



UNIWERSYTET ROLNICZY

im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu

30-059 Kraków, al. Mickiewicza 24/28

Tel. +48 12 662 4096

Kraków, dnia 25 października 2025 r.

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej pt.:

**OPRACOWANIE INNOWACYJNEJ TECHNOLOGII
BEZCHLOROWEGO UZDATNIANIA WÓD POPŁUCZNYCH
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO Z WYKORZYSTANIEM
SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH POCHODZENIA ROŚLINNEGO”**

wykonanej przez mgr inż. Piotra Kanarka

z Katedry Mikrobiologii i Ekologii Roślin,

Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Politechniki Bydgoskiej

pod kierunkiem pani dr hab. inż. Barbary Brezy-Boruty, prof. PBŚ.

Nadesłana mi do recenzji praca doktorska pod w/w tytułem to zbiór czterech opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, które w całości zostały skserowane i znalazły się w części dodatkowej materiałów związanych z postępowaniem dotyczącym nadania stopnia naukowego doktora.

Pierwsza część pracy przedstawiona na 46 stronach maszynopisu zawiera pięć rozdziałów, które podzielone są z kolei na podrozdziały, to wstęp, wykaz artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej, uzasadnienie spójności tematycznej cyklu publikacji rozprawy, materiały i metody badań, omówienie publikacji stanowiących rozprawę doktorską, podsumowanie i wnioski, streszczenie, abstract i spis literatury obejmujący 66 najnowszych pozycji z ostatnich kilkunastu lat głównie polskich i anglojęzycznych, które wykorzystano we wstępie pracy, celem wprowadzenia czytelnika w omawiany problem. Należy zaznaczyć, że załączone cztery prace mają łącznie 400 pkt. MNiSzW oraz posiadają Impact Factor wynoszący aż 11,0. Rozprawa doktorska mgr inż. Piotra Kanarka pt. „**Opracowanie innowacyjnej technologii bezchlorowego uzdatniania wód popłucznych przemysłu rolno-spożywczego z wyko-**

rzystaniem składników bioaktywnych pochodzenia roślinnego” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Stwierdzam, że pod względem formalnym praca doktorska została napisana prawidłowo i zgodnie z przepisami obowiązującymi od 1 stycznia 2021 roku, może być przedmiotem dalszego opracowania w formie niniejszej recenzji.

Nasze bogactwa naturalne i zasoby środowiska mocno nadwyrężone w przeszłości, bez wątpienia nie wytrzymają dalszych obciążeń. Eksperti już dziś ostrzegają, szczególnie w krajach rozwijających się, a także i w Polsce, że wzrastająca liczba ludności pociągnie za sobą wzrost zapotrzebowania na żywność, którą produkować muszą rolnicy, a do tego potrzebują dobrej jakości gleby, wody, nawozów i wielu innych chemicznych środków ochrony roślin, środków dezynfekcyjnych o dużej aktywności biologicznej niszczących groźne patogeny. Wydaje się, że nowoczesne rolnictwo wykorzystujące najnowsze zdobycze wiedzy z zakresu ekologii, biologii molekularnej, genetyki, inżynierii genetycznej i mikrobiologii mogą sprostać stojącym przed ludzkością zadaniom i przyczynić się do wzrostu żywności o dobrej jakości przy zachowaniu stanu środowiska na niezmiennym poziomie. Dlatego każde działania zmierzające do powstrzymania niekorzystnych trendów związanych z degradacją wód, gleb i środowiska należy uznać za wskazane i zasługują na specjalną uwagę. Nic więc dziwnego, że temat pracy doktorskiej p. mgr inż. Piotra Kanarka związany jest z biologią, ekologią i występowaniem bakterii patogennych w procesach technologicznych związanych z pozyskiwaniem owoców i warzyw oraz ich utylizacją w pojawiających się w wodach popłuczynowych. I właśnie cele zawarte w ocenianej rozprawie doktorskiej są próbą wykorzystania bioaktywnych składników różnych roślin do zmniejszenia ilości stosowanych środków chemicznych do dezynfekcji wód popłuczynowych i zastąpienia ich przyjaznymi dla środowiska bioaktywnymi substancjami pochodzenia roślinnego.

