

**dr hab. inż. Izabela Sówka, prof. uczelni**

**Politechnika Wroclawska  
Wydział Inżynierii Środowiska  
Katedra Inżynierii Ochrony Środowiska**



Plac Grunwaldzki 13  
50-377 WROCLAW  
tel. (71) 320 25 60  
e-mail: izabela.sowka@pwr.edu.pl

---

## **R E C E N Z J A**

**rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Malec**

**pt.**

***Możliwość zastosowania wieloczupek matryc gazowych do wczesnej detekcji i klasyfikacji porażenia mikrobiologicznego pomieszczeń***

opracowana w oparciu o uchwałę Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Lubelskiej z dnia 15. maja 2023 roku na podstawie pisma Pani prof. dr hab. Małgorzaty Pawłowskiej – przewodniczącej Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Lubelskiej (nr pisma: Ś-87/2023) z dnia 22.05.2023 r.

Praca doktorska mgr Agnieszki Malec dotyczy badań nad możliwością zastosowania matryc gazowych do identyfikacji i klasyfikacji zanieczyszczenia mikrobiologicznego w pomieszczeniach.

Realizację pracy w określonym zakresie można uznać jako o bardzo dużym znaczeniu, zwłaszcza w kontekście wpływu złej lub pogorszonej jakości powietrza wewnętrznego na zdrowie człowieka. Przetestowanie nowych metod i narzędzi umożliwiających sprawną ocenę stopnia narażenia na zanieczyszczenia o charakterze mikrobiologicznym jest bardzo istotne zwłaszcza w kontekście działań mających na celu ochronę zdrowia. Poprzez zastosowanie określonych rozwiązań i technik umożliwiających identyfikację i ocenę stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego możliwym jest bowiem podjęcie działań m.in. ograniczających aktywności/przebywanie osób, w tym z grup szczególnie wrażliwych, w warunkach gdy zbyt wysoki poziom zanieczyszczeń może wywoływać określone, niekorzystne, reakcje organizmu.

Rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Malec została przygotowana w formie i układzie obejmującym opracowanie uwzględniające: spis treści; streszczenie (w języku polskim i angielskim); wstęp (rozdział 1); część teoretyczną pn. Biologiczne zagrożenia budynków (rozdział 2); część doświadczalną obejmującą rozdziały pn. Metodyka (rozdział 3), Wyniki i ich analiza (rozdział 4), Dyskusja wyników (rozdział 5); podsumowanie i wnioski (rozdział 6); bibliografię (rozdział 7) oraz Załączniki (rozdział 8 i 9).

W niemalże 3 stronicowym wstępie (rozdział 1) autorka rozprawy uzasadniła wybór tematyki podjętych badań oraz opisała strukturę rozprawy doktorskiej. Kolejny element rozprawy doktorskiej stanowi jej część teoretyczna (rozdział 2), w której zawarto m.in.: charakterystykę syndromu chorego budynku (rozdział 2.1), informacje nt. porażenia mykologicznego budynków (rozdział 2.2), szkodliwych związków wytwarzanych przez grzyby (rozdział 2.3), źródeł korozji mikrobiologicznej budynku (rozdział 2.4) oraz skali i zakresu problemu zagrzybienia (rozdział 2.5); charakterystykę podstawowych metod odgrzybiania budynków (rozdział 2.6), metod oceny porażenia mykologicznego (rozdział 2.7), a także metod statystycznych wykorzystywanych przy analizach sygnału z matryc (rozdział 2.8) oraz rozdział podsumowujący przegląd literatury (rozdział 2.9). Zwłaszcza ostatnią część pracy w zakresie jej części teoretycznej, pomimo jednostronicowego zapisu, należy uznać za szczególnie istotną gdyż autorka ugruntowała w niej zasadność podjętych badań i analiz, odnosząc się do aktualnego stanu wiedzy (omówionego we wcześniejszych rozdziałach) w tematyce swoich badań, wskazując jednocześnie założony, nowy kierunek jej prac. Kolejna część pracy (rozdział 3) doktorskiej określona przez mgr Agnieszkę Malec jako metodyka obejmuje: wprowadzenie, w którym określone zostały cel badań, ich zakres oraz zdefiniowane zostały główne tezy badawcze, opis położenia wybranych obiektów badawczych (rozdział 3.1) oraz opis metod badawczych (rozdział 3.2), w tym charakterystyka metodyki badań mikrobiologicznych z wykorzystaniem impaktora kaskadowego (rozdział 3.2.1), badań chromatograficznych z wykorzystaniem włókien SPME (rozdziały 3.2.2), badań z wykorzystaniem urządzeń wieloczujnikowych (rozdział 3.2.3) oraz badań chromatograficznych w zakresie prób rzeczywistych i posiewowych (rozdział 3.2.4).

