

dr hab. inż. Jerzy Pluciński, prof. PG
Katedra Metrologii i Optoelektroniki
Wydział Elektroniki, Telekomunikacji i Informatyki
Politechnika Gdańska
ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

Gdańsk, 25 kwietnia 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej **mgra inż. Piotra Stępnia** pt.:
„Ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia”

Uwagi ogólne

Formalną podstawą prawną wykonania recenzji jest uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika Politechniki Warszawskiej z dnia 21.02.2023 r., powołująca mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgra inż. Piotra Stępnia zatytułowanej „Ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia”. Dokumentację związaną z recenzją otrzymałem 9 marca 2023 r. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. inż. Małgorzata Kujawińska, a promotorem pomocniczym dr inż. Wojciech Krauze.

Rozprawa zawiera trzy rozdziały. Pierwsze dwa rozdziały napisane w języku polskim stanowią wstęp i przewodnik po publikacjach; trzeci rozdział zawiera 11 recenzowanych publikacji naukowych napisanych w języku angielskim (w tym 6 opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR), stanowiące przedmiot rozprawy. Rozprawa zawiera również bibliografię do pierwszych dwóch rozdziałów, streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim, glosariusz i spis treści. W sumie rozprawa liczy 184 strony.

Tematyka rozprawy

Rozprawa doktorska mgra inż. Piotra Stępnia dotyczy ilościowego obrazowania fazowego (QPI – ang. *quantitative phase imaging*) struktur biologicznych z wykorzystaniem cyfrowej mikroskopii holograficznej (DHM – ang. *digital holographic microscopy*) i tomografii holograficznej (HT – ang. *holographic tomography*) z rozszerzonym polem widzenia.

Charakter rozprawy

Rozprawa ma charakter teoretyczno-doświadczalny. Wiedza teoretyczna została wykorzystana głównie do analizy otrzymanych obrazów holograficznych z wykorzystaniem systemów DHM i HT w celu wyznaczenia ilościowych parametrów obrazowanych obiektów fazowych takich jak objętościowe rozkłady współczynnika załamania światła obiektów spójnie wypełniających pole pomiarowe, w szczególności w warunkach rozszerzonego pola widzenia realizowanego metodą sklejanego wielu obrazów holograficznych w jedną całość, a także w poszukiwaniu najskuteczniejszych procedur kompresji hologramów przy zachowaniu ich właściwości metrologicznych.

Charakter doświadczalny rozprawy związany jest z wykorzystaniem opracowanych technik pomiarowych i algorytmów przetwarzania obrazów w licznych badaniach biomedycznych (np. w terapii laserowej i w hodowli komórek).

Problem badawczy, cel i teza pracy

Problemem badawczym przedstawionym przez Doktoranta w rozprawie jest ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych w warunkach dużego pola widzenia (rzędu milimetrów) przy jednoczesnej wysokiej rozdzielczości (rzędu 100–200 nm). Rozwiązanie tego problemu jest kluczowe w wykorzystaniu QPI w wielu zastosowaniach biomedycznych, takich jak histopatologia, monitorowanie komórek krwi i badania organoidów. Obrazowanie fazowe jest bezwzględnie potrzebne tam, gdzie badane są obiekty o bardzo małej absorpcji powodującej bardzo mały kontrast obrazowania w badaniach opartych na pomiarze natężenia światła, a metody zwiększające kontrast poprzez np. aplikacje widocznych barwników lub znaczników fluorescencyjnych nie mogą być zastosowane z uwagi np. na szkodliwość dla żywych obiektów. W obrazowaniu obiektów fazowych z wysoką rozdzielczością mogą być wykorzystane techniki holograficzne, np. mikroskopia holograficzna lub tomografia holograficzna, jednak przy próbie wykorzystania tych technik pojawia się bardzo często problem zbyt małego pola widzenia. Dotychczas problem ten próbuje się rozwiązać poprzez zastosowanie technik sklejania wielu obrazów w jeden większy, ale samo sklejanie obrazów generuje nowe problemy związane z nieciągłością kontrastu obrazowania na granicach sklejanego obrazów, co prowadzi często do utraty rozdzielczości obrazowania w tych obszarach i ilościowego charakteru obrazowania obiektów fazowych. Aby rozwiązać te problemy, Doktorant sformułował następujący cel pracy:

„Celem pracy jest opracowanie zbioru technik pozwalających na wydajne uzyskanie rozszerzonego pola widzenia bez utraty rozdzielczości i ilościowego charakteru obrazowania w technikach DHM i HT.”

