W., Górka, M., Rybak, J., Rutkowski, R., Stojanowska, A. (2021). The assessment of effectiveness of SEM-EDX and ICP-MS methods in the process of determining the mineralogical and geochemical composition of particulate matter deposited on spider webs. *Chemosphere*, 278, 130454.
6. Trzyna, A., Rybak, J., Bartz, W., Górka, M. (2022). Health risk assessment in the vicinity of a copper smelter: particulate matter collected on a spider web. *Mineralogia*, 53(1), 36-50.
7. Trzyna, A., Rybak, J. (2022). Biomonitoring z wykorzystaniem sieci pajęcznych—jakość powietrza i ocena narażenia zdrowotnego. *Zeszyty Naukowe SGSP*, 82, 7-19.
8. Trzyna, A., Rybak, J., Górka, M., Olszowski, T., Kamińska, J. A., Węsierski, T., Mąjder-Łopatka, M. (2023). Comparison of active and passive methods for atmospheric particulate matter collection: From case study to a useful biomonitoring tool. *Chemosphere*, 334, 139004.

Pierwszy z artykułów jest pracą przeglądową przedstawiającą aktualny stan wiedzy na temat wykorzystania sieci pajęcznych do monitoringu jakości powietrza. Dokonano w nim podsumowania badań prowadzonych w różnych ośrodkach naukowych, w tym w większości w macierzystej jednostce Doktorantki. W pracy cytowanych jest 88 prac, głównie oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 1959-2022. W zestawieniu tym uwzględniono 19 publikacji na temat badań bioindykacyjnych z wykorzystaniem sieci pajęcznych. Poza Doktorantką, która jest pierwszym autorem i autorem do korespondencji, w zespole autorskim znalazły się jeszcze trzy osoby zatrudnione na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej, w tym promotor rozprawy – dr hab. Justyna Rybak, prof. PWr. W publikacji

zwrócono uwagę na różnice w metodologii badań, szczególnie w sposobie pozyskiwania i rozmieszczania w terenie sieci pajęczych, doborze gatunków pajaków wytwarzających sieci do badań monitoringowych, w czasie ekspozycji na zanieczyszczenia, metodach analitycznych używanych do badania próbek, oznaczanych parametrach i analitach. Ciekawie przedstawiono informacje o ograniczeniach związanych ze stosowaniem sieci pajęczych w biomonitoringu zanieczyszczeń powietrza. Ważnym zagadnieniem omówionym w artykule jest potrzeba wprowadzenia standardowych metod postępowania w badaniach monitoringowych z użyciem sieci pajęczych aby wyniki badań prowadzonych w różnych ośrodkach były porównywalne. Zgodnie z oświadczeniem Doktorantki, Jej wkład w powstanie publikacji polegał na opracowaniu koncepcji artykułu, przygotowaniu przeglądu literatury, tekstu artykułu i zredagowanie jego ostatecznej wersji.

Druga z publikacji dotyczy wyników badań pyłu węglowego frakcji $PM_{2,5}$ pobranego do badań w Legnicy w latach 2020-2021. Próbki pobrane za pomocą próbnika wysokoobjętościowego zostały poddane szczegółowym analizom. Określono w nich stężenia $PM_{2,5}$, udział węgla organicznego, pierwiastkowego i całkowitego, wyznaczono skład izotopowy węgla, składniki próbek na podstawie widm FTIR. Wyniki badań zostały zinterpretowane w odniesieniu do zmian parametrów meteorologicznych, rozmieszczenia głównych źródeł emisji, sezonowości. Najważniejszym wnioskiem płynącym z badań było udowodnienie, że niepełne spalanie węgla skutkowało wzbogaceniem frakcji $PM_{2,5}$ w pyły węglowe w okresie zimowym, natomiast w okresie letnim, głównymi źródłami tych pyłów było spalanie węgla i biomasy oraz transport samochodowy. Autorzy publikacji podkreślają duże znaczenie kompleksowych badań zanieczyszczeń powietrza z wykorzystaniem wielu oznaczanych parametrów i czynników dla pełnego zrozumienia zanieczyszczenia powietrza przez pyły $PM_{2,5}$. Rolą Doktorantki w przygotowaniu publikacji było przeprowadzenie przeglądu literatury, sformułowanie problemu badawczego, zapewnienie materiału do badań, opracowanie metodologii, nadzór nad projektem, udział w jego finansowaniu i przygotowaniu tekstu manuskryptu.

