



Poznań, 9 kwietnia 2018

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Natalii MILISZKIEWICZ pt:
„Kalibracja oznaczeń techniką spektrometrii mas z mikropróbkowaniem
laserowym i jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie”**

Praca doktorska mgr Natalii MILISZKIEWICZ jest fragmentem badań prowadzonych od wielu lat w zespole kierowanym przez dr hab. Stanisława Walasa i dotyczy bezpośredniego oznaczania pierwiastków w próbkach stałych przy zastosowaniu techniki ablacji laserowej połączonej z detektorem spektrometrem mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie, LA-ICPMS. Podstawowym zadaniem Doktorantki było opracowanie, optymalizacja i weryfikacja dokładności i precyzji metody oznaczania Mg i Zn w tkance mózgowej szczura oraz Sr w historycznych kościach ludzkich w celu oznaczania jego rozmieszczenia i wyznaczenia stosunków jego izotopów, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

Bezpośrednie oznaczanie pierwiastków w próbkach stałych oferuje analitykowi: skrócenie czasu analizy, podwyższenie czułości oznaczania, eliminację strat lotnych form pierwiastków, minimalizację kontaminacji, niewielkie straty analitu oraz uniknięcie stosowania żrących i toksycznych odczynników. W przypadku stosowania techniki LA-ICPMS możliwości te poszerzają się o badanie rozmieszczenia pierwiastków w próbce stałej. Z wymienionych wyżej powodów opracowanie nowych szybkich metod bezpośredniego oznaczania pierwiastków w stałych próbkach nadających się do rutynowych analiz jest uzasadnione i potrzebne.

Mgr Natalia MILISZKIEWICZ przedstawiła rozprawę doktorską w formie maszynopisu liczącego 187 strony, składającego się z kilku podstawowych części:



przeglądu literatury, eksperymentalnej, w której zawarte są wyniki badań, dyskusji i wniosków oraz spisu cytowanej literatury, 305 pozycji.

W części literaturowej Autorka przedstawia nam technikę mikropróbkowania laserowego w połączeniu ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie. W następnych podrozdziałach omawia rozwój tej techniki na przestrzeni 30 lat. Omawia także podstawy fizykochemiczne zjawiska ablacji laserowej oraz aparaturę wykorzystywaną w technice LA-ICPMS. Dużo uwagi poświęcono laserom nano- i femto-sekundowym, komórkom ablacyjnym oraz spektrometrom mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie z aktualnie dostępnymi analizatorami mas ze szczególnym zwróceniem uwagi na ich możliwości analityczne w połączeniu z ablacją laserową. W dalszym ciągu omawia problemy i wyzwania analizy ciał stałych techniką LA-ICPMS, wskazuje ważne czynniki tj. frakcjonowanie, interferencje fizyczne i izobaryczne wpływające w znacznym stopniu na jakość uzyskiwanych wyników. Ważnym elementem części teoretycznej jest rozdział dotyczący analizy ilościowej, w którym Autorka poruszyła istotę problemu kalibracji w przypadku analizy próbek stałych metodą LA-ICPMS tj. analiza materiału odniesienia, standaryzacja sygnału pochodzącego od analitu do sygnału wzorca wewnętrznego, korekcję efektów niestechiometrycznych. Istotnym elementem biografii zawartej w rozprawie jest rozdział poświęcony wybranym podejściom do kalibracji, w którym Autorka uwzględniła i przedyskutowała sześć różnych podejść do kalibracji: 1) dopasowanie wzorców do matrycy próbek ; 2) symulacja matrycy za pomocą głównego składnika próbki; 3) wykorzystanie materiałów odniesienia oraz roztworów wzorcowych; 4) zastosowanie wzorców ciekłych; 5) spektrometria mas rozcieńczenia izotopowego, IDMS; 6) normalizacja sygnałów metodą wzorca wewnętrznego lub przez sumowanie sygnałów analitycznych. Ważne zagadnienie różnorodnego podejścia do kalibracji zostało przedstawione w bardzo klarowny sposób. Ostatnie rozdziały części teoretycznej rozprawy doktorskiej omawiają przykłady zastosowania techniki LA-



ICPMS, a także perspektywy i kierunki jej rozwoju. Ogólnie biorąc w części teoretycznej Doktorantka demonstruje dobrą znajomość obszernej literatury przedmiotu i w klarowny sposób przedstawia zagadnienia wprowadzające w zakres pracy doktorskiej.

Rozdział metodyka badań jest prawidłowo opisany. Doktorantka badania z zastosowaniem LA-ICPMS prowadziła dwukierunkowo: 1) oznaczane było przestrzenne rozmieszczenie Mg i Zn w tkance mózgowej w obszarze hipokampu mózgu szczura oraz 2) oznaczano zawartości strontu w historycznych kościach ludzkich i wyznaczono stosunki izotopów $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. W mojej ocenie prawidłowo przeprowadzono optymalizację mikropróbki laserowego, a także pomiaru w spektrometrze mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie. Autorka wykazała się dużymi umiejętnościami planowania eksperymentów. Doktorantka prawidłowo przygotowała wzorce zapewniając zgodność fizykochemiczną między wzorcem i próbką. W badaniach bazowano na laboratoryjnie przygotowanych preparatach wzorcowych tkanki mózgowej szczura oraz pastylki wzorcowe kości dla których bazę stanowił materiał kostny, kości ludzkie, pochodzące z wykopaliisk prowadzonych w różnych rejonach Polski.

