

Warszawa, 13.09.2022 r.

dr hab. Małgorzata Wroniak, prof. SGGW
Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych
Katedra Technologii i Oceny Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. **Qian Ying**
pt. **"The composition of triacylglycerols as an indicator of edible oil adulteration"**
wykonanej na Wydziale Nauk o Żywności i Żywieniu,
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem Pani prof. dr hab. inż. Magdaleny Rudzińskiej
i opieką naukową dr inż. Arkadiusza Majewskiego
z Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Podstawą sporządzenia recenzji jest pismo z dnia 13.07.2022 r. prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej informujące o uchwale Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 30.06.2022 r. z prośbą o ocenę rozprawy doktorskiej. Recenzję wykonano zgodnie z wytycznymi ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Rozprawa doktorska mgr inż. Qian Ying skupia się na opracowaniu metody wykrywania zafałszowań roślinnych olejów jadalnych przy wykorzystaniu triacylogliceroli jako danych wejściowych dla sztucznych sieci neuronowych. Falszowanie żywności to celowe zastępowanie i podrabianie żywności, surowców lub jej składników wprowadzanych na rynek w celu uzyskania korzyści ekonomicznych. Zafałszowanie olejów jadalnych przejawia się głównie w mieszaniu droższych olejów z ich tańszymi odpowiednikami. Zabieg ten ma na celu obniżenie kosztów produkcji, co wpływa na konkurencyjność cenową wobec uczciwych producentów. Powodem tego może być również chęć zamaskowania gorszej jakości oleju niż deklarowana. Niestety obecnie nie ma dokładnej metody identyfikacji zafałszowań olejów roślinnych. Chociaż chromatografia jest nadal najpopularniejszą metodą wykrywania oszustw związanych z olejami, nie jest wystarczająca do rozróżnienia wszystkich olejów jadalnych. TAGi są głównymi składnikami olejów i tłuszczów roślinnych i mogą być stosowane jako wskaźniki do identyfikacji zafałszowań, biorąc pod uwagę, że mają różny skład w różnych olejach roślinnych. Sztuczne sieci neuronowe ANN są szeroko stosowane w branży spożywczej, m.in. do przewidywania pochodzenia surowców, optymalizacji metod przetwarzania i uzyskiwania żywności najlepszej jakości. Przeprowadzono jedynie ograniczone badania nad wykorzystaniem ANN do wykrywania zafałszowań i przewidywania jakości olejów roślinnych, więc w tym badaniu wybrano osiem powszechnie stosowanych olejów jako próbki do stworzenia modeli ANN.

Wykrywanie zafałszowań jest jednym ze sposobów ustanowienia ochrony żywności w celu zwiększenia jej bezpieczeństwa żywnościowego. Uważam zatem wybór tematu i zakresu badań niniejszej pracy za trafny i bardzo aktualny, szczególnie w dobie poszukiwania nowych, prostych, szybkich metod analizy żywności możliwych do zastosowania do oceny jej jakości i autentyczności. Ważne jest poszukiwanie innowacyjnych, mało pracochłonnych i tanich metod, które można by z łatwością wykorzystać w praktyce laboratoryjnej do badania zafałszowań olejów jadalnych.

Ocena układu rozprawy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest pracą o charakterze eksperymentalnym, o typowym układzie, napisana została w języku angielskim. Rozprawa obejmuje 7 rozdziałów w sumie 126 strony, w następującym układzie: streszczenie/abstrakt (w języku angielskim i polskim) (4 strony), wykaz skrótów (2 strony), wstęp (2 strony), przegląd literatury (18 stron), cel pracy, materiał i metody (7 stron), wyniki i dyskusja (32 strony), podsumowanie (2 strony), wnioski (2 strony), spis literatury (13 stron) podziękowania oraz spis tabel (2 strony), spis rysunków (2 strony) i aneks - załączniki (42 strony). W treści pracy zawartych jest 20 tabel oraz 15 rysunków, a dodatkowo aneks zawiera 27 tabel ze szczegółowymi wynikami przeprowadzonych analiz. Do przygotowania pracy Autorka wykorzystała 90 pozycji literaturowych. Wykorzystane piśmiennictwo jest anglojęzyczne, a prace pochodzące z ostatniej dekady stanowią 74%. W spisie literatury wkradły się drobne usterki m.in.: brakuje pełnych danych bibliograficznych w pozycji Carbone i wsp. 2001, Fang i wsp. 2015, Wang z 2015, a nazwy łacińskie powinny być pisane kursywą. Praca napisana jest na ogół poprawnym językiem, zdarzają się jednak literówki, drobne błędy stylistyczne i edytorskie. Pozostały też na końcu wierszy „bękarty”. Uzyskane wyniki badań poddane zostały analizie statystycznej i poprawnie zaprezentowane w czytelnych i starannie przygotowanych tabelach i rysunkach. Układ pracy, podział na rozdziały jest prawidłowy i typowy. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania formalne stawiane pracom dyplomowym na stopień doktora.

