



UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU

Wydział Chemii

Zakład Chemii Analitycznej

prof. UAM dr hab. Przemysław Niedzielski

Poznań, 23 listopada 2015 r.

Recenzja

pracy doktorskiej mgr. Adriana Bartosa

Nikiel jako alergen pokarmowy

zrealizowanej na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej

pod kierunkiem dr. hab. Joanny Leszczyńskiej i dr. inż. Elżbiety Polak

Oceniana rozprawa stanowi podsumowanie badań nad alergicznym oddziaływaniem niklu na organizm ludzki, w kontekście potencjalnej alergii pokarmowej związanej z tym pierwiastkiem. Autor zawarł w pracy wyniki badań nad zawartością niklu w produktach żywnościowych, przyswajalnością tego pierwiastka i jego obecnością w organizmach ludzi zdrowych i osób ze zdiagnozowaną alergią pokarmową. Autor podjął również próbę opracowania nowych narzędzi badawczych w zakresie immunometrycznych metod analizy chemicznej.

Ocena strony formalnej pracy

Należy podkreślić, iż tytuł pracy trafnie oddaje jej treść, a konstrukcja pracy nie budzi zastrzeżeń. Praca liczy 128 stron, przy klasycznym podziale na część literaturową (23 strony plus 10 stron zestawienie 174 pozycji literaturowych) i część doświadczalną (metodyka 32 strony, reszta tekstu to omówienie i dyskusja wyników). Praca została napisana ładnym językiem, przy jego precyzji zachowana została jasność sformułowań, co zasługuje na docenienie. Dobrze świadczy o Autorze pracy i staranności przygotowywania tekstu niewielka ilość błędów: gramatycznych czy tzw. literówek, które nie wpływają na jakość tekstu. **Stronę formalną pracy oceniam zatem jako prawidłową, odpowiadającą wymogom stawianym rozprawom naukowym.**

ul. Umultowska 89b, Collegium Chemicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 15 74; fax. +48 61 829 15 55
pnied@amu.edu.pl

www.chemia.amu.edu.pl

Ocena merytoryczna pracy

Rozprawa rozpoczyna się wstępem literaturowym (Część teoretyczna), w którym Autor omawia stan wiedzy dotyczącej alergii (rozdział 1), podaje ogólną charakterystykę niklu (rozdział 2) oraz informacje o jego znaczeniu biologicznym (rozdział 3) i szkodliwości (rozdział 4). Ogólna ocena tej części pracy jest jak najbardziej pozytywna, jakkolwiek Autor nie wyczerpuje tematu (co zresztą nie wydaje się możliwe do osiągnięcia) wspominając jedynie o wielu zagadnieniach. Wstęp literaturowy jest rzetelnym przedstawieniem stanu wiedzy i pozwala na umiejscowienie badań Autora (opisanych w dalszych rozdziałach pracy) w kontekście badań innych naukowców. **Lektura wstępu literaturowego pozwala na stwierdzenie, że zgodnie z wymogami ustawowymi Autor wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w dziedzinie, w której prowadzi badania.**

Badania własne Autora zestawione i omówione zostały w „Części badawczej” pracy w rozdziałach 6-9. W rozdziale 6 sprecyzowany został cel pracy i przedstawione zostało uzasadnienie podjęcia badań. Jako nadrzędny cel swoich badań Doktorant wskazał „optymalizację diety w kierunku obniżenia w niej zawartości niklu”, który to cel miał zostać osiągnięty poprzez zidentyfikowanie głównych źródeł niklu w diecie i zmniejszenie jego dostarczania do organizmu „za sprawą budowania lepszej świadomości dietetycznej, jak i poprawy warunków produkcji żywności”. Dla realizacji tego celu Doktorant podjął próbę opracowania metody analitycznej oznaczania zawartości niklu z zastosowaniem biosensorów (immunometrycznej bądź opartej na odpowiedzi transkrypcyjnej bakterii), w założeniu stanowiącej alternatywę dla instrumentalnych (przede wszystkim spektrometrycznych) technik analitycznych.

