

Dr hab. inż. Edyta Lipińska
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii
i Oceny Żywności
Wydział Nauk o Żywności SGGW w Warszawie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Eweliny Sapińskiej

pt.: „Enzymy wspomagające proces zacierania surowców skrobiowych”

wykonanej w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Promotor: Prof. dr hab. Józef St. Szopa

Promotor pomocniczy: Dr hab. inż. Maria Balcerek

Ocena formalna pracy

W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej jej Autorka - **mgr inż. Ewelina Sapińska** zastosowała układ typowy dla prac naukowych o charakterze empirycznym.

Praca obejmuje 164 numerowane strony maszynopisu, na których zawarto treści uporządkowane w kolejnych rozdziałach. Spis treści, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp oraz Przegląd literatury opracowano na 40 stronach (w tym 2 rysunki i 3 tabele). Cel i zakres badań przedstawiono na 1 stronie. Surowce i materiały omówiono na 10 stronach (w tym 1 tabela oraz 5 rysunków). Metody badań zostały zaprezentowane na 9 stronach. Wyniki badań i ich omówienie przedstawiono na kolejnych 80 stronach, gdzie oprócz tekstu zamieszczono 51 tabel i 6 rysunków ilustrujących wyniki badań. Dyskusja wyników zajęła 10 stron, natomiast Wnioski sformułowano na 1 stronie. Kolejnych 13 stron stanowi wykaz Literatury, który obejmuje 150 pozycji, z czego 53 (36%) obcojęzyczne. Spośród zamieszczonej literatury 80 pozycji (53%) pochodzi z lat 2000-2014.

Przedstawiony układ pracy jest spójny i na ogół przejrzysty, chociaż niezwykle szczegółowy Spis treści (4 strony) nie musiał odzwierciedlać każdej poruszanej przez Autorkę kwestii literaturowej, metodycznej lub badawczej.

Najobszerniejszą część pracy stanowi rozdział Wyniki badań i ich omówienie, w którym szczegółowo zaprezentowano wyniki z kolejnych etapów badań powiązanych ze sobą w logiczną całość.

Jako cel pracy mgr inż. Ewelina Sapińska przyjęła zbadanie wpływu dodatku pomocniczych preparatów enzymatycznych do zacierów zbożowych, przygotowanych metodą bezciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS), na ich skład fizykochemiczny, własności reologiczne, przebieg i wydajność fermentacji oraz zawartość produktów ubocznych w otrzymanych destylatach rolniczych. Cel pracy sformułowano w sposób klarowny, odzwierciedlający zadania badawcze podjęte przez Doktorantkę w części doświadczalnej. Na podkreślenie zasługuje szczegółowe uzasadnienie w Części teoretycznej podjętej tematyki badawczej rozprawy doktorskiej. Zabrakło tylko wyjaśnienia, co stanowiło kryterium wyboru takich a nie innych odmian surowców skrobiowych.

Zakres pracy, chociaż był niezwykle obszerny, został zrealizowany w całości, zgodnie z podanymi przez Autorkę logicznie następującymi po sobie etapami. Realizacja tak szeroko zakrojonego programu badań wymagała od mgr inż. Eweliny Sapińskiej doskonałego przygotowania teoretycznego do eksperymentalnej pracy badawczej zarówno w dziedzinie technologii gorzelnictwa jak i chemii, a zwłaszcza w zakresie instrumentalnych metod analizy chemicznej, umiejętności właściwej organizacji badań oraz krytycznej oceny uzyskanych wyników i ich właściwej interpretacji.

W podsumowaniu strony formalnej pracy stwierdzam, że tytuł pracy „Enzymy wspomagające proces zacierania surowców skrobiowych” w pełni oddaje jej treść.

Ocena szczegółowa pracy

Wykorzystanie w gorzelnicy rolniczej bezciśnieniowej metody uwalniania skrobi (BUS) przynosi wiele korzyści, wśród których wymienić należy: zmniejszenie zapotrzebowania na energię i zużycia wody, a także zredukowanie ilości odprowadzanych ścieków. Z drugiej strony uzyskane zacierzy charakteryzują się nadmierną lepkością, która utrudnia proces hydrolizy skrobi oraz fermentacji zacierów. Przyczyną tego jest występowanie w zbożach, oprócz skrobi, polisacharydów nieskrobiowych, które w warunkach procesu gorzelniczego nie ulegają hydrolizie do cukrów fermentowanych przez drożdże. Problem ten można rozwiązać wykorzystując aktywność hydrolaz polisacharydów nieskrobiowych (ksylanazę, celulazę oraz celobiazę). Zastosowanie tych enzymów pomocniczo w procesie gorzelnicznym powoduje uwalnianie dodatkowej ilości cukrów fermentowanych, co z kolei stwarza możliwość

uzyskania wyższej wydajności spirytusu z jednostki surowca. Te kwestie stały się przedmiotem badań podjętych w rozprawie doktorskiej mgr inż. Eweliny Sapińskiej. W opinii recenzenta podjęta przez Doktorantkę problematyka mieści się we współczesnym nurcie badań ukierunkowanych na poszukiwanie bardziej efektywnych, ekologicznych i ekonomicznych technologii produkcji spirytusu.