Ocena przeglądu literatury

Cześć literaturowa, ujęta została na 18 stronach w 5 podrozdziałach. Autorka najpierw scharakteryzowała główne składniki olejów jadalnych (triacylglicerole, kwasy tłuszczowe, sterole) omówiła technologie ich pozyskiwania i wielkość produkcji. Następnie skupiła się na scharakteryzowaniu metod fałszowania olejów jadalnych. A na koniec Autorka omówiła sieci neuronowe. Podsumowując stwierdzam, że opracowanie literaturowe, zostało dobrze zaplanowane i przygotowane. Jednakże wkradły się drobne nieścisłości i uproszczenia wynikające prawdopodobnie z niewłaściwego/nieprecyzyjnego wykorzystania źródeł literaturowych, które nie umniejszają wartości merytorycznej tego opracowania. M.in. na str. 10 dane dotyczące oleju słonecznikowego są

inne niż te zawarte w tabeli, kwasy tłuszczowe w tabeli nie sumują się do 100%. Na str. 13 dużym uproszczeniem jest stwierdzenie, że oleje są otrzymywane dwoma metodami tj. przez tłoczenie oraz rafinację. Rafinacja jest oczyszczaniem oleju, a nie metodą wydobycia/pozyskiwania oleju. Przedstawiony tu proces technologiczny otrzymywania olejów nie jest uniwersalny i typowy dla pozyskiwania olejów z nasion. Jest raczej typowy dla pozyskiwania oliwy z oliwek. Na str. 17 dane dotyczące produkcji są nieaktualne, pochodzą sprzed dekady. Szkoda, że nie wspomniano w tym rozdziale o oleju palmowym, najistotniejszym oleju pod względem wielkości produkcji i spożycia na świecie, również w Europie.

W odniesieniu do tej części pracy mam kilka pytań 1) Proszę o scharakteryzowanie technologii otrzymywania olejów z nasion np. oleju rzepakowego rafinowanego. Jak pozyskiwany jest olej surowy? 2) Proszę wyjaśnić, czy oleje zafalszowane i zanieczyszczone to to samo? Na czy polega fałszowanie olejów jadalnych olejem mineralnym, jakie ilości wykrywa się w badaniach (ile %)? 3) Proszę wyjaśnić jak można odróżnić oleje tłoczone na zimno od rafinowanych, jak wykryć zafalszowanie.

Ocena celu pracy

Celowość przedsięwziętych badań Autorka przedstawiła i uzasadniła w rozdziale „Cel rozprawy”. Sprecyzowano tu główny cel pracy, którym była ocena zdolności sztucznej sieci neuronowej do identyfikacji oleju roślinnego z wykorzystaniem składu i zawartości składników endogennych, takich jak triacyloglicerole, kwasy tłuszczowe i sterole. Następnie przedstawiono 7 zadań badawczych: ocena metody HTGC-FID do oznaczania TAG w olejach roślinnych; ocena metody HPLC-ELSD do oznaczania TAG w olejach roślinnych; zebrane próbek olejów roślinnych; oznaczenie TAG, FA i steroli w prawie pięćdziesięciu próbkach dla każdego z ośmiu rodzajów olejów roślinnych; wykorzystanie PCA do redukcji danych wejściowych do ANN; uczenie ANN do wyboru najlepszych modeli ANN; przetestowanie modeli ANN.

W pracy nie przedstawiono żadnej hipotezy badawczej. Jednakże w mojej opinii cel i zadania badawcze zostały prawidłowo określone i w pełni odpowiadają tematowi rozprawy. Umieszczony tu chyba przez pomyłkę schemat (rys. 4) powinien być w kolejnym rozdziale.

Ocena metod badawczych

Część doświadczalna pracy obejmuje rozdział „Materiał i metody”, w którym podano charakterystykę użytych olejów, odczynników chemicznych, następnie opisano metody analityczne i statystyczne. Materiałem do badań było 8 rodzajów olejów: kukurydziany, lniany, rzepakowy, słonecznikowy, sojowy, z pestek dyni, z nasion czarnuszki, oliwa z oliwek, które zakupiono w sieci detalicznej lub uzyskano od producentów - 35-50 próbek każdego. W badanych olejach oznaczano