Cel ten jest precyzyjnie i jasno sformułowany.

Niestety, w pracy brakuje tezy, która powszechnie jest stawiana w rozprawie doktorskiej i należałoby jej oczekiwać. Dlatego prośba zawarta w zaleceniach dla recenzentów prac doktorskich, jaką otrzymałem od Rady Naukowej Dyscypliny Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika Politechniki Warszawskiej wraz z rozprawą, dotycząca ustosunkowania się do tezy pracy nie może być w tych okolicznościach spełniona. Należy jednak zaznaczyć, że formalnie obecność tezy nie jest wymagana, tj. warunki stawiane na rozprawom doktorskim określone w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r., opublikowanej w Dzienniku Ustaw, poz. 1668 z późn. zm., art. 187 nie zawierają takiego wymagania. (Ustawa precyzuje, że przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne, a ten warunek przedstawiona rozprawa spełnia).

Rozwiązanie oryginalnego problemu badawczego Doktorant przedstawił w następującym zbiorze opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych:

- P1. **P. Stępień**, D. Korbuszewski, M. Kujawińska: Digital Holographic Microscopy with extended field of view using tool for generic image stitching. *ETRI Journal*, Vol. **41**, No. 1, 2019, pp. 73–83, <https://doi.org/10.4218/etrij.2018-0499>.
- P2. **P. Stępień**, R. K. Muhamad, D. Blinder, P. Schelkens, M. Kujawińska: Spatial bandwidth-optimized compression of image plane off-axis holograms with image and video codecs. *Optics Express*, Vol. **28**, No. 19, 2020, pp. 27 873–27 892, <https://doi.org/10.1364/OE.398598>.
- P3. **P. Stępień**, W. Krauze, M. Kujawińska: Preprocessing methods for quantitative phase image stitching. *Biomedical Optics Express*, Vol. **13**, No. 1, 2021, pp. 1–13, <https://doi.org/10.1364/BOE.439045>.
- P4. M. Baczewska, **P. Stępień**, M. Mazur, W. Krauze, N. Nowak, J. Szymański, M. Kujawińska: Method to analyze effects of low-level laser therapy on biological cells

- with a digital holographic microscope. *Applied Optics*, Vol. **61**, No. 5, 2022, pp. B297–B306, <https://doi.org/10.1364/AO.445337>.
- P5. R. K. Muhamad, **P. Stępień**, M. Kujawińska, P. Schelkens: Off-axis image plane hologram compression in holographic tomography-metrological assessment. *Optics Express*, Vol. **30**, No. 3, 2022, pp. 4261–4273, <https://doi.org/10.1364/OE.449932>.
- P6. P. Schelkens, A. Ahar, A. Gilles, R. K. Muhamad, T. J. Naughton, C. Perra, A. Pinheiro, **P. Stępień**, M. Kujawińska: Compression strategies for digital holograms in biomedical and multimedia applications. *Light: Advanced Manufacturing*, Vol. **3**, No. 3, 2022, pp. 601–621 <https://doi.org/10.37188/lam.2022.040>.
- P7. **P. Stępień**, M. Ziemczonok, M. Kujawińska, M. Baczewska, L. Valenti, A. Cherubini, E. Casirati, W. Krauze: Numerical refractive index correction for the stitching procedure in tomographic quantitative phase imaging. *Biomedical Optics Express*, Vol. **13**, No. 11, 2022, pp. 5709–5720, <https://doi.org/10.1364/BOE.466403>.
- K1. **P. Stępień**, T. Bernaś, W. Krauze, H. Sas-Nowosielska, M. Kujawińska: Multi-modal quantitative analysis of HeLa cells using digital holographic microscopy and confocal laser scanning microscopy. *Proceedings of SPIE The International Society for Optical Engineering*, Vol. **10834**, 2018, pp. 108341V1–7, <https://doi.org/10.1117/12.2319588>.
- K2. **P. Stępień**, R. K. Muhamad, M. Kujawińska, P. Schelkens: Hologram compression in quantitative phase imaging. *Proceedings of SPIE The International Society for Optical Engineering*, Vol. **11249**, 2020, pp. 112491Q1–12, <https://doi.org/10.1117/12.2546092>.
- K3. R. K. Muhamad, **P. Stępień**, D. Blinder, P. Schelkens, M. Kujawińska: Holographic data compression for holographic microscopy and tomography in biomedical applications. In *Digital Holography and Three-Dimensional Imaging*, Optica Publishing Group, 2020, HTh5D-1, pp. 1–2, <https://doi.org/10.1364/DH.2020.HTh5D.1>.
- K4. M. Baczewska, W. Krauze, A. Kuś, **P. Stępień**, K. Tokarska, K. Żukowski, E. Malinowska, Z. Brzózka, M. Kujawińska: On-chip holographic tomography for quantifying refractive index changes of cells' dynamics. *Proceedings of SPIE The International Society for Optical Engineering*, Vol. **11970**, 2022, pp. 11970008-1–5, <https://doi.org/10.1117/12.2608641>.

