

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Majkowskiej pt.: "Wykorzystanie cyfrowej analizy obrazu do szacowania zawartości związków fenolowych w ziarnach pszenicy zwyczajnej" wykonanej w Katedrze Towaroznawstwa i Badań Żywności UWM w Olsztynie pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety Gujskiej (promotor główny) i dr hab. inż. Joanny Klepackiej (promotor pomocniczy).

W dążeniu do jak najpełniejszej, skutecznej i szybkiej oceny surowców i produktów żywnościowych, przekładającej się na jakość i większą akceptację konsumentką a także jakość prozdrowotną wyrobów gotowych wprowadza się metody analityczne, charakteryzujące się nowym konceptem, szybkością wykonania i wiarygodnością. Przedstawiona do oceny praca podejmuje zagadnienia związane z jednej strony z poszukiwaniem i charakterystyką nowych odmian pszenicy o podwyższonej wartości prozdrowotnej mierzonej ilością polifenoli, z drugiej – opracowaniem sposobu ich oszacowania metodą cyfrowej analizy obrazu (DIA) pozwalającej na skrócenie czasu wykonania analiz i obniżenie ich kosztów. Główne zainteresowanie Autorki to ozime i jare formy pszenicy zwyczajnej pozyskiwane w dwóch kolejnych okresach wegetacyjnych, przy czym te pierwsze pobrane z dwóch różnych lokalizacji w Wielkopolsce.

Doktorantka wysuwa i weryfikuje hipotezę: „Istnieje zależność pomiędzy zawartością związków fenolowych a barwą ziarna pszenicy zwyczajnej”. Weryfikacji dokonano na podstawie analizy zawartości związków fenolowych ogółem, wybranych kwasów fenolowych (HPLC) i analizy atrybutów barwy ziarna w modelu RGB i HSI.

Praca liczy łącznie 99 stron maszynopisu a wyniki zestawiono w 17 tabelach i na 61 rysunkach. Robocze wartości składowych barwy obu zastosowanych modeli przedstawiono w 7 załącznikach, co zajęło dodatkowe 26 stron. Zacytowano 167 pozycji piśmiennictwa. Pracę kończą streszczenia w języku polskim i angielskim.

W przeglądzie piśmiennictwa, przedstawionym szczegółowo na 27 stronach, poruszono zagadnienia uprawy pszenicy, wysokości plonów i wielkości zbiorów -także pozostałych zbóż. Scharakteryzowano ziarniaki pszenicy zwyczajnej, ich właściwości odżywcze i wykorzystanie tego zboża w przetwórstwie. Bardzo szeroko opisano związki fenolowe roślin, w tym ich zróżnicowaną strukturę chemiczną, występowanie, mechanizmy działania i funkcje jakie pełnią nie tylko w roślinach ale także w żywności. Poruszono również aspekt metodyczny oznaczania związków fenolowych w pszenicy zwyczajnej. Odrębny

podrozdział stanowi cyfrowa analiza obrazu i jej wykorzystanie w przemyśle spożywczym. Opis przeglądu piśmiennictwa Autorka kończy charakteryzując pomiar barwy w ocenie jakości żywności z wykorzystaniem wybranych modeli. Jakkolwiek pozytywnie oceniam wysiłek Autorki w możliwie szerokim przedstawieniu zagadnień wprowadzających/uzasadniających podjęcie tematu to jednak muszę zwrócić uwagę na kilka faktów, które mogą być dyskusyjne z punktu widzenia recenzenta:

Rozdział „Zagadnienia w świetle piśmiennictwa” w bardzo dużej mierze oparty jest na opracowaniach zbiorowych/książkowych (przykładowo Budzyński – uprawa, Rothkaehl – jakość i przetwórstwo, Oszmiański – metodyka oznaczania związków fenolowych);