W trzeciej publikacji porównano właściwości bioindykacyjne transplątowanych sieci pajęczych i porostu *Hypogymnia physodes* w pobliżu huty miedzi w Legnicy. Oba biowskaźniki zostały umieszczone w dziesięciu stanowiskach badawczych, pobrane po 2 miesiącach ekspozycji w terenie i poddane analizie na zawartość potencjalnie toksycznych pierwiastków śladowych – miedzi, cynku, niklu, ołowiu i arsenu. Sieci pajęczce wykazały większą zdolność do akumulowania badanych zanieczyszczeń. W publikacji podano niektóre czterocyfrowe i

trzycyfrowe wyniki z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku. Liczby te powinny być zaokrąglone, uwzględniając niepewność pomiarów. Zgodnie z przedstawionym w pracy doktorskiej oświadczeniem, Doktorantka sformułowała problem badawczy, wykonała przegląd literatury, dostarczyła materiał do badań, opracowała koncepcję publikacji, przygotowała rysunki, nadzorowała projekt, przygotowała tekst manuskryptu i redagowała jego ostateczną wersję.

Kolejną publikacją w zbiorze artykułów stanowiących rozprawę doktorską jest tematycznie najbardziej związany z tytułem pracy artykuł dotyczący porównania wyników badań cząstek PM_{10} z zastosowaniem pomiarów ciągłych za pomocą analizatora ED-XRF Horiba PX-375 do zanieczyszczeń zakumulowanych na sieciach pajęczych. Badania przeprowadzono w okresie od lutego do marca 2019 r. w miejscowości Kotórz Mały w województwie opolskim. Jednym z elementów badań było wyznaczenie wskaźnika wzbogacenia w metale frakcji PM_{10} . Do tego celu zastosowano jako wartości tła zawartości metali w skorupie ziemskiej, a jako pierwiastek odniesienia – glin. Wartości liczbowe współczynników wzbogacenia uznano za dowód na wpływ antropogeniczny. Obliczenia wskazują na stopień wzbogacenia frakcji PM_{10} w metale w odniesieniu do składu skorupy ziemskiej i nie powinny być interpretowane jako wskaźniki poziomu zanieczyszczenia. Takie rozważania byłyby słuszne gdyby we wzorze na EF zastosowano zamiast zawartości metalu w skorupie ziemskiej, przeciętną zawartość metalu we frakcji PM_{10} , najlepiej wyznaczoną na podstawie badań na obszarach niezanieczyszczonych. Wkład Doktorantki do publikacji polegał na sformułowaniu problemu badawczego, wykonaniu przeglądu literatury, dostarczeniu materiału do badań, sprawowaniu nadzoru nad projektem, opracowaniu koncepcji artykułu, przygotowaniu tekstu i jego ostatecznym zredagowaniu.

Temat piątego artykułu dotyczy porównania dwóch metod zastosowanych do badania 13 próbek sieci pajęczych, które były umieszczone na 3 miesiące w pobliżu Huty Głogów. Pierwszą metodą była skaningowa mikroskopia elektronowa w połączeniu z przystawką do mikroanalizy techniką spektrometrii rentgenowskiej z dyspersją energii (SEM-EDX), a drugą - spektrometria mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-MS). Techniki te dają zupełnie inne możliwości uzyskania informacji o badanych próbkach. Analiza w mikroobszarze (SEM-EDX) pozwala na uzyskanie informacji o składzie pojedynczych cząstek, a wyniki analizy z wykorzystaniem ICP-MS charakteryzują ilościowy skład pierwiastkowy sieci pajęczych z obecnymi na nich cząstkami pyłów. Obie metody są komplementarne w analizie cząstek pyłów, recenzentka nie zgadza się z opinią Autorów publikacji, że jedną z metod można zastąpić inną. W metodyce oznaczeń ICP-

