



Lublin, dn. 10.08.2016r

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Magister Moniki Chylińskiej

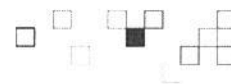
pt. „Badania zawartości polisacharydów w ścianie komórkowej owocu pomidora w różnych stadiach jego dojrzałości” wykonanej pod kierunkiem prof. dra hab. Artura Zdunka – promotora rozprawy oraz dr Moniki Szymańskiej-Chargot – promotora pomocniczego w Zakładzie Mikrostruktury i Mechaniki Biomateriałów Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie.

Dnia 10.06.2016 Rada Naukowa Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie podjęła uchwałę o powołaniu recenzentów rozprawy.

Dobór, znaczenie tematu i cel pracy:

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Chylińskiej dotyczy badań spektroskopowych i mikroskopowych z zakresu podczerwieni pektyn oraz innych polisacharydów zawartych w ścianach komórek dwóch odmian pomidora w różnych stadiach jego dojrzałości. Autorka zastosowała spektroskopię w podczerwieni oraz spektroskopię i mikroskopię Ramana w celu poznania struktury i dystrybucji molekularnej badanych polisacharydów w ścianie komórkowej. W celu porównania tej nowatorskiej metody Autorka zastosowała także klasyczne metody analiz polisacharydów w badanych próbkach, które związane są z zastosowaniem metod biochemicznych oraz immunofluorescencyjnych.

Wspomniane powyżej badania wychodzą naprzeciw poszukiwaniom nowych (szybkich i nieniszczących) metod badania tkanek roślinnych. Badania te mają znaczenie nie tylko poznawcze,

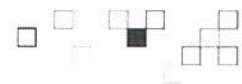


lecz także aplikacyjne. Spektroskopia FTIR i Ramana może znaleźć szerokie zastosowanie w przechowywaniu owoców i warzyw jako bardzo czuła metoda detekcji procesów przyczyniających się do pogorszenia jakości przechowywanych produktów. Główny cel badań Autorka zrealizowała poprzez dwa cele szczegółowe związane z opracowaniem metodyki obrazowania ramanowskiego do oceny zawartości i lokalizacji polisacharydów w ścianach komórkowych pomidorów. Drugi cel szczegółowy dotyczył poszukiwań korelacji pomiędzy parametrami biochemicznymi, właściwościami mechanicznymi oraz zmianami w mikrostrukturze ściany komórkowej dojrzewających owoców. W mojej opinii dobór tematu oraz cele pracy zostały sformułowane prawidłowo.

Ocena formalna i merytoryczna pracy:

Rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Chylińskiej ma układ typowy dla prac doświadczalnych. Praca liczy 110 stron, na które składa się 5 rozdziałów zakończonych podsumowaniem. W Bibliografii Autorka zacytowała 127 publikacji. W głównej części pracy zawarto 26 rysunków oraz 12 rysunków w materiałach dodatkowych, zamieszczono również 4 tabele. Stronę graficzną rozprawy oceniam wysoko. Rozprawa napisana jest starannie, ta ocena dotyczy zarówno rysunków, schematów jak i wykresów zamieszczonych w opracowaniu pracy. Dyskusję wyników przeprowadzonych przez Autorkę oceniam także bardzo dobrze.

We Wstępie do rozprawy doktorskiej uzasadniającym cel podjętych badań, Autorka zamieściła syntetyczny opis wprowadzający czytającego w problematykę znaczenia metod spektroskopii i mikroskopii oscylacyjnej w badaniach analizy struktury tkanek owoców. Przegląd literatury stanowi syntetyczną charakterystykę budowy roślinnej ściany komórkowej oraz wpływu procesu dojrzewania na jej morfologię. Następnie Autorka prezentuje wybrane metody badania roślinnej ściany komórkowej omawiając metody spektroskopowe z zakresu średniej podczerwieni (spektroskopia FTIR i Ramana). Autorka opisuje także metodę obrazowania ramanowskiego w badaniach komórek roślinnych. Na zakończenie rozdziału Autorka dokonuje charakterystyki