Wyniki przeprowadzonych prac -wraz z ich analizą- obejmujące wyniki: analiz mikrobiologicznych (rozdział 4.1), badań chromatograficznych (rozdział 4.2), pomiarów z wykorzystaniem matrycy wieloczujnikowej dla dwóch serii badań terenowych (rozdział 4.3) wraz z rezultatami analizy posiewów (rozdział 4.4) oraz dyskusją autorka rozprawy przedstawiła kolejno w rozdziałach nr 4 oraz nr 5. Za główne elementy szczegółowe rozdziału nr 4 uznać należy: w przypadku analiz chromatograficznych: zaprezentowanie wyników badań chromatograficznych z badań terenowych (rozdział 4.2.1) oraz z posiewów

(rozdział 4.2.2), w przypadku pomiarów z wykorzystaniem matrycy wieloczujnikowej: wyniki badań uzyskanych z wykorzystaniem niskoselektywnych tlenkowych półprzewodnikowych czujników gazu MOS (z j. ang.: metal oxide semiconductor) - rozdział 4.3.1 - oraz czujników elektrochemicznych EC (z j. ang.: electrochemical) - rozdział 4.3.2 - wraz z wynikami analizy głównych składowych PCA (z j. ang.: principal component analysis) sygnałów z ww. matryc (rozdział 4.3.3), zaprezentowanie wyników obliczeń przy zastosowaniu regresji wielorakiej bez redukcji wymiarowości (rozdział 4.3.4) oraz modeli sztucznej inteligencji (rozdział 4.3.5). Część rozprawy dotycząca analiz posiewów zawiera z kolei wyniki w zakresie analizy odpowiedzi poszczególnych czujników (rozdział 4.4.1) i analizy PCA (rozdział 4.4.2) oraz wyniki analiz i obliczeń przy zastosowaniu regresji liniowej (rozdział 4.4.3) oraz modeli sztucznej inteligencji tzw. maszyny wektorów nośnych SVM (z j.ang.: support vector machine) i perceptrona wielowarstwowego MLP (z j.ang.: multilayer perceptron) (rozdział 4.4.4). Treść rozdziału nr 5 stanowi natomiast m.in. analiza porównawcza wyników otrzymanych podczas badań realizowanych przez mgr Agnieszkę Malec z wynikami uzyskanymi przez inne grupy badawcze.

W ostatniej, opisowej części rozprawy zawarto podsumowanie i wnioski końcowe (rozdział 6). Elementy ‘porządkowe’ tekstu pracy zawierające bibliografię (rozdział 7) oraz załączniki (rozdział 8 i 9) zamykają rozprawę doktorską mgr Agnieszka Malec.

W tak syntetycznie zaprezentowany przeze mnie sposób mgr Agnieszka Malec w rozprawie doktorskiej spójnie i chronologicznie

1) sformułowała główny cel pracy jako (cyt.): ‘ocenę możliwości zastosowania matryc wieloczujnikowych zbudowanych z niskoselektywnych tlenkowych półprzewodnikowych czujników gazu typu MOS (metal oxide semiconductor) oraz czujników elektrochemicznych EC (electrochemical) do szybkiej detekcji zagrożenia porażeniem biologicznym pomieszczeń wywołanym przez grzyby poprzez estymację stężeń wybranych związków chemicznych oraz wskaźnika liczby jednostek tworzących kolonie grzybowe CFU (z j.ang.: colony forming unit) w powietrzu wewnętrznym badanych obiektów’ oraz:

2) zdefiniowała następujące tezy naukowe (cyt.): ‘

zastosowane w badaniach matryce wieloczujnikowe pozwalają na odróżnienie pomieszczeń porażonych od nieporażonych mikrobiologicznie i ocenić stopień obciążenia biologicznego tych pomieszczeń;

zastosowane w badaniach matryce wieloczujnikowe oraz zaawansowane metody statystyczne wykorzystujące sztuczne sieci neuronowe pozwalają na estymowanie stężeń metabolitów grzybowych w badanym powietrzu wewnętrznym.’ i:

3) przedstawiła wyniki szeroko zakrojonych prac w swoim zakresie polegających m.in. na:

- przeglądzie bieżącej wiedzy w tematyce rozprawy doktorskiej;
- wykonaniu badań powietrza w obiektach rzeczywistych charakteryzujących się różnym stopniem porażenia mikrobiologicznego z zastosowaniem urządzeń wieloczujnikowych wyposażonych w matrycę typu MOS oraz typu EC;
- adsorpcji wybranych zanieczyszczeń powietrza przy wykorzystaniu włókien SPME i oznaczeniu ich stężeń metodą chromatografii gazowej GC-MS (z j.ang.: gas chromatography–mass spectrometry) ;
- pobraniu prób powietrza - na terenie obiektów rzeczywistych – przy zastosowaniu impaktora kaskadowego i przeprowadzeniu badań laboratoryjnych polegających na określeniu liczebności kolonii grzybów wyhodowanych na szalkach Petriego;
- działaniach polegających na wykonaniu badań posiewów za pomocą matrycy wieloczujnikowej EC w warunkach laboratoryjnych, identyfikacji wybranych związków chemicznych emitowanych przez kolonie grzybowe metodą chromatografii GC-MS oraz oznaczaniu wartości wskaźnika CFU;
- estymacji stężeń wybranych związków chemicznych oraz wskaźnika CFU w powietrzu wewnętrznym badanych pomieszczeń przy wykorzystaniu regresji liniowej, analizy PCA, SVM oraz sztucznych sieci neuronowych ANN (z j. ang.: artificial neural network) typu MLP;
- analizie porównawczej możliwości zastosowania matryc wieloczujnikowych zbudowanych w technologii czujników MOS oraz EC do oceny zagrożenia porażeniem biologicznym pomieszczeń połączonej z charakterystyką wad i zalet zastosowanych w badaniach przez autorkę rozprawy rozwiązań.

Oceniając zakres i realizację przeprowadzonych prac, które wg mojej oceny zostały zaplanowane i przeprowadzone we właściwy, kompleksowy sposób, jako najważniejsze oraz mające znamiona nowości naukowej wymienić należy te związane z jednoczesnym zastosowaniem wybranych technik pomiarowych i analizy danych zmierzających do optymalizacji metody oceny narażenia mikrobiologicznego w określonych rodzajach pomieszczeń, szczególnie w warunkach polskich. Podkreślić należy iż w celu oceny skuteczności zaproponowanych konfiguracji matryc wieloczujnikowych pod kątem estymacji stężeń mVOC oraz CFU przeprowadzona została seria analiz, w których na podstawie odczytu z matrycy wygenerowano wartości stężeń estymowanych markerów grzybowych i CFU w zestawieniu z wartościami uzyskanymi w warunkach badań laboratoryjnych oraz terenowych dla ww. metod statystycznych obróbki danych. Wykorzystanie w analizach danych wybranych

metod pozwoliło na ocenę dokładności estymacji stężenia substancji emitowanych przez grzyby i zarodniki - w wyniku przeprowadzonych prac większą dokładność stwierdzono stosując metody sztucznej inteligencji w kontekście próbek pobranych przy zastosowaniu matrycy EC oraz stosując analizę PCA przy zastosowaniu matrycy MOS. Porównanie wyników uzyskanych z pomiarów matrycami wieloczujnikowymi MOS i EC analizowanych sztucznymi sieciami neuronowymi z technikami referencyjnymi chemicznymi i mikrobiologicznymi pozwoliło na stwierdzenie, że dokładniejsze wyniki uzyskano za pomocą matrycy EC. Potwierdziły to uzyskane wartości estymatorów  $\beta_1$  i  $\beta_0$  równań korelacji liniowej porównującej wyniki estymowane matrycami z wynikami uzyskanymi z pomiarów laboratoryjnych.

