

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Karoliny Pękali**  
**pt. „Zmiany stopnia O-acetylacji niecelulozowych polisacharydów podczas rozwoju**  
**i dojrzewania owoców i ich wpływu**  
**na właściwości mechaniczne i mikrostrukturę tkanki roślinnej”**

**Strona formalna**

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Dyscypliny Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk w Lublinie z dnia 17 listopada 2025 r. (Nr 212/E/2025) oraz zlecenia Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki PAN Pana Prof. dr. hab. Wiesława Oleszka. Przedłożona do recenzji rozprawa została przygotowana pod kierunkiem Pani Dr hab. Moniki Szymańskiej-Chargot, prof. IA PAN w Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie. Niniejsza rozprawa jest rozprawą w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Badania stanowiące podstawę rozprawy zostały sfinansowane w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki (NCN) pt.: „Zmiany stopnia acetylacji niecelulozowych polisacharydów podczas rozwoju i dojrzewania owoców i ich wpływ na właściwości mechaniczne i mikrostrukturę tkanki roślinnej” (PRELUDIUM BIS 2, 2020/39/O/NZ9/00241).

**Dobór tematyki pracy**

Tematyka rozprawy, koncentrująca się na wpływie zmian stopnia O-acetylacji polisacharydów niecelulozowych (hemiceluloz i pektyn) na właściwości mechaniczne i mikrostrukturę tkanki roślinnej, jest wysoce aktualna i merytorycznie istotna dla dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Rozprawa dotyczy jednego z fundamentalnych problemów ogrodnictwa związanego z jakością pozbiorną owoców, a mianowicie utraty jędrności jabłek, która jest kluczowym parametrem akceptacji konsumenckiej. Podczas gdy degradacja pektyn jest tradycyjnie uznawana za główny czynnik mięknięcia owoców, praca celowo koncentruje się na niedostatecznie zbadanej roli hemiceluloz w tym procesie. Specyficzne skupienie na roli acetylowania, które może wpływać na właściwości fizykochemiczne polisacharydów oraz ich oddziaływanie z celulozą, jest uzasadnione naukowo i świadczy o ambicji badawczej Autorki.

**Cel i zakres pracy**

Głównym celem rozprawy było określenie wpływu stopnia acetylacji polisacharydów niecelulozowych (hemiceluloz, pektyn) na właściwości mechaniczne i mikrostrukturę tkanki roślinnej. Cel ten zrealizowano poprzez kompleksowy program badawczy obejmujący:

- Ilościową analizę zmian składu monosacharydowego oraz stopnia acetylacji frakcji pektyn i hemiceluloz (WSP, ISP, LiCl-DMSO, KOH) w owocach dwóch odmian jabłoni (Idared i Pinova) w różnych stadiach rozwoju i przechowywania.



- Jakościowe badania strukturalne z wykorzystaniem zaawansowanej spektroskopii FT-IR i Ramana, w tym mapowania ramanowskiego dostarczające informacje na temat lokalizacji polisacharydów (w tym acetylowanych hemiceluloz).
- Modelowe badania adsorpcyjne *in vitro*, mające na celu określenie wpływu acetylacji na oddziaływania hemiceluloz/pektyn z celulozą mikrofibrylną.

Zakres pracy jest obszerny i wyczerpujący. Przyjęta metodyka sekwencyjna (od analizy *in vivo* do badań modelowych *in vitro*) jest logiczna i pozwala na dogłębną weryfikację postawionej hipotezy.

## **Ocena merytoryczna dysertacji**

### ***Układ pracy***

Rozprawa oparta jest na cyklu czterech publikacji naukowych (P.1–P.4) oraz uzupełnieniu o nieopublikowane wyniki. Charakteryzuje się ona klarowną i profesjonalną strukturą. Wstęp (Rozdział 1) szczegółowo opisuje zagadnienia dotyczące ściany komórkowej i oddziaływań między polisacharydami. Rozdział 2 przedstawia hipotezę badawczą i cele rozprawy doktorskiej. Rozdział 3 stanowi omówienie stosowanych w pracy materiałów i metod. Rozdział 4 zawiera pełną charakterystykę wyników przedstawionych w publikacjach. Rozdział 5 poświęcony jest omówieniu wyników przedstawionych w materiałach uzupełniających. Rozdział 6 przedstawia podsumowanie i wnioski. Kolejne rozdziały przedstawiają: teksty publikacji będących kanwą pracy doktorskiej (Rozdziały 7-10), bibliografię (Rozdział 11), oświadczenia współautorów (Rozdział 12) oraz życiorys naukowy Doktorantki (Rozdział 13). Taki układ pracy jest w pełni akceptowalny dla rozprawy doktorskiej opartej na cyklu publikacji.