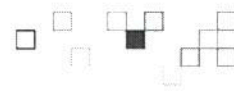


metodologii badań immunofluorescencyjnych. Informacje literaturowe zebrane przez Autorkę pozwalają czytającemu na osadzenie w temacie i zapoznanie się z obecnym stanem wiedzy. Dowodzą również rozpiętości zagadnień pozostających do rozwiązania chociażby w temacie selektywnego poszukiwania metodami spektroskopii FTIR i Ramana różnych form polisacharydów, których zawartości ulegają zmianie w procesie dojrzewania owoców.

Badania własne Doktorantki rozpoczynają się od Rozdziału 5 („Wyniki i dyskusja”), w którym na początku zaprezentowała wyniki analiz biochemicznych oraz testów mechanicznych dla odmian pomidorów: Czeresniowy i Pink King. W następnej kolejności Autorka przeprowadziła badania spektroskopowe za pomocą spektroskopii FTIR wyekstrahowanej roztworem KOH frakcji pektyn ściany komórkowej. Wyniki zostały poddane analizie PCA, której celem było uchwycenie różnic strukturalnych w budowie wybranych polisacharydów. W dalszej części rozdziału Autorka dokonuje analizy widm Ramana zawartych w próbkach pektyn, celulozy i hemiceluloz, co ze względu na podobieństwo widm było bardzo utrudnione. Jednakże Autorka poradziła sobie w tym bardzo trudnym zadaniu. W oparciu o otrzymane wyniki było możliwe dokonanie analizy obrazów ramanowskich oraz otrzymanie widm z map ramanowskich, które wyraźnie wskazują na różnice w dystrybucji polisacharydów w ścianach komórkowych owoców pomidora w zależności od stadium jego rozwoju.

Za bardzo ważne osiągnięcie Autorki uważam wyznaczenie i przyporządkowanie liczb falowych charakterystycznych dla pektyn, hemiceluloz, celulozy, związków fenolowych oraz ich wspólnych pasm. Jest to istotne w poszerzeniu wiedzy diagnostycznej dla innych badaczy tematu.

Dalsze badania Doktorantki skupiły się wokół zastosowania metod immunofluorescencyjnych jako referencyjnych w celu porównania otrzymanych rezultatów z metodą obrazowania ramanowskiego. Metody oparte na przeciwciałach cechują się dużą selektywnością w stosunku do poszukiwanego antygeny, co daje pewność, że znakowane fluorescencyjnie próbki wskażą jego dystrybucję w materiale biologicznym. Natomiast mankamentem tej metody jest częściowa destrukcja chemiczna próbki oraz czas, po którym można wykonać analizę. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania potwierdzają podobnie jak technika ramanowska, dystrybucję związków

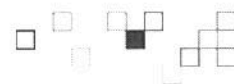


pektynowych w ścianie komórkowej obu odmian owoców. W ostatnim rozdziale Autorka zawarła najważniejsze wnioski i krótkie podsumowanie.

Doktorantka wykazała ponad wszelką wątpliwość wyższość technik spektroskopii i mikroskopii oscylacyjnej nad klasycznymi metodami stosowanymi w analityce jakości owoców. Otwiera to mnóstwo możliwości wykorzystania tych technik w celu opracowania szybkich (nawet kilkuminutowych) testów do analizy nie tylko owoców, ale także żywności przetworzonej. Uważam tę pracę za bardzo cenny wkład Doktorantki nie tylko dla badań agrofizycznych, ale także nauk o żywności.

