

Załącznik 2

AUTOREFERAT

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

**„Rozwój i wybrane zastosowania skaningowej mikrowiązki
protonowej w biologii i geologii”**

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

1. Imię i Nazwisko: Wojciech Józef Przybyłowicz

2. Data i miejsce urodzenia: 24 grudnia 1952 w Starym Sączu

3. Dyplomy i stopnie:

- magister inżynier geofizyk, specjalność: geofizyka jądrowa, Wydział Geologiczno-Poszukiwawczy, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, 1976.
Temat pracy magisterskiej: „Oznaczanie uranu w materiałach sypkich metodą detekcji śladów fragmentów rozszczepienia”, promotor: Prof. Jerzy Niewodniczański.
- doktor nauk technicznych, Wydział Geologiczno-Poszukiwawczy, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, 1985.
Temat rozprawy doktorskiej: „Zastosowanie wybranych metod fizycznych w badaniach geochemicznych serpentynitów Dolnego Śląska”, promotor: Prof. Witold Żabiński.

4. Przebieg zatrudnienia w jednostkach naukowych:

Styczeń 1994 – obecnie: senior research scientist, zatrudniony w: Materials Research Department, iThemba Laboratory for Accelerator Based Sciences, Somerset West, Republika Południowej Afryki (poprzednie nazwy instytutu i grupy badawczej: do 1999 National Accelerator Centre, Van de Graaff Group; od 1999 do 2010 Materials Research Group; w roku 2001 zmiana nazwy instytutu na obecną)

Styczeń 1992 – grudzień 1993: Visiting Research Fellow, Schonland Research Centre for Nuclear Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, Republika Południowej Afryki

Styczeń 1986 – lipiec 1987: Post-Doctoral Fellow, McMaster University, Department of Geology, Hamilton, Ontario, Canada

W okresie od stycznia 1992 do chwili obecnej: urlop szkoleniowy bezpłatny, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

1. Październik 1985 – obecnie: adiunkt, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie
2. Październik 1979 – wrzesień 1985: starszy asystent, Międzyresortowy Instytut Fizyki i Techniki Jądrowej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie
3. Październik 1977 – wrzesień 1979 – asystent, Międzyresortowy Instytut Fizyki i Techniki Jądrowej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie
4. Październik 1976 – wrzesień 1977: asystent stażysta, Międzyresortowy Instytut Fizyki i Techniki Jądrowej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

5. Tytuł osiągnięcia naukowego: Cykl publikacji pt. „Rozwój i wybrane zastosowania skaningowej mikrowiązki protonowej w biologii i geologii”

(a) Na ww. cykl składają się następujące publikacje:

[H1] **W.J. Przybyłowicz**, J. Mesjasz-Przybyłowicz, C.A. Pineda, C.L. Churms, K.A. Springhorn and V.M. Prozesky. Biological applications of the NAC nuclear microprobe. *X-ray Spectrometry* 28 (1999) 237-243. (IF 1.381)

[H2] **W.J. Przybyłowicz**, J. Mesjasz-Przybyłowicz, C.A. Pineda, C.L. Churms, C.G. Ryan, V.M. Prozesky, R. Frei, J.P. Slabbert, J. Padayachee and W.U. Reimold. Elemental mapping using proton-induced x-rays. *X-ray Spectrometry* 30 (2001) 156-163. (IF 1.414)

[H3] D. Budka, J. Mesjasz-Przybyłowicz, G. Tylko, **W.J. Przybyłowicz**. Freeze-substitution methods for Ni localization and quantitative analysis in *Berkheya coddii* leaves by means of PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 231 (2005) 338-344. (IF 1.414)

[H4] Grzegorz Tylko, Jolanta Mesjasz-Przybyłowicz and **Wojciech J. Przybyłowicz**. X-ray microanalysis of biological material in the frozen-hydrated state by PIXE. *Microscopy Research and Technique* 70 (2007) 55-68. [DOI 10.1002/jemt.20387](https://doi.org/10.1002/jemt.20387). (IF 1.644)

[H5] Y.D. Wang, J. Mesjasz-Przybyłowicz, G. Tylko, A.D. Barnabas, **W.J. Przybyłowicz**. Micro-PIXE analyses of frozen-hydrated semi-thick biological sections. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 306 (2013), pp. 134-139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2012.12.051>. (IF 1.266)

[H6] **W.J. Przybyłowicz**, C.A. Pineda, V.M. Prozesky and J. Mesjasz-Przybyłowicz. Investigation of Ni hyperaccumulation by true elemental imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104 (1995) 176-181. (IF 1.193)

[H7] K. Vogel-Mikuš, M. Regvar, J. Mesjasz-Przybyłowicz, **W.J. Przybyłowicz**, J. Simčič, P. Pelicon, M. Budnar. Spatial distribution of Cd in leaves of metal hyperaccumulating *Thlaspi praecox* using micro-PIXE. *New Phytologist* 179 (2008) 712-721. [doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02519.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02519.x). (IF 5.178)

[H8] **W. J. Przybyłowicz**, J. Mesjasz Przybyłowicz, P. Migula, E. Głowacka, M. Nakonieczny, M. Augustyniak. Functional analysis of metals distribution in organs of the beetle *Chrysolina pardalina* exposed to excess of nickel by Micro-PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 210 (2003) 343-348. (IF 1.041)

[H9] J. Mesjasz-Przybyłowicz and **W.J. Przybyłowicz**. Micro-PIXE in plant sciences: present status and perspectives. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 189 (2002) 470-481. (IF 1.158)

[H10] **W.J. Przybyłowicz**, V.M. Prozesky and F.M. Meyer. True elemental imaging of pyrites from Witwatersrand reefs. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104 (1995) 450-455. (IF 1.193)

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

[H11] R. Frei, V.M. Prozesky and **W.J. Przybyłowicz**. Studies of progressive leaching in single mineral Pb-Pb dating. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 130 (1997) 676-681. (IF 1.016)

[H12] A. Agangi, A. Hofmann, **W. Przybyłowicz**. Trace element zoning of sulfides and quartz at Sheba and Fairview gold mines: Clues to Mesoarchean mineralisation in the Barberton Greenstone Belt, South Africa, Ore Geology Reviews 56 (2014) 94-114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oregeorev.2013.08.016>. (IF 2.417)

[H13] S. Fuchs, **W.J. Przybyłowicz**, A.E. Williams-Jones. Elemental imaging of organic matter and associated metals in ore deposits using micro-PIXE and micro-EBS. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318 (2014) 157-162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2013.06.055>. (IF 1.266.)

b) omówienie ww. prac i osiągniętych wyników

Wprowadzenie

Zespół analitycznych metod fizycznych wykorzystujących zogniskowane wiązki jonów o energii rzędu kilku MeV (najczęściej 2-3 MeV) wytwarzane przez akceleratory cząstek naładowanych określa się potocznie terminem „mikrowiązka jądrowa” (*ang.* nuclear microprobe) (Watt i Grime, 1987). Najczęściej stosuje się protony lub cząstki alfa, stąd alternatywnie używa się często terminu „mikrowiązka protonowa”. Różnorodność stosowanych metod oraz możliwość jednoczesnego użycia kilku z nich stanowi o bardzo szerokim wachlarzu zastosowań w zagadnieniach istotnych dla wielu dziedzin nauki. Metody można podzielić na wymagające wysokich prądów jonów, rzędu 100 – 1000 pA, oraz metody w których stosowane są bardzo niskie prądy rzędu fA lub wręcz pojedyncze jony. Do pierwszej grupy zalicza się analizę fluorescencyjną wzbudzaną jonami (*ang.* Particle Induced X-ray Emission – PIXE), metodę analizy produktów reakcji jądrowych (*ang.* Nuclear Reaction Analysis – NRA) której wariantem jest analiza promieni gamma wzbudzanych jonami (*ang.* Particle Induced Gamma-ray Emission – PIGE), metodę wstecznego rozpraszania rutherfordowskiego (*ang.* Rutherford Backscattering Spectrometry – RBS) i elastycznego rozpraszania wstecznego (*ang.* Elastic Backscattering Spectrometry – EBS lub Backscattering Spectrometry - BS). Niskie prądy są wymagane w przypadku mikroskopii elektronów wtórnych (*ang.* Secondary Electron Imaging – SEI), luminescencji wzbudzonej jonami (*ang.* Ion Beam Induced Luminescence – IBIL) lub w analizie ładunku wzbudzanego jonami w badanym materiale (*ang.* Ion Beam Induced Charge – IBIC). Minimalne prądy a nawet tylko pojedyncze jony są stosowane w metodzie skaningowej mikroskopii przechodzących jonów (*ang.* Scanning Transmission Ion Microscopy – STIM) czy w badaniu efektów radiacyjnych lub modyfikowaniu materiałów (*ang.* single ion machining, single event upsets, single ion irradiation) (Watt, 1997). Najczęściej urządzenie jest wyposażone w system skanujący powierzchnię analizowanego materiału wiązką jonów, stąd bardzo często używa się określenia „skaningowa mikrowiązka jądrowa” lub „skaningowa mikrowiązka protonowa”.

W przeciwieństwie do innych komercyjnie dostępnych przyrządów takich jak (przykładowo) mikroskopy elektronowe czy spektrometry masowe, gdzie oprócz oprzyrządowania z reguły dostępne jest także oprogramowanie i szczegółowe instrukcje obsługi, w przypadku skaningowych mikrowiązek jądrowych komercyjnie dostępne są jedynie zasadnicze składniki takie jak przestony i szczeliny kolimatorów oraz cewki kwadropolowe do ogniskowania wiązki czy systemy skanowania, natomiast panuje duża dowolność w wyborze komory pomiarowej, sposobu rejestracji ładunku czy normalizacji wyników. Do poszczególnych zespołów badawczych należy decyzja jakie metody będą stosowane w

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

sposób bardziej rutynowy, ilość i rodzaj stosowanych detektorów, oraz wybór systemu akwizycji danych, który często jest konstruowany jako pojedynczy egzemplarz, dopasowywany do konkretnej mikrowiązki. Takie indywidualne podejście stwarza możliwości ciągłego rozwoju metod, których podstawy są przeważnie znane od dawna. Na około 60 istniejących na świecie stanowisk mikrowiązek jądrowych żadne nie jest identyczne. Instalacja każdej nowej mikrowiązki jądrowej wymaga pracy zespołu naukowców i techników. Również zastosowania wymienionych metod fizycznych w wielu dyscyplinach nauki wymagają współpracy specjalistów z różnych dziedzin. W związku z tym do reguły należą publikacje interdyscyplinarne z udziałem wielu autorów. Rolą fizyka jest wtedy nie tylko użycie właściwej metody i warunków pomiarowych do konkretnego zagadnienia, ale także kontrola nad interpretacją wyników przez fachowców z innej dyscypliny. Wiąże się z tym konieczność głębszego zrozumienia problemu z innej dziedziny, który ma zostać rozwiązany przy użyciu metod fizycznych.

W trakcie mojej pracy zawodowej miałem możliwość dwukrotnie pracować niejako „od podstaw” nad rozwojem metod analitycznych wykorzystujących zogniskowane wiązki jonów, a następnie nad ich zastosowaniami w zagadnieniach inżynierii materiałowej, geologii, biologii i badań środowiskowych. W pierwszym przypadku uczestniczyłem w uruchomieniu skaningowej mikrowiązki protonowej w Schonland Research Centre for Nuclear Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, w Republice Południowej Afryki. Następnie pracowałem nad rozwojem i zastosowaniami nowej mikrowiązki jądrowej w National Accelerator Centre, Somerset West, również w Republice Południowej Afryki.