Opis prac badawczych Autor podzielił na część metodyczną (rozdział 7) i przedstawienie oraz omówienie wyników (rozdział 8). Taki podział zamazuje czytelność opisu badań. Przy wielowątkowości podjętych badań podział pracy na zamknięte tematycznie fragmenty obejmujące zarówno metodykę badań jak i wyniki oraz ich dyskusję stanowczo ułatwiłby lekturę pracy.

Elementy nowości naukowej

Należy wskazać najważniejsze osiągnięcia Autora, stanowiące istotne mocne strony ocenianej pracy:

Podstawowym atutem rozprawy jest wybór jej celu i poruszana tematyka. Praca obejmuje zagadnienia często pomijane w innych badaniach, na przykład związane z oceną biodostępności niklu jako uzupełnienia określenia jego zawartości w wybranych produktach żywnościowych. W kontekście interakcji niklu w organizmie to właśnie jego przyswajalność z poszczególnych rodzajów żywności a nie tylko w nich zawartość definiować będzie potencjalne niebezpieczeństwo podwyższonej ekspozycji. Innym przykładem jest próba prześledzenia zmian zawartości niklu na kolejnych etapach procesu technologicznego przy produkcji wybranych artykułów spożywczych. Należy tu podkreślić kreatywność Doktoranta, ale może przede wszystkim otwartość Promotorów na podejmowanie nowych, istotnych, ale także niełatwych tematów badawczych.

Autor ma odwagę prezentować również te ze swoich badań, które zakończyły się niepowodzeniem. Jednak takie „negatywne” wyniki prac badawczych stanowią istotne informacje dla innych naukowców i są warte upowszechnienia.

Nowość naukową stanowi bez wątpienia opracowana przez Autora metoda analityczna oceny zdolności wiązania metali przez przeciwciała immobilizowane na magnetocząstkach, przy czym rzetelnie zostały wskazane również ograniczenia tej procedury analitycznej.

Autor słusznie przedstawia zastrzeżenia co do specyficzności przeciwciał używanych w oznaczeniach immunometrycznych. Bez wykonania szerokich badań (które i tak nie wyczerpywałyby wszystkich możliwych interferencji) specyficzność przeciwciał jest stwierdzeniem hipotetycznym, co zostało podkreślone w pracy.

Podsumowując można zatem stwierdzić, że zgodnie z wymogami ustawowymi oceniana praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Należy podkreślić, że rozprawa napisana jest w sposób poprawny, a opisywane prace eksperymentalne prowadzono zgodnie ze standardami badań naukowych. Jednakże Doktorant nie ustrzegł się niejasności, można wskazać braki i błędy, które zestawiono poniżej.

Uwagi ogólne

1. Używane przez Autora sformułowanie „detekcja” nie jest najlepszym określeniem. W chemii analitycznej używa się określenia „oznaczanie”. W tym kontekście należy zatem używać terminów „granica wykrywalności” lub „granica oznaczalności” (pamiętając, że są to odmienne parametry) w miejsce określenia „granica detekcji”.
2. Terminy „analiza” i „oznaczanie” nie są synonimami i powinny być używane zgodnie z ich znaczeniem.

