



Lublin, 12 stycznia 2026 r.

Prof. dr hab. Rafał Luchowski
Katedra Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

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

Roślinna ściana komórkowa odgrywa zasadniczą rolę w kształtowaniu właściwości mechanicznych tkanek roślinnych oraz przebiegu procesów wzrostu i rozwoju komórek. Jej złożona budowa, oparta na sieci wzajemnie oddziałujących polisacharydów, warunkuje zarówno stabilność strukturalną komórek, jak i zdolność tkanek do adaptacji w zmieniających się warunkach środowiskowych. W przypadku owoców, takich jak jabłka, właściwości ściany komórkowej mają bezpośredni wpływ na cechy jakościowe, w tym jędrność oraz trwałość pozbiorczą.

Podstawowymi składnikami ściany komórkowej są celuloza, hemicelulozy i pektyny, przy czym to właśnie relacje pomiędzy tymi polisacharydami decydują o organizacji i integralności całej struktury. Szczególne znaczenie przypisuje się hemicelulozom, które poprzez oddziaływania z mikrofibrylami celulozy stabilizują sieć polisacharydową, a ich właściwości są w dużej mierze determinowane przez modyfikacje chemiczne, takie jak np. acetylacja. Zmiany stopnia acetylacji mogą wpływać na konformację łańcuchów polisacharydowych, ich uwodnienie oraz zdolność do oddziaływań międzycząsteczkowych. Proces pozbiorczego przechowywania owoców wiąże się z przebudową struktury ściany

komórkowej, co przejawia się m.in. stopniową utratą jędrności tkanek. Chociaż degradacja pektyn jest uznawana za jeden z głównych czynników tego procesu, rola hemiceluloz pozostaje znacznie słabiej poznana. Rozprawa doktorska pani Patrycji Pękali wpisuje się w ten kierunek badawczy i poświęcona jest analizie zmian stopnia acetylacji niecelulozowych polisacharydów ściany komórkowej jabłek na kolejnych etapach ich rozwoju oraz przechowywania. Praca łączy badania składu chemicznego polisacharydów z analizą mikrostruktury ściany komórkowej oraz oceną jej właściwości mechanicznych, co pozwala na bardziej całościowe ujęcie problemu. Punktem wyjścia badań podjętych przez Doktorantkę jest założenie, że hemicelulozy – mimo braku silnych, specyficznych wiązań chemicznych z celulozą – mogą w istotny sposób modulować organizację przestrzenną sieci fibrylarną, a tym samym wpływać na właściwości mechaniczne tworzonych filmów.

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem dr hab. Moniki Szymańskiej-Chargot, prof. IA PAN w Zakładzie Fizycznych Właściwości Materiałów Roślinnych Instytutu Agrofizyki PAN. Ośrodek ten, również dzięki staraniom pani promotor, należy do rozpoznawalnych krajowych centrów, w których prowadzone są badania naukowe materiału pochodzenia roślinnego.

Rozprawa doktorska, stanowiąca podstawę oceny, została przygotowana w formie cyklu artykułów badawczych opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym oraz jednej pracy przeglądowej. Publikacje te ukazały się w czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania tzw. impact factor. Trzy artykuły opublikowano w czasopiśmie *Food Chemistry* (IF = 9,8), przy czym w dwóch z nich Doktorantka jest pierwszym (głównym) autorem, a w jednym – trzecim w kolejności. Ponadto, pani Pękala jest pierwszym autorem pracy przeglądowej opublikowanej w czasopiśmie *Cellulose* (IF = 4,9). Załączone na końcu rozprawy stosowne oświadczenia współautorów pozwalają stwierdzić, że udział mgr Patrycji Pękali w powstaniu tych publikacji był istotny. Na podkreślenie zasługuje ponadto fakt, że Doktorantka realizowała projekt badawczy w ramach grantu *Narodowego Centrum Nauki* oraz odbyła zagraniczny staż doktorski w ośrodku *Biologie Intégrative et Adaptation* - Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement w Nantes we Francji, w ramach programu *NAWA PRELUDIUM BIS*.

