

Prof. dr hab. inż. Katarzyna Zabielska-Adamska  
Katedra Geotechniki, Dróg i Geodezji  
Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku  
Politechnika Białostocka

Białystok, dnia 2 lutego 2024 r.

## RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Katarzyny Misiólek

nt. „Proces biocementacji gruntów z wykorzystaniem bakterii ureolitycznych”

### 1. PODSTAWA OPRACOWANIA RECENZJI

Recenzja została opracowana na podstawie:

- pisma Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Warszawskiej prof. dr. hab. inż. Tomasza Wiśniewskiego (pismo nr RND.IŚGiE.173.2023 z dnia 28 listopada 2023 r.), realizującego uchwałę Rady Naukowej Dyscypliny nr 110/11/2023;
- egzemplarza rozprawy doktorskiej.

Praca doktorska została wykonana w Politechnice Warszawskiej pod kierunkiem dr. hab. inż. Pawła Popielskiego, zatrudnionego na stanowisku profesora PW, oraz promotor pomocniczej dr Katarzyny Affek.

### 2. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA PRACY

W środowisku naturalnym mikroorganizmy, takie jak grzyby, bakterie i glony pełnią funkcje mineralizacyjne. Najpowszechniejsza jest jednak biomineralizacja przy użyciu bakterii wytwarzających ureazę. Bakterie te występują lokalnie w środowisku naturalnym i odgrywają dominującą rolę w cyklu naturalnym azotu. Minerale produkowane biologicznie wzmacniają podłoże gruntowe głównie poprzez wiązanie ziaren gruntu i zwiększanie jego gęstości, budując lokalną strukturę szkieletową lub jedynie osadzając się na powierzchni ziaren. Głównym produktem większości mechanizmów mineralizacji są węglany. Recenzowana

praca ściśle wpisuje się w powyższą problematykę. Jest ona aktualna i bardzo pożądana ze względu na możliwości aplikacyjne wzmocnienia słabo nośnych podłoży gruntowych.

Tytuł pracy „Proces biocementacji gruntów z wykorzystaniem bakterii ureolitycznych” jest zwięzły i trafnie dobrany. Treść pracy przybliżają teza i cel pracy, zapisane w rozdziale 2. Problematyka pracy doktorskiej ma charakter interdyscyplinarny i obejmuje zarówno nauki inżyniersko-techniczne, jak i przyrodnicze. Z pewnością można stwierdzić, że część badawcza inżyniersko-techniczna zawiera się w obszarze dyscypliny inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka (dawniej inżynieria środowiska) i specjalności geotechnika. Praca doktorska dotyczy określenia użyteczności bakterii ureolitycznych wyizolowanych przez Autorkę ze środowiska naturalnego do stabilizacji gruntu niespoistego.

Rozprawa składa się z części podstawowej i trzech załączników. Zasadnicza część pracy składa się z Wprowadzenia, 6. rozdziałów i Bibliografii. Została zawarta na 118 stronach formatu B5 (pomniejszonego z A4). Zawiera 16 tabel oraz 78 rysunków. W spisie literatury Autorka przytacza 77 pozycji literatury (w tym, m. in., 58 artykułów naukowych i rozdziałów w monografiach, 10 monografii, podręczników i skryptów oraz 3 normy, 2 pozycje materiałów informacyjnych i 4 strony internetowe – w większości bez podania daty dostępu) dotyczącej głównie wyjaśnienia procesu biocementacji, identyfikacji szczepów bakterii wytwarzających ureazę, jak i wzmocnienia podłoża i materiałów konstrukcyjnych za pomocą biocementacji. Wykorzystane źródła literaturowe zostały napisane w zdecydowanej większości w języku angielskim (ponad 83%). W spisie literatury zamieszczono jedną pozycję współautorską Autorki pracy. Wszystkie pozycje literatury zamieszczone w spisie zostały przywołane w treści pracy. W załącznikach zamieszczono wyniki pomiarów, zapisanych w trzech wyodrębnionych zbiorach: analiz uziarnienia, wytrzymałości na ścinanie oraz wyników badań składu fazowego XRD. Załączniki stanowią 72 strony. Pracę uzupełniają streszczenia w języku polskim i angielskim, co w sumie zajmuje 3 strony.