W publikacjach wybranych do cyklu habilitacyjnego omówiony jest rozwój metod i możliwości analitycznych mikrowiązki w tym drugim ośrodku, ze szczególnym uwzględnieniem materiałów pochodzenia biologicznego, a także wybrane zastosowania w biologii i geologii.

Rozwój metod i możliwości analitycznych

Zastosowania mikrowiązki protonowej w biologii budzą zainteresowanie od momentu powstania pierwszych urządzeń w latach siedemdziesiątych (Horowitz i inni, 1976), jednak tylko nieliczne laboratoria potrafiły zaoferować biologom coś więcej niż pojedyncze testowe wyniki bez praktycznego znaczenia dla rozwoju tej dziedziny nauki. Potencjalny sukces wymaga długotrwałej, systematycznej współpracy między specjalistami z zakresu wykorzystywanych metod fizycznych oraz biologami. Ponadto kluczowym zagadnieniem jest właściwe przygotowanie materiału biologicznego, w szczególności w celu zapewnienia prawidłowego odwzorowania rozkładu pierwiastków w badanych próbkach, dokładnie takiego jak w żywym materiale z którego zostały one pobrane. Laboratorium w National Accelerator Centre, Somerset West, Republika Południowej Afryki (obecna nazwa instytutu: iThemba Laboratory for Accelerator Based Sciences) jest jednym z miejsc w którym konsekwentny rozwój metodyki oraz możliwości technicznych doprowadził do wielu zakończonych sukcesem współprac w zagadnieniach istotnych dla biologii i badań środowiska, geologii oraz inżynierii materiałowej. Cykl wybranych publikacji ilustruje rozwój możliwości analitycznych w tym laboratorium, z moim wiodącym udziałem. Skaningowa mikrowiązka jądrowa została uruchomiona w 1991 roku i w kolejnych latach systematycznie ulepszana. Od roku 1994 do chwili obecnej pracuję nad rozwojem analitycznych możliwości tej mikrowiązki. Urządzenie wykorzystuje 6 MV akcelerator model CN (High Voltage Engineering USA) typu pojedynczy Van de Graaff; soczewki kwadropolowe (system OM150), przesłony i system skanowania a także komora pomiarowa, są produkcji Oxford Microbeams Ltd. Zasadnicza charakterystyka urządzenia została opisana w pracy Prozesky i inni (1995). Dane pomiarowe są rejestrowane w oparciu o programy napisane w systemie akwizycji XSYS (Indiana Univ. 1985), najczęściej metodą „zdarzenie po zdarzeniu”. Do analizy danych pomiarowych stosowane są kolejne wersje programu GeoPIXE (Ryan, 2000). W odniesieniu do metody PIXE w programie tym

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

stosowana jest zaawansowana metoda ilościowego mapowania rozmieszczenia pierwiastków, tzw. *Dynamic Analysis* (Ryan i Jamieson, 1993). Mapy pierwiastkowe generowane są w oparciu o wybraną serię linii widmowych danego pierwiastka (np. serię K lub serię L) przy czym usuwane są efekty interferencji między liniami widmowymi i dodatkowymi liniami takimi jak linie sumaryczne (*ang.* Pile-up) czy piki ucieczki (*ang.* Escape peaks) oraz usuwany jest wpływ widma ciągłego promieniowania rentgenowskiego które stanowi tło. Mapy mają charakter ilościowy, są przedstawiane w jednostkach koncentracji (mg kg^{-1} lub wt.%). National Accelerator Centre było drugim na świecie laboratorium w którym ta metoda mapowania została zintegrowana z systemem akwizycji danych (Ryan i inni, 1995). Ten zaawansowany sposób mapowania ma duże zalety, szczególnie w odniesieniu do bardzo skomplikowanych widm PIXE z dużą liczbą nakładających się linii widmowych. Szczegółowa procedura ilościowych analiz grubych próbek została po raz pierwszy opracowana i opisana w pracy van Achterbergh i inni (1995), oraz zastosowana w badaniu geochemii eklogitów. Przede mną stało zadanie rozszerzenia procedury ilościowych mikroanaliz pierwiastkowych o analizy próbek o pośredniej grubości oraz cienkich, w szczególności materiałów pochodzenia biologicznego. Dla próbek o pośredniej grubości wymagało to opracowania metody pomiaru składu i grubości matrycy, ze szczególnym uwzględnieniem matrycy biologicznej. Typowym podejściem w skaningowych mikrowiązkach jądrowych jest użycie dodatkowej metody, STIM lub BS. W przypadku metody STIM możliwy jest jedynie pomiar masy powierzchniowej natomiast skład matrycy musi zostać przyjęty *a priori*. Najczęściej w tej sytuacji zakłada się średni skład pierwiastków budujących matrycę biologiczną znany z pomiarów wykonywanych innymi metodami. Pomiar jest bardzo szybki, jednak jednoczesne użycie PIXE i STIM w wariancie tzw. on-axis koniecznym do prawidłowego pomiaru masy powierzchniowej (detektor mierzący energię cząstek po przejściu przez mierzony materiał jest umieszczony pod kątem 0° do wiązki pierwotnej) nie jest możliwe ze względu na zbyt duże różnice wymaganych prądów wiązki w obu metodach. Testy z użyciem metody STIM wykazały ponadto dodatkowe trudności, specyficzne dla naszego laboratorium. Z powodu relatywnie dużej niestabilności energetycznej wiązki protonów generowanej przez przestarzały akcelerator ustawienie właściwych parametrów pomiarowych było bardzo czasochłonne, co nie pozwalało na bardziej rutynowe analizy. Użycie metody BS pozwala na pomiar zarówno masy powierzchniowej jak i głównych składników matrycy biologicznej – na bezpośredni pomiar węgla, azotu i tlenu, oraz pośrednio wodoru. Należy zaznaczyć że wyznaczenie zawartości wodoru jest możliwe wyłącznie w przypadku założenia że jest on jedynym pierwiastkiem „dopełniającym” otrzymany skład matrycy do 100% oraz wymaga absolutnego i dokładnego pomiaru ładunku deponowanego przez cząstki naładowane w mierzonym materiale. Jest tak, ponieważ zmiany wartości ładunku i udziału wodoru w matrycy wpływają w dokładnie ten sam sposób na widma (R)BS. Dodatkowym problemem w analizie materiałów biologicznych jest zmienność składu matrycy w zależności od tkanki i narządu oraz zmienność masy powierzchniowej w mikro- i makroobszarach, będąca głównie rezultatem zróżnicowanej zawartości wody w strukturach. Z problemami tymi laboratorium zetknęło się po raz pierwszy, ponieważ do tej pory zastosowania metody ograniczały się do analizy stosunkowo prostych układów cienkich warstw metalicznych w zagadnieniach z zakresu inżynierii materiałowej, gdzie z punktu widzenia metodycznego wystarczające były pomiary stosunków pierwiastków oraz możliwe było stosowanie warunków zapewniających spełnienie kryterium Rutherforda. Uzyskiwane w takich warunkach widma RBS są proste w symulacji. Dla cienkich i pośredniej grubości tarcz materiałów biologicznych użycie cząstek alfa okazało się niemożliwe ze względu na znaczne zniszczenie materiału w trakcie pomiaru, a także często zupełne zniszczenie materiału organicznego na którym były montowane analizowane tarcze. Oprócz znacznie mniejszych zniszczeń analizowanego materiału w przypadku użycia wiązki protonów, korzystna jest także znacznie głębsza penetracja materiału, w efekcie umożliwiającą określanie masy powierzchniowej w znacznie większym zakresie niż dla cząstek alfa czy cięższych jonów. Należy zaznaczyć że metoda BS (w przypadku protonów należy używać tego

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

terminu gdyż kryterium Rutherforda nie jest spełnione dla typowo używanych energii wiązki) pozwala analizować materiały o dowolnej grubości. W przypadku próbek grubych informacja o masie powierzchniowej nie jest możliwa ale też nie jest potrzebna, natomiast w dalszym ciągu otrzymuje się informacje o składzie matrycy. Prawidłowa analiza widm BS wymaga jednak dokładnej znajomości przekrojów czynnych, w tym przypadku przekrojów czynnych na elastyczne rozpraszanie protonów o energiach co najmniej do 3 MeV, bo taka jest najczęściej stosowana energia protonów używanych w metodzie mikro-PIXE. W roku 1993 zostały opublikowane przekroje czynne dla węgla, tlenu i krzemu w przedziale energii 1.0 – 3.5 MeV dla kątów rozproszenia 110° , 150° i 170° (Amirikas i inni, 1993). Ponieważ pierścieniowy detektor stosowany w pomiarach widm BS zamontowany był pod średnim kątem rozproszenia równym 176° , zaadaptowałem opublikowane przekroje czynne dla kąta 170° w programie RUMP (Doolittle, 1986) używanym do symulacji widm (R)BS i przetestowałem je w pomiarach standardów dla wszystkich trzech pierwiastków. Wyniki symulacji były na tyle zadowalające, że właśnie te przekroje czynne były używane przez naszą grupę aż do momentu opublikowania prac Gurbicha z ulepszonymi danymi dla węgla i tlenu (Gurbich, 1997; Gurbich, 1998) a następnie azotu (Gurbich, 2008). Przyjęta przez niego metoda parametryzacji przekrojów czynnych umożliwiła ich obliczanie dla dowolnego kąta rozproszenia. Ponadto przekroje czynne dla tych, a następnie pewnych innych pierwiastków, zostały udostępnione wszystkim zainteresowanym użytkownikom dzięki zainstalowaniu jego programu obliczeniowego (Sigmacalc) na ogólnie dostępnej stronie internetowej (Gurbich, 2007). Do czasu opracowania i udostępnienia przez Gurbicha danych dla azotu (Gurbich, 2008) pierwiastek ten nie był przeze mnie uwzględniany w symulacjach widm BS dla materiałów biologicznych. Było to rezultatem przeprowadzonych przeze mnie testów które dowiodły, że zaniedbanie udziału azotu w matrycy biologicznej wnosi znacznie mniejszy błąd niż używanie niewłaściwych przekrojów czynnych dla rozprożeń elastycznych protonów na tym pierwiastku. Innym możliwym do zaakceptowania i często stosowanym przeze mnie podejściem było przybliżenie składu matrycy biologicznej przez przyjęcie składu identycznego do celulozy ($C_6H_{10}O_5$). Zostało wcześniej dowiedzione, że w przypadku analizy pierwiastków w przedziale $22 < Z < 56$, dla energii protonów 1 – 4 MeV, błąd takiego założenia nie przekracza 10% (Pineda i Peisach, 1998).