Praca doktorska jest tzw. „zszywką” artykułów, co ogranicza możliwość szczegółowej oceny zdolności edytorskich Doktorantki. Rozpoczyna się rozdziałem, w którym wymieniono udział w projektach naukowych. Następnie, zgodnie z wymogami formalnymi, zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim. Kolejne części obejmują *Spis treści*, *Listę publikacji naukowych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej* oraz niezwykle przydatny *Spis używanych w pracy skrótów*.

W rozdziale *Wstęp* Pani Magister przedstawia motywację pracy badawczej, podkreślając jej znaczenie zarówno naukowe, jak i aplikacyjne. Kolejne rozdziały zawierają zwięzły przegląd aktualnego stanu wiedzy na temat budowy i funkcjonowania roślinnej ściany komórkowej. Informacje te są dość skromne i pełnią głównie funkcję wyjaśniającą stosowaną terminologię. W tej części wyraźnie zabrakło krytycznej oceny dotychczasowych podejść naukowych oraz jednoznacznego przedstawienia własnego stanowiska Doktorantki wobec przytaczanych doniesień literaturowych. Przypuszczam, że wynika to z faktu, iż pierwszy z dołączonych artykułów ma charakter przeglądowy i to w nim przedstawiono pożądane zagadnienia.

W kolejnych częściach rozprawy zestawiono *Hipotezę badawczą*, *Cel rozprawy* oraz *Metody badawcze* zastosowane w pracy. Te ostatnie obejmują zarówno analizy ilościowe i jakościowe polisacharydów, jak i techniki spektroskopowe oraz badania modelowe. Opisy metod są staranne i wystarczająco szczegółowe, dostarczając niezbędnych informacji do zrozumienia wyników, co świadczy o fachowym przygotowaniu pani Pękali do prowadzenia badań eksperymentalnych. Rozdział zatytułowany *Bibliografia*, a odnoszący się do części wstępnej, nie przytacza nowych publikacji poza tymi, uwzględnionymi w załączonych artykułach. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, że wszystkie doświadczalne prace publikacyjne ukazały się stosunkowo niedawno, w latach 2024-2025.

W części doświadczalnej przedłożonej rozprawy Doktorantka zaprezentowała wyniki własnych badań dotyczących ilościowej analizy składu monosacharydowego oraz stopnia acetylacji frakcji hemicelulozowych (w znikomym stopniu także pektynowych) w kontekście zmian jędrności jabłek. Według mojej opinii, do najważniejszych osiągnięć należy zaliczyć wskazanie korelacji pomiędzy stopniem acetylacji hemiceluloz, a utratą jędrności owoców podczas przechowywania. W badaniach zastosowano kompleksowe podejście

eksperymentalne, obejmujące sekwencyjną ekstrakcję frakcji polisacharydowych ściany komórkowej, w tym: pektyn rozpuszczalnych w wodzie (WSP), pektyn rozpuszczalnych w imidazolu (ISP), natywnie acetylowanych hemiceluloz ekstrahowanych w układzie LiCl-DMSO oraz zdeacetylowanych hemiceluloz ekstrahowanych roztworem KOH. Część prac eksperymentalnych stanowi treść pierwszej z przyjętych do publikacji prac doświadczalnych w czasopiśmie *Food Chemistry* zatytułowanej „Monosacchride composition and degree of acetylation ...”. Wykazano, że stopień acetylacji hemiceluloz we frakcji LiCl-DMSO zwiększał się w trakcie dojrzewania i przechowywania jabłek oraz był ujemnie związany z ich twardością. Oznacza to, że wraz ze wzrostem acetylacji, owoce stawały się bardziej miękkie, co dotychczas nie było opisywane w literaturze. Zastosowanie analizy PCA pozwoliło na rozróżnienie próbek w zależności od odmiany jabłek oraz etapu dojrzewania i przechowywania. Badania wykazują, że mięknięcie jabłek nie jest, jak dotąd sądzono, wynikiem jednego procesu – degradacji pektyn – lecz efektem zróżnicowanej modyfikacji pektyn i hemiceluloz, dodatkowo zależnej od odmiany.