We Wprowadzeniu Autorka uzasadnia motywację podjęcie tematu wzmocnienia podłoża gruntowego za pomocą biocementacji i skrótowo tłumaczy proces mikrobiologicznego uzyskiwania węgla wapnia. Wyjaśnia interdyscyplinarność i innowacyjność podjętych badań; podkreśla zastosowanie lokalnych szczepów bakterii do wzmocnienia podłoża gruntowego.

Rozdział 1. poświęcono przeglądowi literatury, który zawarto na 12. stronach, gdzie 3 strony zajmują rysunki, które powinny znaleźć się raczej w opisie badań własnych lub metodyki badań, a jedną stronę poświęcono reakcjom chemicznym, które można przenieść do Wprowadzenia. Tak zwięzły przegląd literatury wyjaśnia wykorzystanie w pracy 77 pozycji

literaturowych, pomimo interdyscyplinarności pracy i szerokiej literatury tematu (w przeglądzie literatury wykonano 43 cytowania).

Teza pracy określona w rozdziale 2. brzmi: Właściwości ureolityczne lokalnie występujących (woj. mazowieckie) szczepów bakterii pozwalają na ich zastosowanie do biocementacji gruntów w regionalnych polskich warunkach”. We wnioskach tezę zapisano jako „... w polskich warunkach”, a streszczeniu angielskojęzycznym – „... in Polish climate conditions”, co jest chyba najzgrabniejszym sformułowaniem, chociaż odbiega od treści pracy. Z treści pracy wynika, że odniesienie do „warunków” dotyczy zróżnicowania pochodzenia i uziarnienia gruntów niespoistych, wykorzystanych do wzmacniania za pomocą biocementacji.

Głównym celem było określenie przydatności bakterii ureolitycznych wyizolowanych ze środowiska naturalnego do efektywnej stabilizacji gruntu.

Zakres pracy podzielono na dwie grupy tematyczne. Badania w ramach części mikrobiologicznej obejmują: izolację szczepów bakterii ze środowiska naturalnego, wybór szczepów wykazujących aktywność ureolityczną, identyfikację wydzielonych szczepów bakterii oraz oznaczenie aktywności ureazy. Badania geotechniczne zawierają oznaczenie parametrów badanych gruntów w stanie naturalnym oraz po modyfikacji (parametrów fizycznych i wytrzymałościowych w aparacie skrzynkowym), analizę parametrów wytrzymałościowych oraz analizy składu fazowego i mikroskopową.

W kolejnym, 3. Rozdziale opisano metodykę badawczą. Rozdział podzielono na dwie części dotyczące: laboratoryjnych badań mikrobiologicznych oraz badań geotechnicznych przed i po biocementacji gruntów. Opisano sposób izolacji szczepów bakterii z próbek gruntu pobranego z 18. lokalizacji terenów zurbanizowanych Warszawy i okolic, ich identyfikacji i określenia aktywności ureolitycznej w porównaniu do szczepu komercyjnego. Badania geotechniczne wykonano na dwóch rodzajach gruntu: polodowcowym piasku drobnym o ziarnach ostrokrawędzistych oraz aluwialnym piasku średnim o ziarnach zaokrąglonych. Wyznaczono parametry fizyczne gruntów naturalnych i ich wytrzymałość na ścinanie w aparacie skrzynkowym, także po biocementacji. Do badań w aparacie bezpośredniego ścinania wykorzystano skrzynki wykonane w technologii druku 3D, umożliwiające aplikację bakterii i „pielęgnację” próbek. Opracowano sposób aplikacji podłoża do gruntu umieszczonego w tych skrzynkach, które posłużą również do badań wytrzymałościowych. Autorka ma świadomość ważności nienaruszenia struktury biocementowanej próbki poddanej ścinaniu. Skonstruowanie skrzynek i aplikację podłoża należy uznać za oryginalne osiągnięcie Doktorantki. Pozwoli to na uniknięcie wpływu naruszenia struktury na zmianę

spójności gruntu. W zakresie badań geotechnicznych opisano również badania składu fazowego i obserwacje mikroskopowe.