Praca (Przybyłowicz i inni, 1999a-H1) stanowi podsumowanie opracowanej metodyki analiz materiałów biologicznych, z moim wiodącym udziałem. Oprócz omówionego już sposobu użycia metody elastycznego rozproszenia wstecznego do korekty efektu matrycy w metodzie PIXE, podano w niej także szczegóły instrumentalne oraz akwizycji danych. Ponadto zwrócono uwagę na możliwe problemy związane z używaniem nieoptymalnych warunków pomiarowych, w tym możliwość częściowej straty badanego materiału oraz straty pewnych pierwiastków będące wynikiem użycia zbyt wysokich prądów wiązki protonów. Oprócz opisu metodyki przyjętej dla typowych analiz materiałów biologicznych zwróciłem także uwagę na modyfikacje stosowane w przypadku analiz najbliższych pierwiastków dostępnych dla metody PIXE – sodu i magnezu. Bardziej szczegółowy opis warunków pomiarowych zaproponowanych dla analiz tych pierwiastków został podany w pracy (Przybyłowicz i inni, 1999b), gdzie omówione są zalety i wady pomiarów przy użyciu znacznie obniżonej energii protonów – do 1.5 MeV i 0.6 MeV – w porównaniu z najczęściej używaną energią 3 MeV.

Wiele uwagi poświęciłem prawidłowemu przygotowaniu tkanek, tak aby zachowana została struktura żywego materiału oraz zatrzymane procesy kinetyczne zachodzące w tkankach. W tym celu stosowano bardzo szybkie mrożenie materiału w ciekłym propanie (początkowo używano izopentanu) chłodzonego ciekłym azotem, a następnie powolną liofilizację (długość cyklu suszenia zamrożonego materiału wynosi z reguły kilka dni). Szczegóły tego sposobu przygotowania są podane w pracy (Przybyłowicz i inni, 1999a-H1).

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

Wykorzystywanie ilościowego mapowania pierwiastkowego metodą mikro-PIXE w wielu projektach badawczych z zakresu geologii, biologii i badań środowiska pozwoliło mi na wypracowanie optymalnej metodyki interpretacji danych. Możliwości i ograniczenia tej metody omawiam, ilustrując je przykładami, w oparciu o własne wyniki pomiarowe otrzymane w realizacji wielu projektów badawczych, w pracy (Przybyłowicz i inni, 2001–H2). Porównana jest tu prosta jakościowa metoda mapowania pierwiastkowego opartej o definiowane „bramki energetyczne” w przedziałach energii odpowiadających wybranym liniom charakterystycznego promieniowania x danego pierwiastka, oraz znacznie bardziej zaawansowane, ilościowe mapowanie wykorzystujące metodę *Dynamic Analysis* a także inne metody analizy ilościowej oparte na rejestracji danych metodą „zdarzenie po zdarzeniu”.

Istotnym ograniczeniem metody *Dynamic Analysis* jest założenie stałej matrycy - stałego składu pierwiastkowego i grubości próbki w całym skanowanym obszarze. W pewnych przypadkach analiz liofilizowanego materiału organicznego założenie to nie jest spełnione. Dobrym przykładem takiej sytuacji są analizy epidermy liści (Przybyłowicz i inni, 1995a-H6), gdzie liofilizowany materiał epidermy wykazywał znaczne lokalne różnice masy powierzchniowej, w zakresie od 0.4 do 5 mg/cm². Z tego powodu mapy epidermy nie mogły być traktowane jako w pełni ilościowe. Wyniki ilościowe z map były w takich przypadkach weryfikowane na podstawie wyników punktowych, obliczanych z wykorzystaniem indywidualnych mas powierzchniowych otrzymanych każdorazowo metodą BS. W nowszych wersjach programu GeoPIXE została wprowadzona metoda korekcji na przestrzenną zmienność matrycy (Ryan i inni, 2002), jest to jednak podejście czasochłonne i lepszym rozwiązaniem może być przygotowanie materiału w sposób zapewniający stałą grubość matrycy. Między innymi z tego powodu sporo uwagi poświęcono innym, oprócz liofilizacji, metodom przygotowania miękkich tkanek biologicznych.

Chociaż procedury przygotowania materiałów biologicznych są w sensie ogólnym powszechnie znane z zastosowań w mikroskopii elektronowej (Echlin, 1992), jest zawsze istotne aby znać ich ograniczenia w zastosowaniu do konkretnego typu materiału. W szczególności istotna była informacja o zaletach i wadach wybranych procedur zastępowania wody w niskich temperaturach przez pewne rozpuszczalniki organiczne (*ang.* freeze substitution and low temperature embedding). Procedury te mogą być potencjalnie stosowane jako alternatywa do liofilizacji. Nasza grupa badawcza przeprowadziła obszerne studium porównawcze używając ośmiu procedur z zastosowaniem w niskiej temperaturze wybranych substancji organicznych, dla najbardziej nas interesującego materiału roślinnego – liści rośliny *Berkheya coddii*, południowoafrykańskiego hiperakumulatora niklu. Otrzymane wyniki zostały podsumowane w pracy (Budka i inni, 2005-H3). Zastosowana została metoda zamrażania materiału biologicznego w warunkach wysokiego ciśnienia ciekłego azotu (*ang.* high pressure freezing), podstawiania wody substancjami organicznymi (aceton, metanol, dietyloeter, tetrahydrofuran) i zatapianiu w żywicy. Dodatkowo użyto dimetyloglioksydu (DMG) jako substancji wiążącej nikiel, w celu zredukowania przemieszczania się tego pierwiastka podczas procesu podstawiania wody. Uzyskane wyniki sugerują dużą ostrożność w używaniu przetestowanych procedur i żywic. Dla zaledwie jednej z nich – przy użyciu dietyloeteru - uzyskano rozmieszczenie niklu zgodne z kontrolnymi wynikami dla materiału suszonego w powietrzu, liofilizowanego lub analizowanego w stanie uwodnionym. Dla pozostałych procedur wyniki są nieprawidłowe, czasem wykazywane rozmieszczenie niklu było wręcz odwrotne w stosunku do prawidłowego rozmieszczenia całkowitego niklu (przypadek tetrahydrofuranu). Praca zwraca więc uwagę na ogromne ryzyko uzyskania fałszywych wyników analiz dla materiałów przygotowanych przy użyciu organicznych rozpuszczalników, nawet przy niskich temperaturach zastępowania wody.

Gwałtownie zamrożony w stanie uwodnionym (do temperatury rzędu 100K) materiał biologiczny zachowuje taki sam rozkład stężeń jonów w organizmie, jaki miał miejsce w chwili zatrzymania

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

procesów życiowych. Z tego względu najbardziej pożądana jest mikroanaliza bez jakiegokolwiek dalszej obróbki tego materiału. Uniknięcie etapu liofilizacji ma też dodatkową zaletę, a mianowicie preparaty cięte przy użyciu krio-ultramikrotomu lub krio-mikrotomu zachowują identyczną masę powierzchniową w całym mierzonym obszarze, w przeciwieństwie do materiału zliofilizowanego, gdzie występują znaczne, niekiedy drastyczne, lokalne różnice masy powierzchniowej. Dzięki temu możliwe jest użycie tej samej matrycy w każdym pikselu rejestrowanej mapy pierwiastkowej bez konieczności korekty na lokalne zmiany, co znacznie upraszcza i przyspiesza interpretację wyników. Pomiary tkanek w stanie uwodnionym są możliwe przy użyciu mikroskopów elektronowych z komercyjnie dostępnymi układami mrozeniowymi (krio-transfer) umożliwiającymi transport zamrożonych materiałów do komory pomiarowej a następnie ich analizę w stanie zamrożonym. Jednak wzbudzenie charakterystycznego promieniowania x przy użyciu elektronów, jakie ma miejsce w skaningowym mikroskopie elektronowym z detektorem półprzewodnikowym (*ang.* SEM-EDS - Scanning Electron Microscope with Energy Dispersive Spectrometry), nie pozwala na analizy pierwiastków śladowych wskutek zbyt małej czułości metody. Czułość metody mikro-PIXE jest średnio o co najmniej dwa rzędy wielkości lepsza, co czyni ją potencjalnie znacznie lepszą metodą do badań materiałów uwodnionych. W roku 2004 zaproponowałem modyfikację naszej mikrowiązki protonowej mającą na celu ilościowe analizy rozmieszczenia pierwiastków w miękkich tkankach biologicznych w stanie uwodnionym w niskich temperaturach. Jedynymi wcześniejszymi próbami robionymi w tym zakresie na świecie było użycie przez Howoritzę i innych (1976) wiązki protonowej o energii 2 MeV do pomiarów pierwiastkowych tkanki oka i nerki szczura utrzymywanej w temperaturze 243 K pod ciśnieniem atmosferycznym, oraz znacznie później analiza tkanki cebuli w warunkach chłodzenia strumieniem ciekłego azotu w celu utrzymania temperatury próbki rzędu 100 K, także pod ciśnieniem atmosferycznym (Sakai i inni, 2005). Stworzony przeze mnie zespół badawczy w latach 2005-2006 przeprowadził adaptację naszej mikrowiązki protonowej umożliwiającą pomiary niskotemperaturowe miękkich tkanek biologicznych w warunkach próżni, a następnie przeprowadził pomiary wybranych tkanek roślinnych i zwierzęcych (Tylko i inni, 2007a-H4; 2007b). Były to pierwsze na świecie udokumentowane ilościowe analizy tego typu. Dokonano adaptacji używanego krio-transferu do pomiarów niskotemperaturowych stosowanego w elektronowej mikroskopii skaningowej, rozwiązując wiele technicznych problemów z tym związanych. Dr Grzegorz Tylko w ramach kontraktu w iThemba LABS (postdoctoral fellow) pełnił rolę głównego wykonawcy w tym zespole badawczym. Dużo uwagi poświęcono zachowaniu się materiału biologicznego przed i w trakcie pomiarów. Przy użyciu spektrometrii masowej monitorowano zmiany ciśnienia pary wodnej, tlenu, azotu oraz związków węgla (CO, CO₂, CH_n, CH_n-R) w trakcie przenoszenia zamrożonego materiału na stolik preparatu w komorze, podczas utrzymywania preparatu w stanie zamrożonym w komorze przed pomiarem a następnie w trakcie analiz, podczas skanowania wiązką protonową ze zmienną prędkością skanowania oraz dla różnych wartości prądu wiązki. Poprawność całego procesu analizy bezwzorcowej była testowana przy użyciu wzorców biologicznych (materiał żelatynowy z domieszkami cięższych pierwiastków) zarówno w stanie zamrożonym-uwodnionym jak i zamrożonym-odwodnionym. Zawartości pierwiastków otrzymane na podstawie pomiarów PIXE były zgodne z założonymi stężeniami. Obserwacje map pierwiastkowych uzyskane dla dodanych cięższych pierwiastków potwierdziły ich jednorodny rozkład w matrycy żelatynowej, stanowiąc istotny dowód poprawności przygotowania tych wzorców. Również wyniki składu matrycy uzyskane metodą BS były zgodne z założonymi wartościami. Wyniki BS zostały później dodatkowo potwierdzone przy użyciu mikrowiązki elektronowej oraz symulacjami Monte Carlo (Tylko i inni, 2010). Analizy przykładowo wybranych materiałów roślinnych i zwierzęcych wykazały dobrą zgodność rozmieszczenia pierwiastków w materiale przygotowanym w postaci uwodnionej a następnie liofilizowanym, a uzyskiwane granice wykrywalności dla materiału uwodnionego były na poziomie kilku ppm, a więc porównywalne z wynikami dla materiału liofilizowanego.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

Początkowo analizy były ze względów technicznych ograniczone do próbek grubych (Tylko i inni, 2007a-H4; Tylko i inni, 2007b), jednak wprowadzone później modyfikacje systemu pomiarowego i dalsze testy pozwoliły na analizy materiałów o dowolnej grubości, także próbek o pośredniej grubości oraz cienkich (Wang i inni, 2013-H5). Prace naszego zespołu zostały zauważone w świecie i znalazły naśladowców (Vavpetič i i inni, 2013). Nie ma wątpliwości, że analizy tkanek biologicznych w stanie uwodnionym będą znacznie częściej stosowane w przyszłości (Lombi i inni, 2011).