Rozwiązanie problemu

Rozszerzanie pola widzenia poprzez zszywanie wielu obrazów (tj. łączeniu wielu obrazów z nakładającymi się polami widzenia) obiektów fazowych pozyskanych za pomocą DHM i HT na potrzeby ilościowego obrazowania fazowego jest techniką dotychczas mało rozwiniętą w porównaniu z różnymi metodami stosowanymi w zszywaniu obrazów natężeniowych. Przyczyną tego stanu rzeczy jest to, że pomiary fazy, jakie dokonujemy za pomocą technik interferometrycznych, do których należą techniki DHM i HT, są pomiarami względnymi z uwagi na okresowość natężenia promieniowania powstałego w wyniku interferencji wiązki pomiarowej i wiązki odniesienia w funkcji ich różnicy faz. Zatem techniki te bardzo dobrze radzą sobie ze względnymi zmianami fazy w poszczególnych, blisko położonych miejscach w obrazie, ale nie dają one bezpośrednio informacji o bezwzględnych wartościach fazy. Dysponując wąskim polem widzenia pochodzącym z jednego obrazu, najczęściej nie jesteśmy w stanie na podstawie pomierzonych różnic fazy w poszczególnych obszarach obrazu zobrazować bezwzględne opóźnienie fazowe wnoszone przez badany obiekt. Co więcej, mając wiele obrazów, które chcemy zszyć w jeden większy, na ich granicach zobrazowana faza może być zobrazowana względem innej wartości początkowej na przykład ze względu na aberracje układu optycznego prowadzące do zniekształcenia frontów falowych, wolnozmiennie zmiany fazy wynikające z niestabilności badanego obiektu (np. podczas badania hodowli komórkowych z płynną pożywką) czy

zmiany fazy wiązki odniesienia w czasie niezbędnym do zmiany pola widzenia potrzebnej, aby zarejestrować kolejny pojedynczy obraz do wykorzystania w technice zszywania. Prowadzi to do sytuacji, w której na granicy zszytych obrazów mogą powstać skokowe różnice fazy, a takie same obiekty zobrazowane w dwóch różnych obrazach, po ich zszytciu będą zobrazowane jako obiekty wnoszące różne przesunięcie fazowe.

