



Wrocław 17-10-2023 r.

Dr hab. inż. Joanna Kolniak-Ostek, prof. UPWr
Katedra Technologii Owoców, Warzyw
i Nutraceutyków Roślinnych
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr inż. Andrzeja Czarneckiego

pt. "Zmienność sacharydów w cebulach w fazie wzrostu oraz podczas przetwarzania"
(*Variability of saccharides in onions in the growth phase and during processing*)

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Roberta Klewickiego, prof. uczelni

oraz dr inż. Katarzyny Grzelak-Błaszczak

zrealizowanej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej

Podstawa formalna opracowania recenzji

Podstawą formalną wykonania recenzji jest Uchwała nr 94/2023 Rady ds. Stopni Naukowych w dyscyplinach nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia Politechniki Łódzkiej z dnia 11 lipca 2023 roku, podjęta na podstawie art. 190 ust. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jedn. Dz. U. 2020 poz. 85 ze zm.).



Uwagi ogólne

Rozprawa liczy łącznie 245 ponumerowanych stron, w tym zawiera 218 strony zasadniczego tekstu, 27 stron spisu literatury zawierającego 276 pozycji, 7 rycin, 24 tabele oraz 124 wykresy. Spośród cytowanych prac 36 opublikowanych jest w języku polskim, natomiast pozostałe pozycje, to prace w języku angielskim. 166 cytowanych przez doktoranta prac pochodzą z ostatnich 10 lat, natomiast 20 z ostatnich dwóch lat. Po spisie treści znajduje się krótki rozdział zatytułowany przez Autora „wstęp”, który w moim odczuciu powinien zostać połączony z rozdziałem 4, zatytułowanym „Wstęp teoretyczny”. Układ pracy nie jest typowy, po rozdziale 1 – „Wstęp”, znajduje się rozdział „Cel i zakres pracy”, następnie „Materiał i metody”, a dopiero potem autor przechodzi do właściwego wstępu teoretycznego. Moim zdaniem układ pracy powinien zostać zmieniony na układ klasyczny, w którym po spisie treści występuje wstęp teoretyczny, a po nim cel i metodyka. Streszczenie w języku polskim oraz angielskim autor zamieścił na końcu pracy przed bibliografią. Uważam, że ta część rozprawy powinna się znaleźć na początku, tuż za spisem treści.

Za podstawę oceny przyjęto następujące kryteria: aktualność tematyki rozprawy, możliwość praktycznego zastosowania uzyskanych wyników badań, prawidłowość postawienia problemu badawczego, zastosowane metody dla rozwiązania problemu naukowego, stronę merytoryczną i formalną rozprawy.

Szczegółowa ocena treści

Rozprawa w swej części merytorycznej obejmuje 7 rozdziałów. Pierwszy rozdział stanowi krótki wstęp, w którym kandydat uzasadnia podjęcie tematu. Stwierdza, iż cebula jest bogatym źródłem związków bioaktywnych, a suche łuski zewnętrzne, które są obecnie materiałem odpadowym mogą stanowić również atrakcyjne źródło związków o korzystnym oddziaływaniu na organizm człowieka. Na zawartość związków sacharydowych w surowcach roślinnych możemy wpływać poprzez zastosowanie procesów technologicznych. Takimi procesami może być osmokocentracja oraz fermentacja mlekowa,



które będą kształtować skład sacharydów zawartych w surowcu. Z tego powodu kandydat proponuje łączenie procesów dotychczas razem nie stosowanych w celu modyfikacji cech odżywczych surowca.

Dalsza część wstępu teoretycznego przedstawiona jest w rozdziale 4. Doktorant dokonuje szczegółowej charakterystyki gatunku zarówno pod względem botanicznym, morfologicznym, jak i chemicznym. W przeglądzie piśmiennictwa dotyczącego stanu wiedzy zawartej w literaturze przedmiotu, kandydat szczegółowo analizuje metody uprawy cebuli, jej przydatność przechowalniczą oraz opisuje skład chemiczny surowca. Pan magister skupia się na grupie sacharydów i opisie biosyntezy fruktooligosacharydów oraz pokrótce charakteryzuje związki polifenolowe występujące w cebuli. O ile część dotycząca uprawy cebuli, jej wzrostu i metod zbioru jest obszerna i wyczerpująca, o tyle część dotycząca związków o działaniu bioaktywnym jest uboga w informacje. W tym miejscu brakuje szczegółowych informacji na temat aktywności prozdrowotnej charakterystycznej dla poszczególnych grup związków fenolowych cebuli. W podrozdziale 4.4. kandydat opisuje metody utrwalania żywności, skupiając się na suszeniu i zateżaniu, osmokoncentracji i fermentacji mlekowej.