Muszę przyznać, że z wielkim zainteresowaniem przeczytałem bardzo dobrze opracowany wstęp, w którym w oparciu o obficie cytowane dane literaturowe Doktorant przedstawił informacje na temat oszczędzania i recyklingu wody, która jest krytycznym czynnikiem w produkcji rolnej. Okazuje się, że rolnictwo jest najbardziej wodochłonnym sektorem gospodarki, odpowiadającym za około 70% rocznego wykorzystania słodkiej wody. Dlatego też, koniecznym staje się problem jej oszczędzania i poszukiwania nowych rozwiązań, które pozwoliłyby na przeciwdziałanie jej stratom i odzysk z miejsc gdzie po jednorazowym użyciu jest bezpowrotnie tracona. Spośród wielu sektorów rolnictwa, gdzie używa się duże ilości wody wg Doktoranta na szczególną uwagę zasługuje sektor ogrodniczy i sadowniczy, który cechuje się wysoką wodo-

chłonnością. Sektor przetwórstwa owocowo-warzywnego, stoi przed istotnymi wyzwaniami w zakresie zarządzania wodą. Duże zużycie wody w procesach technologicznych, głównie mycia i płukania, skutkuje powstawaniem znacznych ilości wód popłuczynowych, często obciążonych zanieczyszczeniami organicznymi (w tym mikrobiologicznymi). Przyjmuje się, że do przetworzenia 1 kilograma owoców bądź warzyw zużywa się około 5 litrów wody, która w wielu przypadkach nie jest ponownie wykorzystywana, a generowana jako ściek i zrzucana jest do sieci kanalizacyjnej. W zawiązku ze stratami wody Doktorant zainteresował się tym problemem i wyjaśnia, że jednym z głównych zagrożeń związanych z ponownym wykorzystaniem nieoczyszczonej wody jest jej mikrobiologiczna kontaminacja. Pomimo stosowania środków dezynfekujących, woda używana do płukania warzyw i owoców pozostaje istotnym wektorem zakażeń drobnoustrojami. Duże obciążenie materią organiczną (cząstkami zawieszonymi i rozpuszczonymi), jak również zanieczyszczenie mikrobiologiczne już na etapie uprawy sprzyja rozwojowi i pojawianiu się patogenów w zakładach przetwórczych. Niejednokrotnie nieprawidłowe praktyki w trakcie zbioru i przetwarzania surowca mogą znacząco zwiększyć liczbę drobnoustrojów, a zwłaszcza przyczynić się do obecności patogenów, w tym *E. coli*, bakterii z rodzaju *Salmonella*, a także *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus* spp. Wśród bakterii wykrywanych na warzywach i owocach odnotowywano również inne odpowiedzialne za ciężkie zatrucia pokarmowe gatunki: *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp. i *Clostridium* spp. Zagrożenie mikrobiologiczne wynika nie tylko z obecności patogenów na powierzchni warzyw i owoców, lecz także z ich zdolności do przenikania do wnętrza tkanek roślinnych. Penetracja tkanek może następować przez naturalne otwory (np. aparaty szparkowe, pory, połączenia korzeniowe) lub uszkodzenia mechaniczne i zmiany martwicze, co umożliwia ich kolonizację zarówno w okresie przed-, jak i pozbiorczym, również z możliwością tworzenia biofilmów.