W swoich pracach Doktorant zaproponował kilka metod rozwiązania tego problemu. Cechą wspólną tych metod jest taka rejestracja poszczególnych obrazów do późnego zszywania, by w miejscu ich łączenia obrazy te częściowo zachodziły na siebie. W metodach tych w następnym kroku dokonywane jest uzgodnienie faz odniesienia poszczególnych obrazów tak, aby uzyskać zgodność fazy obiektów występujących na częściach wspólnych zachodzących częściowo na siebie obrazów. Na potrzeby wykorzystania technik DHM do ilościowego obrazowania fazowego Doktorant opracował i przetestował kilka metod uzgadniania fazy. Należą do nich metoda wykorzystująca usuwanie skutków aberracji systematycznej połączona z usuwaniem skutków aberracji liniowego trendu fazowego, opisana przez Doktoranta w pracy [P1] oraz w pracy [P3] pod nazwą metoda seq-BC (ang. *sequential baseline correction*). Do korekcji aberracji systematycznej Doktorant wykorzystał nowatorską metodę AME (ang. *averaged multiple exposure*) [P1] oraz FAME (ang. *filtered averaged multiple exposure*) [P3] będącą rozszerzoną metodą AME o filtrację dolnoprzepustową. Do usuwania skutków aberracji liniowego trendu fazowego Doktorant wykorzystał metodę grad-PF (ang. *gradient-based plane fitting*).

Innymi zaproponowanymi przez Doktoranta metodami uzgadniania fazy przy zszywaniu obrazów jest metoda opt-B (ang. *optimization-based baseline correction*), polegająca na minimalizacji sumy błędów średniokwadratowych różnic fazy pomiędzy pokrywającymi się fragmentami sąsiadujących obrazów, oraz metodą opt-BT (ang. *optimization-based baseline and trend correction*), będącą metodą opt-B z dodatkową redukcją wpływu liniowego trendu fazowego [P7].

Choć wyżej wspomniane metody uzgadniania fazy łączonych obrazów zostały opracowane przez Doktoranta na potrzeby DHM, mogą one być również wykorzystane przy uzgadnianiu fazy w czasie łączenia obrazów pochodzących z HT. Na potrzeby łączenia obrazów HT Doktorant zaproponował istotne usprawnienie metody opt-B, jaką jest metoda IABC (ang. *iterative averaged baseline correction*) [P7] polegające na iteracyjnej korekcji bazowego współczynnika załamania, względem którego na podstawie rejestrowanych różnic współczynnika załamania obliczone są bezwzględne wartości współczynnika załamania w otrzymanych obrazach powstałych ze sklejanego obrazów tomograficznych.

Istotnym problemem, jaki pojawia się przy tworzeniu obrazów przy rozszerzonym polu widzenia poprzez zszywanie wielu obrazów obiektów fazowych pozyskanych za pomocą DHM i HT na potrzeby ilościowego obrazowania fazowego jest wielkość otrzymanych plików. Na przykład, zszywając w jeden obraz 10 obrazów \times 10 obrazów składowych o wymiarze 2000 pikseli \times 2500 pikseli przy 8-bitowym kodowaniu pojedynczego piksela otrzymujemy 500 MB (476,84 MiB) surowych danych. W swoich badaniach Doktorant wielokrotnie powtarzał rejestracje zszytych obrazów powstałych w wyniku pomiarów metodą DHM lub HT badanego obiektu z częstotliwością kilku zszytych obrazów na godzinę. W powyższym przykładzie, rejestrując zszyty obraz co 10 minut, przy 24-godzinnej rejestracji otrzymujemy 72 GB (68 664 MiB \cong 67,06 GiB). W pracy [P7] Doktorant opisuje sytuację, w której w czasie badań dokonał 320 pomiarów, gdzie przy każdym pomiarze dokonał zszywania 360 obrazów obiektów fazowych, co oznacza, że zarejestrowano 576 GB (536,44 GiB). Posługiwanie się i archiwizacja tak dużych ilości danych jest bardzo kłopotliwa, dlatego Doktorant zdecydował się na przebadanie, czy można za pomocą dostępnych i popularnych kodeków stratnych przeznaczonych do kompresji plików z pojedynczymi obrazami lub plików wideo można skompresować uzyskane dane holograficzne tak, by nie wpłynęło to istotnie na możliwość poprawnego odzyskania informacji fazowych (zastosowane kodeki są zoptymalizowane na minimalizację negatywnego wpływu kompresji na ocenę wizualną odtwarzanych plików obrazowych, a nie na kompresję danych