### ***Najważniejsze osiągnięcia pracy***

Do najistotniejszych osiągnięć pracy zaliczam:

- Wykazanie korelacji między acetylacją hemiceluloz a jędrnością: stwierdzono statystycznie istotną negatywną korelację między stopniem acetylacji (DAc) hemiceluloz frakcji LiCl-DMSO a jędrnością jabłek. Wzrost DAc hemiceluloz zaobserwowano podczas dojrzewania i przechowywania obu odmian.
- Identyfikacja acetylowanego glukomannanu: analiza PCA danych spektroskopowych (FT-IR, Ramana) uwydatniła znaczenie zmian stopnia acetylacji hemiceluloz, a w szczególności acetylowanego glukomannanu, jako potencjalnego markera zmian zachodzących w przebudowie ściany komórkowej jabłek.
- Wizualizacja acetylowanych i deacetylowanych hemiceluloz: wykorzystanie obrazowania Ramana w połączeniu z analizą składowych rzeczywistych, opartą na widmach ekstrahowanych frakcji, pozwoliło z powodzeniem rozróżnić i zlokalizować acetylowane i deacetylowane hemicelulozy w ścianie komórkowej. Zaobserwowano, że po trzech miesiącach przechowywania to acetylowane hemicelulozy dominowały w ścianie komórkowej, szczególnie dla odmiany Idared (mięknącej).



- Charakterystyka oddziaływań adsorpcyjnych: badania modelowe potwierdziły adsorpcję jedynie hemiceluloz (glukomannanu, ksyloglukanu,  $\beta$ -D-glukanu i ksylanu) na celulozie mikrofibrylarnej, przy braku znaczącej adsorpcji pektyn. Największą adsorpcję odnotowano dla glukomannanu.
- Wpływ niskiej acetylacji na adsorpcję: stwierdzono, że niski stopień podstawienia acetylowego (DsAc na poziomie 0,2–0,3) glukomannanu i ksyloglukanu spowodował wzrost adsorpcji na celulozie, co jest wynikiem istotnym i kwestionującym pierwotną hipotezę.
- Opracowanie metodyczne: opracowano prostą i efektywną metodę acetylacji hemiceluloz, uzyskując wysokie stopnie podstawienia (DsAc 1,02 dla ksyloglukanu i 1,22 dla glukomannanu).

### ***Nowość naukowa rozprawy***

Rozprawa wnosi znaczącą i wielokierunkową nowość naukową do badań nad strukturą i dynamiką ściany komórkowej owoców. Jako najistotniejsze elementy nowości naukowej należy wymienić:

- Dogłębną analizę zmian DAc natywnie acetylowanych hemiceluloz (LiCl-DMSO) w powiązaniu ze zmiennymi właściwościami mechanicznymi owoców (jędrność).
- Pionierskie zastosowanie technik obrazowania Ramana do rozróżnienia (za pomocą widm referencyjnych wyizolowanych frakcji) acetylowanych i deacetylowanych hemiceluloz bezpośrednio w ścianie komórkowej jabłek.
- Wskazanie na zwiększone powinowactwo acetylowanych glukomannanów i ksyloglukanów (przy niskim DsAc) do celulozy, które stanowi istotne uzupełnienie i korektę wiedzy literaturowej dotyczącej roli grup acetylowych w oddziaływaniach hydrofobowych i zmniejszaniu samoasocjacji łańcuchów polimerowych.

### ***Mocne strony pracy***

- Kompleksowość metodologiczna: połączenie analizy chemicznej i fizykochemicznej (*in vivo* na jabłkach) z innowacyjnym obrazowaniem mikrostruktury (mapowanie Ramana) oraz rygorystycznymi badaniami modelowymi *in vitro* (adsorpcja, NMR) jest dowodem na wysoki poziom warsztatu naukowego Autorki.
- Wysoka wartość aplikacyjna uzyskanych wyników: wyniki pracy mają bezpośrednie znaczenie aplikacyjne dla sektora rolno spożywczego, ponieważ dostarczają mechanistycznych wyjaśnień utraty jędrności jabłek podczas przechowywania
- Opracowanie efektywnej metody acetylacji hemiceluloz, stanowiące istotny wkład Autorki w rozwój inżynierii materiałowej.
- Świetnie opracowane badania adsorpcyjne uwzględniające kinetykę i równowagę adsorpcji w oparciu o różne modele.
- Potwierdzony dorobek naukowy: rozprawa oparta jest na cyklu czterech recenzowanych publikacji, wszystkie w czasopiśmie o wysokiej renomie (IF od 4,9 do 9,8).



