



Dr hab. Ewa Sikorska, prof. nadzw. UEP

Poznań, 24. 05. 2015

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Orzeł
pt. "Modelowanie nieselektywnych sygnałów analitycznych w kontekście kontroli
jakości wybranych produktów"**

Praca doktorska Pani mgr Joanny Orzeł została przygotowana pod opieką promotora Pana dr hab. prof. UŚ Michała Daszykowskiego w Instytucie Chemii, na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

Recenzowana praca dotyczy oceny wybranych aspektów jakości produktów. Oceny tej dokonywano wykorzystując metody chemometryczne do analizy sygnałów analitycznych uzyskiwanych z zastosowaniem różnych technik instrumentalnych. W szczególności Autorka skupiła się na analizie widm całkowitej fluorescencji (widm wzbudzenia-emisji), ale wykorzystywała także widma w zakresie podczerwieni oraz chromatogramy. Do analizy danych spektroskopowych lub chromatograficznych stosowała różne metody analiz wielowymiarowych: eksploracyjne, klasyfikacyjne/dyskryminacyjne oraz metody regresji. Wybór badanych produktów był również dość szeroki obejmował żywność: herbaty, pasty pomidorowe, kawy, przyprawy, cukier oraz paliwa napędowe.

Wybór tematu uważam za bardzo trafny. W pełni uzasadnione jest stwierdzenie Autorki, że ocena jakości różnego rodzaju towarów jest zagadnieniem bardzo złożonym i często wymaga oznaczenia wielu właściwości fizycznych i/lub chemicznych. Wiąże się to z koniecznością przeprowadzenia wielu analiz, często związanych ze znacznym nakładem pracy i kosztów. Z tego względu rozwijane są metody analityczne, które zamiast oznaczania wybranych właściwości umożliwiają określenie charakterystyki (tzw. chemicznego odcisku palca, chemicznego obrazu) całego produktu. Do takich metod należą m.in. metody spektroskopowe oraz różnego rodzaju sensory lub układy sensorów (np. nos i język elektroniczny). Pomiar wykonywane z zastosowaniem takich metod są zazwyczaj nieniszczące i proste, próbki można badać bezpośrednio. Uzyskany sygnał charakteryzuje



produkt, ale uzyskanie jakościowych lub ilościowych informacji o właściwościach produktu wymaga zastosowania zaawansowanych metod analizy. Takie właśnie metody stosowała w swoich badaniach Pani mgr Joanna Orzeł do rozwiązywania różnych problemów analitycznych.

Formalna ocena rozprawy

Rozprawę doktorską stanowi cykl sześciu publikacji. Pracę rozpoczyna wstęp oraz wprowadzenie do tematyki badań. Po tej części przedstawiony został cel pracy. Zasadniczą część pracy stanowi sześć opublikowanych artykułów w języku angielskim, każdy z nich został opatrzony krótkim wprowadzeniem w języku polskim. W pracy zamieszczone zostały również wyniki badań dotąd nieopublikowanych. Na końcu Doktorantka przedstawiła podsumowanie i wnioski oraz spis literatury, (liczący 125 pozycji), zamieściła także informacje o źródłach finansowania badań oraz własne *curriculum vitae*. W pracy zamieszczono także streszczenie w języku polskim i angielskim.

Obowiązująca ustawa o stopniach i tytule naukowym dopuszcza przedstawienie spójnego tematycznie cyklu publikacji jako podstawy pracy doktorskiej i Pani mgr Joanna Orzeł posiadająca znaczny dorobek publikacyjny z tej możliwości skorzystała.

Wszystkie artykuły składające się na rozprawę doktorską zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych o cyrkulacji międzynarodowej, z tzw. listy filadelfijskiej (łączny IF=19,34, co daje wysoką wartość średnią ok. 3,23 na publikację). Elementem wspólnym wszystkich publikacji jest wykorzystanie metod chemometrycznych do analizy sygnałów analitycznych charakteryzujących jakość badanych próbek.

Prezentowane publikacje są wieloautorskie, ale we wszystkich pierwszym Autorem jest Doktorantka. Ponadto w pracy (zgodnie z wymogami zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora) zamieszczone są oświadczenia wszystkich współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji. Z przedstawionych oświadczeń wynika, że wkład Doktorantki w powstanie wszystkich publikacji był bardzo duży.