holograficznych). Pod względem kompresji przebadano również kilka kodeków bezstratnych. Problemowi kompresji poświęcono prace [P2, P5, P6, K2, K3]. W swoich badaniach wzięte były przede wszystkim dwa najistotniejsze kryteria: stopień kompresji i (w wypadku zastosowanych kodeków stratnych) dokładność metrologiczna odtworzonych ze skompresowanych plików obrazów oraz stosunek sygnału do szumu. Przebadane zostały kodeki bezstratne oraz stratne. Przebadano pod tym względem popularne kodeki: AVC (H.264/AVC), HEVC (H.265/HEVC), JPEG, JPEG 2000, JPEG LS, JPEG XS oraz kodek JPEG DAPD (prawdopodobnie chodzi tu o kodek „JPEG 2000 with Directional Wavelet and Full Packet Decomposition” – Doktorant w pracy [K2], wymieniając ten kodek, powołuje się tam do pozycji literaturowej [38], w której, niestety, kodek pod nazwą JPEG DADP nie występuje; jednak w jednej z prac opublikowanych przez Doktoranta, do której recenzent zdołał dotrzeć, na takie rozwinięcie akronimu JPEG DAPD można się natknąć). Z pośród przebadanych kodeków stratnych najgorszym pod względem otrzymanego szumu natężenia oraz fazy odtwarzanych frontów falowych był w większości wypadków kodek JPEG (czasem, przy niektórych stopniach kompresji najgorszym okazał się kodek JPEG XS), a najlepszym kodek JPEG 2000. Szkoda, że w swoich pracach Doktorant nie przedstawił wyników badań dotyczących najnowszego kodeka do kompresji wideo w zastosowaniu do kompresji obrazów holograficznych tego samego obiektu przy danym interwale czasowym, jakim jest dostępny od 2020 roku kodek H.266/VVC (wersja nieoficjalna tego kodeka była już dostępna w 2019 roku); wspomniał o nim jedynie w pracy [P6], twierdząc, że umożliwi on kompresję obrazów o 30–50% lepszą niż uzyskana za pomocą kodeka HEVC. W wyniku przeprowadzonych badań Doktorant wykazał, że możliwe jest osiągnięcie wysokiego współczynnika kompresji przy niewielkiej utracie jakości zrekonstruowanych rozkładów fazy (określonej poziomem szumu i poziomem błędu fazy) frontów falowych promieniowania optycznego przechodzącego przez objekty fazowe [K2].

Opisane wyżej metody zszywania oraz kompresji obrazów holograficznych były z powodzeniem przetestowane i zastosowane w badaniach biomedycznych. Metoda wykorzystująca zszyte obrazy pochodzące z mikroskopu holograficznego była przetestowana na hodowlach komórkowych [P1, K2], w tym linii komórek HeLa (linia komórkowa raka szyjki macicy) w obrazowaniu struktur wewnątrzkomórkowych [K1] bez wykorzystania toksycznych fluorescencyjnych markerów, które są typowo stosowane w obrazowaniu wnętrza komórek, oraz linii komórkowej keratynocytów HaCaT w badaniach nad procesem gojenia się rany [P3]. Metoda ta była również wykorzystana w analizie efektów terapii laserowej o niskim poziomie w komórkach biologicznych [P4], gdzie również wykorzystano komórki z linii HaCaT, a także komórki SHSY-5Y (linia komórkowa pochodząca z ludzkiego rdzenia nadnerczy). Opracowane metody kompresji obrazów z tomografii holograficznej wykorzystano w badaniach kultur komórkowych A549 (adenokarcynoma komórek nabłonka pęcherzykowego płuc) i MeWo (linia komórkowa pochodząca z ludzkiej skóry) [K4] oraz organoidu wątroby [P7].