Podczas czytania rozprawy doktorskiej zauważyłem drobne uchybienia redakcyjne i stylistyczne o charakterze tzw. „skrótów myślowych” nie mające jednak wpływu na ostateczną ocenę pracy:

1. Na stronie 19 (P. 2.3.1.) „Spektroskopia w podczerwieni bada absorpcję promieniowania” – Powinno być raczej, że „spektroskopia w podczerwieni umożliwia badanie procesu absorpcji”, które zawsze wykonuje badacz.
2. W tym samym paragrafie „foton ulega absorpcji, a cząsteczka przechodzi w stan wzbudzony...” należy pamiętać, że omawiamy w tym miejscu zakres energii oscylacyjnej związanej ze zmianą długości wiązań chemicznych oraz rotacji wzdłuż wiązań a nie wzbudzeniach elektronowych gdzie wzbudzeniu ulega cała cząsteczka. Autorka chyba przez pomyłkę napisała, że „rotacje są częściowo lub całkowicie zahamowane przez oddziaływania międzycząsteczkowe”. Mówiąc o drganiach rotacyjnych Autorka miała chyba na myśli energie rotacji (skręcania) wzdłuż wiązań chemicznych, a nie rotację całych molekuł, które związane są z ich ruchem dyfuzyjnym.
3. Stwierdzenie (paragraf j.w.) „w podczerwieni intensywne są głównie pasma pochodzące od drgań grup polarnych” jest dla mnie niezrozumiałe. W takim razie proszę wytłumaczyć jak powstają bardzo intensywne w IR pasma od drgań niepolarnych grup CH₂, CH₃ np. w lipidach?



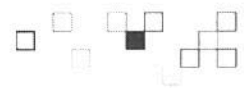
4. Nie rozumiem stwierdzenie z Paragrafu 2.3.2 (str. 22) „U podstaw tej techniki leży wzbudzenie oscylacji molekuly (dotyczy ciał stałych)... Wiadomo, że można bez problemu mierzyć widma Ramana roztworów i gazów.
5. Na str. 35 (P.4.2.2.) jest „przesądzono” a powinno być przesączono.
6. We wzorze 6 (str. 43) jest 1479 cm^{-1} a powinno być 1749 cm^{-1} .
7. Szkoda, że Autorka nie pokazała widma czystego KOH na Rys. 15 (str. 60). KOH posiada widmo w obszarze pomiędzy 1100-800 cm^{-1} i może podbudowywać prezentowane na w/w Rys. pasma.
8. Liczby falowe pasm z Rys. 16C (str. 64) są inne niż dyskutowane w tekście: 833, 1029, 1008 cm^{-1} . Podobnie na Rys. 17 i str. 69.
9. Rysunek 16C (str. 64) jest identyczny jak Rys. 18C (str. 72).
10. Szkoda, że dla dobrego porównania nie zaprezentowano wykonanych w tym samym formacie (rozszerzonym o celulozę i związki fenolowe) Rys. 20 (str. 75) i 22 (str. 77).
11. W jaki sposób dokonano normalizacji widm z obszaru 1200-970 cm^{-1} na Rys. 23 (str. 78)?

Wskazane powyżej uchybienia nie umniejszają jednak wartości pracy i jej wysokiej merytorycznej oceny.

Wnioski końcowe:

Podsumowując rozprawę doktorską Pani mgr Moniki Chylińskiej oceniam ją bardzo dobrze. Rozprawa posiada elementy nowości naukowej i stanowi oryginalny wkład do nauki w zakresie agrofizyki.

Na uwagę zasługuje także fakt, że część wyników uzyskanych przez Panią mgr Monikę Chylińską została opublikowana w siedmiu współautorskich artykułach zamieszczonych w wysoko punktowanych czasopismach z bazy JCR. Artykuły dotychczas cytowano 17 razy (baza web of





knowledge), indeks H=3. Doktorantka uczestniczyła także w realizacji grantu NCN oraz otrzymała zagraniczne stypendium wyjazdowe.

Wobec powyższego stwierdzam, że praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie mgr Moniki Chylińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in blue ink, reading 'M. Gagoś', is centered on the page.

prof. dr hab. Mariusz Gagoś

