

Recenzja**rozprawy doktorskiej mgr inż. Ewy Górskiej****pt. Wieloskalowa analiza wpływu parametrów technologicznych procesu ekstrakcji
z zastosowaniem naturalnych mieszanin głęboko eutektycznych na właściwości
pektyn z wyłoków owocowych**

Praca doktorska została przygotowana pod opieką promotor dr hab. inż. Izabeli Pawlaczyk-Graji, prof. uczelni, w Katedrze Inżynierii i Technologii Procesów Chemicznych na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Przeprowadzone badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu badawczego Preludium Bis 2 pt.: „Wieloskalowa analiza wpływu parametrów technologicznych procesu ekstrakcji z zastosowaniem naturalnych mieszanin głęboko eutektycznych na właściwości pektyn z wyłoków owocowych” (2020/39/O/ST8/03514).

Pektyny to naturalne polisacharydy o złożonej strukturze, występujące w ścianach komórkowych roślin, szczególnie owoców. Ze względu na swoje właściwości żelujące, zagęszczające i stabilizujące znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym.

Najczęściej pozyskuje się je z produktów ubocznych przemysłu owocowo-warzywnego, takich jak wyłoki z jabłek czy skórki owoców cytrusowych. Sposób ekstrakcji ma istotny wpływ na budowę chemiczną oraz właściwości funkcjonalne otrzymanych pektyn. Nieodpowiednio dobrane warunki procesu mogą prowadzić do częściowej degradacji ich struktury, a w konsekwencji do pogorszenia właściwości technologicznych.

Obecnie pektyny najczęściej ekstrahuje się z wykorzystaniem gorących roztworów kwasów lub zasad. W celu zwiększenia wydajności procesu ekstrakcję często wspomaga się ultradźwiękami, promieniowaniem mikrofalowym lub podwyższonym ciśnieniem. Mimo licznych zalet metody te mają również istotne ograniczenia, związane m.in. z wysokim zużyciem energii, koniecznością stosowania agresywnych odczynników oraz możliwością degradacji struktury pektyn.

Z tego względu prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem nowych oraz optymalizacją istniejących metod ekstrakcji, które pozwolą na szybsze, bardziej ekonomiczne i wydajniejsze pozyskiwanie pektyn przy jednoczesnym zachowaniu ich struktury oraz pożądanych właściwości funkcjonalnych.

W opisaną problematykę bardzo dobrze wpisuje się praca doktorska, przygotowana przez Kandydatkę do stopnia naukowego doktora mgr inż. Ewę Górską, poświęcona analizie wpływu parametrów technologicznych procesu ekstrakcji z zastosowaniem naturalnych mieszanin głęboko eutektycznych na właściwości pektyn z wyłoków czarnej porzeczki, maliny właściwej, poziomki truskawki i rokitnika zwyczajnego.

Recenzowana praca, licząca 185 stron, została przygotowana w klasycznej formie i napisana w języku polskim. Rozpoczyna się od dosyć dobrze opisujących zawartość rozprawy streszczeń w języku polskim i angielskim oraz zestawienia stosowanych skrótów.

