

prof. dr hab. Marek Pajek
Instytut Fizyki
Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach

Kielce, dn. 8.04.2018

Opinia o rozprawie doktorskiej Pani mgr Magdaleny Marzec pt.:

***Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych
metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS***

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Marzec została przygotowana w Zakładzie Fizyki Medycznej Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod opieką naukową dr hab. Romana Pędrysa i dr hab. Doroty Wojtasik z Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Rozprawa ta poświęcona jest wykorzystaniu spektrometrii masowej jonów wtórnych wykorzystującej metodę „czasu przelotu” do identyfikacji badanych jonów, znanej powszechnie jako TOF-SIMS. Rozprawa ma charakter interdyscyplinarny, co wynika z zastosowania zaawansowanych metod fizycznych (TOF-SIMS) do badania procesów biologicznych, wchodzi zatem w zakres szeroko rozumianej biofizyki. Należy podkreślić, że badania interdyscyplinarne podjęte w rozprawie mają duże znaczenie zarówno w aspekcie podstawowym, głównie w zakresie badania roli lipidów w procesach biologicznych, jak i aplikacyjnym, w szczególności dotyczącym wykorzystania zaawansowanych technik fizycznych w biologii. Demonstruje to dobitnie oceniana rozprawa pokazująca jak postęp metod eksperymentalnych w fizyce otwiera nowe możliwości badawcze w biologii i naukach pokrewnych. Jest to szczególnie widoczne w badaniach opisanych w rozprawie, gdzie zastosowana metoda TOF-SIMS okazała się znakomitym narzędziem badania lipidów, złożonych związków organicznych charakteryzujących się wielką różnorodnością.

Głównym problemem badawczym podjętym w rozprawie Pani mgr Magdaleny Marzec pt. „Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS” było rozwinięcie metod badania zawartości lipidów w tkankach biologicznych, w tym wypadku mięśni kurcząt, metodą spektrometrii masowej umożliwiającej badanie korelacji dieta-zawartość lipidów oraz czasowa zmienność zawartości lipidów w procesie przechowywania próbek. Zagadnienia te mają wielkie znaczenie dla produkcji i przechowywania żywności. Oceniana rozprawa jest zatem dobrym przykładem

łączenia badań podstawowych z zakresu fizyki i biologii z zastosowaniami, dotyczącymi szeroko rozumianych zagadnień żywienia.

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Marzec pt. „Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS” ma charakter interdyscyplinarny. Została przygotowana pod opieką naukową dr hab. Romana Pędrysa z Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie oraz dr hab. Doroty Wojtasik z Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Rozprawa jest bardzo obszerna, liczy 162 strony i zawiera bogatą bibliografię liczącą 351 pozycji oraz cenny 10-stronnicowy aneks zawierający charakterystyki lipidów występujących w próbkach biologicznych, które zostały zidentyfikowane metodą TOF-SIMS.

Struktura rozprawy jest jasna i logiczna: po krótkiej wstępnej części prezentującej motywację podjętych badań następują dwie główne części rozprawy obejmujące aspekty teoretyczne i eksperymentalne, a rozprawę zamyka podsumowanie, wnioski, bibliografia i aneks. W rozprawie dominują aspekty biologiczne dyskutowanych zagadnień, ogólne podstawy fizyczne metody SIMS opisane zostały w części teoretycznej (20 stron) chociaż w istocie omawiane tam są głównie zagadnienia aspekty eksperymentalne. W części eksperymentalnej aspekty aparaturowe przeprowadzonych pomiarów TOF-SIMS opisane są bardzo skrótowo, więcej uwagi poświęcono strategii i analizie statystycznej mierzonych widm masowych badanych próbek. Na podkreślenie zasługuje tu szczegółowa analiza statystyczna wyników mająca na celu prześledzenie statystyczne istotnych (na poziomie istotności $\alpha=0.05$) różnic w zawartości lipidów w badanych próbkach, co było podstawowym celem rozprawy zarówno w aspekcie wpływu diety jak i przechowywania na zawartość lipidów w badanych próbkach. Systematyczna analiza statystyczna zmierzonych widm masowych lipidów jest cennym aspektem rozprawy demonstrującym zarazem konieczność zastosowania zaawansowanych metod statystycznych w badania zawartości lipidów w tkankach biologicznych metodą TOF-SIMS.