W rozdziale 4. przedstawiono badania własne z obu zakresów pracy. Z 18. próbek gruntu z okolic Warszawy do dalszych badań wytypowano 4 wyizolowane szczepy bakterii: A, B, C i D. Przeprowadzono identyfikacje szczepów i oznaczono ich aktywność ureolityczną. Pokazano wyniki badań fizycznych próbek w stanie naturalnym oraz wyniki wytrzymałości na ścinanie przed i po biocementacji. Wyniki badań ścinania w aparacie skrzynkowym Autorka interpretuje szczegółowo w podziale na parametry ścinania: kąt tarcia wewnętrznego gruntu i spójność, analizując wyniki po 10, 20 i 40 dniach oddziaływania szczepów w porównaniu do szczepu komercyjnego lub podłoża/wody. Wydaje się, że ocena oddziaływania szczepów bakterii jest bardziej wskazana na podstawie wartości wytrzymałości na ścianie przy określonej wartości naprężenia lub wytrzymałości na ściskanie. Parametry mechaniczne określone w aparacie skrzynkowym wynikają z interpretacji stanu granicznego, a kąt tarcia wewnętrznego jest parametrem materiałowym tylko dla warunku Coulomba-Mohra. Sposób interpretacji jest jednak wyborem Autorki i jest poprawny. Autorka nie uzyskała spektakularnego przyrostu parametrów wytrzymałościowych, ale badania przeprowadzono na nasączonych próbkach. Na podstawie literatury wiadomo, że przy niskim nasyceniu roztworem wysokie napięcie powierzchniowe między ziarnami sprzyja wytrącaniu efektywnych minerałów na stykach między ziarnami. W miarę wypełniania przestrzeni porów roztworem kryształy mogą wytrącać się ze stref kontaktu ziaren, co skutkuje niższą efektywnością wiązania ziaren (Cheng i in. 2013)<sup>1</sup>. W rozdziale 4. pokazano również wyniki badań składu fazowego i badań mikroskopowych. We wszystkich badaniach stwierdzono obecność kalcytu. W badaniach SEM stwierdzono obecność zarówno tzw. ziaren kalcytowych efektywnych, budujących mostki kalcytowe, jak i ziarna nieefektywne<sup>2</sup>.

Dodatkowe uwagi do rozdziału 4. opisano w Uwagach Krytycznych i Dyskusyjnych.

W rozdziale 5. zamieszczono dyskusję uzyskanych wyników badań i porównanie ich z wynikami dostępnymi w najnowszej literaturze. W części geotechnicznej policzono nośność podłoża gruntowego zbudowanego z gruntów przed i po biocementacji, zgodnie z PN-81/B-03020, a także przeprowadzono sugerowaną wcześniej analizę wytrzymałości na ścinanie przy określonym naprężeniu normalnym.

---

<sup>1</sup> Cheng L., Cord-Ruwisch R., Shahin M.A. (2013). Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Canadian Geotechnical Journal*, 50(1), 81-90.

<sup>2</sup> Cui M.J., Zheng J.J., Zhang R.J., Lai H.J. (2017). Influence of cementation level on the strength behaviour of bio-cemented sand. *Acta Geotechnica*, 12 (5), 971-986.