MS użyto (podobnie jak w analizach do publikacji 6 i 8) nieodpowiedniego materiału odniesienia CRM 1643e (pierwiastki śladowe w wodzie), który nie jest dopasowany do matrycy próbek, drugi materiał odniesienia CRM 1648a (cząstki miejskich pyłów) też nie został dobrany odpowiednio do matrycy próbki. Jako materiał odniesienia najlepiej byłoby zastosować materiał o matrycy organicznej, podobnie jak w publikacjach 3 i 4. Wątpliwości może budzić poprawność wyznaczenia związku pomiędzy procentowym udziałem pierwiastków w cząstkach pyłów, a przeliczonymi na udział procentowy pierwiastków w badanych próbkach sieci pajęczych zbadanych techniką ICP-MS. W publikacji nie podano tej informacji, ale prawdopodobnie do obliczenia udziału pierwiastków oznaczonych za pomocą SEM-EDX wykorzystano uśrednione wyniki. Nie wiadomo czy wykonano jednakową ilość pomiarów składu chemicznego w mikroobszarze dla każdej z 13 próbek. Wiadomo, że techniką ICP-MS nie badano zawartości pierwiastków w cząstkach pyłów, ale określono tą zawartość w sieciach pajęczych, które zawierały cząstki pyłów. Udział Doktorantki w powstaniu tej publikacji był mniejszy niż w pozostałych i polegał na opracowaniu koncepcji publikacji i przygotowaniu tekstu manuskryptu.

Dwa kolejne artykuły zawierają dane na temat ryzyka zdrowotnego związanego z pyłami w pobliżu huty miedzi w Legnicy. W pierwszym z nich zbadano sieci pajęczce poddane ekspozycji na zanieczyszczenia od połowy lipca do połowy września 2018 r. W próbkach wykonano analizy z wykorzystaniem technik SEM-EDX i ICP-MS. Na podstawie wyników analiz chemicznych wyznaczone zostały średnie dzienne dawki przyjmowane drogami pokarmową, inhalacyjną i przez skórę dla dorosłych i dzieci. Wyznaczono także wartości liczbowe ilorazu ryzyka dla trzech powyższych dróg przyjęcia dawki i grup wiekowych. Oszacowane zostały także współczynniki ryzyka dla dorosłych i dzieci, narażenie na choroby inne niż nowotworowe i narażenie na raka. Przygotowując publikację, Doktorantka sformułowała problem badawczy, wykonała przegląd literatury, opracowała koncepcję artykułu, przygotowała tekst manuskryptu i zredagowała ostateczną wersję publikacji.

W siódmej publikacji oznaczano żelazo, cynk i ołów w ośmiu próbkach sieci pajęczych poddanych wpływowi zanieczyszczeń na terenie Wrocławia od stycznia do marca 2020 r.. Określono, podobnie jak w badaniach przedstawionych w publikacji 6, zagrożenie dla zdrowia związane z występowaniem w sieciach pajęczych cynku, ołowiu i żelaza. O ile narażenie na podwyższone stężenia ołowiu, a częściowo też cynku, może być powodem do niepokoju, to w przypadku żelaza, problemy zdrowotne są u człowieka głównie powodowane przez jego

niedobór w organizmie. Można się też zastanawiać czy jest zasadna ocena zagrożenia zdrowia przeprowadzona na podstawie składu sieci pajęczych, które raczej nie będą miały istotnego znaczenia w dawce przyjętej przez organizm drogą inhalacyjną, przez skórę, czy przez układ pokarmowy. Udział Doktorantki w publikacji polegał na sformułowaniu problemu badawczego, dostarczeniu materiału do badań, wykonaniu przeglądu literatury, opracowaniu koncepcji artykułu, analizie i wizualizacji danych, przygotowaniu tekstu i jego ostatecznym zredagowaniu.

Ostatnia ze zbioru publikacji jest poświęcona zestawieniu wyników badań pyłów $PM_{2,5}$, zebranych na filtrach z mikrowłókien kwarcowych za pomocą próbnika wysokoobjętościowego i biowskaźników – transplantowanych sieci pajęczych oraz porostów. Biowskaźniki umieszczono na dwa miesiące w ośmiu stanowiskach badawczych na terenie Legnicy, a pyłomierz zainstalowano w jednym z nich (stanowisko nr 3) i przez rok wykonywano pomiary w systemie 24-godzinnym dwa razy w miesiącu przez większość roku i codziennie przez tydzień w lutym i sierpniu. W próbkach oznaczono wybrane pierwiastki (As, Cd, Cu, Fe, Ni, Pb i Zn). Wyniki badań wykazały większe zdolności sieci pajęczych w porównaniu z porostami do akumulacji pierwiastków śladowych. Autorzy nie zastosowali korekty związanej z różnicą biomasy obu biowskaźników powodującym efekt rozcieńczenia w przypadku porostów. Współczynnik taki był obliczony w badaniach przeprowadzonych przez Neele van Laaten i współautorów (*van Laaten, N., Merten, D., von Tümpling, W., Schäfer, T., Pirrung, M. (2020). Comparison of spider web and moss bag biomonitoring to detect sources of airborne trace elements. Water, Air, & Soil Pollution, 231, 1-17*). Korekta taka mogłaby zniwelować zaobserwowane różnice stężeń pierwiastków w dwóch badanych biowskaźnikach. W opisie metodyki analiz ICP-MS i ICP-OES nie podano odważki i sposobu mineralizacji próbek porostów. W omawianej publikacji, rolę Doktorantki było wykonanie przeglądu literatury, sformułowanie problemu badawczego, dostarczenie materiału do badań, opracowanie metodologii, analiza i wizualizacja danych, sprawowanie nadzoru nad projektem, opracowanie koncepcji artykułu, udział w przygotowaniu tekstu i jego ostatecznym zredagowaniu.