Wybrane zastosowania w biologii

Spośród szeregu zastosowań mikrowiązki protonowej w analizach materiałów biologicznych, można wyróżnić cykl prac związanych z badaniem hiperakumulacji – unikalnego zjawiska polegającego na pobieraniu przez pewne rośliny metali ciężkich z gleb i akumulowaniu ich w tkankach nadziemnych w ilościach normalnie toksycznych. Studium transportu niklu w tkankach rośliny *Senecio coronatus*, jednej z kilku hiperakumulatorów rosnących na kontynencie afrykańskim, było drugą z kolei publikacją w której użyto metody mikro-PIXE do badania tego zjawiska (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 1994), po wczesnej pracy grupy z Harvardu dotyczącej *Haumaniastrum robertii*, rośliny hiperakumulującej kobalt, rosnącej w Zairze (Morrison i inni, 1981). Prace dotyczące hiperakumulacji niklu zostały rozpoczęte podczas mojego pobytu w Schonland Research Centre for Nuclear Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, w Republice Południowej Afryki. Oprócz pomiarów średnich koncentracji zarówno niklu jak wielu innych pierwiastków we wszystkich podstawowych tkankach *Senecio coronatus*, przeprowadzono także ocenę ich rozmieszczenia w poszczególnych tkankach (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 1994). Mapowanie pierwiastków opisane w tej pracy było przeprowadzone jakościowo, ze względu na ograniczenia systemu akwizycji danych mikrowiązki w Schonland Research Centre, który umożliwiał wyłącznie mapowanie przy użyciu „bramek energetycznych”. Stwierdzono między innymi znaczne wzbogacenie epidermy liści w nikiel. Duża czułość metody pozwoliła na śledzenie rozmieszczenia także wielu innych pierwiastków, przy czym stwierdzono że epiderma jest także wzbogacona w Cu, Fe oraz Zn i Mn (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 1994). Publikacja ta zwróciła uwagę fizjologów roślin na możliwości metody mikro-PIXE i w ślad za nią pojawiło się wiele opracowań dotyczących hiperakumulacji niklu oraz innych pierwiastków. Prace były kontynuowane w National Accelerator Centre, Somerset West, Republika Południowej Afryki (obecna nazwa instytutu: iThemba Laboratory for Accelerator Based Sciences). W następnej publikacji na temat hiperakumulacji niklu w *Senecio coronatus* została użyta ilościowa metoda mapowania pierwiastkowego – *Dynamic Analysis* (Przybyłowicz i inni, 1995a-H6). Założenie odnośnie stałej grubości i składu matrycy w skanowanych obszarach było spełnione dla większości tkanek, jednak liofilizowany materiał epidermy wykazywał znaczne lokalne różnice masy powierzchniowej, w zakresie od 0.4 do 5 mg/cm². Z tego powodu mapy epidermy nie mogły być traktowane jako w pełni ilościowe. Wyniki ilościowe z map były w takich przypadkach weryfikowane na podstawie wyników punktowych, obliczanych z wykorzystaniem indywidualnych mas powierzchniowych otrzymanych każdorazowo metodą BS. Duża czułość metody mikro-PIXE ma szczególne znaczenie w przypadku studiów genotypów nie wykazujących hiperakumulacji. W pracach porównujących hiperakumulujący i nieakumulujący genotyp *Senecio coronatus* stwierdzono wyraźne różnice w zachowaniu niklu oraz innych pierwiastków, zarówno w odniesieniu do ich koncentracji jak i rozmieszczenia (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 1997; Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 2007). Analizy pierwiastkowe były prowadzone równoległe z badaniami cytologicznymi. Stwierdzone duże anomalie na mapach rozmieszczenia pierwiastków pomogły w odkryciu pewnych specjalistycznych zespołów komórek w korzeniach tej rośliny (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 2007).

Należy zauważyć że najbardziej typowe rozmieszczenie hiperakumulowanego pierwiastka, dobrze udokumentowane dla *Senecio coronatus*, nie jest cechą każdego bez wyjątku hiperakumulatora. W

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

przypadku *Berkheya coddii*, innego hiperakumulatora niklu rosnącego w Afryce Południowej, stwierdzono najwyższe koncentracje niklu nie w epidermie liści, ale we wiązkach przewodzących i mezofilu (Mesjasz-Przybyłowicz i Przybyłowicz, 2011).

Metody mikro-PIXE i mikro-BS były także używane w zagadnieniach związanych z mikoryzą, zjawiskiem polegającym na współżyciu korzeni lub innych organów roślin naczyniowych z grzybami. Tego typu symbioza daje obu gatunkom wzajemne korzyści, polegające na obustronnej wymianie substancji odżywczych. Symbioza mikoryzowa w hiperakumulatorach została stwierdzona stosunkowo niedawno, u wszystkich gatunków występujących w Afryce Południowej (Turnau i Mesjasz-Przybyłowicz, 2003). Wkrótce potem metoda mikro-PIXE została użyta do ilościowej analizy wpływu mikoryzy na koncentrację i rozmieszczenie pierwiastków w korzeniach hiperakumulatora *Berkheya coddii*. Stwierdzono znacznie wyższą koncentrację P, Ca, Zn i Cu w mikoryzowych korzeniach w porównaniu z korzeniami w których mikoryzy nie stwierdzono. Ponadto rozkład P, K, Cl, Zn i Ni został zmieniony w wyniku oddziaływania mikoryzy (Orłowska i inni, 2008; 2013).

Analiza rozmieszczenia kadmu w roślinach hiperakumulujących ten pierwiastek jest znacznie trudniejsza, ponieważ ze względu na jego wyższą toksyczność w porównaniu z innymi pierwiastkami za graniczną koncentrację definiującą hiperakumulację przyjmuje się wartość 0.01% suchej masy, o rząd wielkości mniej niż dla pozostałych hiperakumulatorów. Ponadto wykorzystanie linii L kadmu do analizy tego pierwiastka stanowi poważne wyzwanie dla programów fitujących widma, ze względu na nakładanie się tych linii z liniami K potasu, obecnego w roślinach w znacznie wyższych koncentracjach niż kadm. Ten ciekawy problem analityczny został omówiony w pracy dotyczącej rozmieszczenia pierwiastków w liściach *Thlaspi praecox*, hiperakumulatora cynku i kadmu (Vogel-Mikuš i inni, 2008-H7). Porównanie wyników mapowania kadmu metodą *Dynamic Analysis* z wykorzystaniem osobno linii K i L prowadzi do wniosku, że nawet ta zaawansowana metoda konstrukcji map pierwiastkowych daje czasem fałszywe wyniki w przypadku użycia linii L. Jedynie mapy kadmu oparte na liniach K dają wiarygodne rozmieszczenie tego pierwiastka.

Zastosowania mikrowiązki protonowej w badaniach hiperakumulacji nie ograniczały się do roślin. Stwierdzenie występowania owadów żerujących wyłącznie na liściach hiperakumulatora *Berkheya coddii* było dużą niespodzianką (Mesjasz-Przybyłowicz i Przybyłowicz, 2001) i zapoczątkowało intensywne badania mające na celu poznanie mechanizmu adaptacji tych owadów do tego nietypowego, potencjalnie toksycznego, pożywienia. Mapowanie pierwiastkowe metodą mikro-PIXE i mikro-BS wewnętrznych organów owadów z gatunku *Chrysolina pardalina* (obecnie nazwa gatunku została zmieniona na *Chrysolina clathrata*) zostało wykorzystane do zbadania zdolności adaptacyjnej tych owadów do środowiska bardzo silnie wzbogaconego w nikiel oraz do poznania, jakościowo i ilościowo, związków pomiędzy niklem a pozostałymi pierwiastkami w fizjologicznie istotnych strukturach tych owadów (Przybyłowicz i inni, 2003-H8). Udowodniono, że cewki Malpighiego są odpowiedzialne za eliminację tego metalu z hemolimfy (Przybyłowicz i inni, 2003-H8; 2005).

Publikacja (Mesjasz-Przybyłowicz i Przybyłowicz, 2002-H9) podsumowuje rolę metody mikro-PIXE w badaniach podstawowych procesów z zakresu fizjologii roślin. Aktualna wiedza na temat mechanizmów transportu pierwiastków w roślinach, konsekwencji ich niedoboru lub nadmiaru, poboru substancji odżywczych i ich funkcji w metabolizmie roślin oraz innych pokrewnych zagadnień, jest w dalszym ciągu oparta głównie na wynikach analiz metodami chemicznymi podających wyłącznie dane o stężeniach pierwiastków, z zaniedbaniem informacji o ich rozmieszczeniu w mikroobszarach. Z drugiej strony zaawansowane badania dotyczące transportu pierwiastków na poziomie komórkowym są prowadzone najczęściej z wykorzystaniem mikroskopów elektronowych z bardzo dobrą rozdzielczością przestrzenną, jednak wzbudzenie charakterystycznego promieniowania x przy użyciu

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

elektronów nie zapewnia wystarczającej czułości do analizy pierwiastków śladowych. Mikro-PIXE jest metodą pozwalającą na wypełnienie luki między tymi dwoma podejściami, co zilustrowano przykładami zastosowań pochodzącymi z moich własnych opracowań otrzymanych we współpracy z botanikami i specjalistami z zakresu fizjologii roślin. W pracy omówiono mocne i słabe punkty metody w porównaniu z innymi dostępnymi metodami mikroanalizy. W szczególności zwrócono uwagę na prawidłowe metody przygotowania materiału, komplementarność technik analizy jonowej stosowanych jednocześnie z mikro-PIXE, stosowane geometrie pomiarowe, akwizycję danych pomiarowych, zalety ilościowego mapowania rozkładu pierwiastków oraz warunki niezbędne do pełnej ilościowej analizy pierwiastkowej.

Wybrane zastosowania w geologii

Użycie zaawansowanej metody mapowania pierwiastkowego zaowocowało szeregiem prac w których badanie rozmieszczenia pierwiastków w sposób ilościowy było kluczowym elementem. Kilka prac dotyczyło zagadnień związanych z geochemią złóż złota w Afryce Południowej, głównie w basenie Witwatersrand. Pierwsza praca tego typu dotyczyła badania mechanizmu elektrochemicznego osadzania się złota na powierzchniach ziaren pirytów z tego basenu. W jednym z modeli geologicznych tłumaczących występowanie złota zwraca się uwagę na naprzemienne występowanie stref wzbogaconych i zubożonych w arsen na powierzchniach ziaren pirytów. Uważa się, że generują one powstanie mieszanego przewodnictwa typu n (strefy zubożone w As) i p (strefy wzbogacone w As) i osadzanie się złota na katodzie (Möller, 1993; Möller i Kersten, 1994). Istotnie, dla badanych pirytów otrzymałem przekonujący obraz przestrzennej zależności między arsenem i złotem na ich powierzchniach (Meyer i inni, 1994; Przybyłowicz i inni, 1995-H10). Mapowanie pierwiastkowe pirytów i pirotytów, głównych minerałów siarczkowych z basenu Witwatersrand, było kontynuowane i stanowiło ważne źródło ich klasyfikacji, często ujawniając detale niemożliwe do obserwacji przy użyciu klasycznych metod petrograficznych (Foya i inni, 1999; Reimold i inni, 1999; 2004). Również piryty z innych złóż były przedmiotem badań. Mapy pierwiastkowe uzyskane metodą mikro-PIXE stanowiły podstawę wyróżnienia dwóch generacji pirytów ze złoża Spitskop, Saldania Belt, Afryka Południowa (Belcher i inni, 2004). Także w tym przypadku mapy As dają dowód na istnienie naprzemiennych stref o wysokich i niskich zawartościach tego pierwiastka, a występowanie drobnoziarnistego złota na granicach między tymi strefami jest zgodne z modelem elektrochemicznej depozycji (Belcher i inni, 2004). Mapowanie pierwiastkowe pirytów ze złotonośnych osadów węglanowych w Zimbabwe (Bulawayo-Bubi Greenstone Belt) umożliwiło wyróżnienie odrębnych cech geochemicznych dla poszczególnych generacji tych pirytów (Xenophontos i inni, 1999; 2001).

