

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr inż. **Aleksandry Majkowskiej**, zatytułowanej:
**„Wykorzystanie cyfrowej analizy obrazu do szacowania zawartości
związków fenolowych w ziarnach pszenicy zwyczajnej”**,
wykonanej w Katedrze Towaroznawstwa i Badań Żywności na Wydziale Nauki o Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

1. Wprowadzenie

Przetwory zbożowe, mimo zauważalnego w ostatnich latach spadku spożycia, są i nadal pozostaną podstawowym produktem konsumpcyjnym naszego społeczeństwa. Dostarczają naszemu organizmowi wielu cennych składników żywieniowych, takich jak błonnik, wysokocząsteczkowe węglowodany, białka o określonym składzie aminokwasowym, witaminy z grupy B czy sole mineralne. Prowadzona od dłuższego już czasu kampania żywieniowa sprawia, że w obrębie tej grupy produktów coraz większy udział w naszej konsumpcji mają produkty pełnoziarnowe. One też, obok aktywności fizycznej, stanowią podstawę piramidy racjonalnego żywienia zdrowego człowieka.

Współcześni konsumenci produktów zbożowych zdają sobie sprawę, że znaczącą rolę w diecie odgrywają również i te składniki zbóż, które nie występują w ziarnie w dużej koncentracji, ale ze względu na powszechność spożycia stanowią poważne źródło substancji bioaktywnych, niezbędnych do prawidłowego metabolizmu naszego organizmu. Należą do nich, między innymi, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe oraz polifenole. Te ostatnie kształtują poziom potencjału antyoksydacyjnego i są istotnym elementem ochrony organizmu przed wolnymi rodnikami w przemianach międzykomórkowych.

W Polsce aktualnie uprawia się kilkadziesiąt odmian pszenicy jarej i ozimej. Odmiany te różnią się nie tylko pod względem rolniczym: plennością, odpornością na różnego rodzaju zagrożenia środowiskowe, ale i cechami technologicznymi, w tym i barwą ziarna, która w znaczącym stopniu wynika z obecności w okrywie owocowo-nasiennej określonych substancji barwnych, głównie ksantofili i polifenoli. W praktyce przemysłowej: obrocie handlowym i przetwórstwie operuje się jednak najczęściej partiami ziarna nie oznaczonymi odmianowo, partiami, których cechy są wypadkową obecnych w nich odmian pszenicy oraz warunków środowiskowych ich uprawy. Wyselekcjonowanie odmian w hodowli a w przetwórstwie partii ziarna bogatych w polifenole wymaga zastosowania uciążliwych,

czasochłonnych i kosztownych metod analitycznych. Z tego też względu wszelkie działania zmierzające do znalezienia szybkiej, prostej i nie niszczącej materiału metody oceny zawartości polifenoli w ziarnie pszenicy, mogącej zastąpić metody obecnie stosowane zasługują na uznanie. Jedną z tych metod mogłaby być cyfrowa analiza obrazu. Wprowadzenie jej wymaga jednak przeprowadzenia licznych i rozbudowanych badań mogących jednoznacznie określić jej przydatność lub też nie. Dlatego praca mgr inż. Aleksandry Majkowskiej dotycząca możliwości wykorzystania tej metody do szacowania zawartości związków fenolowych w ziarnach pszenicy zwyczajnej ma nie tylko aspekt poznawczy ale i potencjalnie aplikacyjny i z tego też względu jej podjęcie jest w pełni uzasadnione.

2. Ogólna charakterystyka ocenianej pracy

Oceniana rozprawa liczy ogółem 110 stron, w tym 17 tabel oraz 61 rysunków. Zawiera ponadto aneks z 7 załącznikami w których zawarte są wyniki pomiarów roboczych odczytów barwy oraz ich statystyczna analiza. Spis literatury obejmuje 163 pozycje. Większość pozycji bibliograficznych pochodzi z lat powyżej 2000 roku. Doktorantka przywołuje także cztery strony internetowe z danymi statystycznymi oraz modelami barwy.

Praca została podzielona na 7 zasadniczych rozdziałów. Układ pracy jest przejrzysty a umieszczony na początku opracowania spis treści ułatwia orientację i szybkie dotarcie do zagadnień zawartych w poszczególnych rozdziałach. Proporcje rozdziałów są racjonalne: Wstęp i przegląd literatury zajmują 28 stron, po których zostaje sformułowana hipoteza badawcza i sposób jej weryfikacji. W kolejnym rozdziale na 17 stronach Autorka opisuje materiał badawczy i zastosowane w pracy metody. Omówienie i dyskusja uzyskanych w trakcie pracy wyników zajmują 43 strony, po których następuje jednostronicowe podsumowanie a następnie zostają sformułowane 3 wnioski. Całość zamyka krótkie, jednostronicowe streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca jest zredagowana starannie, napisana poprawnym językiem, wskazuje na dobrą orientację Doktorantki w obszarze poruszanych zagadnień.