zawartość triacylogliceroli (TAG) dwoma metodami GC i HPLC, steroli – metodą GC-FID i składu procentowego kwasów tłuszczowych – metodą GC-FID. Poszczególne instrumentalne metody badań zostały szczegółowo opisane. Uzyskane wyniki poddano analizie PCA, a następnie zbudowano modele sieci neuronowych przy wykorzystaniu programu Statistica. W badaniu zastosowano algorytm uczenia nadzorowanego. Łączna liczba przypadków w zbiorze danych wyniosła 371, a każda zmienna reprezentowała osobny przypadek. Podjęto decyzję o podzieleniu zestawu danych na trzy podzbiory. Zbiorowi uczącemu przydzielono 70% danych, a resztę danych podzielono równo między zestawy walidacyjne i testowe. Przetworzono zbiór danych empirycznych, który poddano analizie komponentów, a następnie zbudowano trzy modele ANN (Artificial Neural Networks). W Modelu 1 były one oparte na przeglądzie literatury, podczas gdy w modelach 2 i 3 zostały wybrane przez analizę składowych głównych PCA (Principal Component Analysis). Wszystkie parametry ANN takie jak liczba warstw, liczba neuronów w warstwie ukrytej, algorytm uczenia były dobierane arbitralnie. Po wielu podejściach ostatecznie ustalono topologię ANN: warstwa wejściowa, jedna warstwa ukryta i warstwa wyjściowa oraz algorytmy uczące BFGS (Broyden Fletcher Goldfarb Shanno) dla sieci MLP (Multilayer Perceptron) i RBFT (Radial Basis Function Teaching) dla sieci RBF (Radial Basis Function). Parametry oleju były zmiennymi wejściowymi, a jeden z ośmiu olejów był zmienną wyjściową. W Modelu 1 dane wejściowe stanowiły wyniki uzyskane dla OOO, OOL, OOS, OOP, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol w 8 badanych olejach. Do zbudowania Modelu 2 ograniczono liczbę wprowadzanych danych do OOL, OOO, OOP, POL, C18:1, C16:0, C18:0 i kampesterolu, natomiast Model 3 opierał się tylko na sześciu triacyloglicerolach: OOO, POL, OOP, LOL, OOS, OOL. Badane były dwa typy sieci neuronowych - MLP i RBF.

W mojej opinii w metodyce brakuje informacji o zbiorze danych literaturowych dotyczących TAG, kwasów tłuszczowych i steroli zastosowanych w modelu 1. Proszę o wyjaśnienie z ilu? i z jakich? publikacji zaczerpnięto dane literaturowe? ile było tych danych? Bez względu na powyższe uważam, że przedstawiony w pracy materiał do badań i metody badań zostały dobrze i wyczerpująco scharakteryzowane.

Ocena omówienia wyników i dyskusji

Najobszerniejszą część pracy stanowi rozdział „Wyniki i dyskusja”, który podzielono na podrozdziały. Przeprowadzone i opisane dotąd badania pozwoliły Autorce na zebranie 59 parametrów dotyczących FA, TAG i steroli dla ośmiu rodzajów olejów. C16:0, C18:1, C18:2 OOP, POL, OOL, LOL, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, β -sitosterol i sitostanol wykryto we wszystkich ośmiu olejach. Niektóre oleje zawierały charakterystyczne składniki: np. β -amyrynę i α -spinasterol, które znaleziono odpowiednio tylko w oleju słonecznikowym i oleju dyniowym. Przeprowadzono analizę głównych składowych i stworzono trzy modele SSN. Wyniki pokazały, że sieć MLP osiągnęła

bardziej zadowalające wyniki, które zostały wykorzystane w kolejnym etapie badań. Opracowana metoda z wykorzystaniem ANN i TAG jako danymi wejściowymi pozwoliła na zidentyfikowanie zafałszowania olejów na poziomie 20-40%. Optymalna topologia miała lepszy próg niż inne modele, mniej parametrów oraz wykorzystywała szybką i skuteczną metodę oznaczania TAG. Duża liczba różnych TAG dały unikalne wyniki widoczne w Modelu 3. Ze względu na różne znaczenie wybranych do testów triacylogliceroli w różnych olejach, ich próg wykrywalności może się znacznie różnić. Jednak patrząc kompleksowo, model 3 ma ogromne zalety. W porównaniu ze skomplikowanym procesem ekstrakcji steroli i z metylacją kwasów tłuszczowych, metoda HTGC umożliwia szybką analizę składników TAG. Co więcej, Model 3 ma tylko sześć zmiennych wejściowych, co jest wygodne i zmniejsza pracochłonność eksperymentów ANN. Model 3 ma zatem potencjał. W przyszłych badaniach lepiej byłoby wybrać najważniejsze TAGi dla każdego oleju.