W **Części teoretycznej** przedstawiono problematykę gorzelnictwa rolniczego. Szczególną uwagę poświęcono charakterystyce żyta, pszenżyta i kukurydzy, które stanowiły surowce wykorzystane w części eksperymentalnej pracy doktorskiej. W kolejnych rozdziałach Autorka zaprezentowała zalety jak i wady stosowania technologii bezcisnieniowego uwalniania skrobi (BUS). Szczegółowo omówiła enzymy amylolityczne. Szeroko potraktowała zagadnienia związane z wykorzystaniem enzymów wspomagających, takich jak hydrolazy polisacharydów nieskrobiowych, pullulanazy czy enzymy proteolityczne w procesie przygotowywania zacierów gorzelnicznych. W oparciu o literaturę Doktorantka wyjaśniła konieczność stosowania tego typu preparatów. W ostatniej części przeglądu literatury przedstawiono produkty uboczne w destylatach rolniczych dokładnie omawiając genezę ich powstawania.

Zdaniem recenzenta przegląd literatury został opracowany z niezwykłą rzetelnością i starannością. Uważam, że treści zawarte w teoretycznej części pracy świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu mgr inż. Eweliny Sapińskiej do realizacji etapu doświadczalnego, a przegląd literatury jest adekwatny do wykonywanych badań przedstawionych w dalszej części rozprawy.

W rozdziale **Surowce i materiały** Doktorantka zaprezentowała surowce gorzelnicze, preparaty enzymatyczne oraz drożdże wykorzystane w części doświadczalnej. Przedstawiono opisy metod przygotowania zacierów, drożdży, prowadzenia fermentacji, destylacji oraz wzmacniania destylatów rolniczych.

W rozdziale **Metody badań** omówiono metody analityczne umożliwiające realizację tematu pracy uściślonego w celu i zakresie. Analiza surowców obejmowała oznaczenie suchej substancji metodą wagową, zawartości popiołu całkowitego, skrobi metodą Lintnera, cukrów redukujących metodą Schoorla-Regenbogena, białka metodą Kjeldahla, zawartości polisacharydów nieskrobiowych. Dla stosowanych preparatów enzymatycznych przeprowadzono oznaczenie aktywności. Analiza zacierów polegała na badaniu gęstości metodą areometryczną, zawartości cukrów redukujących, dekstryn oraz pomiarze lepkości

z wykorzystaniem wiskozymetru Höpplera. Zacierzy odfermentowane badano z uwzględnieniem oznaczenia odfermentowania pozornego i rzeczywistego, zawartości alkoholu, cukrów redukujących i dekstryn oraz oznaczenia lepkości. Ocenę jakości otrzymanych destylatów rolniczych przeprowadzono w oparciu o analizę chromatograficzną zawartości produktów ubocznych z wykorzystaniem chromatografu gazowego Agilent 6890N. Niedopatrzeniem wydaje się być brak odnośników literaturowych do użytej metody chromatograficznej. Nie sądzę, aby to były opracowania autorskie.

Pewnym niedociągnięciem jest także brak opisu metod statystycznych, które ułatwiają interpretację wyników i które z pewnością Doktorantka stosowała. W tej części powinny być również podane informacje w ilu seriach przeprowadzono badania (te informacje znajdują się tylko pod tabelami z prezentowanymi wynikami pracy).

Zdaniem recenzenta dobór metod badawczych był właściwy do zadań jakie wyznaczyła sobie Doktorantka w części doświadczalnej. Stosowanie tak różnorodnych metod biologicznych, chemicznych i zaawansowanych technik chromatograficznych wymagało od mgr inż. Eweliny Sapińskiej wszechstronnego przygotowania z zakresu technologii gorzelnictwa, biochemii i analizy instrumentalnej, czemu dała wyraz w dalszej części recenzowanej rozprawy.