### **Punkty dyskusyjne**

Mimo bardzo wysokiego poziomu merytorycznego pracy, zauważam kilka kwestii, które wymagają doprecyzowania. Uprzejmie proszę, aby Doktorantka odpowiedziała na te pytania podczas publicznej obrony pracy doktorskiej:

1. Rozbieżność hipotezy z uzyskanymi wynikami: Chciałabym zapytać w jaki sposób Doktorantka interpretuje negatywną korelację stopnia acetylacji natywnych hemiceluloz z jędrnością jabłek, skoro niska acetylacja sprzyja, a nie utrudnia, oddziaływaniu z celulozą w modelach *in vitro*?
2. Ograniczenia badań adsorpcji: Autorka przyznała, że nie zbadano wpływu wysoko acetylowanych hemiceluloz na adsorpcję z celulożą ze względu na ich nierozpuszczalność w wodzie. To ogranicza pełną weryfikację wpływu acetylacji, zwłaszcza w kontekście natywnych hemiceluloz, które *in vivo* mogą mieć wyższy stopień podstawienia, niż ten zbadany w modelach rozpuszczalnych. Proszę o komentarz.
3. Zanieczyszczenie próbek skrobią: W analizie składu monosacharydowego frakcji LiCl-DMSO w terminach przedzbiorczych (T1-T4) odnotowano zawyżony udział glukozy (Glc), co przypisano obecności skrobi. Wskazuje to na pewne niedociągnięcie w procedurze wstępnej ekstrakcji materiału ściany komórkowej. Proszę o wyjaśnienie.
4. Wyniki obrazowania Ramana wykazały, że po trzech miesiącach przechowywania, acetylowane hemicelulozy dominowały w ścianie komórkowej, szczególnie w odmianie Idared. Czy obecność dominujących acetylowanych hemiceluloz (zwłaszcza Glm) w tkance miękkiej (Idared T7) sugeruje, że ich relatywnie wysoki stopień acetylacji *in vivo* mógłby działać jako przeszkoda steryczna lub zmieniać hydrofobowość na tyle, by osłabić wiązania z celulozą, a tym samym pośrednio zmniejszyć integralność ściany?

### **Ocena zastosowanej metodyki pomiarowej**

Zastosowana metodyka pomiarowa jest rzetelna, aktualna i w pełni uzasadniona dla realizacji celów pracy.

- Ekstrakcja frakcyjna: wykorzystano sekwencyjną ekstrakcję frakcji pektyn i hemiceluloz. Metoda LiCl-DMSO jest kluczowa, gdyż umożliwiła wydzielenie natywnie acetylowanych hemiceluloz, co było fundamentalne dla celów pracy.
- Analiza strukturalna: zastosowanie spektroskopii FT-IR i Ramana w połączeniu z analizą głównych składowych (PCA) było skuteczne w identyfikacji zmian w strukturze polisacharydów, zwłaszcza acetylowanego glukomannanu. Najbardziej innowacyjne jest wykorzystanie obrazowania Ramana z analizą składowych rzeczywistych opartą na widmach frakcji izolowanych z jabłek, co pozwoliło na dokładną lokalizację i rozróżnienie acetylowanych i deacetylowanych hemiceluloz.
- Modelowanie adsorpcji: zastosowanie celulozy mikrofibrylarnej izolowanej z jabłek, a nie celuloz komercyjnych (np. Avicel, BMC), zwiększyło relewantność biologiczną wyników badań modelowych. Rzetelnie przeprowadzono badania kinetyki i równowagi adsorpcji, stosując adekwatne modele (Freundlicha, Redlicha-Petersona). Analiza CP/MAS  $^{13}\text{C}$  NMR

dostarczyła krytycznych informacji o zmianach w strukturze krystalicznej celulozy w kompleksach poadsorpcyjnych.

- Metodyka dotycząca badania acetylacji: opracowana przez Autorkę metoda syntezy wysoko acetylowanych hemiceluloz z użyciem bezwodnika octowego i bezwodnego octanu sodu jest nowatorska i skuteczna.