Omawiając właściwości odżywcze pszenicy zwyczajnej Autorka stwierdza, że celiakię można zakwalifikować do alergii pokarmowych. Celiakia to choroba autoimmunologiczna, nie należy jej klasyfikować do alergii pokarmowych ponieważ diagnozowana jest na podstawie badań serologicznych/ biopsji jelita cienkiego, a nie na podstawie miana przeciwciał w surowicy (tak jak w przypadku alergii);

Tabela 3, szkoda, że nie podano dostępnych w literaturze danych odnośnie rozstępu zawartości flawonoidów w cytowanych źródłach żywności;

Przy opisie zastosowania metody DIA, dla recenzującego, bardziej interesującym byłoby szersze przedstawienie jej zastosowania dla ziarna i nasion niż surowców i produktów pochodzenia zwierzęcego;

Rys. 1 z powodzeniem mógłby się znaleźć w części metodycznej.

W części metodycznej, liczącej 16 stron, poprawnie opisano materiał i metodykę badań, chociaż nie ustrzegła się Doktorantka pewnych dłużyzn lub raczej nadmiaru materiału informacyjnego. Mam na myśli przedstawione na 8 stronach krzywe wzorcowe, które jakkolwiek są nieodłączną częścią metodyki to jednak nie muszą być charakteryzowane zarówno w formie graficznej jak i matematycznej.

Główną część pracy stanowi rozdział 5. „Wyniki i dyskusja” liczący 28 stron.

Doktorantka omówiła podstawowe cechy ziarniaków analizowanych odmian (wilgotność i parametry geometryczne) wykazując, że pole powierzchni, maksymalna średnica Fereta i maksymalna średnica w poprzek tej ostatniej, najlepiej różnicują badane odmiany. Za najslabiej różnicujące uznała szerokość i okrągłość ziarniaków. W tej części rozdziału za niefortunne należy uznać, sformułowanie, że „...głównym celem pomiaru cech geometrycznych ziarna pszenicy była eliminacja jego zanieczyszczeń” (str.57, wiersz 5.-6. od dołu). Tę operację jednostkową wykonuje się na odsiewaczach o odpowiednio dobranych sitach a analiza frakcyjna jest podstawą do czyszczenia i segregacji ziarna o różnych wymiarach, co ułatwia ich dalszą obróbkę technologiczną. Należałoby się również zastanowić nad definicją grupy jednorodnej w przeprowadzonej przez Doktorantkę analizie statystycznej w tym i dalszych podrozdziałach. Czy nie jest tak, że w przypadku pola powierzchni (rys.15, cykl I) o grupach jednorodnych możemy mówić dla: Brawury i Wydmy (indeks d), Struny, Waluty i Belissy (indeks c) oraz Arabelli i Zawiszy (indeks e)? Pozostałe odmiany nie tworzą grup jednorodnych i istotnie różnią się statystycznie. W przypadku obwodu mamy do

czynienia z 2 grupami jednorodnymi Belissa-Memory (indeks c) i Waluta-Wydma (indeks d). Natomiast, analiza statystyczna wartości odpowiadających maks. średnicy Fereta w cyklu I, wykazała obecność tylko jednej grupy jednorodnej tworzonej przez Walutę i Wydme (indeks e), a nie ośmiu jak wykazano w pracy. Proszę o wyjaśnienie tej i kolejnych wątpliwości (Rys19-20) odnośnie ilości grup jednorodnych w przeprowadzonych analizach. Ponadto, precyzyjniejsze byłoby określenie, że wartości średnie oznaczone różnymi literami (indeksami) różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$.

Bardzo szczegółowo przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości związków fenolowych, w tym wybranych kwasów (ferulowy, wanilinowy, syryngowy i kumarowy). Wykazano istotne różnice w zawartości fenoli ogółem zarówno między odmianami, latami ich zbioru jak i formą jarą i ozimą. Odmiany pszenicy pochodzące z II cyklu badań (oprócz odmiany Struna i Zawisza) wykazały niższą zawartość fenoli ogółem niż odmiany z cyklu I. Najwyższą zawartość fenoli ogółem stwierdzono w przypadku odmiany Memory formy ozimej – odpowiednio 78,12 mg/100g w cyklu I i przeciwnie w cyklu II, dla którego najwyższe wartości odnotowano dla odmiany Struna formy jarej (75,96 mg/100 g).

