

Lublin 11.02.2016

prof. dr hab. Waldemar Gustaw
Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Michała Pałysa
pt. „Mikrobiologiczna konwersja sacharydów do kwasu mlekowego przez nowo
wyzolowane szczepy grzybów z rodzaju *Rhizopus* ”

Wysokie koszty pozyskiwania paliw kopalnych w połączeniu z stopniowym wyczerpywaniem ich światowych zasobów oraz intensyfikacja działań mających na celu ochronę środowiska naturalnego wpłynęły na rozwój badań nad alternatywnymi źródłami materiałów polimerowych. Naukowcy z wielu ośrodków badawczych na całym świecie, dążą do opracowania technologii polimerów, które będą charakteryzować się właściwościami zbliżonymi do dotychczas znanych tworzyw sztucznych. Nowe materiały polimerowe powinny być jednocześnie łatwo biodegradowalne i otrzymywane ze źródeł odnawialnych. Taki przyjazny środowisku materiał rozwiąże problem przepełnionych wysypisk śmieci i powszechnego zanieczyszczenia otaczającego nas środowiska przez trudno rozkładalne opakowania z tworzyw sztucznych. Dodatkową zaletą nowych materiałów polimerowych może być wykorzystanie do ich produkcji tanich, często odpadowych, surowców pochodzenia roślinnego. Jednym z związków wykorzystywanych w produkcji nowych materiałów polimerowych jest kwas mlekowy. Kwas mlekowy to nie tylko składnik materiałów polimerowych ale przede wszystkim składnik naturalnie występujący w fermentowanej żywności oraz dodatek do żywności. Produkcja kwasu mlekowego metodą biotechnologiczną ciągle wrasta, a prognozy na kolejne lata wskazują że wzrost produkcji tą metodą będzie jeszcze bardziej dynamiczny. Praca Pana mgr inż. Michała Pałysa jest dobrym i trafnym przykładem wpisania się w ten nurt badań.

Przedstawiona do oceny rozprawa naukowa obejmuje 230 stron i składa się ze wstępu, 7 rozdziałów, streszczenia w języku polskim i angielskim, spisu tabel i rysunków.

W bardzo obszernym rozdziale liczącym 45 stron, zatytułowanym Przegląd Piśmiennictwa, Autor zawarł informacje o syntezie kwasu mlekowego, jego charakterystykę i zastosowanie. Szczegółowo opisał, w następnym podrozdziale, grzyby z rodzaju *Rhizopus*, wykorzystanie ich w procesach biotechnologicznych jak również ich działanie szkodliwe np. na przechowywaną żywność, czy też chorobotwórcze na organizm człowieka. Doktorant opisał biochemizm produkcji kwasu mlekowego i innych metabolitów przez grzyby z rodzaju *Rhizopus* oraz wpływ takich czynników na wydajność tego procesu jak: zróżnicowanie genetyczne grzybów i skład podłoża a przede wszystkim źródła węgla i azotu. Zebrał informacje z najnowszej literatury światowej o wykorzystaniu odpadów organicznych i ubocznych w produkcji kwasu mlekowego. W kolejnym podrozdziale Autor opisał wpływ warunków hodowli takich jak: odczyn środowiska, wielkość zastosowanego inokulum, intensywności napowietrzania i temperatury, metod immobilizacji na produkcję kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*.

Rozdział ten przygotowano w oparciu o bardzo liczne pozycje literatury, w zdecydowanej większości opublikowane w ostatnich latach w indeksowanych czasopismach zagranicznych. Rozdział „Przegląd Piśmiennictwa” jest dobrym wprowadzeniem w tematykę podjętą w części doświadczalnej pracy doktorskiej.