Ciekawym zastosowaniem metody mikro-PIXE były badania rozpuszczalności złota w syntetycznie wytworzonej magmie, na niskim poziomie zawartości tego pierwiastka. Badania te są istotne dla poznania mechanizmu tworzenia się złóż złota. W tym przypadku najważniejszymi pierwiastkami, oprócz złota, były siarka i chlor. Mapowanie rozmieszczenia innych pierwiastków (Si, K, Fe, Zn) było również bardzo istotne ze względu na współistnienie fazy stopionej i krystalicznej, i związaną z tym konieczność precyzyjnego określenia miejsc wytypowanych do analiz punktowych, gdzie następnie określano poziom koncentracji złota. Dla analiz punktowych zastosowane warunki pomiarowe pozwoliły na otrzymanie granic wykrywalności tego pierwiastka na poziomie 2 ppm. Wyniki wskazują, że siarka posiada lepsze zdolności kompleksowania złota w porównaniu z chlorem (Stevens i inni, 2004).

Metoda mikro-PIXE była również użyta w studium związanym z izotopowym datowaniem skał metodą ołowiową, w wariantcie wykorzystującym progresywne wmywanie (*ang.* stepwise Pb-Pb leaching). Wariant ten został zaproponowany do datowania wykorzystującego minerały główne (Frei i Kamber,

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

1995). W odróżnieniu od powszechnie stosowanego datowania przy użyciu minerałów akcesorycznych, wyniki datowania wykorzystującego minerały główne są w sposób bardziej bezpośredni związane z zasadniczymi strukturalnymi, petrograficznymi i petrologicznymi cechami skał. Dzięki temu datowanie to umożliwia lepszą weryfikację modeli procesów geologicznych. Obszerne studium metodyczne mające na celu dokładne zrozumienie mechanizmu wymywania zostało przeprowadzone dla kryształu tytanitu o wysokiej czystości. Mapy pierwiastkowe otrzymane metodą mikro-PIXE pozwoliły na obserwację migracji pierwiastków głównych i śladowych podczas procesu wymywania (Frei i inni, 1997a). Najbardziej istotne było śledzenie zachowania się pierwiastków bezpośrednio wykorzystywanych w datowaniu z progresywnym wymywaniem – uranu, toru i ołowiu. Ponadto otrzymane koncentracje tych pierwiastków z wybranego obszaru w „niewymytmym” rejonie tytanitu posłużyły do obliczenia wieku metodą zaproponowaną przez Montela (Montel i inni, 1994). Uzyskałem bardzo dobrą zgodność z wynikiem uzyskanym niezależnie metodą izotopową (Frei i inni, 1997b-H11).

Pomimo stałego rozwoju innych metod mikroanalizy pierwiastkowej użycie metody mikro-PIXE w dalszym ciągu stanowi ważny element kompleksowych badań związanych z geochemią złóż złota. W niedawnej pracy dotyczącej genezy złota w formacji geologicznej Barberton Greenston Belt (Afryka Południowa), mapowanie pierwiastkowe minerałów siarczkowych (pirytów, arsenopirytów, chalkopirytów) pozwoliło na wyróżnienie kilku etapów tworzenia się tych minerałów, a stwierdzone w nich strefowe rozmieszczenie pierwiastków śladowych dostarczyło informacji odnośnie procesów prowadzących do utworzenia tego złoża. Wyniki mapowania pierwiastkowego wykonane przy użyciu nowoczesnego mikroskopu elektronowego wyposażonego jednocześnie w dwa systemy spektrometryczne - z dypersją falową (*ang.* Wavelength Dispersive Spectrometry – WDS) oraz dypersją energii (*ang.* Energy Dispersive Spectrometry – EDS) zostały tutaj uzupełnione ilościowymi mapami uzyskanymi naszym systemem mikro-PIXE (Agangi i inni, 2014-H12). Analizy w szerszym zakresie energii oraz możliwość analizy większej ilości pierwiastków w oparciu o serie linii K i L w stosunku do możliwości mikroskopii elektronowej pozwoliły na bardziej kompletnej analizę minerałów, a co za tym idzie, znacznie ułatwiły interpretację wyników. Praca (Fuchs i inni, 2014-H13) jest innym przykładem pokazującym zalety użycia metody mikro-PIXE w kompleksowych badaniach dotyczących genezy złóż złota, tym razem występującego wraz z materią organiczną oraz innymi pierwiastkami o znaczeniu strategicznym (głównie uranem ale także torem i pierwiastkami z grupy ziem rzadkich), w geologicznej prowincji Witwatersrand w Afryce Południowej. Analizowany materiał bitumiczny charakteryzuje się złożonym składem pierwiastkowym o bardzo dużym zróżnicowaniu przestrzennym. Ponadto stwierdzono występowanie inkluzji mineralnych o niewielkich rozmiarach, o zupełnie odmiennym składzie chemicznym w stosunku do materii organicznej. W tej sytuacji otrzymanie ilościowych map pierwiastkowych dla całych skanowanych obszarów nie jest możliwe. Odpowiednim podejściem metodycznym jest wyróżnienie rejonów o takim samym lub podobnym składzie chemicznym i analiza widm PIXE z tych rejonów. W przypadku materii organicznej dużą pomocą w interpretacji wyników mogą być mapy lekkich pierwiastków – węgla i tlenu – otrzymane metodą EBS. Mapy otrzymane tą metodą należy jednak w tym przypadku interpretować z dużą ostrożnością, ponieważ duże zróżnicowanie przestrzenne ciężkich pierwiastków (U, Au, Pb) znacznie skomplikowało fitowanie widm EBS i uzyskiwane proporcje atomowe lekkich pierwiastków (C, O i pośrednio H) mogły być wskutek tego nieprawidłowe. Niemniej jednak, dodatkowe jakościowe mapy C i O otrzymane z obszarów mapowanych metodą mikro-PIXE były pomocne w interpretacji wyników (Fuchs i inni, 2014-H13).

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Okres przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Działalność naukowo-badawczą rozpocząłem w trakcie studiów specjalności „geofizyka jądrowa” na kierunku „Geofizyka Poszukiwawcza” Wydziału Geologiczno-Poszukiwawczego Akademii Górniczo-Hutniczej. Moja pierwsza publikacja na temat oznaczania uranu w skałach lessowych metodą detekcji śladów fragmentów rozszczepienia jąder uranu-235 ukazała się, gdy byłem studentem trzeciego roku (Przybyłowicz, 1975). Tematykę oznaczania uranu tą metodą w materiałach sypkich kontynuowałem w ramach pracy magisterskiej. Moim opiekunem naukowym a następnie promotorem pracy magisterskiej był prof. dr hab. Jerzy Niewodniczański z Międzyresortowego Instytutu Fizyki i Techniki Jądrowej.

W roku 1976 obroniłem pracę magisterską na temat „Oznaczenie uranu w materiałach sypkich metodą detekcji śladów fragmentów rozszczepienia” a następnie zostałem zatrudniony w Międzyresortowym Instytucie Fizyki i Techniki Jądrowej, w Zakładzie Geofizyki Jądrowej. W latach 1976-1985 uczestniczyłem w pracach naukowych tego zakładu oraz interesowałem się metodami analiz dostępnymi w Instytucie. Z tego okresu pochodzą m.in. dwie zespołowe publikacje i jeden patent na temat kompleksowej analizy węgla brunatnych (Chruściel i inni, 1983; Kreft i inni, 1984; Chruściel i inni, 1986), dwie publikacje na temat składu lekkich izotopów w wybranych złożach geologicznych (złoża siarki Wydrza i Machów) (Pawlikowski i Przybyłowicz, 1979; 1980), a także rozpocząłem prace dotyczące charakterystyki serpentynitów dolnośląskich przy użyciu instrumentalnej aktywacyjnej analizy neutronowej i metody detekcji śladów fragmentów rozszczepienia jąder uranu-235 (Przybyłowicz, 1986; Janczyszyn i Przybyłowicz, 1987). Również z tego okresu pochodzą pierwsze prace związane z zastosowaniami wiązki protonów w mineralogii i geologii. Początkowo używałem skolimowanej wiązki protonów, uzyskiwanej w cyklotronie C-48 w Instytucie Fizyki Jądrowej w Krakowie (obecnie Instytut Fizyki Jądrowej im. Henryka Niewodniczańskiego Polskiej Akademii Nauk). Badania te dotyczyły wybranego typu skał – serpentynitów z Dolnego Śląska, a zastosowanie metod PIXE i PIGE w geologii było w tamtym okresie pionierskie w skali polskiej i stanowiło część mojej rozprawy doktorskiej (Przybyłowicz i inni, 1986a; 1986b).

W roku 1985 obroniłem pracę doktorską na temat „Zastosowanie wybranych metod fizycznych w badaniach geochemicznych serpentynitów Dolnego Śląska” na Wydziale Geologiczno-Poszukiwawczym Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Promotorem pracy był prof. dr hab. Witold Żabiński.

5.2. Okres po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

W październiku 1985 r. zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta w Międzyresortowym Instytucie Fizyki i Techniki Jądrowej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. W okresie od stycznia 1986 r. do lipca 1987 r. przebywałem na stażu naukowym (Post Doctoral Fellow) na Wydziale Geologii w McMaster University, Hamilton, Kanada, jako stypendysta Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej. Zajmowałem się datowaniem izotopowym kalcytów metodą uranowo-torową w zespole badawczym profesora Henry Schwarcza (Przybyłowicz i inni, 1991). Ponadto zainteresowałem się akceleratorową spektrometrią masową, rozwijaną wtedy w laboratorium IsoTrace na Uniwersytecie w Toronto, uczestnicząc w prowadzonych eksperymentach związanych z datowaniem przy użyciu izotopu jodu-123.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

Po powrocie do kraju ponownie zająłem się zastosowaniami metody PIXE w geologii. Było oczywiste, że użycie zogniskowanej wiązki protonowej (mikro-PIXE) daje znacznie większe możliwości analityczne w porównaniu z wiązką skolimowaną, szczególnie w połączeniu z obserwacjami i analizami tych samych mikroobszarów przy użyciu mikroskopu elektronowego, mikrosondy elektronowej, a także metody SRIXE (Synchrotron Radiation Induced X-ray Emission). Ponieważ technika ta była niedostępna w kraju, nawiązałem kontakt i współpracę z grupą dr Kurta Traxela w Max Planck Institut für Kernphysik w Heidelbergu (wówczas Republika Federalna Niemiec) i tam wykonywałem pomiary. W moich pierwszych pracach z wykorzystaniem mikrowiązki protonowej zajmowałem się analizami minerałów węglanowych i czarnych łupków z dolnośląskiego zagłębia miedziowego, atrakcyjnych ze względu na występowanie metali szlachetnych o istotnym znaczeniu ekonomicznym. Opublikowane prace miały aspekt zarówno metodyczny jak i aplikacyjny (Przybyłowicz i inni, 1990a; 1990b). Ponadto z mojej inicjatywy zostały przeprowadzone testy metody SRIXE dla wybranych materiałów geologicznych przy użyciu mikrowiązki synchrotronowej w Daresbury (Daresbury Synchrotron Radiation Source) (Przybyłowicz i inni, 1992). Analizy materiałów geologicznych na tej linii pomiarowej były wtedy przeprowadzone po raz pierwszy, ponieważ jej głównym przeznaczeniem były zagadnienia biomedyczne. Pełne wykorzystanie uzyskanych wyników nie byłoby możliwe bez intensywnej współpracy z geologami z Wydziału Geologiczno-Poszukiwawczego Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie – prof. dr. hab. Henrykiem Kuchą, a także dr Adamem Piestrzyńskim i dr Piotrem Wyszomirskim (podaję nazwę wydziału oraz tytuły naukowe z okresu współpracy i publikacji uzyskanych wyników).