3. Termin „pobór” powinien być zastąpiony określeniem „pobieranie”.
4. Podobnie termin „kwantyfikacja” powinien zostać zastąpiony innym określeniem.
5. Jako separatora dziesiętnego należy używać przecinka w miejsce kropki.
6. W pracy powinny być ujednolicone jednostki, np. na stronie 16 Autor używa zarówno mg/kg jak i $\mu\text{g}/\text{kg}$.
7. Na wykresach należy umieścić odpowiednie jednostki, np. dla wartości sygnału analitycznego. Tam, gdzie jest to możliwe należałoby wskazać przedział wyznaczany przez niepewności pomiarów.
8. Istotnym mankamentem pracy jest brak ujednolicenia podawania miejsc znaczących przy prezentowaniu wyników analiz. Ilość miejsc znaczących winna wynikać z wartości niepewności przypisanej przez Autora każdej procedurze analitycznej.
9. Najpoważniejszy zarzut, jaki można postawić Autorowi rozprawy to brak choćby częściowej charakterystyki stosowanych w oznaczeniach niklu procedur analitycznych. Informacje o uzyskanych: granicy wykrywalności, precyzji, spójności i niepewności pomiarowej (identyfikacja źródeł i budżet niepewności) pozwoliłyby na ocenę uzyskanych wyników w kontekście metrologii chemicznej.

Uwagi szczegółowe

- s.14 Sformułowanie „tereny skażone gospodarczo” nie jest najlepsze.
- s.14 Należy rozróżnić pojęcia: „zanieczyszczenie” i „skażenie”.
- s.14 Sformułowanie „całkowita analiza pierwiastków w kilogramie gleby” jest kolokwialne.
- s.14 Należałoby uporządkować pojęcia wprowadzane w tej części pracy, w tej chwili jest to zrobione chaotycznie.
- s.15 Remediacji nie powinno ograniczać się tylko do fitoremediacji gdyż znaczenia nabiera np. ryzoremediacja.
- s.15 Dlaczego nikiel występuje tu w formie jonowej Ni^{2+} ?
- s.17 Określenie „metalowe przedmioty” jest kolokwialne.
- s.21 Termin „palec cynkowy” wymaga wyjaśnienia.
- s.25 Pierwsze zdania są trywialne i nieprawdziwe, ponadto napisane językiem potocznym.
- s.25 Termin „ogromna dokładność” wymaga sprecyzowania.
- s.25 Określenie „pomiar próbki” to kolokwializm.
- s.25 Powinno być podane polskie określenie technik „immunoassay”.
- s.29 Sformułowanie „napływ niklu do żywności” nie jest właściwe.
- s.30 Podobnie określenie „notoryczna ekspozycja” z powodzeniem mogłoby być zastąpione terminem: długotrwałe narażenie.
- s.30 Ostatnie zdanie wymaga przerezegowania.
- s.31 Odczynniki a nie „produkty”.
- s.33 Ponownie: określenie „pomiar próbki” to kolokwializm.
- s.34 Brakuje końcowej objętości próbek po mineralizacji.
- s.34 Określenie „kalibracja” powinno być zastąpione polskim odpowiednikiem:

- sporządzanie krzywej wzorcowej.
- s.34 Brak parametrów pracy spektrometru.
- s.35 Czy „próba referencyjna” to po prostu ślepa próba czy też ślepa próba odczynnikowa?
- s.37 Nie ma konieczności dublowania zapisów: 66,5 kDa i 66500 g/mol czy (s.38) przeliczania nmol na μmol .
- s.46 Stwierdzenie „wiarygodny zakres pomiaru niklu” jest kolokwialne i przede wszystkim nie jest poparte danymi metrologicznymi.
- s.47 Określenie „na cel” w opisie rysunku nie jest właściwe.
- s.55 Powinny być używane polskie odpowiedniki określeń: „blank” czy „wild-type”.
- s.61 Określenie „należyta dynamika” jest nieprecyzyjne.
- s.61 Podobnie określenie: „odchylenie standardowe obliczono z różnicy”.
- s.64 Inne jednostki używane są w tabelach a inne w ich opisie.
- s.69 Owies zapewne pochodzi z uprawy a nie z „hodowli”.
- s.71 Lepiej zamiast o błędzie wyników badań pisać o ich niepewności.
- s.71 Stwierdzenie „kontaminacja pochodzenia antropogenicznego” dobrze byłoby zastąpić polskim sformułowaniem.
- s.71 Ponownie: w przypadku roślin lepiej pisać o ich uprawie a nie o hodowli.
- s.78 W oznaczeniach zawartości metali używa się wiele innych technik analitycznych, które powinny być chociaż wymienione.
- s.78 Stwierdzenie „detekcja możliwa jest pod względem wolnych jonów niklu” jest żargonowe.
- s.78 Przed wprowadzeniem informacji o wynikach badań, należałoby pokrótce wspomnieć, na czym badania polegały.
- s.85 Co oznacza stwierdzenie „niedokładność aparatury”?
- s.86 Opis tabeli w tekście figuruje jako opis wykresu.
- s.101 Jest to spis symboli a nie skrótów.
- s.104 Kolejny raz użyty kolokwializm „pomiar próbki”.
- s.104 Należałoby wprowadzić zwięzły opis metody ELISA sandwich.
- s.108 „Zostanie sprawdzona...” opis dotyczy już wykonanych badań.
- s.109 Wykres 18 – brak opisu kolumn 5 i 6 oraz 11 i 12.
- s.110 Wykres 19 – brak opisu kolumn 5 i 6.
- s.112 Brak jednostek sygnału analitycznego, wyjaśnienie jego charakteru pojawia się dopiero w opisie tabeli 19.
- s.114 Jak należy interpretować ujemne wartości sygnału analitycznego w tabeli 20?
- s.117 Stwierdzenie „powodować ją redukować” winno być zastąpione przez np. pozwalają na jej zmniejszenie.

Zagadnienia do wyjaśnienia (pytania do Doktoranta):

Przedstawione powyżej uwagi w żaden sposób nie obniżają wysokiej oceny rozprawy, nie oczekuję również odniesienia się do nich przez Doktoranta. Jednakże pojawiają się zagadnienia wymagające wyjaśnienia (w jak najbardziej skondensowanej formie) przez Autora pracy:

1. Dane dotyczące zawartości niklu w surowicy krwi u pacjentów z nadwrażliwością na nikiel charakteryzowane przez duże wartości odchylenia standardowego są zastanawiające. Czy dotyczą one samego oznaczenia zawartości niklu (należałoby wówczas wskazać

źródła niepewności pomiarów) czy też są to wartości fizjologiczne np. zmienność dzienna? W tym ostatnim przypadku należałoby się zastanowić (i tu również proszę o komentarz) nad wiarygodnością używania wartości średniej stężenia jako opisującej zawartości niklu w surowicy krwi.

2. W kontekście przywołania przez Pana prac Veien'a z 1979 roku pojawia się pytanie dlaczego tematyka immunoocznaczenia zawartości niklu nie rozwinęła się dotychczas znacząco? Częściowo wyjaśnione jest to w dalszej części pracy jednak prosiłbym Pana o zwięzłe rozwinięcie tego zagadnienia.

Ocena dorobku naukowego

Należy podkreślić, że część zawartych w rozprawie doktorskiej zagadnień stała się przedmiotem artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. Według bazy Scopus Doktorant jest autorem 5 indeksowanych w bazie publikacji w następujących czasopismach: Czech Journal of Food Science (IF=0,675); Food and Agricultural Immunology (IF=0,986); Food Research International (IF=2,818), Current Drug Delivery (IF=1,478), Journal of Food Processing and Preservation (IF1,159).

Dorobek publikacyjny Pana mgr. Adriana Bartosa wskazuje jednoznacznie, iż zgodnie z wymogami ustawowymi posiadał on umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, iż przedstawiona przez Pana mgr. Adriana Bartosa rozprawa doktorska zatytułowana „Nikiel jako alergen pokarmowy” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie o Stopniach i Tytule Naukowym z dnia 14.03. 2003 r. (Dz. U. nr 65, poz. 595 z 2003 r. z późniejszymi zmianami). Zgodnie z zapisem przywoływanego aktu prawnego oceniana praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Autora oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W związku z tym wnoszę o dopuszczenie mgr. Adriana Bartosa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