Pracę kończy rozdział 6. *Podsumowanie i wnioski*. Sformułowano 11 zwartych wniosków odzwierciedlających osiągnięcia przedstawione w pracy. Wszystkie znajdują potwierdzenie w pokazanych wynikach badań. Z pewnością można stwierdzić, że teza została udowodniona a cel spełniony.

### 3. OCENA PRACY

Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Misiołek ma charakter doświadczalny. Autorka wykazała się umiejętnością sprecyzowania tematu i posługiwania się metodą naukową przy jego realizacji. Recenzowana rozprawa doktorska zawiera szereg oryginalnych wyników badań i analiz. Teza pracy została określona. Doktorantka wykazała się znajomością literatury, chociaż można tu zarzucić nadmierną zwięzłość przeglądu literatury. Badania laboratoryjne podjęte przez Autorkę wymagały interdyscyplinarnej wiedzy. Moim zdaniem największą wartością pracy jest właśnie interdyscyplinarność badań i zastosowanie samodzielnie wyizolowanych bakterii do wzmocnienia gruntów. Cel pracy został osiągnięty, a teza udowodniona.

Do szczegółowych osiągnięć Autorki należy zaliczyć:

1. Wyizolowanie szczepów bakterii charakteryzujących się wysoką aktywnością ureazy z podłoża zurbanizowanych terenów Warszawy i okolic i porównanie ich działania ze szczepem komercyjnym.
2. Opracowanie sposobu aplikacji podłoża do gruntu umieszczonego w zaprojektowanych i wykonanych metodą druku 3D skrzynkach, co umożliwi badania wytrzymałościowe w aparacie skrzynkowym bez naruszenia struktury gruntu.
3. Określenie, w jaki sposób biocementacja wpływa na parametry wytrzymałościowe gruntu, a w szczególności na wzrost spójności gruntu.
4. Wykazanie, że krągłość (ostrokrawędzistość) ziaren ma wpływ na biocementację gruntu niespoistego. Większe wytrzymałości na ścinanie uzyskano w przypadku ziaren ostrokrawędzistych niż zaokrąglonych.
5. Wykazanie, że zwiększenie przedziału czasowego aplikacji szczepów bakterii może wpłynąć negatywnie na wzrost wytrzymałość gruntu na ścinanie.

#### 4. UWAGI KRYTYCZNE I DYSKUSYJNE

##### Uwagi krytyczne:

1. Ważnym elementem rozprawy doktorskiej, jak również każdej pracy naukowej, jest krytyczny przegląd literatury i powiązanie postawionego problemu z innymi pracami w rozpatrywanym obszarze badań. Analiza źródeł literaturowych zasługuje w części na słowa krytyki. Autorka nie wykorzystała okazji do wnikliwej analizy literatury przy tak bogatej literaturze przedmiotu. W przykładowej przeglądowej pozycji literaturowej<sup>3</sup>, wykorzystano 167 pozycji literatury związanej tematycznie z recenzowaną pracą, a Autorka w swoim przeglądzie 4-krotnie mniej.
2. W tabeli 8 (str. 59) Autorka zaprezentowała wyniki  $I_D$  piasku drobnego i średniego poddanego różnym przedziałom czasowym biocementacji. Autorka wnioskuje, że biocementacja ma wpływ na stopień zagęszczenia. Nie mogę się tu zgodzić z Autorką. W procesie biocementacji nie zmienia się stan gruntu, a jego struktura, co można ocenić jakościowo za pomocą zdjęć SEM, a ilościowo np. za pomocą tomografii komputerowej. Gęstość objętościowa szkieletu gruntowego jako stosunek masy szkieletu do objętości próbki, może być oceniona bezpośrednio z badań po wysuszeniu próbki, natomiast brak jest wyników badań  $\rho_{d\ max}$  i  $\rho_{d\ min}$ , czy  $\rho_s$ , które ulegają zmianie podczas biocementacji, na co ma wpływ zmiana uziarnienia i składu mineralnego.

