

Kraków, 03.04.2018 r.

Dr hab. inż. Mirosław Tyra prof. IZ PIB  
Instytut Zootechniki PIB  
ul. Krakowska 1, 32-083 Balice  
tel. 666 081 242  
e-mail: miroslaw.tyra@izoo.krakow.pl

### Recenzja

#### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Marzec pt. " Analiza profili lipidowych wybranych układów biologicznych metodą spektrometrii masowej TOF-SIMS"**

Praca doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Marzec została wykonana na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod kierunkiem dr hab. Romana Pędrysa. Przedstawiona do recenzji praca ma charakter interdyscyplinarny i reprezentuje w obszarze nauk ścisłych dziedzinę fizyki, natomiast w dziedzinie nauk przyrodniczych i rolniczych dziedziny biologię i zootechnikę. Z tego też względu drugim opiekunem naukowym badań była dr hab. Dorota Wojtysiak. Taki rodzaj interdyscyplinarnej współpracy naukowej, tak odległych od siebie dziedzin badawczych może skutkować powstaniem nowej, specyficznej wiedzy opisującej badane zjawiska odmiennie od podejść reprezentowanych przez dziedziny na których się opiera.

Praca doktorantki poświęcona jest badaniom opartych na zjawiskach emisyjnych towarzyszących oddziaływaniu cząstek naładowanych z fazą skondensowaną. Głównym obiektem badań autorki były zagadnienia związane z wykorzystaniem techniki TOF-SIMS. Przedłożona do recenzji praca doktorska pokazuje, że analiza jednej z technik spektrometrii masowej może dostarczyć wielu nowych informacji, które to w przyszłości mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w szeroko rozumianej analizie biologicznej. Zastosowana przez autorkę technika analityczna umożliwiła zbadanie składu chemicznego powierzchni analizowanych preparatów biologicznych, a także przeprowadzenie z dużą czułością analizy profilowej wewnętrznych warstw badanego materiału na materiale natywnym, bez konieczności ekstrakcji badanych związków z tych preparatów.

Podczas analiz wykorzystujących spektrometrię masową Doktorantka skupiła się na analizie jednej grupy związków chemicznych a mianowicie związków grupy lipidowej w wybranych układach biologicznych. Jest to szczególnie istotna grupa związków pełniąca w organizmach istotne funkcje i role. Ich niewłaściwy poziom i proporcje mogą skutkować wieloma chorobami i zaburzeniami o podłożu metabolicznym, neurologicznym, nowotworowym czy też chorób o podłożu cywilizacyjnym. Te właśnie przesłanki stanowiły motywację dla doktorantki do podjęcia tej tematyki badawczej i skupienia się na tej grupie związków organicznych. Ponadto tłuszcze odgrywają bardzo istotną rolę w zakresie kształtowania szeregu odczuć sensorycznych takich jak, kruchość, żujność, smakowitość, soczystość ważnych z konsumenckiego punktu widzenia. Tak więc tematyka badawcza poruszona przez autorkę jest szczególnie istotna dzisiaj, w czasach, gdy szybka diagnostyka jest szczególnie cenna i potrzebna. Ponadto prowadzone przez autorkę próby analiz na materiale natywnym wpisują się w wszechobecny i zarazem pożądany trend działań proekologicznych, chroniących nasze środowisko a przez wybór do analiz grupy

lipidów także nasze zdrowie oraz odczucia konsumenckie. Zdobyta w trakcie badań wiedza stwarza szanse na późniejsze zastosowanie tych wyników w diagnostyce laboratoryjnej.

Praca doktorska mgr Magdaleny Marzec napisana jest w języku polskim, jest rozprawą obszerną liczącą 162 strony łącznie z aneksem oraz wykazem piśmiennictwa. Zawiera 56 rysunków, 57 histogramów i 23 tabele. Praca została podzielona na dziewięć głównych rozdziałów. Spośród nich dwa główne tj. „CZĘŚĆ TEORETYCZNA” i „CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA” zostały dodatkowo podzielone na podrozdziały. Rozdział „BIBLIOGRAFIA” liczy 17 stron i zawiera aż 351 pozycji literatury, z czego przeważająca większość to prace i artykuły aktualne. Układ pracy i podział treści jest typowy dla tego typu dysertacji i z formalnego punktu widzenia nie budzi zastrzeżeń. Praca napisana jest w sposób zrozumiały i starannie, poprawnym stylistycznie językiem, bogatym w specjalistyczne terminy i wyrażenia ale nie jest to język hermetyczny uniemożliwiający zrozumienie poruszanych zagadnień. Tytuł rozprawy odzwierciedla zagadnienia poruszane w opracowaniu. Jedyna moja sugestia w tym zakresie dotyczy nazewnictwa poszczególnych rozdziałów. I tak rozdział „MOTYWACJA I PLAN PRACY” po korektach mógłby brzmieć „CEL I UKŁAD BADAŃ”, rozdział „CZĘŚĆ TEORETYCZNA” i „CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA” to powszechnie stosowane „PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA” i „WYNIKI I DYSKUSJA”, natomiast według mojej oceny podrozdział „MATERIAŁ I METODY” ze względu na swoją wagę powinien funkcjonować jako rozdział główny a nie podrozdział.