Stwierdzam, że otrzymane w toku badań wyniki zostały poprawnie zaprezentowane w licznych tabelach i na rysunkach. Szeroki zakres badań i przeprowadzonych analiz pozwolił Autorce na uzyskanie szerokiego spektrum wyników, co stanowi solidną podstawę do szczegółowej charakterystyki olejów. Należy tu podkreślić, że jest niewiele doniesień dotyczących badania autentyczności olejów z wykorzystaniem sztucznych sieci neuronowych, zatem uzyskane wyniki stanowią ważny wkład do literatury naukowej w tym zakresie. W tym rozdziale pewne zastrzeżenia budzi staranność przygotowania treści (pomyłone jednostki mg/kg czy mg/g, brak powołania na rysunki, literówki np. C16 zamiast C18:2, powtórzone treści). Wkradły się tu też pewne nieścisłości i uproszczenia, a omówienie uzyskanych wyników często jest zbyt pobieżne, niekiedy tabele i wykresy wyprzedzają omawiane zagadnienia. Jednakże nie umniejsza to wartości merytorycznej pracy i uważam, że uzyskane wyniki zostały dostatecznie omówione.

W odniesieniu do tej części pracy proszę o odpowiedź na pytania: 1) Dlaczego zrezygnowano z analizy/identyfikacji mniej ważnych kwasów tłuszczowych w większości olejów np. C20, C22. Przy badaniu zafałszowania oliwy z oliwek zgodnie z Rozporządzeniem UE właśnie analiza kwasów tłuszczowych występujących w śladowych ilościach jest najistotniejsza. 2) W pracy nie wykryto skwalenu w oliwie z oliwek, jak to wyjaśnić? zgodnie z danymi literaturowymi jest go od 0,7 do 12 g/kg. 3) Nigdzie nie znalazłam informacji co to są warstwy/neurony ukryte? Np. 9 warstw ukrytych w modelu MLP 11-9-1? Proszę o wyjaśnienie.

Ocena podsumowania i wniosków

W rozdziale "Wnioski" na 2 stronach Autorka przedstawiła dziesięć bardzo zwięzłych stwierdzeń i wniosków, wynikających bezpośrednio z przeprowadzonych badań. Autorka wykazała, że sztuczne sieci neuronowe są użytecznym narzędziem do identyfikacji zafałszowań olejów roślinnych oraz że analiza głównych składowych (PCA) może być wykorzystana do zmniejszenia danych

wejściowych dla ANN. Niewątpliwą nowością tej pracy jest zaproponowanie do stosowania - modelu 3, który wykazał podobną wydajność w zakresie uczenia, walidacji i testowania jak Model 1 i 2, ale zmniejszył ilość potrzebnych danych wejściowych do TAG, bez konieczności oznaczania FA i steroli. Wykazano, że model sztucznej sieci neuronowej MLP M3.4 *3 o strukturze 6-15-1 na podstawie 6 TAGów prawidłowo identyfikuje zafalszowanie 8 rodzajów olejów roślinnych z progiem 20%. Zaprezentowane wnioski odnoszą się do celu pracy i zadań badawczych oraz wskazują na pełną realizację zaplanowanych badań.

Podsumowując stwierdzam, że zaplanowane przez Doktorantkę bardzo obszerne badania zostały konsekwentnie zrealizowane, cel pracy został osiągnięty, a zadania badawcze wykonane. Otrzymane liczne wyniki analiz instrumentalnych zostały poddane odpowiedniej analizie statystycznej, zostały starannie zaprezentowane, dostatecznie omówione i poddane dyskusji z literaturą. Na ich podstawie sformułowano poprawne wnioski. Badania dostarczają wartościowych informacji teoretycznych i gotowych rozwiązań praktycznych z zakresu analizy jakości i autentyczności olejów jadalnych. Należy jasno podkreślić, że przedstawione w recenzji krytyczne uwagi i spostrzeżenia miały na celu doskonalenie warsztatu naukowo-badawczego Autorki.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr inż. Qian Ying stanowi interesujące i innowacyjne opracowanie naukowe o charakterze aplikacyjnym. Dotyczy ono opracowania metody wykrywania zafalszowań olejów jadalnych przy wykorzystaniu analizy triacylogliceroli jako danych wejściowych dla sztucznych sieci neuronowych. Praca przyczynia się do poszerzenia wiedzy z zakresu nauk o żywności i żywieniu, jest oryginalnym ujęciem podjętego problemu. Praca została zrealizowana przy pomocy bardzo dobrze dobranych, nowoczesnych, instrumentalnych technik badawczych, dowodzi, że Autorka opanowała warsztat badawczy, potrafi stawiać i rozwiązywać problemy badawcze, co pozwala na samodzielne prowadzenie badań naukowych, a dodatkowo wskazuje na szeroką wiedzę teoretyczną w reprezentowanym temacie.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca Pani Qian Ying pt. "The composition of triacylglycerols as an indicator of edible oil adulteration" spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Tekst jedn.: Dz.U. z 2014 r. poz. 1852 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr inż. do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Małgorzata Wroniak