Podsumowując ten rozdział pracy, chciałabym prosić autora o wyjaśnienie następujących kwestii:

1. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego zdecydował się Pan na wybór fruktooligosacharydów w swojej pracy?
2. Proszę o informację, czy istnieją doniesienia literaturowe potwierdzające aktywność biologiczną fruktooligosacharydów, poza działaniem prebiotycznym.
3. Czy autor na pewno miał na myśli kwas waniliowy, a nie wanilinowy jako jeden ze związków fenolowych?
4. Zabrakło mi szczegółowych informacji na temat korzyści jakie uzyskamy z fermentacji cebuli. Do jakich celów może być wykorzystane taki surowiec? Jakie zamiany chemiczne (w profilu związków bioaktywnych) zachodzą w trakcie fermentacji mlekowej cebuli? Czy związki bioaktywne zyskują nowe cechy prozdrowotne? W profilaktyce jakich schorzeń możemy stosować cebulę



fermentowaną? Czy cebula fermentowana jest bezpieczna do spożycia, czy istnieją przeciwwskazania do spożycia takiego produktu?

5. Dlaczego wybrał Pan odwadnianie osmotyczne jako temat swojej pracy? Jakie są wady i zalety odwadniania osmotycznego? Czy jest to proces ekonomiczny, czy wymaga dużych nakładów energetycznych i ekonomicznych?

Podsumowując zawartość całego rozdziału, który jest poświęcony omówieniu stanu dostępnej wiedzy dotyczącej podjętych przez kandydata badań stwierdzam, że kandydat dostatecznie przedstawił stan wiedzy istniejący w literaturze przedmiotu. Pewien niedosyt budzi jednak brak szczegółowego opisu korzyści jakie może wnieść odwadnianie osmotyczne przed procesem fermentacji mlekowej. Autor nie rozważył wpływu zastosowania poszczególnych roztworów osmotycznych na przebieg procesu fermentacji mlekowej i co za tym idzie, uzyskania unikalnych cech biologicznych fermentowanego produktu, a także wpływu opisanych procesów na stabilność związków bioaktywnych.

Cel i zakres pracy

Cel i zakres pracy przedstawiony został w rozdziale drugim dysertacji. Wyodrębniona została jedna hipoteza, która bezpośrednio prowadzi do sformułowania celu badawczego. Podstawowym celem badawczym było poszerzenie wiedzy z zakresu zmienności profilu sacharydowego, ze szczególnym uwzględnieniem fruktooligosacharydów cebuli zwyczajnej na różnych etapach wegetacji oraz będącej wynikiem przetwarzania poprzez osmokoncentrację i fermentację mlekową.

Dla realizacji postawionego celu kandydat wykonał siedem zadań badawczych. Postawione zadania koncentrują się na charakterystyce zmienności fruktooligosacharydów w surowcu oraz pod wpływem procesów technologicznych. W mojej opinii kandydat powinien rozwinąć omawiany problem poprzez możliwości zastosowania uzyskanych preparatów w przetwórstwie spożywczym. Ciekawym zagadnieniem byłoby określenie trwałości i stabilności fruktooligosacharydów w produktach fermentowanych jak i w trakcie przechowywania. Przeprowadzone przez Pana magistra badania stanowią wstęp do



kolejnych etapów badawczych i przetwórczych, mający na celu uzyskanie produktu o wysokich właściwościach biologicznych.

Material i metody

Materiał badawczy oraz stosowane przez kandydata metody badań przedstawione są w rozdziale trzecim. W podrozdziale pierwszym kandydat skupia się na materiale badawczym – jego charakterystyce, uprawie i poborze prób do badań. Podrozdział 3.2 dotyczy zastosowanej metodyki badawczej. Kandydat w swoich badaniach wykorzystał różne części morfologiczne (cebule właściwe, liście i korzenie) pochodzące z pięciu odmian cebuli pozyskanej w 2016 roku. W tym miejscu nasuwa się pytanie dotyczące liczby przebadanych próbek. Dlaczego kandydat w ciągu czterech lat prowadzenia badań przeanalizował materiał badawczy pochodzący z jednego okresu wegetacyjnego? Bardzo ciekawym zagadnieniem byłoby wykazanie zmienności materiału w trakcie różnych okresów wegetacyjnych. Proszę o wyjaśnienie, w jaki sposób zamrożone próbki cebuli były schładzane w ciekłym azocie?

