



UNIwersytet Jagielloński
Wydział Chemii
30-387 KRAKÓW, ul. Gronostajowa 2
tel. (48-12) 633-2412

Ocena

**pracy doktorskiej Pana mgr Adama Jarosława Sajnoga
pt. „Zastosowanie metody ablacji laserowej połączonej z ICP-MS
do oznaczania i wizualizacji rozmieszczenia pierwiastków
w miękkich tkankach ustrojowych”**

wykonanej w
**Pracowni Analizy Spektroskopowej Pierwiastków
Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
pod opieką Pań prof. dr hab. Danuty Baralkiewicz jako promotora
oraz dr Anetty Hanć jako promotora pomocniczego**

Praca poświęcona jest analitycznemu zastosowaniu nowoczesnej techniki analitycznej jaką jest spektrometria mas (MS) z mikropróbkowaniem laserowym na drodze ablacji (LA) i jonizacją tak pobranego materiału w plazmie argonowej uzyskiwanej na drodze sprzężenia indukcyjnego – w skrócie ICP od angielskojęzycznej nazwy *Inductively Coupled Plasma* do wyznaczenia lokalnych stężeń wybranych pierwiastków w tkankach sąsiadujących z implantami - do uzyskiwania danych umożliwiających zobrazowanie rozmieszczenia tych pierwiastków. Badania takie, a więc konieczność opracowania wiarygodnej metody oznaczania, mają olbrzymie znaczenie dla rozwoju bezpiecznej dla pacjentów implantologii. Od wielu lat różnego rodzaju implanty poprawiają komfort życia osobom, u których je zastosowano. Generalnie, do wytwarzania implantów stosuje się materiały ceramiczne lub inne materiały konstrukcyjne pokryte materiałami ceramicznymi, stopy metali lub materiały polimerowe. W stomatologii najczęściej stosuje się na implanty tytan i jego stopy ze względu na dobre właściwości mechaniczne, wysoką odporność na korozję i dobrą biokompatybilność z tkankami. Jednakże, niezależnie od zastosowanego materiału, implanty ulegają powolnej

degradacji uwalniając jony i cząstki metaliczne do okolicznych tkanek, a to może być przyczyną alergii, stanów zapalnych itp.,

Główną ideą rozprawy doktorskiej było więc opracowanie procedury analitycznej lokalnego oznaczania pierwiastków tworzących implanty stomatologiczne, w wielu miejscach tkanek miękkich metodą LA-ICP-MS i utworzenie na tej bazie map rozmieszczenia tych pierwiastków w tkankach sąsiadujących z implantem. Praca wymagała więc współpracy chemik analityk – stomatolog, a także zgody odpowiedniej Komisji Bioetycznej oraz pacjentów – dawców tkanek do badań.

Praca licząca 143 strony, ze stronami wstępnymi, i ma klasyczny układ. Na 35 stronach „Części teoretycznej” doktorant opisał najważniejsze elementy budowy układu LA-ICP-MS i problemy występujące w analizie tą techniką. Ponieważ planował analizę ilościową, znaczną część poświęcił zagadnieniom kalibracji analitycznej i przygotowywania odpowiednich wzorców.

Ta część uwzględnia wszystkie istotne zagadnienia, chociaż w wielu miejscach autor pracy stosuje styl „hasłowy” i wprowadza skróty myślowe, które trudne byłyby do rozszyfrowania dla niewtajemniczonego czytelnika, a czasami wręcz brzmią błędnie. Te zastrzeżenia zostaną wypunktowane w dalszej części recenzji – w uwagach szczegółowych.

Bardzo cenne w tym opisie są zagadnienia przygotowania próbek tkanek do badań, charakterystyka implantów stomatologicznych – zwłaszcza w relacji implant-tkanka. Najcenniejszy jednak, w mojej opinii, jest przegląd literatury światowej poświęconej badaniu tkanek techniką spektrometrii mas z mikropróbkowaniem laserowym. Tu też, zwłaszcza w odniesieniu do oceny „spójności pomiarowej” można mieć drobne zastrzeżenia –ta uwaga zostanie rozwinięta w uwagach szczegółowych.

Całość jednak tego przeglądu jest imponująca.. Wskazuje to na bardzo dobre przygotowania doktoranta do realizacji badań własnych.

Główny cel pracy i cele szczegółowe sformułowane są jasno.

Część doświadczalna (strony 48-65) obejmuje opis stosowanej aparatury i procedur wzorcowania i przygotowania próbek, a także postępowania w optymalizacji warunków oznaczania. Ta część jest kompletna i dobrze udokumentowana, choć pewne opisy dotyczące techniki wprowadzania implantów mogłyby być w części teoretycznej pracy bo dotyczą zagadnień ogólnych. Niestety i tu pojawiają się sformułowania niejasne czy wręcz błędne – wypunktowane, podobnie jak wcześniej sygnalizowane, w uwagach szczegółowych.