W roku 1992 zostałem zaproszony do udziału w końcowym etapie budowy skaningowej mikrowiązki protonowej w Schonland Research Centre for Nuclear Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, w Republice Południowej Afryki. Propozycję tę przyjąłem i potraktowałem jako ważne naukowe wyzwanie oraz możliwość zdobycia doświadczenia potencjalnie przydatnego w przyszłości w kraju, gdyż w tym czasie Polska nie dysponowała takim urządzeniem. Mikrowiązka w Johannesburgu została zbudowana na jednej z linii pomiarowych akceleratora 6 MV model EN typu tandem Van de Graaff, w sposób umożliwiający również wykorzystanie wiązek jonów wytwarzanych przez drugi akcelerator - 2.5 MV akcelerator typu pojedynczy Van de Graaff (Watterson i inni, 1993). To ciekawe rozwiązanie miało na celu z jednej strony wykorzystanie wysokich prądów jonowych generowanych przez akcelerator typu pojedynczy Van de Graaff, głównie w metodzie PIXE, a z drugiej wysokoenergetycznych protonów oraz cięższych jonów wytwarzanych przez tandem. Zasadnicze elementy urządzenia - soczewki kwadropolowe (system OM150), przesłony i system skanowania, były produkcji Oxford Microbeams Ltd., natomiast komora pomiarowa została skonstruowana we własnym zakresie, podobnie jak multi-parametryczny system akwizycji danych WIMPS (Watterson i inni, 1993). Mój zasadniczy udział polegał na testowaniu systemu oraz opracowaniu metodyki analiz ilościowych PIXE, a następnie zastosowania metodologii w wybranych projektach geologicznych, archeologicznych oraz inżynierii materiałowej. Ze względu na stosunkowo niskie natężenia prądu jonów osiągnięte przez tandem, uzyskane rozmiary wiązki protonów były rzędu 5 mikrometrów dla prądów około 500 pA, co było dalekie od potencjalnych możliwości stosowanego systemu soczewek, jednak wystarczające w realizacji pierwszych projektów naukowych. Prądy osiągnięte przy użyciu drugiego akceleratora były nawet o rząd wielkości wyższe, jednak ciągłe kłopoty techniczne występujące w trakcie jego użytkowania spowodowały, że użycie tego akceleratora nigdy nie wyszło poza fazę testów. Oprócz systemu akwizycji WIMPS testowałem a następnie używałem system OMDAQ (Grime i Dawson, 1995). W kalibracji metody PIXE zdecydowałem się na podejście analogiczne do zaproponowanego wcześniej przez grupę w Guelph, Kanada (Maxwell i inni, 1988), które jest kompromisem między użyciem syntetycznych standardów i wyłącznym wykorzystaniem tzw. parametrów fundamentalnych. Wartość tzw. parametru H charakteryzującego system pomiarowy wyznaczałem przy użyciu prostych

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

jednopierwiastkowych standardów (próbki grube oraz cienkie) i międzynarodowych referencyjnych materiałów odniesienia (grube próbki materiałów geologicznych w postaci szklistej uzyskane metodą stopienia standardów proszkowych, szkieł syntetycznych ze znanymi zawartościami pierwiastków, wybranych standardów stali). Po początkowym testowaniu kodu komputerowego WITSHX (Lipworth i inni, 1990) zdecydowałem się na stałe używanie kodu komputerowego GUPIX (Maxwell i inni, 1988). Najważniejszą moim zdaniem zaletą tego kodu jest używanie najlepszych dostępnych baz danych parametrów fizycznych oraz stała ich weryfikacja prowadzona przez jego autorów. Kod używa metodę usuwania tła opartą na matematycznej filtracji widma (*ang.* „top-hat” filtering), która jest w pełni automatyczna. Inną bardzo ważną cechą tego kodu jest zaawansowana analiza widm PIXE pochodzących od materiałów wielowarstwowych, często spotykanych w zagadnieniach z zakresu inżynierii materiałowej. Przeprowadziłem wiele testów metodyki analiz ilościowych PIXE przy użyciu wszystkich dostępnych standardów oraz międzynarodowych referencyjnych materiałów odniesienia. Ponadto zainicjowałem porównawcze pomiary materiałów wcześniej badanych w renomowanym już wtedy australijskim ośrodku „Australian CSIRO Heavy Ion Analytical Facility” w Sydney – granatów, ilmenitów i klinopiroksenów. Porównania wypadły pomyślnie, nie stwierdzono systematycznych różnic w wynikach uzyskiwanych w obu ośrodkach.

Do pierwszych zastosowań skaningowej mikrowiązki protonowej w Johannesburgu należą analizy zanieczyszczeń pierwiastkowych w materiałach archeologicznych pochodzących z Rooiberg, jedynej kopalni i ośrodka hutniczego cyny z epoki żelaza na terenie Afryki Południowej (Przybyłowicz i inni, 1993a). Wykryte zostały interesujące mikrostruktury żelaza i miedzi. Mikroanalizy karbonado – polikrystalicznego ciemnego diamentu wielkości ziarn grochu powstałego prawdopodobnie w wyniku wybuchu gwiazdy supernowej – wykazały obecność żelaza i manganu w matrycy zlepiającej kawałki diamentów (Przybyłowicz i inni, 1993a). Ponadto wykryto ślady aluminium, chromu, niklu i miedzi. Innym zastosowaniem metody mikro-PIXE w geologii była analiza wtrąceń mineralnych w diamentach. Geochemia głównych i śladowych pierwiastków w takich wtrąceniach dostarcza informacji o warunkach krystalizacji diamentów, pozwala więc wytypować potencjalne miejsca występowania diamentów. Użycie tak zwanego „geotermometru niklowego” pozwala na obliczenie temperatury równowagi diamentu na podstawie zawartości niklu w takim mikroskopijnym kawałku minerału zatopionym w diamencie. Pomiary zawartości niklu w pomierzonych przeze mnie wtrąceniach oliwinu zatopionych w diamencie i obliczona na tej podstawie temperatura wykazały bardzo dobrą zgodność (w granicach błędu pomiarowego) z wynikami innych metod (Sellschop i inni, 1993). Analiza skorodowanych obszarów w węglu wolframu domieszkowanym kobaltem (WC-Co) jest z kolei dobrym przykładem przewagi skaningowej mikrowiązki protonowej nad bardziej popularnym elektronowym mikroskopem skaningowym z przystawką EDX, w zastosowaniu do badań materiałowych. Mikroanaliza PIXE pozwoliła w tym przypadku zidentyfikować w skorodowanych rejonach obecność siarki, żelaza i molibdenu. Żaden z tych pierwiastków nie został zidentyfikowany przy użyciu mikroskopu elektronowego, gdyż ich koncentracje były za niskie (Przybyłowicz i inni, 1993b). Ponadto rozpocząłem prace nad omówionym wcześniej zagadnieniem transportu niklu w tkankach rośliny *Senecio coronatus*, hiperakumulatora tego pierwiastka (Mesjasz-Przybyłowicz i inni, 1994). Wyniki uzyskane przez mnie w ciągu dwuletniego pobytu w Schonland Research Centre for Nuclear Sciences zostały opublikowane w łącznie sześciu publikacjach indeksowanych w bazie *Web of Science*, dwóch recenzowanych materiałach konferencyjnych oraz przedstawione na 22 wystąpieniach konferencyjnych.

Od stycznia 1994 do chwili obecnej jestem zatrudniony jako Senior Research Scientist w iThemba Laboratory for Accelerator Based Sciences, Somerset West, w Republice Południowej Afryki (poprzednia nazwa instytutu: National Accelerator Centre), gdzie zajmuję się metodologią i

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

zastosowaniami tutejszej mikrowiązki jądrowej. Na przestrzeni lat uczestniczyłem w wielu współpracach naukowych z lokalnymi i zagranicznymi uniwersytetami lub ośrodkami badawczymi; znaczna ich część została nawiązana z mojej inicjatywy. Wyniki kilku wybranych współprac z zakresu biologii i geologii zostały przedstawione w cyklu prac przedłożonych jako podstawa postępowania habilitacyjnego. Rezultaty wielu innych współprac zostały omówione w pozostałych publikacjach, których pełna lista została podana w odrębnym załączniku. Wśród nich należy wyróżnić 6 międzynarodowych projektów badawczych których byłem inicjatorem a następnie koordynatorem ze strony Afryki Południowej. Dotyczyły one głównie metodyki mikroanaliz materiałów biologicznych przy użyciu mikrowiązki jądrowej. Były to współprace z Physikalisches Institut der Universität Heidelberg i z Max-Planck-Institut für Kernphysik (MPI) w Heidelbergu (Niemcy) w okresie 1997-2000; z Centre d'Etudes Nucléaires de Bordeaux-Gradignan (CENBG), Bordeaux (Francja) w okresie 1998-2000; dwukrotnie z Department of Nuclear Physics, Lund Institute of Technology, Lund, Szwecja w latach 2000-2001 oraz 2009-2013. Dwukrotnie uczestniczyłem w międzynarodowych projektach współpracy naukowej inicjowanych przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej, jako koordynator i główny wykonawca ze strony Afryki Południowej, w latach 2005-2008 oraz 2009-2012. Oprócz tego byłem ośmiokrotnie członkiem zespołu uczestniczącego w oficjalnych współpracach międzynarodowych. Do najbardziej owocnych współprac należą dwie z polskimi instytucjami naukowymi, z zespołem prof. Katarzyny Turnau z Wydziału Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego (trzykrotnie, w latach 2000-2006) oraz zespołem prof. Pawła Miguli z Katedry Fizjologii Zwierząt i Ekotoksykologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach (trzykrotnie, w latach 2001-2006). Ponadto uczestniczyłem we współpracy z Laboratoire Sols et Environnement INPL-ENSAIA/INRA w Nancy (Francja) w latach 2009-2011. Aktualnie jestem członkiem zespołu uczestniczącego w międzynarodowym projekcie współpracy naukowej koordynowanym przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej na temat zastosowań promieniowania synchrotronowego w badaniach środowiskowych i materiałowych.