Część opisowa pracy doktorskiej jest napisana poprawnie, choć znajdują się w niej pewne drobne błędy. Na str. 8 i 89 w spisie autorów publikacji nr 5 błędnie został dwukrotnie wymieniony Wojciech Bartz. Na str. 12 cytowana jest publikacja Rachwał et al., 2018, której nie uwzględniono w spisie literatury. Na str. 15 zaliczono porosty do roślin. Wielokrotnie w tekście błędnie używa się terminu „cząsteczki” w odniesieniu do cząstek pyłów. Pewnym dyskomfortem dla czytelnika pracy jest brak spójności w metodologii badań – różny czas

ekspozycji próbek na zanieczyszczenia, różne składniki oznaczane w próbkach, różne roztwory zastosowane do mineralizacji próbek (stężony HNO_3 lub mieszanina tego kwasu z H_2O_2), różne odważki próbek nici pajęczych, różne materiały odniesienia stosowane do kontroli jakości analiz chemicznych, różne techniki analityczne stosowane do oznaczania tych samych analitów.

Ogólne wnioski i podsumowanie pracy doktorskiej świadczą o zrealizowaniu zamierzonych celów i poszerzeniu wiedzy na temat różnic w informacjach o jakości powietrza uzyskiwanych metodami standardowymi i bioindykacyjnymi. Doktorantka ma świadomość ograniczeń, jakie wynikają z innej metodyki badań aerozoli z wykorzystaniem pyłomierza i badań próbek sieci pajęczych. Poza zamierzonym głównym celem pracy, którego osiągnięcie jest potwierdzone szczególnie w publikacjach 3 i 8, w pracy można znaleźć wiele wątków, które mają luźniejszy związek z tematem rozprawy, ale świadczą o szerokich zainteresowaniach Doktorantki i poszukiwaniu nowych możliwości wykorzystania wyników prowadzonych przez Nią badań.

Podsumowanie

Analiza zbioru publikacji przedstawionych jako rozprawa doktorska pt. *„Ocena skuteczności zastosowania sieci pajęczych poprzez wykonanie badań porównawczych (pyłomierz vs. sieci pajęczce) przy ocenie jakości powietrza wybranego regionu”* pokazuje mocne i słabe strony badań bioindykacyjnych w porównaniu do tradycyjnego monitoringu zanieczyszczeń powietrza. Choć można mieć uzasadnione wątpliwości, co do pewnych aspektów metodyki badań i interpretacji wyników, na przykład tych związanych z brakiem uwzględnienia korekty różnic biomasy porostów i sieci pajęczych, wyznaczeniem współczynników wzbogacenia w biowskaźnikach z wykorzystaniem składu skorupy ziemskiej, czy przeliczeniem udziału procentowego pierwiastków oznaczonych pojedynczych cząstkach i sieciach pajęczych, praca doktorska potwierdza możliwość użycia sieci pajęczych do oceny jakości powietrza i ustalania dominujących źródeł emisji zanieczyszczeń na danym obszarze. Zdaniem recenzentki, ten rodzaj biowskaźników najlepiej nadaje się do badań składu mineralnego i chemicznego cząstek pyłów w mikroobszarze.

Przygotowując przedstawioną do recenzji rozprawę, Pani mgr inż. Agnieszka Trzyna udowodniła, że posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych w zakresie oceny jakości powietrza. Poprawnie formułuje Ona problemy badawcze, potrafi właściwie dobrać metody badawcze do osiągnięcia celu badań i odpowiednio je zastosować, umie

analizować wyniki badań i wyciągać z nich wnioski. Praca doktorska potwierdza posiadanie przez Doktorantkę ogólnej wiedzy teoretycznej, a jej przedmiotem jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska odpowiada warunkom określonym w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dn. 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.).



Prof. dr hab. Agnieszka Gałuszka