Merytoryczna ocena pracy

Rozprawę rozpoczyna Wstęp oraz wprowadzenie do tematyki badań. Doktorantka charakteryzuje w nim sygnały analityczne otrzymywane z wykorzystaniem różnych technik eksperymentalnych oraz metody ich analizy, a także przedstawia przykłady zastosowań w ocenie jakości. Część ta byłaby bardzo interesująca, niestety znajduje się tu wiele nieprecyzyjnych sformułowań, a język jakim posługuje się Doktorantka w wielu przypadkach utrudnia lub wręcz uniemożliwia zrozumienie sensu wypowiedzi.

Przytoczę tylko jeden wybrany przykład. Autorka na stronie 12 stwierdza: „Fluorescencyjne obrazy nazywane również fluorescencyjnymi widmami synchronicznymi (ang. *excitation-emission fluorescence spectroscopy matrices* lub *fluorescence landscapes*) to rodzaj pomiarów instrumentalnych, których wynikiem są dwuwymiarowe sygnały analityczne.” Jest to stwierdzenie całkowicie błędne. Widma synchroniczne fluorescencji oraz widma całkowitej fluorescencji (tzw. widma wzbudzenia-emisji) są to dwa różne rodzaje widm. Określenie „fluorescencyjne obrazy”, w polskiej terminologii nie oznacza żadnego z rodzajów widm fluorescencji. Natomiast Doktorantka posługuje się w pracy wyłącznie tym terminem w odniesieniu do widm całkowitej fluorescencji, które były jednym z głównych przedmiotów jej badań.

Inne wybrane uwagi:

Str 12 – Niejasny opis metodyki (?) pomiarów spektroskopowych.

Str. 13 – Niejasny opis zalet widm całkowitej fluorescencji.

Str. 13 – ...zmiany ustawień przyrządu pomiarowego...

Str. 14 – Brak możliwości identyfikacji jakościowej czy ilościowej...

Str. 16 – Źródłem szumu, komponentu sygnału o najwyższej częstotliwości...

Str. 20 - ...w miejsce występowania pików rozproszenia Rayleigha wstawiłam zera...

Str 27 - Dokonując projekcji na czynniki główne...

Str. 29 – Kalibracja wybranej własności

Str. 33 – Model ulega „przekrzywieniu”....



Cel pracy Doktorantka sformułowała bardzo ogólnie (podobnie jak temat rozprawy), ale jest to zrozumiałe, ze względu na szeroki zakres zagadnień jakimi zajmowała się w swojej pracy.

Wyniki badań zostały przedstawione w sześciu artykułach, które ze względu na problemy oceny jakości można podzielić na trzy grupy.

Artykuł **I** opublikowany w *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2012,110, 89-93, dotyczy oceny jakości próbek cukru (barwy i zawartości popiołu) na podstawie widm całkowitych fluorescencji.

Kolejną grupę stanowią dwa artykuły **II** i **III** opublikowane w czasopismach *Talanta* 101 (2012) 78-84 oraz *Fuel* 117 (2014) 224-229, w których przedstawione zostały metody oceny jakości oleju napędowego na podstawie widm całkowitej fluorescencji

Do trzeciej grupy należą się artykuły **IV**, **V** i **VI** opublikowane w czasopismach w *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 137 (2014) 74-81, *Talanta*, 138 (2015) 64-70 oraz *Journal of Chromatography A*, 1366 (2014) 101-109, dotyczące przewidywania całkowitej zdolności przeciwutleniającej wybranych produktów spożywczych na podstawie widm całkowitej fluorescencji, widm w zakresie podstawowej podczerwieni oraz chromatogramów. Tych zagadnień dotyczą także wyniki niepublikowane zamieszczone w pracy.

Za najważniejsze osiągnięcia pracy uważam:

- Opracowanie i porównanie modeli kalibracyjnych do przewidywania barwy i zawartości popiołu w próbkach cukru na podstawie widm całkowitej fluorescencji. Doktorantka zastosowała różne warianty metody regresji częściowych najmniejszych kwadratów oraz wykazała zalety wariantu stabilnego w porównaniu z klasycznym i *N*-modalnym.
- Opracowanie modeli kalibracyjnych (z zastosowaniem metod PLS i NPLS) umożliwiających oznaczanie na podstawie widm całkowitej fluorescencji próbek paliw zawartości dodatków (Solvent Yellow 124 i Solvent Red 19) wprowadzanych do oleju napędowego o obniżonym podatku akcyzowym. Na podkreślenie zasługuje fakt zgłoszenia opracowanych metodyk do ochrony patentowej.



