



Prof. dr hab. Antoni Szumny

Wrocław, 2023-09-24

Recenzja Rozprawy Doktorskiej
Pani mgr inż. Kamili Szudery-Kończal pt.:

„Wykorzystanie pleśni Galactomyces geotrichum do otrzymywania kompozycji aromatycznych z maślanki i serwatki. Charakterystyka związków aktywnych zapachowo w oparciu o podejście sensomiczne”

wykonanej w Pracowni Badania Związków Lotnych i Aktywnych Sensorycznie Katedry Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

promotor prof. dr hab. Małgorzata Anna Majcher

Uwagi ogólne na temat przedstawiony w dysertacji

Tematyka kształtowania i analizy profilu jakościowego i ilościowego związków lotnych, kształtujących profil zapachowy produktów spożywczych jest przedmiotem co najmniej kilkuset (wg bazy Scholar) publikacji rocznie. Szczegółowa identyfikacja składu jest dzisiaj rutynowym elementem analiz jakościowych nie tylko w laboratoriach badawczych, ale też i działów kontroli jakości firm zajmujących się produkcją opartą na surowcach olejkowych. Coraz lepsze bazy danych, algorytmizacja analiz poprzez zastosowanie stosownych oprogramowań, dostępność wielu wzorców powoduje że skład jakościowy i ilościowy związków lotnych jest z pozoru możliwy do niemal natychmiastowego określenia, w ramach rutynowych prac badawczych. Jednak jak prowadzi dogłębna lektura publikacji z tego obszaru, większość prac z obszaru analityki związków aromatycznych jest oparta na metodach „półilościowych”. Jednocześnie do rzadkości należy połączenie pełnej analizy ilościowej opartej na izotopowych standardach w podejściem sensomicznym. Co istotne, badania łączące porównanie frakcji, otrzymywanych poprzez technikę destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem oraz mikroekstrakcje do fazy nadpowierzchniowej ze względu na ich wysoki stopień skomplikowania niezbyt często znajdują



odzwierciedlenie w postaci opublikowanych prac. Tematyka kształtowania aromatów z maślanki oraz serwatki słodkiej i kwaśnej, przy wykorzystaniu pleśni *Galactomyces geotrichum* nie była przedmiotem dotychczasowych badań. Doktorantka podjęła się uzupełnienia powyższej luki w sposób kompleksowy, stosując wymienione powyżej podejścia. Z tego powodu uznaję wybór tematyki dysertacji - przez jeden z największych krajowych autorytetów w obszarze badań ilościowych aromatów produktów spożywczych - prof. Małgorzatę Majcher i jego realizację przez Doktorantkę za wszech miar słuszny.

Ocena celu pracy i metodologii badań, służących rozwiązaniu podjętych problemów i wyników

W przedstawionej dysertacji składającej się z cyklu 3 powiązanych tematycznie publikacji Autorka podjęła się uzupełnienia stanu wiedzy w podejściu sensomicznym maślanki oraz serwatki słodkiej i kwaśnej. Autorka zaplanowała następujące etapy pracy:

- a) selekcję niemal 40 szczepów *G. geotrichum* w celu otrzymania takiego, o największej efektywności produkcji aldehydu fenylooctowego w stosunku do 2-fenyloetanou;
- b) optymalizację procesów fermentacji w tym dobór cukru w pożywce, temperatury, pH podłoża, LAB w kierunku otrzymania kompozycji o zapachu miodowo-różano-owocowym;
- c) określenie wpływu podłoża na profil sensoryczny oraz skład związków zapachowych;
- d) identyfikację związków aktywnych zapachowo w otrzymanych kompozycjach, przy wykorzystaniu podejścia sensomicznego z zastosowaniem techniki SAFE, HS-SPME i GC-O;
- e) profilową analizę sensoryczną otrzymanych kompozycji zapachowych.

Stwierdzam, że wszystkie postawione przed sobą cele badawcze zostały przez Doktorantkę całkowicie zrealizowane.