Wyniki badań są zilustrowane wieloma wykresami, mapami i tabelami z wszystkich etapów opracowywania procedury, jej walidacji i zastosowania w analizie próbek tkanej z jamy ustnej oraz ich dyskusja zostały opisane łącznie na stronach 66-117. Tu należy podkreślić, że dla opracowanej procedury, co jest nowością dla tego typu prac, wyznaczono wszystkie parametry walidacyjne.

Ta część jest imponująca.

Kończącym rozdziałem dysertacji jest rozdział zatytułowany „Podsumowanie i wnioski” – str. 118-120, w którym mgr Sajnog skupił się głównie na podsumowaniu dokonań własnych.

Pracę kończą streszczenia w języku polskim i angielskim (strony 132-137).

W pracy, w sumie zamieszczono 61 rysunków – często wieloelementowych, przedstawiających wykresy, diagramy, mapy rozmieszczenia, mikrofotografie i obrazy z mikroskopii różnego rodzaju. Dane liczbowe lub zestawienia przeglądowe i podsumowujące zebrano w 10 tabelach. Oceniam jako bardzo dobrą czytelność i graficzną jakość tych opracowań.

W pracy, na różnych etapach części teoretycznej, ale nie tylko, doktorant odniósł się do 155 pozycji literaturowych – w tym monografii książkowych, prac oryginalnych i prac przeglądowych.

Podsumowując stwierdzam że praca pod względem merytorycznym jest bardzo dobra, a badania zostały przeprowadzone zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną i opracowane zgodnie z zasadami walidacji i metrologii. Tekst dostarczony do recenzji zawiera jednak bardzo dużą liczbę niewłaściwych sformułowań, które wręcz mogą być odczytane jako błędy czy błędne wyrażenia.

Uwagi do pracy czy do redakcji pracy - rozpocznę od najważniejszych.

1. Mgr Adam Sajnog błędnie stosuje i to w wielu miejscach dwa podstawowe terminy „objętość” tam gdzie ma być ‘pojemność’ – to bez komentarza.
„zawartość” zamiast ‘stężenie’.
Termin „zawartość” określa ilość czegoś w jakiejś całości. Jeśli tą ilość przeliczymy na jednostkową objętość lub masę to mamy już ‘stężenie’ – niezależnie od jednostek w jakich go wyrazimy.
2. Wśród niewłaściwych terminów mamy: „mierzy się izotop” (str. 17), „drukowanie roztworu analitu” (str. 18,20), „stosunek izotopów” (str. 22), „mierzonym izotopem” (str. 57), „zmierzonych pierwiastków” (str. 92), „pomiarów próbki” (str. 118)
3. Zamiast „własność” powinno być ‘właściwość’ np. ‘właściwość wyniku’ – autor pracy stosuje te terminy zamiennie.
4. Zamiast „sucha kropla” powinno być ‘wysuszona kropla’ – w wielu miejscach: tabela 2 rozdział 4.1.3

Uwagi mniej lub bardziej redakcyjne

1. W wykazie skrótów jest „ICP-TOF-MS spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie z analizatorem czasu przelotu”, powinno być ‘ICP-TOF-MS spektrometria mas z analizatorem czasu przelotu i jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie’
2. Tu ogólna uwaga – we wszystkich miejscach gdzie to możliwe należy stosować pełne nazwy substancji lub pierwiastków: zamiast „V” powinno być ‘wanad’ bo V może być np. piątką rzymską, zamiast „piaskowane proszkiem Al₂O₃” powinno być ‘piaskowane proszkiem korundowym’ str. 25, itp
3. Strona 10, ablacja laserowa nie jest sposobem „wprowadzania próbki”, a ICP-MS nie jest jedynie „detektorem”
4. Strona 10, 4 linijki dalej myślę że autorowi chodziło o „dużą precyzję” wyrażoną małym współczynnikiem zmienności
5. strona 12, 3 linia od dołu, mniejsza ilość materiału jaka trafia w MS do detektora obniża sygnał – niekoniecznie „czułość” gdyż ten parametr jest stosunkiem $\Delta S/\Delta c$
6. strona 14 rozdział 1.7 zdanie „Interferencje spektralne” nie jest do końca prawdziwe
7. strona 15 mamy skrót myślowy w zdaniu „Interferencje izobaryczne... dalej jest „więcej niż jeden pierwiastek ma taką samą masę atomową” powinno być ‘izotopy więcej niż jednego pierwiastka mają taką samą masę atomową’.
8. Strona 17 drugi akapit. Mam pytanie: Co autor rozumie przez „homogeniczność i równomierny rozkład analitu”?
9. W wielu miejscach składnia zdań jest bardzo dziwna utrudniając ich zrozumienie, np. str. 18 po słowach „Frick i Günther...,”