3. Ocena merytoryczna pracy

Zarówno wstęp jak i przegląd piśmiennictwa dobrze wprowadzają w problematykę podjętej pracy doktorskiej. W tej części pracy Autorka nawiązuje do roli, jaką odgrywa uprawa pszenicy w skali świata i w Polsce, opisuje aspekty rolnicze jej uprawy i kryteria jej oceny jakościowej jako surowca w przemyśle spożywczym. Znaczącą część tego opracowania zajmuje opis składników ziarna kształtujących właściwości odżywcze pszenicy zwyczajnej. Szczególną uwagę Doktorantka poświęca związkom fenolowym: ich budowie,

podziałowi, funkcji jaką pełnią w roślinach, ich roli oraz mechanizmach prozdrowotnego oddziaływania na organizm człowieka. W dalszej części przeglądu literatury nawiązuje do związków fenolowych występujących w pszenicy oraz metodach ich oznaczania.

Oddzielną część przeglądu literatury Doktorantka poświęca cyfrowej analizie obrazu oraz możliwościom jej wykorzystania w przemyśle spożywczym.

Ostatnia część przeglądu literatury poświęcona jest zagadnieniom barwy, modelom umożliwiającym jej liczbowe wyrażenie i możliwościom ich wykorzystania w ocenie żywności.

W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Autorka formułuje hipotezę badawczą, cel pracy i zadania badawcze. Postawione w pracy zadania wykonuje na właściwie dobranym materiale, jakim jest ziarno pięciu odmian pszenicy jarej oraz pięciu pszenicy ozimej uprawiane w latach 2014 i 2015 i pochodzące z ZHR Danko i Smolice. Dobór materiału badawczego jest odpowiedni, daje szansę na uzyskanie zróżnicowanego materiału nie tylko odmianowo, ale także, dzięki powtórzeniom badań w kolejnych dwóch latach, i środowiskowo.

Racjonalnie w stosunku do zamierzonego celu dobrane są także metody badań, obejmujące charakterystykę towaroznawczą ziarna, kolorymetryczne oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych oraz chromatograficzne, metodą HPLC, oznaczenie wybranych kwasów: wanilinowego, kumarowego, syryngowego i ferulowego. Barwę ziarniaków oznaczono metodą cyfrowej analizy obrazu i wyrażono ją liczbowo w oparciu o dwa modele: RGB oraz HSI. Przy okazji wykonano także analizę wymiarów geometrycznych ziarniaków. W celu weryfikacji i obiektywizacji wyniki poddano analizie statystycznej, obejmującej test Duncana do wyceny istotności różnicy pomiędzy średnimi oraz analizę korelacji i regresji.

Wyniki badań zebrane w tabelach i zilustrowane wykresami zostały interesująco opisane i przedyskutowane. Wśród wielu wątków badawczych poruszanych przez Autorkę i rozszerzających w danym temacie wiedzę, moim zdaniem na uwagę zasługuje wykazanie, iż mimo pewnego zróżnicowania w przypadku form jarych i ozimych istnieje związek pomiędzy barwą ziarna pszenicy zwyczajnej a ogólną zawartością związków fenolowych. Ważnym stwierdzeniem Autorki jest także wykazanie różnokierunkowości oddziaływania poszczególnych kwasów fenolowych na barwę, w efekcie czego w zależności od obecności określonych związków fenolowych w pszenicy zwyczajnej barwa jej ziarniaków może być jaśniejsza lub ciemniejsza. W modelu barwy RGB składowa B, a w zmodyfikowanym przez Autorkę modelu HSI składowa S wykazuje statystycznie istotny związek z ogólną zawartością związków fenolowych.

Omówienie i dyskusja wyników zwieńczona została podsumowaniem, która jest syntezą ułatwiającą wyrobienie czytelnikowi poglądu na bilans korzystnych i ujemnych aspektów

zależności pomiędzy zawartością związków fenolowych a barwą ziarna pszenicy. Praca kończy się trzema wnioskami, które ściśle wiążą się z uzyskanymi w pracy wynikami.

4. Uwagi dyskusyjne i wymagające wyjaśnienia:

Z nałożonego na mnie obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na niektóre elementy pracy, które wymagają bardziej szczegółowego wyjaśnienia, poddać dyskusji niektóre wątpliwości, które nasunęły się podczas jej lektury, i które warto wyjaśnić podczas publicznej obrony.