W mojej opinii, najważniejszą publikacją naukową pani Pękali jest ta, zatytułowana „Acetylated hemicelluloses and esterified pectin alterations ...”, która ma charakter pogłębionych badań jakościowych, ukierunkowanych na zmiany strukturalne polisacharydów ściany komórkowej w trakcie rozwoju i przechowywania owoców obydwu pierwotnie wybranych do analizy odmian jabłek. Zastosowanie spektroskopii FTIR i Ramana, w połączeniu z obrazowaniem Ramana i analizą wielowymiarową, umożliwiło identyfikację zmian stopnia acetylacji hemiceluloz oraz estryfikacji pektyn, a także ich przestrzennej dystrybucji w ścianie komórkowej. Autorzy wykazali, że acetylowane hemicelulozy charakteryzują się bardziej jednorodnym rozmieszczeniem w ścianie komórkowej, a ich udział wzrasta w trakcie dojrzewania i przechowywania, szczególnie w odmianach bardziej podatnych na mięknięcie. Praca ta dostarcza cennych informacji na temat relacji pomiędzy strukturą chemiczną polisacharydów, a właściwościami teksturalnymi owoców.

W trzecim artykule („A study of the properties of hemicelluloses...”, *Food Chemistry*, 2024) autorzy skoncentrowali się na zagadnieniu adsorpcji różnych hemiceluloz na powierzchni celulozy izolowanej z miąższu jabłek. Wykazano, że spośród badanych polisacharydów, jedynie hemicelulozy wykazują zdolność adsorpcji na celulozie, podczas gdy pektyny nie tworzą trwałych układów adsorpcyjnych. Najsilniej wiązały się kolejno glukomannan, β -glukan i ksyloglukan, natomiast najslabiej – ksylan. Analiza izoterm adsorpcji oraz kinetyki procesu,

wsparta modelowaniem matematycznym, pozwoliła zidentyfikować czynniki strukturalne – takie jak liniowość, stopień rozgałęzienia i masa cząsteczkowa – determinujące siłę oddziaływań. Cząsteczki bardziej liniowe i bogate w jednostki glukozy wykazywały silniejsze wiązanie niż rozgałęzione. Badania uzupełniające, obejmujące FTIR, spektroskopię Ramana, DSC oraz ocena właściwości mechanicznych filmów celulozowych potwierdziły, że oddziaływania hemiceluloza–celuloza mają charakter stosunkowo słaby, lecz znacząco wpływają na mobilność oraz właściwości mechaniczne celulozy. Wyniki te wnoszą istotny wkład w zrozumienie roli hemiceluloz w kształtowaniu struktury i właściwości ściany komórkowej oraz materiałów celulozowych.

Do obowiązków recenzenta należy również ocena poziomu edytorskiego rozprawy. Ten, w mojej opinii zasługuje na dopracowanie. Poniżej przedstawiam listę uwag i sugestii, które mogą okazać się pomocne przy kolejnych rozprawach Autorki.

- Rysunek 1 cechuje niska jakość graficzna, co utrudnia jego czytelność.
- Str. 5, zdanie: „Wiadomo, że hemicelulozy, pektyny, glikoproteiny i celuloza są w bliskim kontakcie w ścianie, jednakże badania nad tymi oddziaływaniami wciąż nie są wysyczone.” proponuję w formie: „Wiadomo, że hemicelulozy, pektyny, glikoproteiny i celuloza są w bliskim kontakcie w ścianie, jednakże badania nad tymi oddziaływaniami wciąż pozostają niepełne.”
- Zasadniczo, w całej części wstępnej Autorka nie zachowuje poprawnej edycji tekstu, pozostawiając spójniki na końcu zdań.
- Str. 19, 20, 30, 31: Autorce zdarza się, że jednostki nie pozostają przy liczbach i przechodzą do następnej linii (dotyczy to również opisu typów wiązań chemicznych).
- Str 40: Brak spacji w wyrazie „jędnośćcoraz”.
- Str. 41–43: W mojej ocenie, opis zmian procentowych składu monosacharydów w kolejnych etapach dojrzewania i składowania jest nadmiernie rozbudowany i nie do końca uzasadniony. Czytelnik oczekuje, że dane te zostaną podsumowane jakimś wnioskiem lub powiązane z ich znaczeniem biologicznym czy funkcjonalnym, podczas gdy w rzeczywistości służą jedynie jako dane wejściowe do analizy PCA. Autorka ma tendencję do wymieniania zmian bez przedstawienia ich wpływu ani interpretacji wyników.