Pierwszym rozdziałem pracy doktorskiej jest liczący 32 stron **Przegląd literatury**, podzielony na 4 podrozdziały. W pierwszym Doktorantka opisuje wielopoziomową strukturę polisacharydów oraz wymienia metody wykorzystywane do ich charakterystyki fizykochemicznej. Następnie szczegółowo przedstawia budowę chemiczną i strukturę domenową pektyn. W drugim opisuje wpływ struktury pektyn (skład cukrowy, zawartość GaA, stopień estryfikacji, masa cząsteczkowa) na ich właściwości funkcjonalne. Podkreśla również, że zależą one od rodzaju użytej biomasy, z której pektyny zostały wyodrębnione, zastosowanej metody ekstrakcji oraz parametrów procesowych. Trzecia część poświęcona jest ekstrakcji pektyn z biomasy roślinnej. Doktorantka opisała w niej klasyczną metodę ekstrakcji z wykorzystaniem wody w podwyższonej temperaturze, a także alternatywne metody, m.in. z zastosowaniem cieczy jonowych, głęboko eutektycznych rozpuszczalników oraz naturalnych głęboko eutektycznych rozpuszczalników (NADES). Dużo miejsca poświęciła omówieniu zalet i ograniczeń poszczególnych metod ekstrakcji. Przedstawiła również parametry determinujące przebieg procesu ekstrakcji pektyn, a także metody planowania eksperymentu i optymalizacji parametrów procesu. Czwarta część zawiera informacje na temat odpadowej biomasy roślinnej powstającej w przetwórstwie owoców, a konkretnie wyłoków owocowych będących produktem ubocznym produkcji soków oraz możliwości ich wykorzystania do pozyskiwania pektyn. **Przegląd literatury** napisany jest dobrze, przedstawione informacje poparte są licznymi i aktualnymi odnośnikami literaturowymi (w całej pracy jest ich blisko 300). Tematyka poruszona w tym rozdziale jest ściśle związana z badaniami opisanymi w rozprawie doktorskiej i stanowi dobre do nich wprowadzenie.

W rozdziale **Cel rozprawy** zdefiniowany został cel badań - wyznaczenie korelacji pomiędzy parametrami technologicznymi procesu ekstrakcji (skład i proporcje komponentów NADES, dodatek wody, temperatura oraz czas procesu), a wydajnością i właściwościami fizykochemicznymi pektyn wyodrębnionych z wyłoków wybranych rodzimych owoców jagodowych. Sformułowane zostały

również hipotezy badawcze. Ich weryfikację przeprowadzono poprzez optymalizację parametrów technologicznych procesu ekstrakcji oraz kompleksowej fizykochemicznej charakterystyki otrzymanych produktów z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych, spektroskopowych (FT-IR, NMR), chromatograficznych (GC-MS, SEC, IEC) oraz mikroskopowych (SEM).

Wyniki badań przedstawiono w rozdziale 3 (**Część doświadczalna**), obejmującym 90 stron rozprawy.

Na podstawie przeprowadzonego rozeznania rynku do badań wytypowano gatunki roślin uprawiane na dużą skalę, których owoce są powszechnie wykorzystywane w produkcji soków. Do badań wykorzystano wytloki powstające podczas przetwarzania owoców czarnej porzeczki, maliny, truskawki oraz rokitnika. Dla każdej z analizowanych roślin przedstawiono charakterystykę obejmującą taksonomię botaniczną, obszar występowania, znaczenie gospodarcze oraz zastosowanie w medycynie. Ponadto omówiono główne grupy związków bioaktywnych pozyskiwanych z owoców i innych części roślin, ze szczególnym uwzględnieniem pektyn. Pozyskany materiał poddano charakterystyce morfologicznej oraz oznaczeniu zawartości wody.

Wszystkie surowce odpadowe poddano ekstrakcji w gorącej wodzie. Na podstawie danych literaturowych oraz uzyskanych wyników jako surowiec modelowy wybrano wytloki z czarnej porzeczki, przede wszystkim ze względu na wysoką zawartość cukrów i kwasów uronowych, a także polifenoli, które utrudniają proces izolacji i oczyszczania pektyn, stanowiąc istotne wyzwanie technologiczne. Kolejnym etapem badań była optymalizacja procesu ekstrakcji z uwzględnieniem takich parametrów, jak czas ekstrakcji oraz zastosowanie maceracji jako etapu wstępnego. Następnie oceniono wpływ pH oraz siły jonowej środowiska na efektywność procesu, wykorzystując odczynniki chemiczne charakteryzujące się wysokim poziomem bezpieczeństwa zarówno w kontekście zdrowia człowieka, jak i wpływu na środowisko naturalne. Na podstawie uzyskanych wyników ekstrakcji pektyn z wytlóków czarnej porzeczki oraz analizy doniesień literaturowych zdecydowano o wykorzystaniu chlorku choliny (ChCl) oraz kwasu cytrynowego (CA) jako składników mieszaniny naturalnych głęboko eutektycznych rozpuszczalników (NADES).