- Barwa jest wartością fizyczną, dlatego istnieją algorytmy umożliwiające przeliczenie wyników z jednego modelu na inny, jak np. z modelu RGB na HSI, czy powszechnie stosowany układ L, a^*, b^* , XYZ, itp. Dlaczego Autorka nie pokusiła się o przeprogramowanie wyników cyfrowej analizy obrazu tak, aby w modelu HSI składowa nasycenia barwy S mieściła się w przedziale 0-100%, jak to ma miejsce w klasycznym modelu? W prezentowanym w pracy zapisie nasycenie barwy S przekracza wartość stu jednostek co jest trochę kuriozalne i nie daje możliwości porównania z wynikami innych badaczy ani innymi modelami barwy. Mam też pewne wątpliwości, czy w takim przypadku można powoływać się na model HSI.
- W związku z powyższą uwagą proponuję, aby w opisie rys. 29 i 30 zmienić zapis na: „.....przy użyciu **zmodyfikowanego** modelu HSI...”.
- Jak wytłumaczyć fakt, że na rysunkach 19 oraz 21 (str. 66-68) średnia zawartość kwasu syringowego jest wyższa i to znacznie od ogólnej zawartości związków fenolowych, w których kwas syringowy także się mieści. Na rysunku 20 (str. 67) z kolei suma wszystkich najważniejszych, zdaniem Autorki, kwasów fenolowych, szczególnie w przypadku odmiany Struna, czy Wydma nie stanowi nawet połowy zawartości związków fenolowych ogółem, podczas, gdy w przypadku odmiany Arabella znacznie ją przekracza. Szkoda, że Autorka nie zaznaczyła na słupkach wartości odchylenia standardowego, jak to zazwyczaj się robi.
- Jak na str. 70 wskazuje Doktorantka, dotychczasowe badania związków fenolowych prowadzone przez różne zespoły badawcze w kraju i za granicą wyraźnie wskazywały, że podstawowym kwasem fenolowym w przypadku pszenicy jest kwas ferulowy. Pozostałe kwasy, jak kumarowy czy syringowy występują w zdecydowanie mniejszej ilości, natomiast Autorka w pracy zdecydowanie wskazuje na dominującą zawartość kwasu syringowego. Dlaczego nie zostały, chociażby w załącznikach, zamieszczone chromatogramy, na podstawie których można byłoby ustosunkować się do tych rozbieżności i jak je wytłumaczyć ?
- Jak podaje Autorka, ... „dla lepszego zobrazowania zależności przedstawiono je również w postaci graficznej (rys. 51-61, str. 93-95)”. Przyglądając się rys. 53, 59 i 60

nie przekonują one, iż korelacja jest na tak wysokim poziomie ($r = 0,89$ do $0,99$). Wydaje się, że byłoby lepiej, gdyby wykreślić zależności korelacyjne w układzie współrzędnych prostokątnych, gdzie na osi x można byłoby przyjąć skalę wartości właściwą dla poziomu zawartości określonego kwasu, a na osi y wartość składowej barwy. Przyjmowanie jednej skali dla dwóch tych wyróżników, które różnią się rzędem wielkości prowadzi do spłaszczenia odczytu wyniku, a na pewno nie do lepszego zobrazowania.

- Jak można wytłumaczyć zmienność w zawartości kwasów fenolowych w pszenicy z rocznika 2014 i 2015; np. zawartość kwasu wanilinowego w roku 2014 była na poziomie 0,4 – 1,5 mg/100g a w 2015 od 9 do 28 mg/100g (rys. 19-20, str. 66-67)?
- W pracy, która jest obszerna, z powodzeniem można pominąć aspekt analizy parametrów geometrycznych ziarniaków (str. 57-63), gdyż nie ma on przyczynowo-skutkowego związku z tematem pracy, którym jest zależność barwy od zawartości związków fenolowych.

Jak już wspomniałam, powyższe zapytania i uwagi dyskusyjne mają na celu rozwianie pewnych nieudomówień, które zazwyczaj w tego typu opracowaniach mogą mieć miejsce i nie umniejszają wartości pracy, a mam nadzieję, że podczas obrony pracy zostaną satysfakcjonująco wyjaśnione.

5. Podsumowanie

Podsumowując swoją ocenę stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Aleksandry Majkowskiej, zatytułowana: „Wykorzystanie cyfrowej analizy obrazu do szacowania zawartości związków fenolowych w ziarnach pszenicy zwyczajnej”, rozszerza informacje o możliwości wykorzystania cyfrowej analizy obrazu do oceny ogólnej zawartości w ziarnie pszenicy związków fenolowych i stanowi wartościowy przyczynek do wykorzystywania metod kolorymetrii odbiciowej barwy ziarniaków w prognozowaniu zawartości w ich okrywie określonych związków barwnych. Wymienione przeze mnie pytania i uwagi mają charakter dyskusyjny i nie umniejszają wartości naukowej i użytecznej pracy. Recenzowana praca spełnia warunki Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym. Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr inż. Aleksandry Majkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Małgorzata Majcher

dr hab. Małgorzata Majcher