Rozdział **Wyniki badań i ich omówienie** zawiera bardzo obszerną dokumentację rezultatów kolejno przeprowadzonych eksperymentów. Pierwsza część pracy posłużyła Autorce do charakterystyki składu chemicznego surowców: żyta odmiany Dańkowskie Złote, kukurydzy odmiany Oldham oraz pszenżyta odmiany Granado. W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, że badane surowce charakteryzują się wysoką zawartością skrobi oraz dobrą jakością, która gwarantuje osiągnięcie wysokiej wydajności alkoholu etylowego. W następnym etapie mgr inż. Ewelina Sapińska dokładnie przeanalizowała skład fizykochemiczny zacierów sporządzonych metodą bezciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS) z udziałem enzymów amylolitycznych oraz preparatów wspomagających: ksylanazy, pullulanazy, celulazy, celobiazы oraz proteazy, które dodawano zależnie od przyjętego wariantu. Wiodącym założeniem było osiągnięcie możliwie najwyższych ekstraktów początkowych zacierów i obniżenie ich lepkości. Doktorantka wykazała, że wykorzystanie hydrolaz polisacharydów nieskrobiowych umożliwia przygotowanie zacierów żytnich o zawartości ekstraktu 23% i obniżonej lepkości. Ponadto dowiedziono, że wpływ enzymów wspomagających na skład zacierów jest determinowany zarówno zastosowanym surowcem, jak i gęstością początkową zacierów słodkich.

Wątpliwość recenzenta budzi koncepcja dodatku proteaz do sporządzanych zacierów skrobiowych, gdyż prowadzi to do zwiększenia zawartości alkoholi wyższych w destylatach rolniczych, co nie jest korzystne dla ich jakości. Wyniki uzyskane z tego etapu badań były do przewidzenia, gdyż wiadomym jest, że proteazy uwalniają obecne w surowcach zbożowych naturalne zasoby azotu w postaci aminokwasów, które przy udziale drożdży w reakcjach dezaminacji i dekarboksylacji ulegają przekształceniu do fuzli.

W dalszej części badań analizowano przebieg fermentacji zacierów, które uzyskano w różnych wariantach scukrzania. Zaobserwowano, że enzymy wspomagające wpływają na intensyfikację fermentacji i skrócenie czasu jej trwania oraz przyczyniają się do zwiększenia wydajności etanolu przy obniżeniu ilości powstałego wywaru. Ponadto Autorka wykazała, że hydrolazy polisacharydów nieskrobiowych oraz pullulanaza nie wpływają na zmiany zawartości produktów ubocznych fermentacji w otrzymanych destylatach rolniczych.

W rozdziale **Dyskusja wyników** mgr inż. Ewelina Sapińska w sposób wnikliwy podsumowała efekty badań, a dyskusja wyników przeprowadzona została w konfrontacji danych literaturowych z wynikami badań własnych.

Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka sformułowała 6 oryginalnych spostrzeżeń i wniosków. W opinii recenzenta są one prawidłowe, oparte o rezultaty uzyskane w części doświadczalnej, wolne od nieistotnych szczegółów i zawierające najważniejsze konkluzje wynikające z treści pracy.

Podsumowanie

Recenzowana praca doktorska mgr inż. Eweliny Sapińskiej pt. „Enzymy wspomagające proces zacierania surowców skrobiowych” stanowi istotny wkład w rozszerzenie wiedzy na temat możliwości wykorzystania metody bezciśnieniowego uwalniania skrobi (BUS) w technologii produkcji spirytusu. W sposób szczególny podkreślam bardzo szeroki zakres pracy i jej wielowątkowość, co niewątpliwie wymagało bardzo dobrego opanowania warsztatu badawczego i przygotowania teoretycznego Doktorantki.

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska prezentuje ponadprzeciętne walory, głównie ze względu na poziom merytoryczny badań, ciekawe opracowanie wyników doświadczeń oraz wnikliwą dyskusję odwołującą się do dotychczasowych dokonań innych autorów. Uznanie budzi zarówno logiczna sekwencja badań bardzo złożonego modelu doświadczalnego, jak i dociekliwość naukowa Doktorantki. Ponadto rezultaty

przeprowadzonych badań odznaczają się wysokim potencjałem aplikacyjnym i powinny być wykorzystane w praktyce przemysłowej. W związku z tym uważam, że Autorka recenzowanej pracy doktorskiej zasługuje na wyróżnienie.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Eweliny Sapińskiej spełnia wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz wnioskuje o dopuszczenie jej Autorki do publicznej obrony i dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, dnia 02.02.2015r.