W oparciu o wyniki optymalizacji procesu wybrano trzy układy ChCl i CA o stosunkach molowych 1,5:1, 1,5:2 oraz 2:1,5. Zastosowano je do ekstrakcji pektyn z pozostałych trzech surowców, prowadzonej w temperaturze 100°C przez 4 godziny. Dla każdego surowca otrzymano po trzy preparaty polisacharydowe. Następnie, na podstawie m.in. analizy wydajności ekstrakcji oraz zawartości polifenoli, białek i kwasów uronowych w otrzymanych preparatach, wybrano tzw. optymalny preparat polisacharydowy dla każdego surowca: 38 dla porzeczki, M2 dla maliny, T3 dla truskawki i R2 dla rokitnika. Preparaty poddano dalszemu frakcjonowaniu metodą chromatografii jonowymiennej z zastosowaniem złoża DEAE-Sephadex, uzyskując dominujące frakcje pektynowe. Dla otrzymanych dominujących frakcji oraz optymalnych preparatów określono masę cząsteczkową metodą wysokosprawnej chromatografii wykluczania przestrzennego (HPLC-SEC).

Dla wybranych frakcji i preparatów wykonano tzw. analizę cukrową w celu określenia ich składu cukrowego. Otrzymane wyniki były typowe dla pektyn i wykazywały istotny udział kwasu galakturonowego (GalA), przy jednoczesnym zróżnicowanym udziale pozostałych monosacharydów. Próbkę poddano również analizie metodą spektroskopii w podczerwieni (ATR-FTIR). Zarejestrowane widma wykazywały obecność pasm charakterystycznych dla pektyn.

Dla preparatów zarejestrowano również widma NMR: ^1H , ^1H - ^{13}C HSQC, HSQC-TOCSY oraz HMBC. Na podstawie analizy tych widm oraz wyników analizy składu cukrowego zaproponowano możliwe struktury poszczególnych preparatów. Wymagają one jednak potwierdzenia z wykorzystaniem bardziej zaawansowanej analizy widm NMR, obejmującej również rejestrację dodatkowych eksperymentów, a także wyników analizy metylacyjnej, umożliwiającej określenie miejsc podstawienia poszczególnych monosacharydów.

Opis wyników w **Części doświadczalnej** został wzbogacony licznymi rysunkami, wykresami oraz tabelami, które w przejrzysty sposób ilustrują uzyskane rezultaty i znacząco ułatwiają zrozumienie całego procesu analitycznego. Tak obszerna część rozprawy świadczy o dużym nakładzie pracy włożonym przez Doktorantkę, czego odzwierciedleniem jest szeroki zakres przeprowadzonych badań oraz duża liczba uzyskanych wyników. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka konfrontuje uzyskane wyniki z aktualnymi doniesieniami literaturowymi. Takie podejście świadczy o dobrej znajomości realizowanej problematyki badawczej oraz umiejętności krytycznej analizy i interpretacji wyników. Podsumowując rozdział **Część doświadczalna** należy stwierdzić, że zdefiniowany cel badawczy został przez Doktorantkę zrealizowany.

W kolejnym rozdziale, **Podsumowanie**, Doktorantka przedstawia uzyskane wyniki badań w formie obszernego streszczenia. Rozdział ten zyskałby na wartości, gdyby obok syntetycznego podsumowania uzyskanych wyników zawierał również jednoznaczne wskazanie kluczowych osiągnięć naukowych wynikających z przeprowadzonych badań.

