

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Elżbiety Górskiej-Horzyczak pt. „Zastosowanie profilu chromatograficznego związków lotnych do oceny świeżości mięsa wieprzowego”

Recenzja niniejsza została opracowana na zlecenie Prof. dr hab. Krystyny Gutkowskiej, Dziekana Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

1. Informacja o rozprawie

Rozprawa doktorska mgr inż. Elżbiety Górskiej-Horzyczak została wykonana w Katedrze Techniki i Projektowania Żywności, Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem Promotora Dr hab. Agnieszki Wierzbickiej (prof. SGGW) oraz Ko-promotora Prof. Da-Wen Sun z Food Refrigeration & Computerised Food Technology (FRCFT), National University of Ireland (University College Dublin), Agricultural and Food Centre w Dublinie.

Recenzowana praca obejmuje zbiór 3 spójnych tematycznie artykułów, dotyczących wykorzystania analizy profilu lotnych związków, przy zastosowaniu elektronicznego nosa, opartego na technice ultraszybkiej chromatografii gazowej, do oceny świeżości mięsa wieprzowego.

1. **Górska-Horzyczak, E., Guzek, D., Molęda, Z., Wojtasik-Kalinowska, I., Brodowska, M., Wierzbicka, A.** Applications of electronic noses in meat analysis. *Food Science and Technology (Ciencia e Tecnologia de Alimentos)*, 36(3) (2016), 389-395.; <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.03615>; **15 pkt.** A wg MNiSW, **IF=0,393.**
2. **Górska-Horzyczak, E., Horzyczak, M., Wojtasik-Kalinowska, I., Guzek, D., Wierzbicka, A.** Chromatographic fingerprints supported by artificial neural network for differentiation of fresh and frozen pork. *Food Control*, 73 (2017), 237-244. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.010>; **40 pkt.** A wg MNiSW, **IF=3,496.**
3. **Górska-Horzyczak, E., Wojtasik-Kalinowska, I., Guzek, D., Sun, D.-W., Wierzbicka, A.** Differentiation of chill-stored and frozen pork necks using electronic nose with ultra-fast gas chromatography. *Journal of Food Process Engineering*, 2017;00: e12540. <https://doi.org/10.1111/jfpe.1254>; **20 pkt.** A wg MNiSW, **IF=1,37.**

Praca zrealizowana została w ramach projektu POIG. 01.01.02-14-090/09: Biożywność – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego” współfinansowanego przez Unię Europejską za środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013.

1. Merytoryczna ocena rozprawy / Zasadność podjęcia tematu

Oceniana rozprawa dotyczy wytworzenia narzędzia naśladowającego nos i jego czułość na zapachy do oceny jakości mięsa wieprzowego. Podjęcie takiego tematu uważam całkowicie za zasadne.

Wysoka jakość produktów żywnościowych w tym mięsa jest bardzo ważnym aspektem nowoczesnego, ale i uczciwego rynku. Zafałszowana żywność ma zazwyczaj gorsze walory odżywcze i jest często niebezpieczna dla zdrowia. Produkty mięsne stanowią dość dużą grupę w koszyku zakupów konsumenta. Rozwój sklepów wielkopowierzchniowych, zakup mięsa od producenta w dużych ilościach w celu obniżenia ceny produktu powoduje konieczność coraz dłuższego jego przechowywania. Niestety procedury te powodują, że dość często do rąk konsumenta trafia mięso nieświeże lub rozmrażane o różnym stopniu przydatności do spożycia. W ocenie świeżości mięsa istotną rolę odgrywa analiza komponentów lotnych wydzielanych przez produkt. Powstają one w wyniku reakcji oksydacji lub rozpadu różnych składników prowadzącego do powstania nowych komponentów lub są produktem powstałym z aktywności bakterii.