Jedną ze strategii zmniejszania ryzyka zanieczyszczenia mikrobiologicznego w przetwórstwie rolno-spożywczym jest stosowanie chemicznych i fizycznych metod uzdatniania wody procesowej pomiędzy etapami produkcyjnymi. Najczęstszą metodą oczyszczania wody po procesie płukania surowca jest aplikacja dezynfekcji chlorowej (w postaci podchlorynu sodu lub wapnia oraz w mniejszym stopniu chloru gazowego). Wśród innych metod można wyróżnić stosowanie kwasu nadchlorowego, elektrolizę wody, a także ozonowanie i promieniowanie UV. Doktorant zwraca uwagę, że w przypadku metod opartych o związki chloru, pomimo wysokiej wydajności tego typu rozwiązań, istnieje możliwość powstawania negatywnych produktów ubocznych o zróżnicowanym wpływie na środowisko naturalne i zdrowie człowieka (np.: toksyczność, cytotoksyczność, neurotoksyczność, genotoksyczność, mutagenność i kancero-

genność). Do negatywnych produktów ubocznych zalicza się m.in. chloroform, kwas dichlorooctowy, kwas trichlorooctowy, halonitrometany, haloacetamidy, haloacetonitryle, bromian, chloryn, chloran, kwas jodooctowy, jodoform, jodowe trihalometany, bromodichlorometan, bromoform, kwas dibromooctowy. W tym kontekście Doktorant przyznaje, że istnieje konieczna potrzeba wdrażania rozwiązań związanych z recyrkulacją wody w układach zamkniętych, a także eliminowanie niepożądane skutków ubocznych tradycyjnej dezynfekcji chlorowej. Dlatego też należy poszukiwać alternatywnych sposobów w celu zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego wód procesowych.

W podsumowaniu części wstępnej Doktorant sformułował swoją wizję badań w następujący sposób:

Ekstrakty roślinne najczęściej badane są w warunkach *in vitro* i celowane wobec konkretnego gatunku bakterii (np.: szczepów klinicznych lub wobec patogenów żywności). Możliwości wykorzystania ekstraktów roślinnych do złoż biologicznych w technologii bezchlorowego oczyszczania wody jest ciekawą i proekologiczną alternatywą w przetwórstwie warzywno-owocowym. Ponadto zaletą takiego rozwiązania jest wtórne wykorzystanie wody, co przekłada się na redukcję śladu wodnego, zmniejszenie produkcji ścieków przemysłowych i optymalizację ekonomiczną. Rozwój tej ścieżki wymaga przejścia z modeli *in vitro* do rzeczywistych systemów poprzez identyfikację aktywnych związków i testy w warunkach zbliżonych do naturalnych.

Po tym ciekawym wstępie Doktorant przedstawił swoją hipotezę badawczą oraz cel i zakres badań:

Hipoteza badawcza zakładała, że wykorzystanie materiałów pochodzenia roślinnego w wypełnieniu złoża antybakteryjnego pozwala na skuteczne unieczynnienie lub znaczne ograniczenie liczby bakterii występujących w wodach popłucznych zakładów owocowo-warzywnych, co stanowi skuteczną alternatywę dla dezynfekcji chemicznej w przemyśle spożywczym.

Celem głównym pracy była ocena przydatności materiałów pochodzenia roślinnego, które mogą zostać wykorzystane do wypełnienia złoża antybakteryjnego w bezchlorowym systemie filtracyjnym do odzyskiwania i uzdatniania wód popłucznych przemysłu rolno-spożywczego.

W kolejnej części pracy doktorskiej Doktorant szczegółowo opisuje treść artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej. Twierdząc, że osiągnięciem naukowym niniejszej rozprawy jest opracowanie i opublikowanie w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach cyklu czterech artykułów z listy Journal Citation Reports (JCR), które w sposób komplementarny opisują wyniki uzyskane w kolejnych etapach badań nad problematyką zanieczyszczenia mikrobiologicznego wody w przemyśle rolno-

spożywczym i opracowaniem systemu biologicznego uzdatniania wody. W skład cyklu prac wchodzi:

1. Kanarek Piotr, Breza-Boruta Barbara, Rolbiecki Roman, Microbial composition and formation of biofilms in agricultural irrigation systems- a review, *Ecohydrology & Hydrobiology* (Elsevier), 2024, 24(3), 583-590, <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2023.10.004>, 100 pkt MNiSW1, Impact Factor: 2,2
2. Kanarek Piotr, Breza-Boruta Barbara, Bogiel Tomasz. In the Depths of Wash Water: Isolation of Opportunistic Bacteria from Fresh-Cut Processing Plants, *Pathogens* (MDPI). 2024;13(9):768, <https://doi.org/10.3390/pathogens13090768>, 100 pkt MNiSW1, Impact Factor: 3,3
3. Kanarek Piotr, Breza-Boruta Barbara, Stocki Marcin. Antimicrobial Activity and Phytochemical Profiling of Natural Plant Extracts for Biological Control of Wash Water in the Agri-Food Industry. *Applied Sciences* (MDPI). 2025;15(9):5199. <https://doi.org/10.3390/app15095199>, 100 pkt MNiSW1, Impact Factor: 2,5
4. Kanarek Piotr, Breza-Boruta Barbara, Poćwiardowski Wojciech, Pilot-Scale Evaluation of a Filter Prototype for Bacterial Inactivation in Agro-Food Processing Wastewater, *Water* (MDPI), 2025;17(7):2631. <https://doi.org/10.3390/w17172631>, 100 pkt MNiSW1, Impact Factor: 3,0

Łączna wartość punktacji MEiN/MNiSW1: 400

Łączna wartość Impact Factor: 11

Podsumowując, wszystkie cztery publikacje tworzą spójny tematycznie cykl, ukierunkowany na rozwiązanie zdefiniowanego problemu. Każda z prac odpowiada kolejnym etapom realizacji celu głównego – od diagnozy problemu mikrobiologicznego, przez opracowanie rozwiązań, po ich weryfikację w warunkach zbliżonych do rzeczywistych. Nowatorski charakter rozprawy wyraża się w czterech wzajemnie powiązanych osiągnięciach.

Nie mam uwag krytycznych do części metodycznej pracy. Realizacja celów pracy została bardzo dobrze zaplanowana i przeprowadzona. Na uwagę zasługują badania terenowe gdzie założono eksperymenty i skąd pobierano próbki do badań analitycznych. W badaniach mikrobiologicznych zastosowano nowoczesne metody analizy mikrobiologicznej łącznie z badaniami genetycznymi dotyczącymi oznaczenia przynależności systematycznej wyizolowanych mikroorganizmów. Wszystkie analizy przeprowadzono w kilku powtórzeniach i przedstawiono, jako średnią arytmetyczną z tych powtórzeń. Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym przy użyciu dwuczynnikowej analizy ANOVA. Wyniki przedstawiono na wykresach, tabelach i rysunkach z zaznaczonym odchyleniem standardowym. Zależności pokazują różnice między analizowanymi parametrami mikrobiologicznymi, biochemicznymi, enzymatycznymi, fitotoksycznością i parametrami fizykochemicznymi i chemicznymi.

Oceniając nadesłaną mi pracę, jako rozprawę doktorską pragnę zaznaczyć, że zebrane wyniki dotyczą ogromnego zakresu badań wykonanych w warunkach

polowych i laboratoryjnych. Powyższe badania stanowią cenne osiągnięcie naukowe z zakresu ekologii i ekotoksykologii mikroorganizmów patogennych i fitotoksyczności, wyjaśniające wiele problemów związanych z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych w zahamowaniu rozwoju mikroorganizmów w wodach popłuczynowych. Zastosowane metody badawcze oparte są na powszechnie stosowanych nowoczesnych metodach mikrobiologicznych i genetycznych, są właściwie dobrane oraz zastosowane, pozwalające na udowodnienie postawionej hipotezy i celu. Praca wykonana jest poprawnie pod względem metodycznym. Powyższe badania Doktorant przeprowadziła wyjątkowo starannie, w licznych powtórzeniach, co zaowocowało wieloma bardzo interesującymi wynikami, które wzbogacą naszą wiedzę o ekologii i ekotoksykologii ekstraktów roślinnych oraz właściwościach fizjologicznych i genetycznych badanych bakterii i grzybów patogennych występujących w przetwórniciach owoców i warzyw.