##### Uwagi natury formalnej:

Praca została napisana poprawnym językiem i starannie zredagowana. Wszystkie pozycje literaturowe zostały zacytowane w pracy. W treści pracy przywołano rysunki i tabele zamieszczone w rozprawie. Niemniej jednak, mam kilka uwag natury edycyjnej:

1. Do wszystkich nazw ilustracji (wykresów, diagramów, rysunków, fotografii, schematów) należy używać jednakowego określenia rysunek. Autorka wyodrębnia fotografie i rysunki.
2. Numeracja rozdziałów powinna być co najwyżej trójpoziomowa (w rozdziale 4. Autorka stosuje 4 poziomy numeracji). Bibliografii nie numeruje się jako rozdziału.
3. Teza pracy ma trzy różne brzmienia, co wskazano w pkt 2. Ogólna Charakterystyka Pracy.

<sup>3</sup> Naveed M., Duan J., Uddin S., Suleman M., Hui Y., Li H. (2020). Application of microbially induced calcium carbonate precipitation with urea hydrolysis to improve the mechanical properties of soil. *Ecological Engineering*, 153, 105885, 1-14.

4. Badania wytrzymałości na ścinanie przeprowadzono przy 5 wartościach naprężenia normalnego. Na stronie 43 (pkt 3.2.4) podano jedynie cztery wartości  $\sigma$ , co powtórzono na stronie 46 (pkt 3.2.5).
5. Na stronach 55 (pkt 4.2.2) i 58 (pkt 4.2.3) zamieszczone te same wyniki badań piasków. Inne wyniki badań powtórzono też na stronach 60 (pkt 4.2.5) i 61 (pkt 4.2.6).
6. W tabeli 6 oraz tekście pracy stopień zagęszczenia powinien być oznaczony symbolem  $I_D$ , a nie  $I_d$ .
7. W tabelach 9-12 nie wyjaśniono tytułów kolumn „Namn”, „Sp”. Można jedynie domyślać się, że dotyczą one szczepu komercyjnego oraz próby kontrolnej z zastosowaniem podłoża namnażającego. Tabele 7-9 mają nieprawidłowy opis kolumn.
8. Wykresy wyników badań wytrzymałości na ścinanie powinny mieć tę samą skalę w celu ułatwienia porównania wyników badań.
9. Autorka stosuje w pracy harwardzki system cytowania, zwany również nazwisko-data (nazwisko-rok). System ten zobowiązuje do stosowania pewnych zasad zarówno cytując pozycje w tekście pracy, jak i w spisie literatury. W przypadku cytowania pozycji autorstwa więcej niż dwóch (częściej) lub trzech autorów używa się skrótu „i in.” lub „et al.”. Autorka używa ich wymiennie. W spisie literatury podaje się jedynie inicjały imion, a nie ich pełne brzmienie, a pozycje w spisie literatury nie są numerowane.
10. Adresy stron internetowych należy podawać z datą dostępu, co nie wszędzie wykonano. Strony internetowe i normy powinny być raczej wyodrębnione na końcu spisu. W treści pracy nie podaje się tytułów norm jeżeli są wyszczególnione w spisie.
11. Pozycja literatury (Pisarczyk 2020) nie została zanumerowana w Bibliografii.
12. Część pozycji nie ma pełnego zapisu bibliograficznego, przykładowo pozycje: 6, 29, 35, 36, 41 i 44.
13. Pozycje w Bibliografii nie zawsze umieszczono alfabetycznie.

**Uwagi dyskusyjne to:**

1. Proszę o wyjaśnienie dlaczego w pracy wykorzystywano jedynie polskie normy, pomijając normy PN-EN ISO. Nie jest to niedozwolone, ale wymaga komentarza.