W rozdziale obejmującym przegląd piśmiennictwa recenzent stwierdził następujące niedociągnięcia:

- rys. 3 str. 20, został wstawiony w oryginalnej anglojęzycznej wersji, a zastosowanie zbyt małego powiększenia sprawia, że jest nieczytelny,
- różne źródło literaturowe podane przy zamieszczonym rysunku (rys. 3, str. 20) a inne przy jego opisie w tekście (str. 19),
- rys 6, str. 29 – mało czytelny, zbyt mała czcionka,
- w opisie ziemniaka jako surowca wykorzystywanego w biokonwersji do kwasu mlekowego (str. 35), Autor zacytował artykuł dotyczący kukurydzy,
- jakie odpady Autor miał na myśli stosując określenie „nabiałowe” – str. 41,
- niepoprawne sformułowanie „w podłożu 50 g/L”,
- niepoprawne cytowanie pracy Yen i wsp. (2010) str. 47, któremu można podporządkować różne pozycje w spisie literatury,
- niezgodność w nazwisku jednego z autorów (Hamamci i Ryu 1994, str. 54), pomiędzy cytowaniem a spisem piśmiennictwa

W rozdziale „Hipoteza i Cel Pracy” Doktorant przedstawił hipotezę o możliwości wyizolowania grzybów z rodzaju *Rhizopus* z terenów Lubelszczyzny, które będą charakteryzowały się wysokimi uzdolnieniami w produkcji kwasu mlekowego. Natomiast celem badań, była selekcja najlepszych szczepów, znajdujących się w kolekcji Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, pod względem wydajności produkcji kwasu mlekowego a następnie optymalizacja składu podłoża i warunków hodowli, W opinii recenzenta rozdział ten został napisany poprawnie. \

W rozdziale „Materiały i metody badań” Doktorant opisała materiał badawczy oraz zastosowane metody analityczne. Na podkreślenie zasługuje fakt, że mgr inż. Michał Pałys wykorzystał w trakcie wykonywania pracy doktorskiej szerokie spektrum nowoczesnych metod badawczych, które staranie opisał. Uzyskane wyniki Autor poddał analizie statystycznej.

Podczas pisania tego rozdziału, nie ustrzegł się jednak drobnych błędów:

- charakterystyka surowców i produktów ubocznych według opinii recenzenta zbyt ogólna,
- brak informacji o źródle pochodzenia surowców jak również składu wykorzystanych w pracy produktów takich jak soki czy syrop pszeniczny (Tabela 2, str. 64),
- w tabeli 2 podano, że wykorzystano jabłka odmiany Golden, natomiast w podrozdziale 4.2.1.4 jabłka odmiany Rubin,
- skład wykorzystanych podłoży podano bardzo dokładnie, wielokrotnie powtarzając te same informacje, według recenzenta można zmniejszyć objętość tej części pracy, zamieszczając tylko informacje o różnicach pomiędzy poszczególnymi podłożami (Tabele 6, 10, 11),
- brak w spisie literatury pozycji Nakamura i wsp. (1997) cytowanej na stronie 76.

Główną część rozprawy doktorskiej Autor podzielił na dwa rozdziały „Wyniki Badań” oraz „Dyskusja”. Rozdział „Wyniki Badań” podzielono na podrozdziały zgodnie z kolejno stosowanymi metodami badawczymi. Na 95 stronach Autor szczegółowo opisał uzyskane wyniki i udokumentował je licznymi tabelami i wykresami. Doktorant po przeprowadzeniu wstępnej selekcji testowanych szczepów *Rhizopus oryzae*, wybrał 16 produkujących kwas mlekowy. W kolejnym etapie sprawdził zdolności wybranych szczepów do wytwarzania kwasu mlekowego na podłożach z dodatkiem sacharydów prostych i złożonych. Na podstawie otrzymanych wyników, Doktorant wybrał trzy, jego zdaniem najlepsze szczepy. W dalszych etapach badań, przeprowadził optymalizację składu podłoża hodowlanego jak również warunków hodowli w celu uzyskania najwyższej wydajności produkcji kwasu mlekowego przez wybrane szczepy. W mojej opinii najciekawsze wyniki jakie uzyskał Doktorant dotyczą

wykorzystania hydrolizatów surowców rolniczych jako źródła węgla w prowadzonych hodowlach. Uzyskane obiecujące wydajności produkcji kwasu mlekowego przez badane szczepy *Rhizopus oryzae*, dają perspektywy na wykorzystanie surowców rolniczych w biotechnologicznej produkcji kwasu mlekowego na skalę przemysłową.