Profil zapachowy jest trudny do analizy dla przeciętnego konsumenta dlatego, że odczucie zapachu przez człowieka jest dość złożonym procesem. Aby poprawnie określić jakość i wartość odżywczą mięsa odróżnić trzeba wiele składników lotnych. Powszechną praktyką jest analiza związków lotnych z użyciem chromatografii gazowej lub olfaktometrii. Ponieważ różne substancje charakteryzują się bardzo zróżnicowanymi progami wyczuwalności zapachu to niemożliwa jest identyfikacja sensoryczna wszystkich substancji. Dlatego w ocenie zapachu może sprawdzić się urządzenie typu elektroniczny nos.

2. Ocena formy rozprawy

Forma rozprawy jest właściwa. 3 spójnie tematycznie artykuły opublikowane w języku angielskim i stanowiące rozprawę doktorską opatrzone są 30 stronicowym opisem zawierającym wstęp dotyczący podjętego zagadnienia, uzasadnienie podjęcia tematu pracy doktorskiej, cel i zakres pracy, hipotezy badawcze, część zawierającą opis materiału i metodyki oraz syntetyczne omówienie publikacji.

W publikacji 1, która jest artykułem przeglądowym autorka podjęła się analizy rozwiązań dotyczących zastosowania od 2004 roku metod badawczych wykorzystujących elektroniczny nos jako technikę analizy mięsa. Kandydatka posłużyła się przykładami zastosowania e-nosa

w przemyśle mięsnym, w szczególności do kontroli jakości. W tym celu Kandydatka przeszukała bazy danych odnośnie tego tematu analizując lata 2004-2016.

W artykule przedstawiła opis zastosowań e-nosów w aplikacji do kontroli jakości - rozpoznawanie zepsucia mięsa, rozróżniania gatunków mięsa, wykrywanie możliwych zafałszowań lub do oceny jakości mięsa ze względu na aplikowane żywienie zwierząt.

Najczęściej stosowanymi typami urządzeń były elektroniczne nosy z czujnikami (MOS, CP, QCM, optyczne, kolorymetryczne, bio-czujniki). Natomiast stosowane powszechnie klasyfikatory do oceny specyficznej kompozycji związków lotnych, charakterystycznych dla stanu mięsa to narzędzia chemometryczne i sieci neuronowe (PCA, DFA, SVM, ANN).

W wyżej wymienionym artykule autorka zwróciła uwagę na zalety i wady stosowanych rozwiązań technicznych. Wśród zalet wymieniła szybki czas analizy, możliwość zarejestrowania całego wzoru zapachu, a jako wady uznała, iż takie rozwiązanie techniczne rzadko określa konkretne związki, technika ta wymaga wyszkolonego/ personelu a odczyty sprawnej i wydajnej metody klasyfikacji. Autorka dodała, iż chociaż e-nosy mają potencjalnie szerokie zastosowania to ta technika nie jest stosowana w praktyce przemysłowej.

Autorka nie znalazła w literaturze aplikacji wykorzystującej profil chromatograficzny lotnych związków jako całości do rozróżniania mięsa świeżego i mrożonego oraz do rozróżniania elementów kulinarnych mięsa wieprzowego, co było motywem do podjęcia takich badań w ramach przygotowywanej rozprawy.

Artykuł stanowi świetny wstęp do dalszej części rozprawy.

Celem publikacji 2 było sprawdzenie możliwości odróżnienia karkówki wieprzowej świeżej (1, 4, i 7 dzień przechowywania w temperaturze $5^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$) od rozmrożonej (po wcześniejszym przechowywaniu w stanie zamrożonym przez 5 miesięcy w temperaturze minus $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$) przy zastosowaniu elektronicznego nosa oraz analizy chemometrycznej uzyskanych profili chromatograficznych. Jako badania wstępne autorka wykonała typowe analizy fizyko-chemiczne składu mięsa oraz te dotyczące pH i barwy karkówki. Niestety na poziomie statystycznym nie zauważono różnic, które mogłyby posłużyć za podstawę odróżniania tych produktów.