Wiedza Doktoranta i znajomość literatury

Treści zawarte w rozprawie doktorskiej pozwalają stwierdzić, że Doktorant ma wystarczającą wiedzę na temat prowadzenia badań na pograniczu elektroniki optoelektroniki i fotoniki oraz w zakresie pozwalającym definiować i skutecznie rozwiązywać problemy wyłaniające się w zaawansowanych technikach diagnostycznych. Znajomość literatury jest wystarczająca, a jej wykorzystanie właściwe. Bibliografia rozprawy obejmuje 42 pozycji, z czego większość pochodzi z ostatniej dekady z renomowanych czasopism naukowych o zasięgu światowym. Liczba ta budzi pewien niedosyt i związana jest z dość lapidarnym opisem stanu wiedzy w rozprawie. Na usprawiedliwienie Doktoranta przemawia fakt, że wiele wartościowych pozycji literaturowych, na które Doktorant nie odwołuje się bezpośrednio w rozprawie, zawierają artykuły przedstawione w rozdziale trzecim rozprawy. Poszczególne artykuły zawierają bibliografię obejmującą od 14 do 130 pozycji. Ponieważ pozycje te występują w publikacjach,

w których Doktorant jest współautorem, trudno określić jednoznacznie, na które pozycje powołał się bezpośrednio Doktorant, po ich wnikliwym przestudiowaniu, a na które pozostali współautorzy.

Wkład rozprawy w rozwój optycznych technik diagnostycznych

Opracowane metody zszywania obrazów wykorzystywane w mikroskopii holograficznej i tomografii optycznej z rozszerzonym polem widzenia mają istotne znaczenie praktyczne w diagnostyce – zwłaszcza na potrzeby badań biomedycznych. Pozwalają bowiem ilościowo obrazować obiekty fazowe o rozmiarach znacznie większych niż pozwala na to pojedynczy obraz uzyskiwany z cyfrowego mikroskopu holograficznego lub tomografu holograficznego przy zachowaniu przestrzennej zdolności rozdzielczej, jakie te systemy oferują.

Oryginalny dorobek Doktoranta

Do oryginalnych osiągnięć Doktoranta zaliczyć można:

1. opracowanie procedury zszywania wielu pojedynczych obrazów obiektów fazowych pochodzących z cyfrowego mikroskopu holograficznego przy obecności aberracji fazowych układu optycznego prowadzących do zniekształcenia frontów falowych w jeden obraz przy uzgodnieniu wartości fazy odniesienia poszczególnych zszywanych obrazów obiektów wypełniających pole pomiarowe;
2. opracowanie procedury rekonstrukcji rozkładu współczynnika załamania obrazowanego obiektów wypełniających pole pomiarowe z uwzględnieniem wartości odniesienia współczynnika załamania, gdzie rekonstrukcji dokonujemy na podstawie wielu pojedynczych obrazów obiektów fazowych pochodzących z tomografu holograficznego;
3. przebadanie wpływu kompresji danych pomiarowych z wykorzystaniem różnych dostępnych kodeków na dokładność zrekonstruowanych rozkładów fazy (określonej poziomem szumu i poziomem błędu fazy) frontów falowych promieniowania optycznego przechodzącego przez obiekty fazowe;
4. zastosowanie opracowanych procedur wykorzystania mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia w badaniach biomedycznych związanych z terapią laserową lub hodowlą komórek;
5. opublikowanie wyników badań związanych z rozprawą doktorską w siedmiu artykułach w czasopismach naukowych (w tym sześciu artykułów w czasopismach znajdujących się na liście JCR, gdzie w czterech jest pierwszym współautorem) oraz dodatkowo w czterech artykułach pokonferencyjnych.

Uwagi merytoryczne, słabe strony pracy

1. W rozprawie nie postawiono ani tezy ani hipotezy. Choć konieczność postawienia tezy lub hipotezy w rozprawie doktorskiej nie jest ustawowo uregulowana, zdaniem recenzenta rozprawa doktorska powinna mieć tezę lub hipotezę, której dowód powinien stanowić główny punkt rozprawy i który będzie poparty argumentami, badaniami i analizami. Teza lub hipoteza powinna odzwierciedlać cel pracy i wskazywać, co dokładnie badacz chce udowodnić lub odkryć poprzez swoje badania. Powinna być ona możliwa do zweryfikowania poprzez metody naukowe i uwzględniać istniejące badania i publikacje w danej dziedzinie. Postawienie tezy lub hipotezy jest od wieków nieodłącznym elementem w wielu dziedzinach naukowych, zwłaszcza w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w szczególności w naukach fizycznych. Przedstawiona rozprawa doktorska dotyczy dziedziny nauk inżynierijno-technicznych, która mocno związana jest z fizyką stosowaną i z tego powodu też powinna mieć, tak jak w naukach fizycznych (lub bardziej ogólnie – w naukach ścisłych i przyrodniczych), postawioną tezę. Również