Oceniana praca doktorska zawiera bardzo dobrze opracowaną część wstępną-przeglądową, w której autor opisuje dotychczasowy dorobek naukowy w tej dziedzinie, dając wyraz swej doskonałej orientacji w najnowszych osiągnięciach badawczych nad rolą i znaczeniem drobnoustrojów w kształtowaniu zdrowotności przetworów owocowo-warzywnych i oczyszczaniu wód popłuczynowych przy wykorzystaniu ekstraktów roślinnych.

Głównym celem wykonanej pracy doktorskiej były badania mikrobiologiczne, genetyczne, fitotoksyczne i ekologiczne zmierzające do oceny skutków oddziaływania ekstraktów pochodzących z wybranych roślin na parametry świadczące o jakości wód popłuczynowych. Zamierzony cel osiągnięto poprzez szczegółową i bardzo dokładną analizę warunków występowania i aktywności bakterii i grzybów w wybranych środowiskach wód popłuczynowych.

Przeprowadzone badania są bardzo ważne pod względem naukowym i nie budzą zastrzeżeń natury merytorycznej. Jako oryginalne i bardzo ciekawe wnoszą one nowe elementy poznawcze do ekologii bakterii i grzybów oraz fitotoksyczności ekstraktów roślinnych i ich występowanie w warunkach technologicznych w przemyśle przetwórczym.

W oparciu o uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań autor wyciągnął wnioski, które sprecyzowane są bardzo rzeczowo i konkretnie. Do najważniejszych wniosków Doktoranta które znajdują się w czterech opublikowanych artykułach należy zaliczyć te, w których wykazał, że:

1. W badanych próbkach wody popłucznej z zakładów owocowo-warzywnych wykazano występowanie zarówno bakterii saprotroficznych, jak i patogenów oportunistycznych.
2. Spośród zidentyfikowanych szczepów, do dalszych badań wytypowano następujące patogeny: *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* i *E. faecalis*. Przeprowadzona analiza wybranych profili fenotypowej antybiotykooporności wykazała

wrażliwość testowanych bakterii na użyte antybiotyki, jedynie szczep *K. oxytoca* był oporny na cefepim.

3. Ekstrakty z fusów herbaty (*C. sinensis*), pędów malin (*R. idaeus*), kory dębu (*Q. robur*), kory brzozy (*B. pendula*), kwiatów lipy (*T. cordata*) oraz kory wierzby (*S. alba*) wykazywały właściwości inhibujące wzrost testowanych patogenów oportunistycznych izolowanych z wód popłucznych.

4. Zastosowanie kombinacji ekstraktów roślinnych (*B. pendula* + *S. alba*, *T. cordata* + *R. idaeus*, *T. cordata* + *B. pendula*, *Q. robur* + *R. idaeus*) sprzyjało nasileniu efektu hamowania wzrostu drobnoustrojów, co wskazuje na możliwość efektu skojarzeniowego pomiędzy związkami bioaktywnymi.

5. Zastosowanie różnych konfiguracji warstw filtracyjnych (żywica jonowymienna, węgiel aktywny, hydrożel) pozwoliło na identyfikację układów charakteryzujących się najwyższą skutecznością antibakterijną, co umożliwiło optymalizację procesu filtracji i wskazanie najbardziej obiecujących wariantów do dalszych badań.

6. Dodanie do tradycyjnych komponentów filtracyjnych, takich jak: węgiel aktywny i żywica jonowymienna warstwy hydrożelu nasyconego naturalnymi ekstraktami roślinnymi przyczyniło się do zwiększenia skuteczności redukcji obciążenia bakteryjnego w wodzie popłucznej.

7. Badania pilotażowe potwierdziły możliwość praktycznego wdrożenia rozwiązania filtracyjnego w przemyśle owocowo-warzywnym jako alternatywy dla metod dezynfekcji opartych na związkach chloru.

Z obowiązku recenzenta powyższej rozprawy doktorskiej, zgłaszam następujące uwagi i proszę o wyjaśnienie:

- Co to jest cykl hydrologiczny wody w przyrodzie. Zasoby wodne Polski?
- Proszę omówić zasadę działania aparatu MALDI-TOF?
- Na czym polega amplifikacja i sekwencjonowanie genu 16S rRNA?
- Czy wśród wyizolowanych grzybów mogły występować grzyby toksy-notwórcze produkujące mykotoksyny?