Mgr inż. Elżbiety Górskiej-Horczyzak wykonała analizę lotnych związków karkówki świeżej oraz rozmrożonej. Zaobserwowała zmiany w profilu lotnych związków w trakcie przechowywania karkówki, które mogą świadczyć o postępującym procesie oksydacji tłuszczu i zwiększonej aktywności mikrobiologicznej w mięsie przechowywanym do 7 dni w warunkach chłodniczych oraz spowolnienie tych procesów na skutek przechowywania mięsa w postaci zamrożonej. Analiza przy użyciu głównych składowych wykazała, iż parametry charakteryzujące

profile związków lotnych grupują się tak, że wyraźnie można odróżnić mięso świeże (różnice pomiędzy dniem 4 i 7 a 1) od rozmrożonego.

Prace potwierdziły możliwość zastosowania elektronicznego nosa Heracles II i profilu chromatograficznego lotnych związków do rozróżnienia karkówki wieprzowej świeżej od rozmrożonej.

W pracy 3 przedstawiono rozwiązanie umożliwiające praktyczne zastosowanie nowatorskiej metody, wykorzystującej profil chromatograficzny w połączeniu z zaawansowanymi metodami obliczeniowymi w postaci rozbudowanej sieci neuronowej do oceny jakości mięsa wieprzowego. Celem było opracowanie rozwiązania pozwalającego na rozróżnianie elementów kulinarnych mięsa wieprzowego (karkówka, schab, szynka) i klasyfikowanie - świeże, mrożone, nieświeże z użyciem sieci neuronowych.

W pierwszym etapie pracy autorka wykonała badania profili chromatograficznych prób pokrojonego mięsa wieprzowego (karkówki, schabu, szynki) świeżego, rozmrożonego po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze $-20\pm 1^{\circ}\text{C}$ oraz mięsa wieprzowego nieświeżego, otrzymanego poprzez przechowywanie przez 30 dni w temperaturze $5\pm 1^{\circ}\text{C}$. Zebrane profile chromatograficzne stanowiły dane wejściowe dla sieci neuronowej. Trudność stanowiło zaprojektowanie sieci w taki sposób, aby można było uchwycić podobieństwa i różnice poszczególnych profili chromatograficznych. Pierwszym problemem było opracowanie danych chromatograficznych do postaci języka maszynowego, która będzie akceptowalna dla sieci neuronowej jako dane wejściowe. Autorka sprytnie dokonała normalizacji danych oraz podzieliła je na przedziały z zakresu 0,1, wybrała typ sieci (perceptron), opracowała jej topologię (3 warstwy z odpowiednią liczbą komórek) oraz zautomatyzowała proces pozyskiwania i przetwarzania danych z analizy chromatograficznej, z elektronicznego nosa. Uczenie sieci odbywało się na zbiorze 672 próbek zawierających po 96 unormowanych danych z chromatogramów ułożonych każdorazowo w innej, losowej kolejności. Każdy cykl uczenia kończył się sprawdzeniem rezultatów (walidacją) na zbiorze 24 próbek. Cykl uczenia i walidacji powtarzano do momentu osiągnięcia co najmniej 95% poprawnych odpowiedzi. Uczenie sieci zakończono po wykonaniu łącznie 178 epok. Do oceny pracy sieci i wyników badań wykorzystano macierz pomyłek. Z badanych elementów kulinarnych najniższa średnia trafność odpowiedzi została uzyskana dla karkówki 77% ($n=48$), a najwyższa dla schabu ok. 90% ($n=48$). W wyniku połączenia elektronicznego nosa z sztuczną siecią neuronową uzyskano satysfakcjonujący średni poziom rozpoznawalności świeżego mięsa wieprzowego (80%), rozmrożonego (85%) oraz nieświeżego (90%), przy całkowitej specyficzności modelu na poziomie 97,5 % oraz 85,1 % całkowitej czułości.