- z wytycznych Rady Naukowej Dyscypliny Automatyka, Elektronika i Elektrotechnika (obecnie Rady Naukowej Dyscypliny Automatyka, Elektronika, Elektrotechnika i Technologie Kosmiczne) Politechniki Warszawskiej wynika, że teza powinna być postawiona, skoro w wytycznych dla recenzenta jest prośba, by się do tezy ustosunkował.
2. Przedstawiony przewodnik po zbiorze opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych jest bardzo lapidarny. Ponieważ zbiór ten nie zawiera przeglądowego artykułu dotyczącego stanu wiedzy na temat ilościowego obrazowania fazowego struktur biologicznych, rozprawa powinna zawierać osobny rozdział na ten temat. W rozdziale tym powinien być opis również innych metod niż mikroskopia holograficzna i tomografia holograficzna z rozszerzonym polem widzenia, chociażby w celach porównawczych – ilościowe obrazowanie fazowe może być również dokonane za pomocą tomografii dyfrakcyjnej, mikroskopii optycznej z kontrastem fazowym, optycznej tomografii koherentnej lub transmisyjnej optycznej tomografii koherentnej. Z przyczyn praktycznych Doktorant wybrał dwie metody ilościowego obrazowania fazowego, jakimi są mikroskopia holograficzna i tomografia holograficzna z rozszerzonym polem widzenia, które nie wymagają (w odróżnieniu np. od tomografii dyfrakcyjnej) pomiarów z wielu stron. Takiego obrazowania nie wymaga również optyczna tomografia koherentna – szkoda, że do tej metody nie ustosunkował się Doktorant, zwłaszcza w kontekście pomiaru bezwzględnej wartości zmiany fazy promieniowania optycznego wnoszonej przez badany obiekt fazowy (w optycznej tomografii koherentnej, która wykorzystuje promieniowanie o szerokim widmie, taki pomiar jest możliwy dla danej długości fali na podstawie szybkości zmian fazy w funkcji długości fali).
 3. W niektórych obiektach biologicznych występuje zjawisko dwójłomności (np. w ścięgnach, nerwach, niektórych strukturach oka czy tkankach zawierające kolagen). Część tych obiektów można zaliczyć do obiektów fazowych. Czy wykorzystywane metody ilościowego obrazowania fazowego nadają się również do tego typu obiektów – jeśli nie, to czy możliwe są modyfikacje tych metod, aby obrazowanie takie było możliwe?
 4. W rozprawie i dołączonych artykułach Doktorant stosuje nieprawidłowe jednostki przy określaniu wielkości plików lub ilości danych pomiarowych, co prowadzić może do licznych nieporozumień i interpretacji uzyskanych wyników. Na przykład na 30 stronie rozprawy Doktorant opisuje problem rozmiaru danych holograficznych, gdzie stwierdza, że przy zastosowaniu sensora o wymiarach 2000 pikseli \times 2500 pikseli i 8-bitowym kodowaniu poziomów stopnia szarości pojedynczego piksela otrzymujemy plik o rozmiarze „blisko 5 MB” (czemu blisko, a nie dokładnie 5 MB?). Dalej pisze, że przy akwizycji obrazów raz na 10 minut przez 24 godziny, gdzie rejestrowany obszar zawiera 100 pól widzenia otrzymuje niemalże 69 GB surowych danych pomiarowych. Łatwo sprawdzić, że nie jest to prawda – surowe dane pomiarowe zajmą $6 \times 24 \times 100 \times 5 \text{ MB} = 72\,000 \text{ MB} = 72 \text{ GB} (\cong 67,06 \text{ GiB})$, a nie, jak podaje Doktorant „niemalże 69 GB”. Podobne wątpliwości budzą wartości ilości danych zawarte w pracach [P6] i [K3] – np. dlaczego z kamery Sony IMX250 posiadająca 5,07 milionów pikseli przy rejestracji obrazów otrzymujemy pliki o wielkości 4,8 MB, a nie 5,07 MB? Odnoszę wrażenie, że zaistniała rozbieżność wzięła się z zastosowania między innymi błędnych jednostek. Wszak $72 \text{ GB} \cong 68\,664 \text{ MiB}$, co Doktorant zinterpretował błędnie jako „niemalże 69 GB”. Natomiast $5,07 \text{ MB} \cong 4,83 \text{ MiB}$. Powyższy przykład pokazuje, że Doktorant nie rozróżnia jednostek z przedrostkami wywodzącymi się od potęg liczby 10 (np. kilo (10^3), mega (10^6), giga (10^9), tera (10^{12})) od jednostek z przedrostkami wywodzącymi się od potęg liczby 2 (np. kibi (2^{10}), mebi (2^{20}), gibibyte (2^{30}), tebibyte (2^{40})) i nie stosuje się do Międzynarodowego Układu Jednostek Miar (Międzynarodowego Układu Jednostek Miar, Główny Urząd Miar, wydanie 9, 2019 rok, The International System of Units, Organisation intergouvernementale de la Convention du Mètre, 8^e édition, 2006), gdzie rozróżnia się przedrostki wywodzące się od potęg liczby 10 od przedrostków