### **Ocena poziomu językowo-edytorskiego pracy**

Poziom językowo-edytorski rozprawy jest bardzo wysoki. Tekst pracy jest płynny, logiczny, spójny terminologicznie, a konsekwentnie stosowana nomenklatura chemiczna są zgodne z obowiązującymi standardami IUPAC. Styl naukowy pracy został utrzymany, a struktura podziału treści jest nie budzi żadnych zastrzeżeń. Tekst jest przejrzysty, akapity dobrze ustrukturalizowane, a rysunki i tabele prawidłowo opisane. W pracy pojawiają się sporadyczne literówki i nieliczne potknięcia stylistyczne:

- Błędy w notacji/skrótach np.:
  - w notacjach stężeń w rozdziale 5.1.2.3.1.1: zapis "0.1 molL<sup>-1</sup>" wymaga zastąpienia prawidłową notacją (np. 0,1 mol·L<sup>-1</sup>) dla zachowania spójności.
- Drobne nieścisłości gramatyczne/stylistyczne:
  - w sekcji 3.6.1.2”: forma zdania dotycząca zlecenia badań XRD na Wydziale Chemii UMCS wymagałaby korekty stylistycznej (np. "badania zlecone do wykonania w Laboratorium Analitycznego na Wydziale Chemii...").
  - w tekście w rozdziale 5.1.2.3.3, w opisie wzoru: „(Macetyl<sub>g</sub>-1) – różnica w masie cząsteczkowej po podstawieniu atomu wodoru w grupie hydroksylowej” brakuje jednostek masy cząsteczkowej.

### **Ocena doboru literatury**

Dobór literatury jest znakomity. Bibliografia obejmuje ponad 100 pozycji i jest w pełni adekwatna do interdyscyplinarnego charakteru pracy (agrofizyka, chemia, biologia roślin). Literatura jest wyjątkowo aktualna i zawiera fundamentalne pozycje (np. dotyczące struktury celulozy, pektyn i hemiceluloz), a także najnowsze wyniki badań opublikowane w 2024 i 2025 roku, co świadczy o dogłębnej znajomości bieżącego stanu wiedzy przez Doktorantkę. Szczególnie cenne jest włączenie prac dotyczących mechanizmów oddziaływań hydrofobowych i roli acetylacji, które stanowią bezpośrednie tło dla wyników własnych Autorki.

### **Ocena dorobku naukowego Doktorantki**

Dorobek naukowy mgr Patrycji Karoliny Pękali, stanowiący podstawę rozprawy, jest bardzo dobry. Rozprawa oparta jest na cyklu czterech publikacji w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Prace zostały opublikowane w *Food Chemistry* (IF 9.8, 200 pkt MNiSW w 2024) oraz w czasopiśmie *Cellulose* (IF 4.9, 100 pkt MNiSW w 2023). Łączna wartość punktowa MNiSW wynosi 700 punktów. Wkład Autorki w poszczególne publikacje jest znaczący, obejmując: przeprowadzenie kluczowych eksperymentów (izolacja polisacharydów, pomiary DAc/DM, spektroskopia, mapowanie



Ramana, badania adsorpcji), analizę danych, sporządzenie wniosków oraz przygotowanie pierwszej wersji manuskryptów. Dorobek uzupełnia bogata aktywność konferencyjna (liczne wystąpienia krajowe i międzynarodowe) oraz dwa wyróżnienia za prezentacje na konferencjach doktoranckich. Taki dorobek świadczy o samodzielności naukowej, wysokiej produktywności oraz zdolności do publikowania wyników na najwyższym poziomie w światowej literaturze naukowej. Na szczególne podkreślenie zasługuje też fakt, że Autorka uzyskała finansowanie z Narodowego Centrum Nauki (PRELUDIUM BIS 2, 2020/39/O/NZ9/00241) oraz Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (BPN/PRE/2022/1/00100/U/00001).

### **Wniosek końcowy**

Praca doktorska mgr Patrycji Karoliny Pękali jest bardzo dobra pod względem merytorycznym, metodologicznym, a także wyróżnia się oryginalnością osiągniętych wyników. Choć pierwotna hipoteza badawcza (zakładająca utrudnianie oddziaływań przez acetylację) została odrzucona na podstawie precyzyjnych badań modelowych *in vitro*, to właśnie ten wynik, wskazujący na wzrost adsorpcji przy niskim stopniu acetylacji, stanowi kluczowe i nowatorskie osiągnięcie pracy, poszerzające zrozumienie interakcji hydrofobowych w ścianie komórkowej. Osiągnięcia w zakresie lokalizacji acetylowanych hemiceluloz za pomocą obrazowania Ramana oraz opracowanie wydajnej metody syntezy wysoko acetylowanych hemiceluloz stanowią istotny wkład w chemię i agrofizykę polisacharydów.

**W świetle powyższej oceny, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Patrycji Karoliny Pękali spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim przez ustawę o szkolnictwie wyższym i nauce. Wnioskuje o dopuszczenie mgr Patrycji Karoliny Pękali do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, a biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom merytoryczny niniejszej pracy wnioskuję o jej wyróżnienie.**

Lublin, 08.12. 2025 r.