Świadczy to nie tylko o bardzo dobrze zorganizowanym warsztacie badawczym, ale też o wielkim nakładzie pracy eksperymentalnej, którą Autorka wymienionej dysertacji musiała



wykonać. Przy tak licznej grupie badawczej oraz wykonanych powtórzeniach, szacowana przeze mnie ilość analiz chromatograficznych (GC-MS) prezentowanych w dysertacji wynosi kilkaset, więc czas włożony w precyzyjną i szczegółową interpretację musiał być naprawdę olbrzymi. Nawet dla piszącego te słowa jedna tylko przedstawiona w części doświadczalnej tabela ze składem to niekiedy nawet kilka dni pracy. Z wielkim uznaniem podkreślam tu precyzję wykonanych pomiarów, o czym świadczą m.in. zaprezentowane w publikacjach odchylenia standardowe w oznaczeniach ilościowych.

Metodyka analityczna stosowana w trakcie realizacji pracy doktorskiej była ponadstandardowa dla tego typu badań. Pani Kamila Szudera-Kończal posłużyła się techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem masowym (GC-MS) w tym dwuwymiarowym w technice *time of flight*. Do rozdziału została wybrana kolumna niepolarna domieszkowana SPB-5 lub HP-5 oraz polarna Supelcowax. Co bardzo istotne, oznaczenie ilościowe frakcji aromatycznych było oparte o standardy znakowane izotopowo, co nie pozostawia wątpliwości do rzetelności otrzymanych wyników, w przeciwieństwie do innych oznaczeń wykonywanych np. z jednym wzorcem wewnętrznym. Wyniki badań zostały przedstawione w 3 publikacjach w czasopiśmie o zarówno wysokim współczynniku wpływu jak i punktach Ministerstwa Edukacji i Nauki. Wymienione publikacje to:

PI. Szudera-Kończal, K., Myszka, K., Kubiak, P. and Majcher, M.A., 2020. The use of sour and sweet whey in producing compositions with pleasant aromas using the mold galactomyces geotrichum: identification of key odorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), pp.10799-10807;

PII. Szudera-Kończal, K., Myszka, K., Kubiak, P. and Majcher, M.A., 2021. Analysis of the ability to produce pleasant aromas on sour whey and buttermilk by-products by mold *Galactomyces geotrichum*: Identification of key odorants. *Molecules*, 26(20), p.6239.

oraz



PIII. Szudera-Kończal, K., Mysza, K., Kubiak, P., Drabińska, N. and Majcher, M.A., 2023. The Combined Effect of Lactic Acid Bacteria and *Galactomyces geotrichum* Fermentation on the Aroma Composition of Sour Whey. *Molecules*, 28(11), p.4308.

Publikacje te stanowią zwarty, logiczny ciąg badań nad zagadnieniami sensorycznego podejścia do aromatów maślanki i serwatki z zastosowaniem szczepu *G. geotrichum*.

Moje drobne uwagi i wątpliwości odnoszą się np. do następujących fragmentów:

- a) Dlaczego w publikacji nr **I** *The Use of Sour and Sweet Whey in Producing Compositions with Pleasant Aromas Using the Mold Galactomyces geotrichum: Identification of Key Odorants* do kwantyfikacji kwasu fenylooctowego zdecydowała się zastosować Doktorantka znakowany fenyloetanol?
- b) Dlaczego w **PI** do kwantyfikacji kwasu fenylooctowego wybrany został jon 136 a nie 91, biorąc pod uwagę rozpad MS? Podobne pytanie nasuwa się też dla 2-fenyloetanolu?
- c) Dlaczego w **PI** został wybrany znakowany naftalen, w procesie ekstrakcji?
- d) Czy w **PI** wśród związków wymienionych w **Tabeli 2** był również obecny mono- i disiarczek metylu, często towarzyszący trisiarczce? Pojawiają się one w **PII**.
- e) Skąd taka rozbieżność (o niemal 14 jednostek) w RI trisiarczku dimetylu na kolumnie niepolarniej 985 vs 971 wg NIST?
- f) W Tabeli 2 **PI** popełniono zabawne błędy edytorskie w oznaczaniu indeksów retencji;
- g) Z czego wynika tak duża (rzędu 121 mg/kg) zawartość 3-metylo-1-butanolu? W dyskusji przytoczono jedynie przykład sosu sojowego zawierającego wolne aminokwasy.
- h) Jak można wyjaśnić rozbieżność o wartość niemal 20 literaturowego indeksu retencji furaneolu (1070 wg NIST vs 1090) w **PII**? Podobnie jak innych związków, np. kwasu izowalerianowego;
- i) Dlaczego do oznaczeń ilościowych *E-2-nonenalu* (**PII, Tabela 2**) wzięto jon 140 (będący wg NIST niemal śladowo obecny na widmie EI-MS?);
- j) Podana w **PIII Tabela 1**, wartość OT kwasu fenylooctowego w wodzie wynosi 68 µg/kg, podczas gdy w **Tabeli 2 PI** aż 1.000 µg/kg. Dlaczego jest aż taka rozbieżność?