3. Szczegółowe uwagi oraz komentarze

Pomimo starannego przygotowania rozprawy autorka nie ustrzegła się niewielkich błędów z których kilka wymienię:

1. W literaturze brak jest następujących pozycji: Europ. Com (2003) ze str. 15, CE (2011) ze str. 16, Blank (2002) ze str. 19, Nurjuliana i in. (2011) cytowanej na str. 20 oraz Casaburi i in. ze str. 34. Publikacja: Nychas G.-J. E., Skandamis P. N., Tassou C. C. i Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78 (1-2), 77-89 znajduje się w spisie literatury ale nie jest cytowana w tekście.
2. Pozycja Khan i Tariq (2015) winno brzmieć Khan i in. (2015).
3. Dopełniacz liczby mnogiej od rzeczownika tłuszcz brzmi „tłuszczów” a nie „tłuszczy” (str. 19 i inne).
4. Na str. 37 istnieje sformułowanie „...sposób konwersacji danych.....do postaci, która będzie akceptowalna dla sieci neuronowej” które powinno brzmieć „sposób konwersji/translacji danych na język maszynowy”.

4. Zapytania i uwagi

- a) Bardzo interesuje mnie problem doboru e-nosa. Czym różnił się e-nos zastosowany w niniejszej rozprawie od e-nosów opisanych w publikacji 1.
- b) Czy testowano normalizację danych chromatograficznych z podziałem na inną ilość przedziałów? Czy testowano mniejszą lub większą ilość przedziałów i czym to skutkowało?
- c) Jak dokonano wyboru kształtu funkcji wejściowej dla sieci neuronowej? Czy testowane były inne opcje?

5. Ocena końcowa

Do osiągnięć własnych doktorantki w przedstawionej do recenzji rozprawie należy zaliczyć:

- 1) Opracowanie porównania zastosowania elektronicznych nosów do oceny jakości mięsa
- 2) Wykonanie profilu chromatograficznego lotnych związków karkówki wieprzowej i utworzenie wzorca dla różnego stanu świeżości mięsa (świeże przechowywane chłodniczo, rozmrożone).
- 3) Zaproponowanie użycia i ustandaryzowanie pracy Elektronicznego nosa Heracles II (e-nos) sprzężonego z procedurami statystycznymi typu PCA, DFA jako narzędzia do wstępnej oceny świeżości mięsa wieprzowego.
- 4) Zaproponowanie klasyfikatora w postaci sztucznej sieci neuronowej (ANN) do rozpoznawania świeżości mięsa wieprzowego (świeże czy rozmrożone lub nieswieże) poprzez analizę profilu chromatograficznego mięsa

- 5) Opracowanie sposobu identyfikacji rozdrobnionych elementów mięsa wieprzowego (karkówka, schab, szynka) poprzez analizę profilu chromatograficznego mięsa za pomocą klasyfikatora w postaci sztucznej sieci neuronowej.
- 6) Zaproponowanie zastosowań e-nosa do celów praktycznych (przemysłowych, handlowych, przetwórczych) oraz jako użyteczne narzędzie dla jednostek urzędowej kontroli jakości i bezpieczeństwa żywności w Polsce.

W trakcie wykonywania rozprawy Kandydatka wykazała dużą aktywność naukową o czym świadczą dodatkowe publikacje, nie wchodzące w skład rozprawy punktowane przez MNiSW-cztery z roku 2016 oraz 3 z roku 2017 na łączną sumę 195 pkt oraz IF=12,241.

Będąca przedmiotem oceny **rozprawa doktorska mgr inż. Elżbiety Górskiej-Horczyzak** zatytułowana „Zastosowanie profilu chromatograficznego związków lotnych do oceny świeżości mięsa wieprzowego” **spełnia wymogi określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz. U. 2003 r. Nr 65, poz 595; z późn. zm.)**.

W oparciu o powyższe **stawiam wniosek o skierowanie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Elżbiety Górskiej-Horczyzak do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora oraz wnoszę o wyróżnienie pracy.**

Kierownik Zakładu Biofizyki

Sujak
Prof. dr hab. Agnieszka Sujak