W podrozdziale 3.2.6 dotyczącym oznaczeń sacharydów metodą HPLC proszę o podanie źródła literaturowego, z którego zaczerpnięta była metoda ekstrakcji i oznaczenia związków. Zazwyczaj przy ekstrakcji cukrów oraz kwasów z próbki wykorzystuje się wodę ze względu na ich dobrą rozpuszczalność w tym medium; dlaczego sacharydy ekstrahowane były za pomocą metanolu, a nie wody? Przy ekstrakcji metanolem z materiału badawczego pozyskiwane są w dużych ilościach związki bioaktywne, takie jak polifenole. Może to prowadzić do przeładowania kolumny chromatograficznej, co bezpośrednio prowadzi do złego rozdzielania oznaczonych substancji. Dodatkowo, proszę o informację jaki był zakres stężeń zastosowanych wzorców sacharydów, dla których wykonane zostały krzywe kalibracyjne służące do późniejszych przeliczeń zawartości związków oraz jaki był ich współczynnik R^2 ?

Moje zastrzeżenia budzi również odmienny sposób przygotowania próbek cebuli do odwadniania osmotycznego i fermentacji mlekowej. Dlaczego próbki przeznaczone do



późniejszej fermentacji przygotowywano w inny sposób niż próbki odwadniane w roztworach NaCl i sacharozy? Z czego wynika różnica w czasie odwadniania, masie odwadnianego surowca, kształcie krojonego surowca, stosunku masy surowca do roztworu osmotycznego i temperaturze procesu? Czy przy krojeniu cebuli na ćwiartki ma Pan pewność, że we wszystkich warstwach materiału badawczego doszło do procesu osmokoncentracji?

Omówienie wyników i dyskusja

Rozdział piąty obejmuje 172 strony i poświęcony jest omówieniu i dyskusji uzyskanych wyników. W rozdziale tym kandydat dokonuje oceny:

1. wzrostu wybranych odmian cebuli,
2. zmiany zawartości suchej masy w cebulach podczas wegetacji i w poszczególnych warstwach łusek cebuli,
3. zmian zawartości sacharydów w trakcie wegetacji,
4. wpływu suchej masy na skład sacharydów
5. zawartości sacharydów w poszczególnych łuskach cebuli, w różnych terminach zbioru
6. wpływu składu i stężenia roztworu osmotycznego na proces odwadniania osmotycznego
7. wpływu procesu osmokoncentracji na skład sacharydów w badanym materiale

i wreszcie

8. wpływu fermentacji mlekowej różnymi szczepami bakterii fermentacji mlekowej na skład i zawartość sacharydów w cebuli.

Ilość wyników przedstawiona w rozdziale jest ogromna, co zapewne było powodem pojawiających się licznie błędów redakcyjnych.

Odnosnie punktów 1-5 proszę o wyjaśnienie, w jaki aspekt aplikacyjny mają wyniki tych badań?



Uwagi ogólne do całego rozdziału:

1. Tabele powinny znajdować jak najbliżej miejsca, w którym są omawiane. Umieszczanie tabel na końcu podrozdziału znacznie utrudnia analizę zawartych w nich danych.
2. W tekście brak jest odwołania do omawianych tabel. Powoduje to konieczność szukania wykresów i tabel, które autor omawia, co przy ilości opisywanych wyników jest często zadaniem karkołomnym. Na przykład na stronie 75 omawia Pan sumę cukrów w dojrzałych cebulach. Proszę o informację, w której tabeli bądź na którym rysunku pokazane są te dane? Niestety nie udało mi się znaleźć odpowiedniej tabeli ani rysunku. Jeśli te dane miały odnosić się do tabeli 6, to dane tam przedstawione są w przeliczeniu na świeżą masę, a w tekście omawia Pan dane w przeliczeniu na suchą substancję.
3. Na stronie 73 autor omawia zawartość fruktooligosacharydów w badanym okresie wegetacji. Znowy nie pojawia się odwołanie do tabeli ani rysunku. Proszę również o informację, czy przedstawione dane są przeliczone na suchą czy świeżą masę surowca?
4. Podczas omawiania wyników autor część z nich podaje w przeliczeniu na świeżą, a część w przeliczeniu na suchą masę. Takich wyników nie da się ze sobą porównać.
5. Autor niekonsekwentnie stosuje oznaczenia grup jednorodnych (na przykład rysunek 10). Raz literą 'A' oznaczone są wartości największe, raz wartości średnie. Ponadto, na tym samym rysunku w terminie 4 VII brakuje statystyki dotyczącej porównania pomiędzy terminami w obrębie zmiany.
6. Na rysunkach 26 i 27 brakuje opisu zastosowanych skrótów.

W podrozdziale 5.5.1 autor wykazuje istotną i pozytywną korelację pomiędzy zawartością suchej masy a zawartością FOS. Nie jest to twierdzenie błędne, natomiast wzrost zawartości suchej masy bezpośrednio wpływa na zwiększenie zawartości wszystkich składników surowca nielotnych z parą wodną.