Kolejny rozdział wyniki i dyskusja jest dobrze zaplanowany, a poprzez formę przedstawienia i opisu wyników jest jasny i czytelny. W pierwszej części Doktorantka przedstawiła wyniki związane z oznaczaniem Mg i Zn w obszarze hipokampu mózgu szczura. Aby uzyskać miarodajne wyniki Autorka przeprowadziła szereg eksperymentów związanych z ograniczeniem dyspersji aerozolu próbki w komorze ablacyjnej, wpływem gazu transportującego aerozol próbki do plazmy ICP, a także przeprowadziła optymalizację wybranych parametrów lasera. Na tym etapie cennym elementem rozprawy było wybranie najlepszych warunków przeprowadzenia analizy próbek mózgu szczura i uzyskanie miarodajnych wyników oznaczania Mg i Zn. W przypadku oznaczania ^{87}Sr oraz stosunku izotopów $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ważnym fragmentem



eksperymentów było określenie wpływu ^{87}Rb na sygnał ^{87}Sr . Następnym eksperymentem była analiza dwóch rodzajów pastylek przygotowanych jako wzorce do kalibracji. W wyniku tych badań stwierdzono, że oznaczanie Sr w pastylkach sporządzonych na bazie hydroksyapatytu charakteryzuje się lepszą dokładnością. Przygotowane metodyki zostały zwalidowane, wyznaczono parametry charakterystyczne metody tj. precyzja, powtarzalność precyzja pośrednia, LOD, LOQ, zakres pomiarowy i liniowość. Zapewniono spójność pomiarową poprzez metodę dodatku wzorca w obu analizowanych matrycach. Dodatkowo w przypadku historycznych kości ludzkich zastosowano certyfikowany materiał odniesienia NIST SRM 610 pierwiastki śladowe w szkle. Zastosowanie CRM o innej matrycy jest niewłaściwe, niezgodne z zasadami stosowania materiałów odniesienia. Doktorantka winna jest nam wyjaśnienie:

dłaczego został w tym przypadku (dla obiektu kości ludzkie) zastosowany powyższy CRM, NIST SRM 610 pierwiastki śladowe w szkle?

Na zakończenie dwóch ostatnich podrozdziałów zastosowano opracowane i zwalidowane metodyki do oznaczania rozmieszczenia Mg i Zn w hipokampie mózgu szczura i przedstawiono je w postaci map stężeniowych. Przygotowane mapy ukazują znaczenie stosowania techniki LA-ICPMS dla badań próbek biologicznych o niewielkiej masie, w których uzyskujemy cenne informacje o zróżnicowanym stężeniu i niehomogenicznym rozmieszczeniu badanych analitów w próbce. Informacje te bezpowrotnie tracimy oznaczając ogólną zawartość badanych pierwiastków po mineralizacji, a biorąc do analizy niewielką (nieodpowiednią) masę próbki, ze względu na brak homogeniczności „produkujemy” artefakty. W przypadku analizy historycznych kości techniką LA-ICPMS na zawartość strontu oraz stosunku jego izotopów $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, stwierdzono dużą niehomogeniczność rozmieszczenia strontu w próbce i oznaczanie wartości średniej tego pierwiastka omawianą metodą mija się z celem. Podobne wnioski przedstawiła Doktorantka w przypadku badania stosunku izotopów $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Jakie było uzasadnienie prowadzenia tych badań?



Z informacji literaturowych wiemy, że prawidłowe wyniki stosunków izotopowych uzyskuje się, stosując w tym celu spektrometry wielodetektorowe i wysokorozdzielcze, na przykład MC-ICPMS, SF-ICPMS. W tej części rozprawy zabrakło w dyskusji wyników ustosunkowania się i przywołania obszernej literatury (305 pozycji), także proszę o wyjaśnienie.

Praca napisana jest dobrym językiem polskim, chociaż Autorka nie ustrzegła się anglicyzmów: materiał referencyjny, str. 77, 88, 136, 153, „blanker”, str. 80, 81, 116. Liczba sformułowań niepoprawnych i kontrowersyjnych jest niewielka. Przykładowe sformułowania do których mam zastrzeżenia to: słupki błędów, str. 100, 101; dotowanie, str. 73, 77, 85, 88, w całej pracy; analiza półilościowa, str. 163, ślepa próba, str. 88, 90, 163.

Reasumując praca doktorska Natalii MILISZKIEWICZ wnosi wiele ważnych informacji o możliwościach analitycznych nowej, szybko rozwijającej się techniki analitycznej LA-ICPMS. Zainicjowany temat wytycza nowe kierunki nowoczesnej analizy chemicznej nie tylko w skali krajowej ale również światowej.

Uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Natalii MILISZKIEWICZ pt.: „Kalibracja oznaczeń techniką spektrometrii mas z mikropróbkowaniem laserowym i jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie” spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Z 2016r. poz. 882 i 1311). Na tej podstawie wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Chemii, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Natalii MILISZKIEWICZ do dalszych etapów przewodu doktorskiego.