Na początku dysertacji umieszczono dwustronicowy wstęp, w języku polskim i angielskim wprowadzający czytelnika w podejmowaną tematykę badawczą. Umieszczony w dalszej kolejności obszerny rozdział „CZĘŚĆ TEORETYCZNA” opracowano na 38 stronach maszynopisu. W tej części pracy omówione zostały zagadnienia z zakresu biologicznych i fizycznych procesów uwzględnionych w badaniach. Pierwsza część tego rozdziału tj. „PODSTAWY BIOLOGICZNE” zawiera wiele cennych informacji wprowadzających w szczegóły z zakresu biologii, funkcji i poziomu lipidów w procesie prawidłowego funkcjonowania organizmu. Część ta zawiera także omówienie podstawowych metod badań profili lipidowych. Treść tej części pracy świadczy o bardzo dobrym rozeznaniu autorki w tej tematyce naukowej, a wynikiem tej wiedzy jest bardzo trafne spostrzeżenie dotyczące zmiany dotychczasowego poglądu odnośnie roli tłuszczu w organizmie. Rzeczywiście dawny pogląd odnośnie roli tłuszczu jako jedynie rezerwy energii dla organizmu w świetle nowych badań zmienił się istotnie i obecnie tkanka tłuszczowa jest postrzegana jako specyficzny organ o ważnym znaczeniu endokrynnym i jego rola jest bardzo istotna w procesach biologicznych organizmu. To właśnie ta wiedza z zakresu biologii i fizjologii skutkowała tym, że autorka w swoich badaniach skupiła się właśnie na analizie tej grupy związków chemicznych. Druga część tego rozdziału tj. „FIZYCZNE PODSTAWY SPEKTROMETRII MAS WTORNYCH JONÓW” zawiera opis fizycznych zjawisk u podstaw użytej techniki badawczej wraz z charakterystyką i szczegółowym opisem użytej do tego celu aparatury. Pani mgr inż. Magdalena Marzec w tej części rozprawy omawia złożoność procesu analitycznego na materiale biologicznym. Takie przedstawienie zagadnień w tym rozdziale uważam za w pełni przemyślane, dojrzałe i dające możliwość właściwego wprowadzenia i zapoznania, z podjętą w pracy, problematyką badawczą. Obszernie cytowane i dobrze dobrane piśmiennictwo świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnień, których dotyczy oceniana dysertacja doktorska. Doktorantka w dużej mierze cytuje najnowsze, najbardziej aktualne piśmiennictwo z tego zakresu. Różnorodność i obszerność opisywanych zagadnień z pewnością ułatwia zrozumienie wyników przeprowadzonych badań. Należy w tym momencie podkreślić wysoki poziom wiedzy autorki, którą to posiadała z tak dwu oddalonych od siebie kierunków badawczych czyli fizyki i biologii.

Kolejny bardzo obszerny rozdział przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej to „CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA”, który Autorka przedstawiła na 79 stronach maszynopisu i został on podzielony na

trzy zasadnicze części. W pierwszej z nich „*MATERIAŁ I METODY*” autorka opisuje m.in. układ doświadczenia, materiał doświadczalny oraz zakres przeprowadzanych pomiarów i analiz. Rozdział ten zredagowano z dużą dbałością o szczegóły przeprowadzonych eksperymentów. Warty podkreślenia jest właściwy dobór materiału do badań na zwierzętach, mogący rzutować na uzyskane wyniki. Materiał badawczy pod tym względem był ujednoczony i tym samym wyeliminowano szereg czynników środowiskowych, a które to czynniki znacząco mogłyby wpływać na poziom związków lipidowych badanych zwierząt. W dalszej części autorka przedstawiła metody przeprowadzonych badań. W sposób przejrzysty przedstawiono metodologię analiz fizycznych, ich procedury oraz sposób przeprowadzonych analiz statystycznych. Doświadczenia przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi zasadami prowadzenia tego typu badań na zwierzętach a uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej przy zastosowaniu adekwatnych testów. Z obowiązku recenzenta nie mogę nie zwrócić uwagi na pewne niedociągnięcia oraz elementy metodyki, których w moim odczuciu brakowało w tym rozdziale. Doktorantka nie ustrzegła się też pewnych potknięć o charakterze stylistycznym (użyciem sformułowań potocznych, czy też skrótów myślowych). W podrozdziale „*MATERIAŁ I METODY*” w części „*Hodowla i żywienie*” określenie hodowla zostało użyte trochę niefortunnie. Z definicji hodowla to całokształt działań i zabiegów mających na celu doskonalenie cech dziedzicznych. Inaczej mówiąc hodowlę można określić jako świadome działanie człowieka mające na celu poprawę populacji genetycznej zwierząt, tak aby pokolenie potomne było lepsze od pokolenia rodzicielskiego. W tym miejscu bardziej trafnym określeniem byłoby użycie określenia „*Chów i żywienie*” lub „*System utrzymania i żywienie*”. W tym samym podrozdziale („*Materiał i metody*”) w części dotyczącej hodowli i żywienia brak doprecyzowania nośnikiem jakiego kwasu tłuszczowego jest zastosowany w omówionej grupie łój wołowy. W przypadku pozostałych dodatków taka informacja jest przedstawiona. Informacja, że łój wołowy jest głównym nośnikiem kwasu oleinowego pojawia się dopiero na 72 stronie w wynikach doświadczenia. Brak jest też sprecyzowania jakim programem statystycznym były prowadzone analizy statystyczne. Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej części dysertacji. Pragnę natomiast w tym miejscu szczególnie podkreślić szeroki zakres przeprowadzonych oznaczeń i pomiarów oraz analiz co zasługuje na duże uznanie.

