

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Justyny Walczak
„Lipidomika – separacja i identyfikacja frakcji biologicznie aktywnej z wykorzystaniem
sprzężonych technik separacyjnych”

Rozprawa doktorska mgr Justyny Walczak jest poświęcona projektowaniu i opracowywaniu zaawansowanych metodyk analitycznych umożliwiających określanie profilu lipidowego niezwykle istotnych elementów diety – jaj i mleka (metodyki te zapewne będą stanowiły twórczy punkt wyjścia do badania kolejnych produktów spożywczych). Obiekty badawcze sytuują zainteresowania Doktorantki w obszarach dwóch płaszczyzn badawczych: „foodomiki” (dreszcz przechodzi przy używaniu tej nazwy potwornej) i lipidomiki. Ale nie tylko analiza obiektowa stanowi o wartości naukowej rozprawy - a wręcz przeciwnie. Kwintesencją badawczą jest bowiem wyrafinowane stosowanie nowoczesnych technik chromatograficznych i technik sprzężonych. Że dotyczy technik rozdzielania – nietrudno przewidzieć, bo zrealizowana została w znakomitym ośrodku posiadającym ugruntowaną renomę międzynarodową, pod kierownictwem Profesora Bogusława Buszewskiego i opieką promotora pomocniczego – dr hab. Szymona Bociana. Szacunku jest natomiast godne umiejętne sprzęganie tych technik z detekcją spektrometrii mas w różnych konfiguracjach – głównie z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie (dedykowaną do badania mniejszych cząsteczek, choć nie tylko), ale także laserową desorpcją i jonizacją wspomaganą matrycą (zestaw trudny technicznie i rzadko stosowany z sukcesem). I nie koniec na tym, bo spektrum „narzędzi” stosowanych przez mgr Justynę Walczak został na etapie finalnej interpretacji uzyskiwanych wyników wzbogacony o umiejętne klasyfikowanie ich z użyciem zaawansowanych pakietów chemometrycznych. Uwzględnienie tych kilku aspektów prac badawczych uprawianych przez Doktorantkę pozwala mi (w mojej opinii) już na wstępnym etapie przedstawiania oceny na wyrażenie opinii, że przedłożona do oceny praca wnosi co najmniej istotny wkład w stan wiedzy tak analitycznej, jak i z zakresu tzw. nauk „omicznych”. Chciałbym również podkreślić harmonijne realizowanie celów postawionych przed Doktorantką, bo choć daty publikacji nie pozwalają na ustalenie następczości Jej działań realizowanych w ramach rozprawy (a układ – kolejność publikacji – też tego nie ułatwia), to ułożenie ich w szeregu: poszukiwania literaturowe (publikacja w Crit. Rev. Anal. Chem.), praca badawcza z użyciem coraz bardziej skomplikowanych technik: analiza żółtka kurzego z użyciem 2D HPLC

ESI MS/MS, HILIC ESI MS/MS i GC MS, HILIC ESI MS/MS + pakiet narzędzi chemometrycznych; analiza mleka świeżego i w proszku z użyciem HPLC MALDI MS, a następnie podsumowanie badań w publikacji w „Health Problems of Civilization” – stwarza strukturę wielce klarowną i modelową.

Ocenianą rozprawę doktorską Pani mgr Justyny Walczak stanowi zwarte opracowanie przedstawione na 123 stronach, na które składają się: zestawienie skrótów i akronimów, wprowadzenie, omówienie problemu badawczego (wsparte 36 pozycjami literaturowymi), przedstawienie celów i założeń dysertacji, plik stanowiący dysertację (kopie sześciu publikacji naukowych, w tym jednej przesłanej do redakcji czasopisma Journal of Chromatography A), podsumowanie i wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim, zestawienie dorobku naukowego i oświadczenia współautorów o ich wkładzie w powstawanie publikacji.