2. Na stronie 55 podano wartości gęstości objętościowej obu badanych piasków. Niestety nie podano warunków przygotowania próbek (zagęszczenia) ani metody oznaczenia. Proszę o wyjaśnienie.
3. Na stronie 58 zamieszczono tabelę 6, w której podano wyniki oznaczenia:  $\rho_{d \max}$  i  $\rho_{d \min}$ ,  $e_{\max}$  i  $e_{\min}$  oraz  $I_D$  uzyskane dla piasku drobnego i średniego. Podane wartości w przypadku określonego rodzaju gruntu są identyczne dla dwóch serii badań. Czy świadczy to o tak dobrej dokładności badań, czy o pomyłce pisarskiej? Wartości  $\rho_{d \max}$  i  $\rho_{d \min}$  oraz  $e_{\max}$  i  $e_{\min}$  są bardzo do siebie zbliżone w przypadku obu gruntów, szczególnie piasku średniego, co jest bardzo zastanawiające nawet dla piasków równoziarnistych. Takie zakresy nie są spotykane w praktyce. Czy piasek nie ulegał zagęszczeniu metodą wibracyjną? Wartości wskaźnika porowatości zwyczajowo podaje się do trzech miejsc po przecinku.
4. Na stronie 62 (pkt 4.2.7.1) Autorka stwierdza na podstawie uzyskanych wyników badań, że kąt tarcia wewnętrznego piasku drobnego zmalał o  $10^\circ$  po 10 dniach poddania działaniu szczepów A i C. Z rysunku 8 wynika, że dotyczy to jednak szczepów A i D. Dodatkowo, wynika to z interpretacji stanu granicznego, ale nie jest możliwe fizyczne. Analizując rysunki 8-12, generalnie uzyskuje się mniejsze wartości  $\phi$  przy działaniu szczepu D. Wartość parametru jest wynikiem oddziaływania między ziarnami gruntu (tarcia), zatem należy się zastanowić czy ziarna piasku drobnego nie doznają poślizgu po wprowadzeniu szczepu D. Szczep ten charakteryzuje się najmniejszą aktywnością ureolityczną, co może skutkować najmniejszą biocementacją, ale nie powinien pogarszać parametrów w stosunku do gruntu naturalnego. Stwierdzenie we wniosku, że kąt tarcia wewnętrznego ulega zmniejszeniu dzięki wygładzeniu ziaren jest dyskusyjne, ponieważ aktywność szczepu D jest najmniejsza.
5. Na jakiej podstawie Autorka zdecydowała się na usunięcie obserwacji odstających, zwanych „błędami grubymi”, szczególnie przy braku oceny dopasowania regresji liniowej? Na rysunkach prezentujących wyniki badań wytrzymałości na ścinanie brak jest podanych współczynników korelacji liniowej  $r$  lub współczynnika determinacji  $R^2$ , również w Załączniku 2. Czy powtarzano badania dla określonych wartości naprężenia? Zastanawiające jest czy wprowadzanie podłoża za pomocą urządzenia dozującego nie upłynniało gruntu, szczególnie, że nie podano metody przygotowania próbek gruntu?



6. Proszę o uzasadnienie zamieszczenia wykresów (rysunki 11-16), które powtarzają wcześniej przekazane informacje. Dodatkowo na wykresach zaniżono wartość naprężenia normalnego.
7. Czy Autorka potrafi postawić hipotezę/wyjaśnić zróżnicowanie wytrzymałości próbek biocementowanych w różnych przedziałach czasowych aplikacji szczepów?

## 5. WNIOSEK

Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego zarówno w zakresie problematyki, jak i metod badawczych. Mgr inż. Katarzyna Misiołek udowodniła, że potrafi samodzielnie prowadzić pracę badawczą i posiada ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie naukowej inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka (dawniej inżynieria środowiska).

Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Misiołek pt. „Proces biocementacji gruntów z wykorzystaniem bakterii ureolitycznych” spełnia wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 nr 65 poz. 595, z późn. zm).

Wnoszę zatem o dopuszczenie mgr inż. Katarzyny Misiołek do publicznej obrony.

*K. Ukińska-Adamca*