Podsumowując, przeprowadzone i zaprezentowane w rozprawie doktorskiej badania pozwoliły wykazać, że w celu szybkiej detekcji zagrożenia porażeniem mikrobiologicznym możliwe jest estymowanie markerów grzybowych i wskaźnika CFU w powietrzu wewnętrznym budynków. Nie mniej ze względu na wpływ czynników zewnętrznych wymagane jest prowadzenie dodatkowych badań nad dalszym rozwojem metod szybkiej detekcji porażen biologicznych budynków

Uznaję, że rozprawa doktorska mgr Agnieszki Malec jest przygotowana w przemyślany i właściwy sposób – poniżej zwrócę tylko uwagę na najważniejsze zagadnienia o naturze polemicznej:

1. We wstępie do części teoretycznej pracy oraz rozdziale nr 2.1. autorka wskazuje m.in. na wpływ jakości powietrza wewnętrznego na zdrowie człowieka, w tym w aspekcie związanym bezpośrednio lub pośrednio z tzw. syndromem chorego budynku SBS (z j. ang. sick building syndrome) (cyt.):
  - ‘ (...) Przebywanie w pomieszczeniu zagrzybionym może powodować poważne konsekwencje zdrowotne takie jak astma, grzybice a nawet rak płuc. (...)’;
  - ‘ (...) Na oficjalnej liście WHO oprócz wspomnianych bólów głowy występować mogą jeszcze poczucie nienaturalnego zmęczenia, suchy kaszel, rozdrażnienie, zaburzenia koncentracji, łuszczenie skóry, przesuszenie skóry, a nawet dolegliwości alergiczne i zapalenia śluzówek (Redlich i in. 1997). (...)’;
  - ‘ (...) Jednocześnie należy podkreślić, że istnieją poważne schorzenia, które nie mieszczą się w pojęciu syndromu SBS. Należą do nich astma oskrzelowa czy choroby typu nowotworowego, które nazywa się zespołem chorób związanych z budynkiem, a nie określa jako syndrom SBS. Oznacza to bowiem, iż rozwijają się one nie z powodu niewłaściwego mikroklimatu pomieszczeń, lecz stanowi on jedynie czynnik o charakterze drugorzędym. Niemniej, wpływa to w długoterminowym procesie na rozwój choroby (Sumedha 2008). (...)’;

- ‘ (...) Liczne gatunki grzybów działają na ludzi alergizująco, toksycznie bądź zakaźnie (Burge i in. 1990). Ekspozycja na te mikroorganizmy może prowadzić do wystąpienia wielu niekorzystnych i poważnych skutków zdrowotnych, np. alergii, grzybic czy reakcji toksycznych (Peccia i in. 2016). (...)’

Proszę podczas obrony o przytoczenie przykładów wyników aktualnych badań – jeśli takie są dostępne - w tym zakresie np. z uwzględnieniem zależności pomiędzy określonymi warunkami charakterystycznymi dla SBS a prawdopodobieństwem występowania określonych schorzeń u człowieka.

2. W rozdziale nr 2 autorka rozprawy koncentruje się m.in. na czynnikach wewnątrz pomieszczeń wpływających na rozwój grzybów i ukierunkowała swoje rozważania w tym zakresie na omówienie aspektów związanych głównie z wybranymi ‘wskaźnikami’ jakości powietrza wewnętrznego. Proszę o odpowiedź na pytanie, czy i jakie - wg opinii autorki rozprawy - czynniki wpływające na pogarszającą się sezonowo jakość powietrza zewnętrznego mogą mieć znaczenie ( w tym np. jakie procesy) i wpływać negatywnie na jakość powietrza wewnętrznego w omawianym w pracy aspekcie.
3. W rozdziale nr 2.7. autorka pracy dokonała dość dokładnego przeglądu metod oceny porażenia mykologicznego, a w rozdziale nr 2.8 metod statystycznych wykorzystywanych przy analizach sygnału z matryc czujnikowych. Ww. informacje są uporządkowane nie mniej wg mojej oceny brakuje tabeli zbiorczej, podsumowującej w spójny sposób i prezentującej zestawienie wszystkich ww. metod np. pod kątem ich zastosowania w określonym obszarze badawczym.
4. W rozdziale nr 3.1 autorka pracy zestawiała informacje dot. badanych pomieszczeń. Proszę o bardziej szczegółową informację dot. kryteriów ich wyboru.
5. Proszę o przygotowanie informacji zbiorczej dot. aspektów technicznych poboru prób i ich analiz np. dotyczącej założonego czas poboru – rozumiem iż był identyczny dla analiz mikrobiologicznych, jak tych dot. analiz składu chemicznego? Czy były przeprowadzane pomiary kontrolne przepływu powietrza? Czy zastosowane w pomiarach czujniki poddawano kalibracji? Jakimi kryteriami kierowano się przy selekcji konkretnych związków z grupy mVOC? Czy w wybranych przypadkach zastosowane procedury analiz/pomiarów były standardowymi w laboratoriach, w których wykonywane były analizy, czy stanowiły one tzw. własne procedury badawcze?
6. W części dotyczącej wyników badań chromatograficznych autorka pracy stwierdza, że (cyt.): ‘(...) Wszystkie oznaczane substancje należą do grupy mVOC, czyli mogą być metabolitami grzybowymi. (...)’. Proszę o informację uzupełniającą,