W rozdziale **Materiały i metody** Doktorantka wymieniła stosowaną podczas badań aparaturę oraz wykorzystane materiały i odczynniki, a następnie szczegółowo opisała przebieg przeprowadzonych eksperymentów. Opis metod wydaje się wystarczająco szczegółowy, dzięki czemu powtórzenie większości eksperymentów oraz odtworzenie uzyskanych wyników nie powinno stanowić problemu.

Kolejne części rozprawy doktorskiej zawierają zestawienie literatury (wykorzystanie blisko 300 pozycji literaturowych jest nie do przecenienia), 7 dodatkowych tabel m.in. z pasmami FT-IR charakterystycznymi dla wyizolowanych polisacharydów oraz zestawienie 50 rysunków i 40 tabel zamieszczonych w pracy.

Na końcu rozprawy umieszczono zestawienie dorobku naukowego Doktorantki. Mgr inż. Ewa Górka jest współautorką 3 artykułów opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR.

- Mazurek-Hołys, A., Górską, E., Tsirigotis-Maniecka, M., Bleha, R., Synytsya, A., Pawlaczyk-Graja, I. (2026). Evaluation of I-optimal and Box-Behnken designs for green extraction of pectins using NADES from carrot pomace. *Carbohydrate Polymers*, 373, 124581.
- Mazurek-Hołys, A., Górską, E., Tsirigotis-Maniecka, M., Zoumpanioti, M., Bleha, R., Pawlaczyk-Graja, I. (2025). Eco-Friendly Recovery of Homogalacturonan-Rich Pectin from Flaxseed Cake via NADES Extraction. *Polymers*, 18, 2532.
- Tsirigotis-Maniecka, M., Górską, E., Mazurek-Hołys, A., Pawlaczyk-Graja, I. (2024). Unlocking the Potential of Food Waste: A Review of Multifunctional Pectins. *Polymers*, 16, 2670.

Ponadto Kandydatka jest współautorką 2 materiałów konferencyjnych (tzw. conference proceedings) oraz 9 doniesień konferencyjnych (wystąpienie ustne lub poster) zaprezentowanych na krajowych i międzynarodowych sympozjach naukowych. Mgr inż. Ewa Górską była wykonawcą w projekcie NCN Preludium Bis 2 a także odbyła trzymiesięczny (01.03. – 01.06.2024) zagraniczny staż doktorski w Instytucie Chemii, Słowackiej Akademii Nauk w Bratysławie finansowany przez NAWA. W ramach stażu przeprowadzała analizy chromatograficzne oraz spektroskopowe wybranych produktów pektynowych pod opieką prof. Petera Capek’a i dr Zuzany Košťálovej.

Pod względem redakcyjnym rozprawa została przygotowana z dużą starannością i dbałością o szczegóły. Jednak bardzo duża liczba przedstawionych wyników oraz sposób ich opisu sprawiają, że niektóre fragmenty pracy są trudne w odbiorze. W tak obszernym dokumencie można dostrzec uchybienia językowe, stylistyczne czy edytorskie, ale w żaden sposób nie wpływają one na moją bardzo dobrą ocenę rozprawy. Mankamentem natury technicznej jest przygotowanie egzemplarza przeznaczonego dla recenzenta w formie druku jednostronnego.

Przedstawione wyniki badań oceniam jako wartościowe, wnoszące istotny wkład w rozwój podejmowanej problematyki badawczej oraz wykazujące potencjał aplikacyjny. W trakcie lektury rozprawy nasunęły mi się uwagi i spostrzeżenia, które przedstawiam poniżej.

1. Proszę o wyjaśnienie różnicy pomiędzy wyrażeniami: jednostka monosacharydowa, podjednostka cukrowa, jednostka sacharydowa i reszta cukrowa, a także reszta GaA, podjednostka GaA i monomer GaA.
2. s. 10, 15 i 151 (i w kilku innych miejscach) czy sformułowania „chromatografia podziałowa (GPC/SEC)” i „chromatografia podziałowa HPLC-SEC” są poprawne?
3. s. 13 „Budowa chemiczna polisacharydów charakteryzuje się wysokim stopniem skomplikowania”. Proszę o rozwinięcie tego zdania.
4. s.93 Czy nie należało ujednolicić sposób oznaczania polisacharydów wyizolowanych z wyłtoków porzeczek, żeby nie posługiwać się oznaczeniami 37-39, a podobnie jak dla pozostałych surowców P1-P3?