Oprócz niewątpliwego sukcesu naszego zespołu badawczego oraz osiągniętej renomy w zakresie zastosowań skaningowej mikrowiązki protonowej w biologii i badaniach środowiska, na uwagę zasługują także projekty badawcze z zakresu geologii, gdzie metoda mikro-PIXE i sporadycznie mikro-BS jest przeważnie używana jako uzupełnienie informacji otrzymywanych przy użyciu innych rodzajów mikroskopii (głównie optycznej i skaningowej mikroskopii elektronowej) lub mikroanalizy (przy użyciu mikroskopu elektronowego i spektrometrii promieniowania x w wariancie WDS lub EDS, metody SIMS lub LA-ICP-MS), oraz z zakresu inżynierii materiałowej.

Owoce pracy podczas mojego zatrudnienia w iThemba LABS jest 100 publikacji oraz 5 recenzowanych materiałów konferencyjnych indeksowanych w bazie *Web of Science*, 2 recenzowane ale nie indeksowane publikacje, 72 recenzowanych ale nie indeksowanych materiałów konferencyjnych, 19 nierecenzowanych materiałów konferencyjnych oraz 301 wystąpień konferencyjnych, w tym 17 zaproszonych referatów i wykładów na międzynarodowych konferencjach. Oficjalnie prowadziłem lub współprowadziłem 8 zakończonych prac magisterskich i 3 zakończone prace doktorskie. Najczęściej jednak zastosowania mikrowiązki jądrowej stanowiły część a nie całość prac wykonywanych przez studentów i w takich przypadkach nie byłem oficjalnym promotorem, lecz uczestniczyłem w projektach i szkoliłem studentów w zakresie teorii i praktyki analiz przy użyciu wiązek jonów (głównie metody PIXE i RBS-BS) oraz kontrolowałem poprawność interpretacji uzyskanych wyników i ich przedstawiania w pracach oraz publikacjach. Dotyczyło to 31 doktorantów, 26 magistrantów oraz 3 studentów robiących prace licencjackie.

Oprócz rozwijania metodyki związanej z mikrowiązką jądrową i zastosowań, jestem zainteresowany metodami uzupełniającymi, w szczególności umożliwiającymi mikroobrazowanie form chemicznych

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

pierwiastków (XANES/EXAFS) oraz dającymi informację o związkach organicznych. Począwszy od roku 2009 biorę udział w eksperymentach z użyciem promieniowania synchrotronowego. Dotychczas pomiary EXAFS mające na celu badanie form chemicznych niklu w roślinach hiperakumulujących ten pierwiastek były wykonywane z użyciem synchrotronu „SOLEIL” we Francji (linia pomiarowa SAMBA) a ostatnio także w Europejskim Laboratorium Promieniowania Synchrotronowego (ESRF) w Grenoble. Pomiary mające na celu uzyskanie informacji o związkach organicznych w tych roślinach były wykonywane metodą mikrospektroskopii w podczerwieni na linii pomiarowej SMIS synchrotronu „SOLEIL”. W obu przypadkach uzyskane wstępne wyniki były już prezentowane na konferencjach, a publikacje są w przygotowaniu.

Podsumowując, wyniki moich prac naukowo-badawczych zostały opublikowane w 115-tu publikacjach indeksowanych w *Web of Science*, 10-ciu publikacjach w czasopismach spoza listy Journal Citation Reports (JCR), 77 recenzowanych materiałach konferencyjnych oraz były prezentowane w postaci 354 wystąpień konferencyjnych. Ponadto dwukrotnie byłem współautorem zaproszonych przeglądowych rozdziałów na temat metody PIXE. Moje prace były dotychczas cytowane 1242 razy w 932 publikacjach (dane bez autocytacji). Ich sumaryczny *impact factor* wynosi 155.6. Indeks Hirscha (h-index) wynosi 22.

Siedemnaście razy wygłaszałem zaproszone referaty na międzynarodowych konferencjach naukowych. Sześciokrotnie pełniłem funkcję koordynatora międzynarodowych współprac naukowo-badawczych, oraz ośmiokrotnie wchodziłem w skład zespołów badawczych realizujących międzynarodowe współpracy w ramach umów międzyrządowych. Byłem recenzentem prac wysyłanych do 16-tu czasopism o zasięgu międzynarodowym. Jestem członkiem Komitetu Redakcyjnego (Editorial Board) czasopisma „X-Ray Spectrometry” (Wiley Interscience) oraz członkiem Międzynarodowego Komitetu Doradczego „International Advisory Committee for the PIXE (Particle Induced X-ray Emission) Conferences”. Ponadto dwukrotnie byłem redaktorem specjalnych zeszytów czasopism naukowych – wydania specjalnego „Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B”: zeszyt B 158 (1999) – materiały konferencji „6th International Conference on Nuclear Microprobe Technology and Applications (ICNMTA)”, oraz specjalnego wydania „X-Ray Spectrometry” zeszyt 33(3): May-June 2004: X-ray techniques in South Africa. Jestem głównym organizatorem konferencji „International Conference on Particle Induced X-ray Emission” planowanej w roku 2015 w Stellenbosch, Afryka Południowa (wspólnie z Dr Carlosem Pinedą-Vargas) oraz redaktorem planowanego specjalnego zeszytu czasopisma „Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B”, poświęconemu tej konferencji.

Szczegółowy wykaz moich osiągnięć naukowo-badawczych, dydaktycznych i działalności organizacyjnej został przedstawiony w osobnym załączniku.

Literatura:

1. Agangi, A. Hofmann, W. Przybyłowicz. Trace element zoning of sulfides and quartz at Sheba and Fairview gold mines: Clues to Mesoarchean mineralisation in the Barberton Greenstone Belt, South Africa, *Ore Geology Reviews* 56 (2014) 94-114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oregeorev.2013.08.016>.
2. Amirikas R., Jamieson D.N., Dooley S.P. 1993. Measurement of (p, p) elastic cross sections for C, O and Si in the energy range 1.0–3.5 MeV. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 77: 110-116.
3. Belcher R.W., Rozendaal A. and Przybyłowicz W.J. 2004. Trace element zoning in pyrite determined by PIXE elemental mapping: evidence for varying ore-fluid composition and electrochemical precipitation of gold at the Spitskop deposit, Saldania Belt, South Africa. *X-Ray Spectrometry* 33 (3): 174-180.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

4. Budka D., Mesjasz-Przybyłowicz J., Tylko G., Przybyłowicz W.J. 2005. Freeze-substitution methods for Ni localization and quantitative analysis in *Berkheya coddii* leaves by means of PIXE. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 231: 338-344.
5. Chruściel E., Dziunikowski B., Gyurcsak J., Kalita S., Kreft A., Lenda A., Przybyłowicz W.J., Woźniak J. 1983. Determination of the Ash Yield and the Mineral Matter Content of Brown Coals by Density Measurements. Fuel, vol. 62, March (389-390).
6. Chruściel E., Jagusztyn W., Kreft A., Lenda A., Przybyłowicz W.J., and Woźniak J. 1986. Sposób określania popielności w węglach brunatnych w stanie roboczym. Patent PRL nr P-234 565. Opis patentowy nr 131178.
7. Doolittle L.R. 1986. A semiautomatic algorithm for Rutherford Backscattering Analysis. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B15: 227-231.
8. Echlin P. 1992. Low-temperature Microscopy and Analysis, Plenum Press, New York.
9. Foya S.N., Reimold W.U., Przybyłowicz W.J., Gibson R.L. 1999. PIXE microanalysis of gold-pyrite associations from the Kimberley reefs, Witwatersrand Basin, South Africa. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 158: 588-592.
10. Frei R. and Kamber B. S. 1995. Single mineral Pb-Pb dating. Earth and Planetary Science Letters, 129, 261-268.
11. Frei R., Villa I.M., Nägler Th.F., Kramers J.D., Przybyłowicz W.J., Prozesky V.M., Hofmann B.A. and Kamber B.S. 1997a. Single mineral dating by the Pb-Pb step-leaching method: Assessing the mechanisms. Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 61, No.2: 393-414.
12. Frei R., Prozesky V.M. and Przybyłowicz W.J. 1997b. Studies of progressive leaching in single mineral Pb-Pb dating. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 130: 676-681.
13. S. Fuchs, W.J. Przybyłowicz, A.E. Williams-Jones. Elemental imaging of organic matter and associated metals in ore deposits using micro-PIXE and micro-EBS. Nucl. Instr. Meth. B 318 (2014) 157-162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2013.06.055>.
14. Grime G.W. and Dawson M. 1995. Recent developments in data acquisition and processing on the Oxford scanning proton microprobe. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 104: 107-113.
15. Gurbich A.F. 1997. Evaluation of non-Rutherford proton elastic scattering cross section for oxygen. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 129: 311-316.
16. Gurbich A.F. 1998. Evaluation of non-Rutherford proton elastic scattering cross section for carbon. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 136-138: 60-65.
17. Gurbich A.F. 2007. Evaluation of non-Rutherford cross sections for IBA: Theory and results. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 261: 401-404.
18. Gurbich A.F. 2008. Evaluation of non-Rutherford proton elastic scattering cross section for nitrogen. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 266: 1193-1197.
19. Horowitz P., Aronson M., Grodzins L., Ladd W., Ryan J., Merriam D., Lechene C. 1976. Elemental analysis of biological specimens in air with a proton microprobe. Science 194: 1162-1165.
20. Indiana University Cyclotron Facility Scientific and Technical Report, No. 165, Indiana University Cyclotron Facility, Bloomington, IN, USA (1985).
21. Janczyszyn J., Przybyłowicz W.J. 1987. Instrumental Neutron Activation Analysis of Serpentine Rocks from Lower Silesia. Mineralogia Polonica, vol. 18 no 1: 15-26.
22. Kreft A., Chruściel E., Dziunikowski B., Gyurcsak J., Kalita S., Lenda A., Przybyłowicz W.J., Woźniak J. 1984. Integrated Instrumental Analysis of Soft Brown Coals. Fuel, vol. 63: 1281-1284.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