W tabeli 7 autor podaje, iż współczynniki korelacji zaznaczone kolorem czerwonym są statystycznie istotne. Czy w związku z tym, że cała tabela jest zaznaczona kolorem zielonym, wszystkie przedstawione w niej współczynniki korelacji są nieistotne?

Proszę o wyjaśnienie czym jest gradient zawartości cukrów?

W rozdziale 5.6 autor omawia wpływ stężenia i składu roztworu hipertonicznego na proces odwadniania osmotycznego cebuli. Na stronach 145-146 opisuje Pan, iż *„według wielu autorów największe znaczenie w procesie osmokoncentracji ma wartość wskaźnika SG. Może być on nawet bardziej istotny niż ilość wody utraconej przez odwadniany produkt, gdy czynnikiem hipertonicznym jest substancja polepszająca cechy jakościowe, a w szczególności nadająca produktowi cechy prozdrowotne”*. Proszę o wyjaśnienie, jakie cechy prozdrowotne nadaje cebuli zastosowany przez Pana cukier i chlorek sodu?

Ponadto, proszę o wyjaśnienie, dlaczego na rysunku 90 widnieją dwa punkty początkowe zawartości sacharozy w suchej masie cebuli?

W podrozdziale 5.6.3 autor omawia wpływ odwadniania osmotycznego w 40% roztworze sacharozy na badane odmiany cebuli. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego zdecydował się Pan na właśnie taki skład roztworu osmotycznego pomimo lepszych wyników osiągniętych przy zastosowaniu roztworów o wyższym stężeniu i roztworów mieszanych, omówionych w poprzednim podrozdziale?

W rozdziale 5.7 opisano wpływ procesu fermentacji mlekowej prowadzonej z wykorzystaniem trzech szczepów bakterii fermentacji mlekowej, na zawartość i skład sacharydów w cebuli. Proszę o zmianę podpisów pod rysunkami 117-119 – w niektórych przypadkach nastąpił wzrost zawartości sacharydów po procesie fermentacji, a więc nie możemy mówić o ‘zmniejszeniu’ ich ilości.

Wnioski

W szóstym rozdziale rozprawy mgr inż. Andrzej Czarnecki przedstawił siedem wniosków, które sformułował na podstawie uzyskanych wyników badań i przeprowadzonej dyskusji.



Oceniam, że wnioski te sformułowane są prawidłowo i dostatecznie odpowiadają na postawiony problem badawczy. Wynikają one z przeprowadzonych badań i zastosowanych procedur.

W mojej ocenie brakuje wniosku podsumowującego znaczenie uzyskanych wyników dla rozwoju dyscypliny naukowej. Czy uzyskane wyniki mogą być wykorzystane w przetwórstwie? W jaki sposób mogą one wpłynąć na obecnie prowadzone technologie?

Struktura rozprawy

Wszystkie części rozprawy tworzą spójną i merytorycznie zwartą całość, podporządkowaną realizacji celu postawionego przez autora. Doktorant w swej rozprawie przedstawił wystarczająco umotywowaną oraz samodzielnie opracowaną koncepcję kształtowania składu sacharydów w cebuli.

Autor wykazał się poprawnością w planowaniu poszczególnych etapów badawczych, o czym świadczy sekwencja kolejno wykonywanych działań badawczych i eksperymentalnych. Praca napisana jest językiem naukowym, poprawnym i zrozumiałym. W pracy występują liczne błędy edytorskie, interpunkcyjne i frazeologiczne, jednakże nie wpływają one na przedstawioną treść pracy. Tytuł rozprawy odzwierciedla jej treść i zawartość.

Ocena merytoryczna i formalna rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Andrzeja Czarneckiego wykazuje właściwy poziom naukowy. Doktorant wykazał się właściwą wiedzą w zakresie omawianej problematyki.

Rozprawa doktorska mgr inż. Andrzeja Czarneckiego pt. „Zmienność sacharydów w cebulach w fazie wzrostu oraz podczas przetwarzania” napisana pod kierunkiem naukowym dr hab. inż. Roberta Klewickiego, prof. ucz. oraz dr inż. Katarzyny Grzelak-Błaszczak, w mojej ocenie odpowiada wymogom określonym dla rozpraw doktorskich



określonych w art. 187. ust. 1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jedn. Dz.U. 2020 poz. 85 ze zm.). W związku z tym wnioskuję o jej przyjęcie przez Radę do spraw Stopni Naukowych w dyscyplinach nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia Politechniki Łódzkiej oraz dopuszczenie Pana mgr inż. Andrzeja Czarneckiego do publicznej obrony.

Janina Holcwiłło-Oleksiak