wywodzących się od potęg liczby 2 oraz do Rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 5 czerwca 2020 r. w sprawie legalnych jednostek miar (Dz. U. 2020 r, poz. 1024), gdzie jednoznacznie określa się, że przedrostki kilo, mega, giga czy tera odnoszą się wyłącznie do przedrostków wywodzących się od potęg liczby 10. Recenzent jest świadomy, że potocznie często błędnie się stosuje przedrostki kilo, mega, giga czy tera zamiast kibi, mebi, gibi czy tebi odnośnie wielkości plików, pojemności pamięci itp., jednak w artykułach naukowych czy w rozprawie doktorskiej należy wystrzegać się tego typu błędów.

5. W wypadku interferometrów lepiej stosować znacznie częściej stosowany termin ramiona interferometru zamiast gałęzie interferometru (str. 17 rozprawy).

W rozprawie można znaleźć pojedyncze błędy edycyjne, np. brak spacji między liczbą i jednostką w „2 μ m” (str. 14), niepotrzebna kreska w wyrażeniu „nie-ilościowych” (str. 17) i związane z interpunkcją, np. w wyrażeniach „...analogicznej korekty nawet w przypadku kiedy...” (str. 24), „...większej liczby bitów aby zachować...” (str. 33).

Podsumowanie

Mgr inż. Piotr Stępień w czasie realizacji rozprawy doktorskiej wykazał dużą aktywność naukową, czego wynikiem są liczne publikacje naukowe i wystąpienia konferencyjne. Jego całkowity dorobek naukowy liczy 13 publikacji, w których jest współautorem (w 7 wypadkach jest pierwszym współautorem), z czego 11 publikacji stanowi podstawę rozprawy doktorskiej. Opracowane przez Doktoranta metody sklejania obrazów w ilościowym obrazowaniu fazowym struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia stanowią istotny wkład w rozwoju optycznych technik pomiarowych obiektów na poziomie komórkowym i subkomórkowym bez konieczności stosowania widocznych barwników lub znaczników fluorescencyjnych, które mogą być szkodliwe dla żywych obiektów. Pomimo wskazanych w recenzji usterek, stwierdzam, że **praca przedstawiona przez mgra inż. Piotra Stępnia spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określonych w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) oraz tym samym wnioskuję o dopuszczenie jej do publicznej obrony**. Biorąc pod uwagę publikacje wyników prac w renomowanych czasopiśmiech znajdującej się na liście JCR, spośród których w czterech jest pierwszym współautorem, **zaliczam rozprawę doktorską mgra inż. Piotra Stępnia do kategorii spełniająca wymagania z wyraźnym nadmiarem**.

J. Placiński