W mojej ocenie rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Marzec pt. „Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS” chcę się odnieść do kilku kwestii dotyczących aspektów fizycznych rozprawy. Tytuł rozprawy „Analiza profili metodą TOF-SIMS” jest moim zdaniem nieco dwuznaczny,

gdyż dla fizyka SIMS jest podstawową metodą badania profili głębokościowych, podczas gdy w rozprawie chodzi tymczasem o „profile” zawartości różnych lipidów w próbkach, co jest w tym kontekście raczej terminem biologicznym. W generalnie poprawnym opisie metody SIMS zawartej w Rozdziale 2 wkradły się drobne uproszczenia i nieścisłości. Na przykład na stronie 35 stwierdzenie, że dla energii jonów wysokich energii „istnieje zależność $(dE_o/dz)_e >> (dE_o/dz)_n$ „, oraz że dla metody SIMS „człon $(dE_o/dz)_n$ jest dominujący” jest prawdziwe, natomiast nie jest wskazana przyczyna takiego efektu. Podobnie na str. 37 znajduję „Atomy są ...emitowane głównie jako neutralne cząstki”, co by sugerowało też inne możliwości ! Mało fizycznie brzmi też zdanie „sygnał jest wyzwalany uderzeniem wtórnych jonów o ściany detektora” (str. 42). Odnosząc się do eksperymentalnych aspektów przeprowadzonych pomiarów mam następujące pytania: Jakie były podstawowe charakterystyki (masowa zdolność rozdzielcza, granica wykrywalności) stosowanego w badaniach spektrometru TOF.SIMS-5 ? Czy osiągnięcie próżni 10^{-10} mbar w czasie pomiarów próbek biologicznych było rzeczywiście możliwe? Czy zastosowana kalibracja spektrometru TOF-SIMS wykorzystująca raczej lekkie jony ($m/z=1-40$) jest wystarczająca dla szerokiego zakresu mas do $m/z < 900$? Szerszego omówienia wymagają również przyczyny zróżnicowania wyboru typu wtórnych jonów, dodatnich lub ujemnych, w przeprowadzonych badaniach SIMS.

Pomimo odnotowanych drobnych uwag krytycznych uważam, że podstawowy cel recenzowanej rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Marzec został w pełni osiągnięty. Doktorantka wykazała, że metoda TOF-SIMS jest bardzo cennym i nowatorskim narzędziem badania zawartości lipidów w próbkach biologicznych (tkanka mięśniowa kurcząt) umożliwiającym rozstrzygnięcie wielu kwestii z zakresu biologii i technologii żywienia. Autorka pokazała w rozprawie, że ze względu na różnorodność i złożoność struktury lipidów do analizy i interpretacji widm masowych TOF-SIMS konieczne jest stosowanie zaawansowanych metod statystycznych. Oceniana rozprawa, moim zdaniem, wnosi wiele cennych wyników i doświadczeń (preparatyka próbek) istotnych dla upowszechniania stosowania metody TOF-SIMS w biologii, a w szczególności w biofizyce. Pomimo obszernego materiału badawczego zamieszczonego w rozprawie nie znajduję w niej informacji o publikacjach Doktorantki. Spodziewam się że takie prace są w przygotowaniu, gdyż część wyników przedstawionych w rozprawie godna jest upowszechnienia.

Podsumowując, uważam że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Marzec pt. „Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS” wnosi wiele nowych i istotnych wyników naukowych dotyczących zastosowania metody TOF-SIMS do analizy zawartości złożonych związków organicznych, w szczególności lipidów, w tkankach biologicznych. Rozprawa, łącząc fundamentalne aspekty biologii i fizyki, pokazuje praktyczne zastosowanie metody TOF-SIMS w badaniach z zakresu biologii i technologii żywienia. Jest więc dobrym przykładem interdyscyplinarnych badań z zakresu biofizyki. Godnym odnotowania aspektem rozprawy jest praktyczne rozpoznanie metodyczne wykorzystania metody TOF-SIMS w badaniach biologicznych. Pomimo drobnych niedociągnięć wskazanych wcześniej, przedłożoną rozprawę oceniam zdecydowanie pozytywnie. Spełnia ona wymagania stawiane formalnie i zwyczajowo rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Marzec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