- k) Literaturowy indeks retencji na kolumnie niepolarniej wg NIST dimetylosulfonu wynosi 922, podczas gdy przedstawiony w Tabeli 1 PII 959. Skąd aż taka duża rozbieżność? Czy jest możliwe, żeby opisywanym związkiem był zamiast dimetylosulfonu trisiarczek dimetylu o indeksie 970, choć różnica widm EI-MS jest tu całkiem spora?
- l) Jaki był LOD dla estru metyloвого kwasu dekanowego?
- m) Piszący te słowa używał 2,3-butandienol i jest to niemal bezwonna substancja w porównaniu do np. 2-fenylloetanolu czy estru metyloвого kwasu oktanowego. Czy faktycznie OT, podany w **PIII Tabela 1** może być bliski tym dwóm wymienionym związkom?

Opisane powyższe wątpliwości nie powinny wpłynąć na bardzo pozytywny odbiór ocenianej dysertacji. W mojej ocenie przedstawione w niej wyniki oceniam bardzo dobrze i są wręcz wzorcem do naśladowania przez przyszłych badaczy z obszaru chemii aromatów produktów spożywczych.

Techniczna i edytorska ocena rozprawy

Przedstawiona dysertacja posiada typową strukturę. Składa się ze 36 numerowanych stron – przewodnika po załączonych publikacjach i samych publikacji. Pierwsza część – *Wstęp* wprowadza czytelnika w zagadnienia opisane w dysertacji. Jest to według mojej opinii dobra część pracy. Autorka wprowadziła czytelnika w zagadnienia poruszane w trakcie realizacji pracy doktorskiej. Została opisana tematyka sensomicznego podejścia do analizy aromatów. Część *Cel pracy* został zarysowany klarownie, czytelnik nie ma wątpliwości co do zamierzeń, jakie Doktorantka obrała. Część *Hipotezy badawcze* przedstawia słuszne najważniejsze założenie dysertacji, tj. że istnieje możliwość sterowania jakością aromatu za pomocą składników m.in. składników pożywki i składem podłoża. *Metodyka badań* oraz *Omówienie wyników* jest syntetycznym przedstawieniem stosownych części cyklu publikacyjnego. *Podsumowanie i wnioski* stanowią zestawienie 7 kluczowych rezultatów badań otrzymanych w trakcie realizacji doktoratu.



Wnioski końcowe

Wymienione powyżej drobne uwagi krytyczne i edytorskie niedociągnięcia mają charakter marginalny i nie wpływają na wysoką jakość przedstawionej do recenzji pracy. Bardzo dobrze zaplanowany cel pracy został **zrealizowany**, a przedstawione wyniki nie budzą wątpliwości.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Kamili Szudery-Kończal posiada **niebagatelną wartość merytoryczną** zawiera bogaty materiał badawczy i metodologiczny w obszarze analizy aromatów żywności. Uzupełnia dotychczasową lukę poznawczą aromatów maślanki i serwatki jak również skutecznie udowadnia możliwość jego kształtowania.

W mojej opinii dysertacja **spełnia** wszelkie kryteria **ustawowe i zwyczajowe** stawiane rozprawom doktorskim i z pełnym przekonaniem składam do Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Pani prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej wniosek o **dopuszczenie rozprawy** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, za realizację kompleksowego sensomicznego podejścia do analizy aromatów badanych produktów, jak również za pierwsze na świecie w pełni ilościowe oznaczenie kluczowych składników związków aromatycznych maślanki i serwatki wnoszę o **wyróżnienie dysertacji**.