Jeśli chodzi o badane kwasy fenolowe to Autorka podkreśliła również dużą zmienność wyników w zależności od odmiany, cyklu doświadczenia (2014 i 2015) oraz rodzaju analizowanego kwasu. W cyklu I stwierdzono tylko śladowe ilości kwasu kumarowego we wszystkich badanych próbkach, podczas gdy w cyklu II najwyższą jego zawartość stwierdzono w przypadku odmiany jarej Arabella (26,71 mg/100g). Zaznaczyć należy, że oznaczona na wysokim poziomie zawartość kwasu syryngowego dla Katody- 91,93 mg/100g (forma jara) i Belissy - 90,29 mg/100g (forma ozima) drastycznie zmalała w cyklu II, osiągając jedynie wartości maksymalne poniżej 5,7 mg/100 g (odmiana Arabella, forma jara). W dyskusji Doktorantka wskazuje na dużą rozbieżność wyników prezentowanych w literaturze, uznając jako przyczynę różnice w procedurach analitycznych, zwłaszcza w sposobie ekstrakcji. Pewne wątpliwości budzi jednak zastosowana metoda analizy kwasów fenolowych. Bez przeprowadzenia procesu hydrolizy, a także zastosowania gradientu stężeń w rozdziale chromatograficznym interpretacja otrzymanych pików może być znacznie utrudniona. Jak sama autorka stwierdza we wstępie, kwasy fenolowe występują w roślinach głównie w postaci estrów i glikozydów. Zastosowana faza ruchoma (12% metanol) przy detekcji DAD-UV/Vis nie wyjaśnia jednoznacznie jakie formy kwasów zidentyfikowano. Proszę o ustosunkowanie się do tej części recenzji.

Największą wagę ma rozdział 6.5, opisujący wyniki analizy zależności korelacyjnych pomiędzy zawartością związków fenolowych a barwą ziarniaków badanych form i odmian pszenicy zwyczajnej. Przedstawiony on został w formie jedenastu tabel, 31 rysunków i 6 stron tekstu. Stwierdzone zależności opisano równaniami z wyliczonymi dla nich współczynnikami. Raz jeszcze okazało się, że forma, odmiana pszenicy i rok eksperymentu istotnie determinują badane parametry. Najciekawsze wyniki uzyskano dla eksperymentu II, które wykazały zależność dającą się opisać równaniami o wysokim współczynniku korelacji dla zawartości fenoli ogółem i wszystkimi składowymi barwy zarówno w modelu RGB jak i

HSI oraz dodatkowo kwasu syringowego (z wyjątkiem Saturacji w modelu HSI). Doktorantka badając zależności między kwasami fenolowymi a składowymi użytymi modelami wskazuje, że kwas ten istotnie wpływa na jaśniejsze zabarwienie ziaren a niższa zawartość kwasu kumarowego i wanilinowego przekłada się na ciemniejsze zabarwienie ziarniaków.

Dla dokładniejszego zobrazowania zależności występujących pomiędzy barwą ziaren pszenicy a poziomem zawartych w nich związków fenolowych, Autorka przedstawiła je w postaci graficznej (Rys. 31-61). O ile nie mam żadnych zastrzeżeń do przedstawionych równań, o tyle część graficzna niezbyt odpowiada zamierzeniom Autorki. Łączenie na rysunkach punktów oznaczających zawartość związków fenolowych ogółem, daje złudzenie, że odnoszą się one do przedstawionych równań. Niestety, nazwa odmiany nie jest w tym przypadku zmienną a inne niż alfabetyczne ustawienie odmian skutkowałoby uzyskaniem całkowicie odmiennych krzywych niż przedstawione na czerwono połączenie punktów. W końcowej części pracy Doktorantka, uzasadniając celowość kontynuacji badań, dokładnie analizuje konieczność modyfikacji organizacyjno-metodycznych (zwiększenie ilości cykli doświadczalnych, wybór odmiany o stabilnej zawartości fenoli, kwasów fenolowych a także innych składników chemicznych ziarna, a w końcu zastosowanie w analizie detektora masowego).