10. W rozdziale 2.2.10 zdanie rozpoczynające się od „ID jest metodą definitywną...” nie jest do końca prawdziwe, a zakończenie w stylu, „a wyniki pomiarów (raczej oznaczeń) otrzymuje się bezpośrednio w jednostkach SI, po zastosowaniu odpowiednich formuł matematycznych” jest truizmem. Ponadto tu też można postawić pytanie: co znaczy „bezpośrednio” jeśli trzeba zastosować „odpowiednie formuły matematyczne”
11. W części teoretycznej, w rozdziale 3.3 jest część zdania „... a uzyskane rozwiązania nie pozwolą na wykonanie odpowiedniej liczby powtórzeń”. rozwiązania na ogół pozwalają wykonać dowolną liczbę powtórzeń - pytanie jest: czy sygnały będą odpowiednio mierzalne?
12. W tytule rozdziału 3.6 powinno być ‘Toksyczność badanych pierwiastków’, lub Toksyczność pierwiastków stosowanych w implantach’
13. Strona 27: w ostatnim zdaniu na tej stronie są zbyt duże skróty i niewłaściwe formy gramatyczne – zdanie jest niespójne.
14. W tabeli 2, jak już wspomniano, doktorant w kolumnie „Właściwości wyniku pomiaru” w wielu miejscach stosuje zwrot „spójność ze wzorcem NIST” nie podając o jaki wzorec chodzi. To jest za duży skrót. Ponadto są też inne organizacje dostarczające wzorców zapewniających spójność pomiarową – stosowane przez autorów wybranych prac.
15. Rozdział 4.3 – w ostatnim zdaniu brak jest orzeczenia.
16. Rozdział 5.1 – brak jest polskiego określenia ‘prasa hydrauliczna’ w przypadku specyfikacji tego urządzenia.
17. W rozdziale 5.3.1 przydałoby się co najmniej jedno zdanie uzasadnienia dlaczego zastosowano jako krótkie jako matrycę.
18. Ten sam rozdział: jest: „...roztworu analitów o zmiennym stężeniu...” powinno być raczej ‘o określonych stężeniach’.

19. W rozdziale 5.3.1 jest zdanie „Wzorce wykonano ponownie i przeznaczono do mineralizacji”. Rodzi to dwa pytania: dlaczego tak? I czy to jest zgodne z dalszą częścią, w której napisano że to część wzorców, z których robiono tabletki przeznaczono do mineralizacji.
20. Ten sam rozdział: Zdanie „Zamrożone wzorce umieszczano.....” wymaga wyjaśnienia
21. W rozdziale 5.3.3. jest „Przed ważeniem i mineralizacją, tabletki poddano ablacji zgodnie z parametrami procedury nr 1.” Zaś w procedurze 1 nie ma nic o ablacji - żadnych parametrów!
22. Strona 52 , ostatnie zdanie przed rysunkiem 9. Z treści wynika jakoby na rysunku prezentowano promieniowanie mikrofalowe, a jest system do mineralizacji – błędna składnia zdania
23. W rozdziale 5.4 zatytułowanym „Materiał badawczy”, ani nigdzie później nie podano liczby pacjentów-dawców tkanek, liczebności tkanek grupy kontrolnej (przed implantacją) i badanej (po implantacji).
24. W rozdziale 5.5.1 optymalizując parametry ablacji badano jednoczynnikowo między innymi energią lasera i szerokość wiązki. Jednak w ablacji laserowej efekt tych parametrów jest skorelowany. Wyraża się to przez „fluencję” czyli gęstość powierzchniową energii i ta wielkość powinna być optymalizowana.
25. W tym samym rozdziale mamy zdanie: Przy wyborze parametrów do dalszych analiz kierowano się następującymi zasadami: (i) wystarczająca intensywność sygnałów, (ii), niska wartość precyzji sygnałów,”. Sądzę, że raczej chodzi o dużą precyzję sygnałów wyrażoną małym współczynnikiem zmienności – nikt nie dąży do małej precyzji pomiarów.
26. Wśród rysunków wątpliwość budzi rysunek 28 dla wanadu. Wynika z niego, że zastosowanie siarki (^{34}S) jako wzorca wewnętrznego dla wanadu powoduje utratę

czułości w relacji $V/S \sim c(V)$ – zależność ta prezentowana jest inaczej na wykresach kalibracyjnych – wymaga to wyjaśnienia

27. Strona 93, część tego rozdziału od drugiego akapitu + rysunek powinny być w części teoretycznej.

Pomimo przedstawionych wyżej uwag krytycznych dotyczących redakcji tekstu, przedstawiona do recenzji praca jest merytorycznie bardzo dobra i spełnia wymagania wymienione w art. 13 Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi modyfikacjami.

W związku z powyższym składam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu im Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie pracy i dopuszczenie mgr Adama Sajnoga do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 31 października 2017

dr hab. Stanisław Walas, prof. UJ