Moje uwagi - nie mają charakteru krytycznego i oczywiście nie wpływają w najmniejszym stopniu na wartość naukową pracy, a są jedynie pytaniami i uwagami w dyskusji.

Praca napisana jest zwięźle i treściwie, stąd przedstawioną rozprawę p. mgr inż. Piotra Kanarka oceniam bardzo wysoko. Uzyskane w Jego pracy wyniki wzbogacają naszą wiedzę z zakresu mikrobiologii i ekologii drobnoustrojów wodnych poddanych oddziaływaniu ekstraktów roślinnych. Gromadzenie tego rodzaju faktów jest szczególnie cenne w obecnym czasie, kiedy środowisko naturalne poddawane jest różnej presji i widać negatywną ingerencję człowieka. Zanieczyszczenia i skażenia różnymi związkami chemicznymi, preparatami i odpadami przez przemysł i rolnictwo czynią, że coraz trudniej będzie uzyskać informacje o układach i zależnościach biologicznych panujących w środowisku

naturalnym, co jest konieczne dla określenia w nich stopnia wywoływanych zmian. Należy podkreślić, że praca wykonana jest poprawnie pod względem formalnym, stylistycznym i językowym oraz nie budzi zastrzeżeń natury naukowej. Na uwagę zasługuje poprawny styl i język polski. Na specjalną pochwałę zasługuje sama redakcja pracy, którą wykonano bardzo estetycznie i wyjątkowo starannie, co dodatkowo świadczy o wszechstronnych uzdolnieniach Doktoranta.

Wniosek końcowy

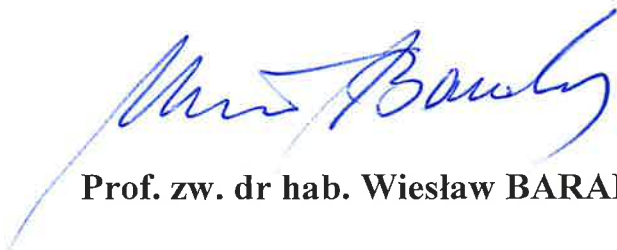
Biorąc pod uwagę powyższe dane dotyczące oceny formalnej, metodycznej i merytorycznej pracy doktorskiej pana mgr inż. Piotra Kanarka pt.:

„ Opracowanie innowacyjnej technologii bezchlorowego uzdatniania wód popłucznych przemysłu rolno-spożywczego z wykorzystaniem składników bioaktywnych pochodzenia roślinnego”

stwierdzam, że powyższa rozprawa stanowi niewątpliwie oryginalne i cenne osiągnięcie naukowe doktoranta w zakresie mikrobiologii środowiskowej. Wykazał w prezentowanej pracy umiejętność organizacji i samodzielnej realizacji badań. Duża znajomość literatury przedmiotu, opanowanie techniki badawczej z zakresu mikrobiologii i analityki molekularnej - wskazują na bardzo dobre przygotowanie doktoranta do pracy naukowej.

W świetle powyższych danych uważam, że rozprawa doktorska pod w/w tytułem wykonana przez p. mgr inż. Piotra Kanarka pod kierunkiem **dr hab. inż. Barbary Brezy-Boruty, prof. PBŚ** w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej o dopuszczenie p. mgr inż. Piotra Kanarka do dalszych etapów postępowania przewodu doktorskiego.

Z uwagi na znaczenie naukowe tematu, duży wkład pracy własnej w badaniach oraz sposób przedstawienia wyników, ich opracowanie i omówienie oraz opublikowanie w postaci czterech artykułów w czasopismach zagranicznych posiadających w sumie 400 pkt. MNiSzW i IF=11,0 stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Politechniki Bydgoskiej o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej p. mgr inż. Piotra Kanarka – stosowną nagrodą.



Prof. zw. dr hab. Wiesław BARABASZ