czy w takim razie w analizowanych pomieszczeniach mVOC mogły być potencjalnie emitowane z innych ‘źródeł’? Jeśli tak, z jakich?

7. Wg mojej opinii wyniki zaprezentowane w rozdziale nr 4.2. powinny być przedstawione w formie graficznej - nadałoby to pracy bardziej ‘czytelny’ charakter.
8. Na stronie nr 77 autorka rozprawy zauważa (cyt.) iż : ‘ (...) żadne z badanych pomieszczeń nie było całkowicie zamknięte, co pozwalało na wymianę powietrza i z pewnością wpływało na wyniki pomiarów. (...). Proszę wskazać bezpośrednią przyczynę takiego działania.
9. Proszę o opinię autorki rozprawy i wypowiedź podczas obrony dotyczącą możliwości zastosowania (i ograniczeń) wybranych metod np. w warunkach pomieszczeń użyteczności publicznej, w tym np. pomieszczeniach produkcyjnych, handlowych, usługowych, gastronomicznych, a także w budynkach szpitalnych .

Oceniając tekst rozprawy doktorskiej pragnę podkreślić iż źródła literaturowe są dobrane w prawidłowy sposób.

Pragnę zwrócić uwagę na brak wykazu skrótów stosowanych w pracy, spisu rysunków i tabel oraz błędy redakcyjne, w tym związane ze znakami interpunkcyjnymi. Ich ilość wg mojej opinii nie jest jednak tak znaczna aby umniejszać wartości wykonanych badań oraz zaprezentowanych wyników analiz i przeprowadzonej dyskusji.

***Oceniając pracę ‘całościowo’ pragnę podkreślić iż wskazane przeze mnie pewnego rodzaju niejasności, czy niedociągnięcia nie pomniejszają w żaden sposób osiągnięć naukowych w niej przedstawionych.***

## **W n i o s k i**

Mgr Agnieszka Malec w pracy doktorskiej, przygotowanej pod opieką promotora dr hab. inż. Zbigniewa Suchoraba, prof. PL oraz promotora pomocniczego dr inż. Łukasza Guza oryginalnie rozwiązała problem naukowy. Doktorantka podsumowała stan wiedzy w tematyce swojej pracy doktorskiej, co potwierdziło jej określony poziom ogólnej wiedzy teoretycznej w poruszanej tematyce badań i analiz. Pani mgr Agnieszka Malec określiła cel, zakres i tezy naukowe dysertacji doktorskiej. Zrealizowane przez doktorantkę prace oraz analizy pozwoliły m.in. wykazać zasadność i komplementarność jednoczesnego wykorzystania określonych metod pomiarowych, wskaźnika liczby jednostek tworzących kolonie grzybowe CFU oraz wybranych metod obliczeniowych do efektywnej oceny narażenia na zanieczyszczenia o charakterze mikrobiologicznym. Poprzez użycie wyżej wymienionych metod i przeprowadzenie badań w wyselekcjonowanych pomieszczeniach

doktorantka umożliwiła m.in. praktyczne posługiwanie się nimi w określonych warunkach, co przy analizach na szerszą skalę w warunkach polskich ma potencjał aplikacyjny. Uzyskane wyniki prac stanowią podstawę do przeprowadzania dalszych analiz nad identyfikacją markerów grzybowych w pomieszczeniach zamkniętych.

***Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Agnieszki Malec spełnia wymagania nakładane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Politechniki Lubelskiej o dopuszczenie mgr Agnieszki Malec do publicznej obrony przedstawionej pracy doktorskiej.***

Wrocław, 19. sierpnia 2023 r.