Wykaz skrótów jest opracowany niezmiernie starannie i poprawny terminologicznie. Trudno w nim jest jedynie znaleźć uzasadnienie, czemu pośród badanych pochodnych glicerolu jedynie jedna klasa jest wyróżniona (Glycerolipidy). „Wprowadzenie” – krótki rozdział – przedstawia obszar badawczych zainteresowań Doktorantki, klasy interesujących ją związków chemicznych, stosowane metodologie analityczne i „omiczne”. Rozwinięcie zarysu zainteresowań znajdujemy w części „Problem badawczy”, w którym Autorka zwięźle przedstawia obiekty lipidomiczne, klasyfikację lipidów i ich rolę w prawidłowej diecie, a także metodologię badań prowadzonych dotychczas w tym obszarze. Tutaj znajdujemy problemy i propozycje ich rozwiązywania w zakresie przygotowania próbek – sposoby ekstrakcji frakcji tłuszczowych z matryc biologicznych, technik stosowanych do rozdzielania lipidów – chromatografii cieczowej jedno i wielowymiarowej, również ze specjalnie projektowanymi fazami stacjonarnymi „home-made”, chromatografii oddziaływań hydrofilowych i chromatografii gazowej, wreszcie technik stosowanych w układach detekcyjnych, zwłaszcza spektrometrii mas – z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie (również w systemie tandemowym) oraz z laserową desorpcją i jonizacją wspomaganą matrycą. Rozdział jest zamknięty krótkim wspomnieniem znaczenia obliczeń bioinformatycznych w obszarze zainteresowań Doktorantki.

Z obowiązku recenzent musi wspomnieć że w polskojęzycznej części zmartwiło go użycie terminów: „związki drobnocząsteczkowe” (str. 12) oraz „spektrometria masowa” (15) i „wysokie masy” (19); zdumiało natomiast stwierdzenie: „kwasy tłuszczowe można podzielić na kwasy nasycone, do których należą kwasy jednonienasycone oraz kwasy wielonienasycone” (14).

Najważniejszym elementem opracowania jest zbiór sześciu prac naukowych i

przeglądowych opublikowanych (lub przesłanych do redakcji – jedna) w bardzo dobrych czasopismach analitycznych (m.in. Journal of Chromatography A, Food Analytical Methods, Critical Reviews in Analytical Chemistry). Na podstawie załączonych do nich oświadczeń można stwierdzić, że Doktorantka jest w nich autorem wiodącym zarówno co do koncepcji badań, wykonania części doświadczalnej, jak i dyskusji wyników. Wartość uzyskanych efektów jest niepodważalna, opinię taką potwierdzają również decyzje Redaktorów naukowych poważnych czasopism, oparte na opiniach 2-3 niezależnych ekspertów. Zdaniem recenzenta do najważniejszych elementów nowości naukowej zaliczyć można:

- zbadanie, porównanie i wybór metod chromatograficznych optymalnych dla wydzielania i rozdzielania frakcji i poszczególnych lipidów – spośród różnorodnych wariantów jedno i wielowymiarowej chromatografii cieczowej (w tym z zastosowaniem faz stacjonarnych przygotowanych w macierzystym laboratorium), HILC, GC;
- zastosowanie różnorodnych zaawansowanych technik detekcyjnych, a zwłaszcza spektrometrii mas w wersji tandemowej, a także dalece niestandardowej - z laserową desorpcją i jonizacją wspomaganą matrycą i wybór najodpowiedniejszej dla realizacji celu;
- dobór i zastosowanie właściwych metod interpretacji wyników z wykorzystaniem pakietów bioinformatycznych.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że niewielkie uchybienia znajdujące się w opisie prac nie są warte dyskusji i nie umniejszają wartości rozprawy przedkładanej w celu uzyskania stopnia naukowego doktora. Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji praca spełnia ustawowe wymagania i przedstawiam Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika wniosek o dopuszczenie Pani mgr Justyny Walczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę że wyniki dysertacji są opublikowane w 6 pracach w czasopismach o liczącym się zasięgu (w tym 4 z Listy Filadelfijskiej i 1 przesłanej do redakcji Journal of Chromatography A) i **we wszystkich** mgr Justyna Walczak jest **pierwszym autorem (a w jednej – korespondującym)**, a także że w Jej dorobku znajdujemy jeszcze cztery inne publikacje, 18 prezentacji na konferencjach krajowych i międzynarodowych i udział w realizacji 8 projektów badawczych (w tym w projekcie NCN Preludium – w charakterze kierownika), z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o wyróżnienie ocenianej rozprawy.