5. s. 124 „Na widmie ^1H NMR również można zauważyć wyraźny sygnał o przesunięciu δ 3,8 ppm, wskazujący na obecność grupy metoksylovej przy GaA dla produktu (38). Widmo frakcji (38-F1) nie posiadało tego sygnału, co zdaje się potwierdzać wcześniejsze wnioski wynikające z analizy FT-IR, które wskazywały na deestryfikację frakcji (38-F1).” Wydaje się, że widma protonowe na Ryc. 37 nie potwierdzają ww. wniosków. A na pewno nie można potwierdzić tych wniosków na podstawie sygnału przy 3,8 ppm.
6. s. 126 „Widma HSQC zarejestrowane dla (M2-F1), (T3-F1) i (R2-F1) prezentowały niewielkie ilości GaA występującego w pozycji niekońcowej oraz końcowej łańcucha polisacharydowego (GAb, GArad)...” Bardzo proszę o rozwinięcie tego bardzo ogólnikowego stwierdzenia.
7. s. 138 Trzy słowa (rozpoczęłam i 2 x przeprowadziłam) w **Podsumowaniu** oraz **Materiałach i metodach** sprowokowały mnie do zadania pytania. Jakie jest wyjaśnienie użycia formy osobowej tylko w tych trzech miejscach?
8. s. 143 Proszę o rozwinięcie fragmentu podsumowania: „Potwierdzenie struktury uzyskanych pektyn wymaga przeprowadzenia rozszerzonych analiz strukturalnych NMR zarówno dla produktów natywnych, jak i frakcji uzyskanych z wycieków owoców maliny, truskawki oraz rokitnika. Cenne rozwinięcie badań strukturalnych stanowiłaby metoda Hakomoriego, umożliwiającą określenie typu wiązań glikozydowych obecnych w glikanach, co dostarczyłoby dodatkowych informacji oraz umożliwiło pogłębienie interpretacji struktury badanych preparatów.”
9. s. 152 „Temperatura dozownika i pieca chromatograficznego wynosiła 240°C, a program temperaturowy przewidywał wzrost z 170 do 240°C...” - wydaje się, że podane informacje wykluczają się.
10. s. 152 „Analiza widm masowych...” - proponuję używać konsekwentnie „analiza widm mas”.
11. s. 152 „Preparat roślinny (~10 mg) dokładnie rozpuszczano” – czy konieczne jest użycie słowa „dokładnie” (również w kilku innych miejscach) w pracy? Czy to świadczy, że tylko określone czynności wykonano „dokładnie”?
12. W nawiązaniu do wcześniej sformułowanej uwagi - proszę o wskazanie 2-3 najważniejszych osiągnięć naukowych będących rezultatem zrealizowanej pracy doktorskiej.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że praca pod względem naukowym jest wartościowa, została dobrze zaplanowana i zrealizowana, wnosi oryginalny i istotny wkład do wiedzy na temat wpływu parametrów technologicznych procesu ekstrakcji na wydajność i właściwości fizykochemiczne pektyn wyodrębnionych z wycieków czarnej porzeczki, maliny właściwej, poziomki truskawki i rokitnika zwyczajnego. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością

piśmiennictwa, które jest na ogół prawidłowo wykorzystane. Bardzo sprawnie posługuje się metodami chemicznymi oraz technikami separacyjnymi i spektroskopowymi.

Reasumując, przedłożona do oceny praca doktorska spełnia ustawowe kryteria stawiane pracom doktorskim (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. z późniejszymi zmianami). **W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Ewy Górskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna.**