- Opracowanie, metody identyfikacji zafałszowanych próbek oleju napędowego, (z których nielegalnie usunięto dodatki akcyzowe) na podstawie analizy dyskryminacyjnej (z zastosowaniem dyskryminacyjnego wariantu metody PLS) widm całkowitej fluorescencji.
- Opracowanie modeli kalibracyjnych (z zastosowaniem metod PLS i NPLS) umożliwiających na podstawie widm całkowitej fluorescencji oznaczanie całkowitej zdolności przeciwutleniającej wodnych ekstraktów kawy i mięty pieprzowej oraz całkowitej zawartości związków polifenolowych w wodnych ekstraktach kawy.
- Opracowanie modeli kalibracyjnych (z zastosowaniem metod PLS i NPLS) umożliwiających oznaczanie na podstawie widm całkowitej fluorescencji oraz widm w zakresie podstawowej poczerwieni zdolności przeciwutleniającej oraz całkowitej zawartości związków polifenolowych w pastach pomidorowych.
- Przeprowadzenie analizy regresji chromatogramów, profili stężeniowych wybranych związków polifenolowych oraz całkowitej zdolności przeciwutleniającej (wyznaczonej w testach ORAC i DPPH) herbat rooibos. Zastosowanie wariantu metody UVE PLS umożliwiającego eliminację nieistotnych zmiennych pozwoliło na identyfikację związków polifenolowych istotnie wpływających na całkowitą aktywność przeciwutleniającą herbat rooibos.

Po lekturze artykułów zamieszczonych w pracy nasuwa mi się kilka uwag i pytań.

W badaniach dotyczących opracowania modeli kalibracyjnych do przewidywania aktywności przeciwutleniającej na podstawie widm fluorescencji Autorka wykorzystywała niewielką liczbę próbek (od 8 do 15) w związku z tym mam wątpliwości co do reprezentatywności opracowanych modeli.

W większości badań Doktorantka powtórzenia laboratoryjne traktowała jako niezależne próbki. Fakt występowania powtórzeń uwzględniała jedynie przy podziale próbek na zbiory kalibracyjny i testowy. Natomiast optymalną liczbę zmiennych dla modeli regresji określała w oparciu o walidację krzyżową „*leave-one-out*” podczas gdy w sytuacji występowania powtórzeń należałoby raczej zastosować wariant segmentowy walidacji krzyżowej.

Modele kalibracyjne Doktorantka oceniała m.in. na podstawie wartości średniego błędu kwadratowego. Błąd ten wyrażony jest w jednostkach zmiennej zależnej i jego wartość zależy od wartości tej zmiennej dla badanego zbioru próbek. W literaturze spotyka się różne sposoby



standaryzacji błędu. Proszę o wyjaśnienie w jaki sposób Doktorantka obliczała błąd procentowy.

Doktorantka w pracy do opracowania modeli kalibracyjnych w celu przewidywania całkowitej zdolności przeciwtleniającej wykorzystywała zarówno widma (IR i fluorescencji) jak i chromatogramy. Wydaje się, że ze względu na prostotę pomiaru metody spektroskopowe mogłyby zostać wykorzystane w przesiewowych, rutynowych badaniach żywności, natomiast mam wątpliwości co do zasadności wykorzystania w takich badaniach metod chromatograficznych. Proszę o krótki komentarz na ten temat.

Uważam, że bardzo interesujące są przedstawione w pracy badania jakości paliw napędowych, proszę Doktorantkę o komentarz dotyczący możliwości praktycznego wykorzystania tych metod.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską Pani mgr Joanny Orzeł stwierdzam, że postawiony cel pracy został zrealizowany. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym opanowaniem zarówno metod eksperymentalnych jak i metod analizy danych. Prawidłowo i pomysłowo zaplanowała i wykonała eksperymenty oraz dobrze poradziła sobie z analizą i interpretacją wyników.

Merytoryczną wartość pracy oceniam wysoko. Przedstawione badania należą do jednego z ważnych nurtów w dziedzinie analityki. Uzyskane wyniki mogą znaleźć zastosowanie w praktyce oraz mają walory poznawcze.

Podsumowując stwierdzam, że oceniana praca spełnia wymogi ustawy o stopniach i tytułach naukowych z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. nr 65 poz. 595) wraz z późniejszymi zmianami i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Joanny Orzeł do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uważam, że opublikowany dorobek naukowy Doktorantki jest imponujący i zasługuje na wyróżnienie. Jednakże ze względu na zastrzeżenia do części opracowanej w języku polskim chciałabym decyzję o postawieniu wniosku o wyróżnienie podjąć po wysłuchaniu obrony pracy.

Ewa Sikorska