Podsumowując ocenę rozdziału pt. „Wyniki Badań”, należy zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia.

- Doktorant niepotrzebnie dublował część wyników przedstawiając je w formie graficznej i tabelach np. rys. 14 -16 i tabela 19.

- W opinii recenzenta zabrakło analizy jakościowej i ilościowej cukrów prostych w zastosowanych surowcach roślinnych, co mogło wyjaśnić dlaczego np. zastosowany sok winogronowy był tak dobrym substratem do produkcji kwasu mlekowego.

- W podrozdziale 5.2.4. omawiającym dynamikę produkcji kwasu mlekowego w zależności od zastosowanego źródła węgla zabrakło analizy statystycznej wyników prezentowanych na rys od 26 do 28, co ułatwiłoby Autorowi interpretację uzyskanych wyników.

- Niefortunne użycie sformułowania „lepsze sacharydy” na stronie 90,

- W podrozdziale 5.3.1. wśród substratów dających najwyższe stężenia kwasu mlekowego, Autor wymienia jabłka, zamiast hydrolizatu jabłkowego (str. 119).

Dyskusję wyników Autor przeprowadził na 21 stronach, co wymagało gruntownego przestudiowania literatury naukowej, jak również wskazuje na opanowanie sztuki pisania prac naukowych. Doktorant dobrze poradził sobie z przeprowadzeniem dyskusji wyników otrzymanych z wielu złożonych doświadczeń badawczych. Pewnym niedociągnięciem w tym rozdziale jest opisywanie w niektórych przypadkach, najpierw wyników uzyskanych przez innych naukowców a następnie porównywanie ich z wynikami uzyskanymi przez Doktoranta.

W końcowej części rozprawy Doktorant przedstawił 12 szczegółowych stwierdzeń i wniosków dotyczących najważniejszych wyników uzyskanych w pracy. Stwierdzenia i wnioski zostały prawidłowo sformułowane i wypuklają najważniejsze wyniki uzyskane w pracy.

Ostatni (poza spisem tabel i rysunków) rozdział to poprawnie przygotowany spis literatury, obejmujący 162 pozycje. W zdecydowanej większości cytowane pozycje to artykuły anglojęzyczne z ostatnich lat, bezpośrednio powiązane z tematyką pracy doktorskiej. Rozdział ten wymaga pewnego uzupełnienia o publikacje, które nie zostały w nim uwzględnione a wykorzystane podczas pisania rozprawy doktorskiej. W dwóch pozycjach literaturowych Doktorant nie podał zakresu stron jakie obejmuje publikacja (pozycje 16 i 27).

Podsumowanie

Oceniając merytorycznie przedłożoną do recenzji pracę doktorską mgr inż. Michała Pałysa stwierdzam, że Autor wykazał się dobrą znajomością podjętej tematyki badań. Poprawnie zaplanował i wykonał doświadczenia, wykazując się umiejętnością posługiwania szerokim spektrum aparatury badawczej, uzyskując wartościowe wyniki.

Otrzymane przez mgr inż. Michała Pałysa wyniki mogą mieć znaczenie naukowe, jak i praktyczne. Wymienione w recenzji uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej, a jedynie wskazują niedociągnięcia, które należałoby skorygować w przygotowywaniu pracy do druku. Uważam, że będąca przedmiotem oceny rozprawa Pana mgr inż. Michała Pałysa pt. „Mikrobiologiczna konwersja sacharydów do kwasu mlekowego przez nowo wyizolowane szczepy grzybów z rodzaju *Rhizopus*” przygotowana pod opieką promotorską prof. dr hab. Zdzisława Targońskiego, spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zawarte w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595, z późn. zm.). Dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Żywności Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lubinie wniosek o dopuszczenie Pana mgr inż. Michała Pałysa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Waldemar Gustaw