Pracę kończy podsumowanie i 3 wnioski, które moim zdaniem nie eksponują w sposób wystarczający osiągnięć eksperymentu będącego podstawą dysertacji.

Zalety pracy:

Praca stanowi odpowiedź na zainteresowanie przemysłu i jest dobrą wskazówką w jakim kierunku powinny być kontynuowane dalsze badania, tak aby zadowolić przyszłych użytkowników opracowanej metody.

Na uwagę zasługuje bardzo duża pracowitość założonych i wykonanych badań. Podkreślam bardzo szeroki zakres badań wstępnych prowadzących do ustalenia liczebności ziarniaków do ich oceny cyfrową analizą obrazu.

Założenia pracy są prawidłowe a konstrukcja pracy logiczna i spójna prowadząca do założonego celu.

Dostarczenie nowych, aczkolwiek na tym etapie jeszcze mających charakter wstępny, danych dotyczących zależności między zawartością składników chemicznych a cechami geometrycznymi i barwą ziarniaków różnych form i odmian pszenicy zwyczajnej.

Uwagi krytyczne:

Zbyt obszerne piśmiennictwo. Ze znacznej części pozycji można było zrezygnować bez uszczerbku dla czytelności pracy.

Przy szerokim opisie metod oznaczania związków fenolowych nie podano uzasadnienia wyboru metody zastosowanej w pracy.

Nie uważam za konieczne, przy tej tematyce i zakresie pracy, włączania do przeglądu piśmiennictwa i dyskusji surowców i wyrobów mięsnych.

Nadmiernie rozbudowana część graficzna, w której powtarza się wartości przedstawione w formie równań, co niekoniecznie zwiększa czytelność dysertacji. Raz jeszcze proszę o sprawdzenie definicji grupy jednorodnej.

Autorka nie ustrzegła się błędów stylistycznych i niezręcznych sformułowań (np. str. 27. – związków rakotwórczych vs. substancji kancerogennych, 57. -, cechy geometryczne vs. eliminacja zanieczyszczeń, Rys. 17 – niewłaściwy kolor maks. Średnicy Fereta (powinien być żółty), str. 70. – może porównywalności a nie powtarzalności, itp.).

Czy metoda Tańskiej i inn. nie zawiera w sobie etapów podanych w pracy, czy też została ona w jakiś sposób zmodyfikowana (podrozdział 4.2.5, str. 52.)?

Czy konieczne było przedstawianie krzywych wzorcowych gdy podaje się ich równania (Rys. 4-13)?

Lakoniczne 3 wnioski, które nie oddają rzeczywistej wartości pracy i cennych obserwacji przedstawionych w omówieniu wyników i ich dyskusji.

Czy Autorka nie uważa, że zastosowanie dodatkowych metod statystycznych pozwoliłoby na pełniejsze zobrazowanie zależności między wszystkimi badanymi parametrami?

Mam nadzieję, że wyżej wymienione uwagi Autorka wykorzysta w przygotowaniu prezentacji i publikacji.

Mimo wyżej wymienionych uwag, jeszcze raz podkreślam wartość pracy przedstawionej mi do recenzji. Informacje zawarte w pracy wzbogacają wiedzę na temat technologii przetwórstwa i analizy ziarna zbóż. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U.Nr 65, poz.595, z późn. zm.) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki. Proszę zatem Wysoką Radę Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko- Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Aleksandry Majkowskiej do dalszej części przewodu doktorskiego, to jest do publicznej obrony pracy.

Ł. Koruda.