Dwa kolejne rozdziały tej części pracy „*WPŁYW ŻYWIENIA NA PROFILE LIPIDOWE*” i „*WPŁYW PRZECHEWYWANIA CHŁODNICZEGO NA PROFILE LIPIDOWE*” dotyczą wyników i dyskusji badań. Wyniki jak wcześniej wspomniałem zostały uzupełnione poprzez 56 rysunki, 57 histogramy i 23 tabele. Rozdziały te zredagowano na 68. stronach maszynopisu szeroko opisując i dyskutując uzyskane wyniki w stosownych podrozdziałach wynikających z przyjętego schematu doświadczeń i wykonanych analiz. Na pochwałę zasługuje również forma prezentowanych wyników. Tabele, rysunki i histogramy są przejrzyste i czytelne, zredagowane z dużą starannością. Dyskusja oparta jest na rozległej znajomości podjętej tematyki badawczej. Logiczność prowadzonych wywodów nie budzi jakichkolwiek zastrzeżeń. Na podkreślenie zasługuje liczna, właściwie dobrana i wykorzystana literatura, która w tym rozdziale liczy łącznie 124 pozycji. O aktualności zagadnień poruszanych w dyskusji świadczy również fakt, że większość cytowanych publikacji ukazało się po 2010 roku. Istotnym osiągnięciem niniejszej pracy jest wykazanie potwierdzonego statystycznie faktu, że zastosowana przez autorkę metoda analizy lipidów w porównaniu do większości dotychczasowych metod wykorzystywanych w biologii dostarcza bardzo precyzyjnych informacji o przestrzennej lokalizacji badanych biomolekuł. W przypadku większości dotychczasowych analiz stosowanych w biologii ta informacja była ztracana ze względu na konieczną ekstrakcję tych związków z macierzystego układu. Z kolei przedstawione w pracy wyniki badań przeprowadzone na preparatach zawierających włókna mięśniowe jak i tłuszcz śródmięśniowy pozwalają stwierdzić prawidłową i oczekiwaną tendencję dla analizowanych kwasów tłuszczowych oraz skłaniają do

wniosków, że zastosowana w badaniach technika pomiarowa (TOF-SIMS) umożliwia otrzymanie wartościowych informacji o charakterze jakościowym w przypadku kwasów tłuszczowych. Ponadto w przypadku glicerofosfolipidów, których znaczenie biologiczne jest bardzo duże technika spektrometryczna TOF-SIMS umożliwia również uzyskanie ważnych informacji w zakresie oceny ilościowej. Te właśnie osiągnięcia autorki stwarzają nowe możliwości do obserwacji tych grup związków w układach biologicznych. W świetle powyższego stwierdzam, że uzyskane wyniki odzwierciedlają założony cel badań. Doktorantka dokonała ich prawidłowej i wyczerpującej oceny. Przedstawione wyniki są ciekawe i jednocześnie inspirują do dalszych badań. Mają także swoją wartość poznawczą i wartość praktyczną.

Autorka z dużą powściągliwością formułuje wnioski końcowe swoich badań. Przedstawione wnioski mają uzasadnienie w uzyskanych wynikach badań i są szczególnie cenne bo są to wnioski o charakterze praktycznym. W rozdziale „WNIOSKI” w sumie doktorantka sformułowała 5 wniosków jednak wszystkie dotyczą części hodowlanej. Na podstawie przedstawionych wyników można było pokusić się o rozszerzenie tego rozdziału o dwa lub trzy wnioski związane z zastosowaną techniką pomiarową w badaniach. Wnioski te powinny dotyczyć osiągnięć o których wspominam powyżej, które już wstępnie pojawiły się w stosownych rozdziałach dotyczących uzyskanych wyników ale nie zostały ostatecznie zreplikowane do rozdziału „WNIOSKI”.

#### **Wniosek końcowy**

Biorąc pod uwagę celowość i aktualność podjętych badań, zakres ich realizacji, formę prezentacji oraz interpretację uzyskanych wyników stwierdzam, że wnoszą one nowe wartości poznawcze i mogą mieć ważny aspekt praktyczny. Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi i spostrzeżenia mają charakter pomocniczy, nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i nie mają większego wpływu na ostateczną jej ocenę. Wobec tego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Marzec spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki - art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. Nr 65, poz.595 z późniejszymi zmianami). W związku z tym przedkładam Radzie Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Marzec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