Niemniej, powyższe uchybienia nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Rozprawa dostarcza wielu informacji, a jednocześnie rodzi pewne pytania:

1. Jakie przesłanki zadecydowały o wyborze konkretnych odmian jabłek objętych analizą w ramach rozprawy doktorskiej i co sprawiło, że tylko te stały się przedmiotem zainteresowania Doktorantki?
2. W pracy zastosowano analizę PCA (Analiza Głównych Składowych) do danych składu monosacharydowego wyrażonych w % molowych, które mają charakter danych sumujących się do 100%. Czy w takim przypadku klasyczna PCA jest metodą w pełni adekwatną ze względu na współzależność zmiennych wynikającą z ograniczenia sumy?
3. Na stronie 41 rozprawy wskazano, że odmiany jabłek Idared i Pinova zebrano po osiągnięciu dojrzałości zbiorczej, co potwierdzono podstawowymi parametrami. Jednocześnie zauważono, że Pinova w momencie zbioru miała podwyższony indeks skrobiowy, co może sugerować nieco wczesny termin zbioru. W związku z tym chciałbym zapytać, czy dalsze analizy porównawcze obu odmian są w pełni uzasadnione, mając na uwadze tę początkową różnicę, która mogła wpłynąć na ich właściwości przechowalnicze. Dodatkowo, proszę o doprecyzowanie, z ilu lat zbiorów pochodziły dane wykorzystane w analizach statystycznych.
4. Jak Doktorantka ocenia możliwość uzupełnienia badań o bezpośrednie metody obrazowania rozmieszczenia hemiceluloz w strukturze filmu przy użyciu metod operujących poniżej rozdzielczości optycznej? Czy przy ich zastosowaniu uzyskałaby Pani dodatkowe (wartościowe dla swoich badań) informacje?

Biorąc pod uwagę duże znaczenie praktyczne podjętej tematyki badawczej, kompleksowe i systematyczne podejście do przeprowadzonych prac badawczych i analizy danych oraz otrzymane wyniki - pracę doktorską Pani mgr Patrycji Karoliny Pękali oceniam bardzo wysoko. Chciałbym podkreślić, że przedłożona mi do recenzji rozprawa w postaci zbioru artykułów charakteryzuje się wysokim poziomem spójności tematycznej oraz staranną interpretacją wyników. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością zarówno badanych układów biologicznych, jak i stosowanych metod eksperymentalnych. Osiągnęła cele badawcze postawione sobie na początku drogi badawczej. W mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wszelkie ustawowe oraz zwyczajowe wymagania. Uprzejmie proszę Wysoką Radę Instytutu Agrofizyki im. Bohdana

Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk o przyjęcie mojej pozytywnej rekomendacji oraz stawiam wniosek o dopuszczenie pani mgr Patrycji Pękali do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Otrzymane rezultaty znacząco poszerzyły dotychczasową wiedzę pozwalając na pełniejsze zrozumienie wpływu zmian stopnia O-acetylacji polisacharydów na dojrzewanie owoców.

Biorąc pod uwagę duże znaczenie praktyczne uzyskanych wyników dla chemii żywności oraz biofizyki ściany komórkowej, aktualność podjętej tematyki badawczej, kompleksowe podejście do analizy danych, a także wiodący udział Autorki we wszystkich czterech artykułach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, wnoszę o wyróżnienie tej pracy.