23. Lipworth A.D., Annegarn H.J., Bauman S., Molokomme T. and Walker A.J. 1990. WITS-HEX: A renovated code for analysis of PIXE X-ray spectra. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B49*: 173-178.
24. Lombi E., Scheckel K.G., Kempson I.M. 2011. *In situ* analysis of metal(loid)s in plants: State of the art and artefacts. *Environmental and Experimental Botany*, 72: 3-17.
25. Maxwell J.A., Campbell J.L. and Teesdale W.J. 1988. The Guelph PIXE software package. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 43: 218-230.
26. Mesjasz-Przybyłowicz J., Balkwill K., Przybyłowicz W.J. and Annegarn H.J. 1994. Proton microprobe and X-ray fluorescence investigations of nickel distribution in serpentine flora from South Africa. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 89: 208-212.
27. Mesjasz-Przybyłowicz J., Przybyłowicz W.J., Prozesky V.M. and Pineda C.A. 1997. Quantitative micro-PIXE comparison of elemental distribution in Ni-hyperaccumulating and non-accumulating genotypes of *Senecio coronatus*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 130: 368-373.
28. Mesjasz-Przybyłowicz J. and Przybyłowicz W.J. 2001. Phytophagous insects associated with the nickel hyperaccumulating plant – *Berkheya coddii* (Asteraceae) in Mpumalanga, South Africa. *South African Journal of Science* Vol. 97, No 11/12: 596-598.
29. Mesjasz-Przybyłowicz J. and Przybyłowicz W.J. 2002. Micro-PIXE in plant sciences: present status and perspectives. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 189: 470-481.
30. Mesjasz-Przybyłowicz J., Barnabas A., Przybyłowicz W.J. 2007. Comparison of cytology and distribution of nickel in roots of Ni-hyperaccumulating and non-accumulating genotypes of *Senecio coronatus*. *Plant and Soil* 293: 61-78. DOI 10.1007/s11104-007-9237-1.
31. Mesjasz-Przybyłowicz J. and Przybyłowicz W.J. 2011. PIXE and metal hyperaccumulation: from soil to plants and insects. Review. *X-ray Spectrometry* 40: 181-185. (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/xrs.1304.
32. Meyer F.M., Möller P., de Bruin D., Przybyłowicz W.J. and Prozesky V.M. 1994. The gold-pyrite association in Witwatersrand reefs: evidence for electrochemical precipitation of gold. *Exploration and Mining Geology*, Vol. 3, No. 3: 207-217.
33. Montel, J.-M., Veschambre, M., Nicollet, C., 1994. Datation de la monazite à la microsonde électronique. *Compte Rendue de l'Academie Science de Paris* 318, 1489-1495.
34. Morrison, R.S., Brooks, R.R., Reeves, R.D., Malaisse, F., Horowitz, P., Aronson, M., Merriam, G.R. 1981. The diverse form of heavy metals in tissue extracts of some metallophytes from Shaba Province, Zaire. *Phytochemistry* 20: 455-458.
35. Möller P., 1993. Why is gold accumulated in pyrite- and arsenopyrite-rich mineralizations? An electrochemical approach. In *Current Research in Geology Applied to Ore Deposits*. Edited by P. Fenoll Hoch-Ali, J. Torres-Ruiz and F. Gervilla, University of Granada, Granada, Spain, p. 503-506.
36. Möller P. and Kersten G. 1994. Electrochemical accumulation of gold on pyrite and arsenopyrite surfaces. *Mineralium Deposita* 29: 404-413.
37. Orłowska E., Mesjasz-Przybyłowicz J., Przybyłowicz W., and Turnau K. 2008. Nuclear microprobe studies of elemental distribution in mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of Ni-hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *X-Ray Spectrometry* 37: 129-132. (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/xrs.1034.
38. Orłowska E., Przybyłowicz W., Orłowski D., Mongwaketsi N.P., Turnau K., Mesjasz-Przybyłowicz J. 2013. Mycorrhizal colonization affects the elemental distribution in roots of Ni-hyperaccumulator *Berkheya coddii* Roessler. *Environmental Pollution*. 175: 100-109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.028>
39. Pawlikowski M., Przybyłowicz W.J. 1979. The mineral and isotopic composition of Miocene limestone from Wyrza Sulphur Deposit. *Mineralogia Polonica*, vol. 10, No 1: pp. 99-108.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

40. Pawlikowski M., Przybyłowicz W.J. 1980. Isotope mapping of the gypsum and sulphur-bearing limestone contact zone in the Machow Sulphur Deposit. *Mineralogia Polonica*, vol. 11, No 1: pp. 111-120.
41. Pineda C.A. and Peisach M. 1988. Matrix corrections for the determination of trace elements in thick biological samples by PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 35: 344-348.
42. Prozesky V.M., Przybyłowicz W.J., van Achterbergh E., Churms C.L., Pineda C.A., Springhorn K.A., Pilcher J.V., Ryan C.G., Kritzing J., Schmitt H. and Swart T. 1995. The NAC nuclear microprobe facility. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104: 36-42.
43. Przybyłowicz W.J. 1975. Oznaczanie uranu w lessach metodą detekcji śladów fragmentów rozszczepienia. *Zeszyty Naukowe Akademii Górniczo-Hutniczej, Matematyka-Fizyka-Chemia* Nr 483, z. 22, Kraków 1975, 85-92.
44. Przybyłowicz W.J. 1986. Uranium determinations in serpentinites from Lower Silesia (Poland) using fission track method. *Mineralogia Polonica*, vol. 17 No 2: 37-42.
45. Przybyłowicz W.J., Szymczyk S., Kajfosz J. 1986a. Fluorine analysis in serpentinite rocks by proton induced gamma-ray emission. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 15: 573-575.
46. Przybyłowicz W., Kajfosz J., Szymczyk S. 1986b. PIXE multielement analysis of serpentinite rocks from Lower Silesia (Poland). *Mineralogia Polonica*, vol. 17 No 2: 23-36.
47. Przybyłowicz W.J., Piestrzynski A., Traxel K. and Bajt S. 1990a. Micro-PIXE analysis of carbonate minerals from the Lower Zechstein Kupferschiefer formation (Poland). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. B49: 509-513.
48. Przybyłowicz W.J., Kucha H., Piestrzynski A., Traxel K. and Bajt S. 1990b. Micro-PIXE analysis of trace elements in black shales from the Lower Zechstein copper deposits, Poland. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. B50: 231-237.
49. Przybyłowicz W.J., Schwarcz H.P. and Latham A.G. Dirty Calcites 2. 1991. Uranium-series dating of artificial calcite-detritus mixtures. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section)*, 86: 161-178.
50. Przybyłowicz W.J., Van Langevelde F., Kucha H., Lankosz M. and Wyszomirski P. 1992. Trace element determinations in selected geological samples using a 15 keV synchrotron microprobe at the SRS, Daresbury (UK). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 68: 115-121.
51. Przybyłowicz W.J., Watterson J.I.W., Annegarn H.J., Connel S.H., Fearick R.W., Andeweg A.H. and Sellschop J.P.F. 1993a. The new Schonland PIXE microprobe and applications to geological and archaeological Samples. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 75: 539-543.
52. Przybyłowicz W.J., Luyckx S.B. and Watterson J.I.W. 1993b. Proton microprobe investigation of the causes of pitting in cemented tungsten carbide. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 79: 428-431.
53. Przybyłowicz W.J., Pineda C.A., Prozesky V.M. and Mesjasz-Przybyłowicz J. 1995a. Investigation of Ni hyperaccumulation by true elemental imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104: 176-181.
54. Przybyłowicz W.J., Prozesky V.M. and Meyer F.M. 1995b. True elemental imaging of pyrites from Witwatersrand reefs. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104: 450-455.
55. Przybyłowicz W.J., Mesjasz-Przybyłowicz J., Pineda C.A., Churms C.L., Springhorn K.A. and Prozesky V.M. 1999a. Biological applications of the NAC nuclear microprobe. *X-ray Spectrometry* 28: 237-243.
56. Przybyłowicz W.J., Pineda C.A., Barnabas A.D., Mesjasz-Przybyłowicz J. 1999b. Micro-PIXE mapping of sodium and chlorine in selected seagrasses. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 150: 282-290.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

57. Przybyłowicz W.J., Mesjasz-Przybyłowicz J., Pineda C.A., Churms C.L., Ryan C.G., Prozesky V.M., Frei R., Slabbert J.P., Padayachee J. and Reimold W.U. 2001. Elemental mapping using proton-induced x-rays. *X-ray Spectrometry* 30: 156-163.
58. Przybyłowicz W.J., Mesjasz-Przybyłowicz J., Migula P., Głowacka E., Nakonieczny M., Augustyniak M. 2003. Functional analysis of metals distribution in organs of the beetle *Chrysolina pardalina* exposed to excess of nickel by Micro-PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 210: 343-348.
59. Przybyłowicz W.J., Mesjasz-Przybyłowicz J., Migula P., Nakonieczny M., Augustyniak M., Tarnawska M., Turnau K., Ryszka P., Orłowska E., Zubek Sz., Głowacka E. 2005. Micro-PIXE in ecophysiology. *X-ray Spectrometry* 34: 285-289.
60. Reimold W.U., Przybyłowicz W. and Koeberl C. 1999. Micro-PIXE analysis of varied sulfide populations from the Ventersdorp Contact Reef, Witwatersrand Basin, South Africa. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 158: 593-598.
61. Reimold W.U., Przybyłowicz W.J. and Gibson R.L. 2004. Quantitative major and trace elemental mapping by PIXE of concretionary pyrite from the Witwatersrand Basin, South Africa. *X-Ray Spectrometry* 33 (3): 189-203.
62. Ryan C.G. 2000. Quantitative trace element imaging using PIXE and the nuclear microprobe. *International Journal of Imaging Systems and Technology* 11, 219-230.
63. Ryan C. G. and Jamieson D.N. 1993. Dynamic analysis: on-line quantitative PIXE microanalysis and its use in overlap-resolved elemental mapping. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 77, 203-214.
64. Ryan C.G., Jamieson D.N., Churms C. L. and Pilcher J.V. 1995. A new method for on-line true-elemental imaging using PIXE and the proton microprobe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 104, 157-165.
65. Ryan C.G., van Achterbergh E., Yeats C.J., Driberg S.L., Mark G., McInnes B.M., Win T.T., Cripps G., Suter G.F. 2002. Quantitative, high sensitivity, high resolution, nuclear microprobe imaging of fluids, melts and minerals. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 188: 18-27.
66. Sakai T., Oikawa M., Sato T., Nagamine T., Moon H.D., Nakazato K., Suzuki K. 2005. New in-air micro-PIXE system for biological applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 231: 112-116.
67. Sellschop J.P.F., Connell S.H., Przybyłowicz W.J., Meyer H.O.A., Hart R.J. and Milledge J. 1993. Comparison of Proton and Electron Microbeam Studies of Mineral Inclusions in Diamond. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 77: 144-150.
68. Stevens G., Przybyłowicz W.J. and Martin L.E. 2004. Micro-PIXE studies of low-level gold solubility in natural magmas: Experiments on two felsic magmas. *X-Ray Spectrometry* 33 (3): 216-221.
69. Turnau K., Mesjasz-Przybyłowicz J. 2003. Arbuscular mycorrhiza of *Berkheya coddii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza* 13: 185-190.
70. Tylko G., Mesjasz-Przybyłowicz J. and Przybyłowicz W.J. 2007a. X-ray microanalysis of biological material in the frozen-hydrated state by PIXE. *Microscopy Research and Technique* 70: 55-68. DOI 10.1002/jemt.20387.
71. Tylko G., Mesjasz-Przybyłowicz J. and Przybyłowicz W.J. 2007b. In-vacuum micro-PIXE analysis of biological specimens in frozen-hydrated state. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 260: 141-148, doi:10.1016/j.nimb.2007.02.017.
72. Tylko G., Dubchak S., Banach Z., Turnau K. 2010. Monte Carlo simulation for an assessment of standard validity and quantitative x-ray microanalysis in plants. *IOP Conference Proceedings* 7: 012028.
73. van Achterbergh E., Ryan C.G., Gurney J.J., Le Roex A.P. 1995. PIXE profiling, imaging and analysis using the NAC proton microprobe: Unraveling mantle eclogites. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B* 104; 415-426.

Autoreferat

Dr inż. Wojciech Józef Przybyłowicz

74. Vavpetič P., Pelicon P., Vogel-Mikuš K., Grlj N., Pongrac P., Jeromel L., Ogrinc N., Regvar M. 2013. Micro-PIXE on thin plant tissue samples in frozen hydrated state: A novel addition to JSI nuclear microprobe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 306: 140-143.
75. Vogel-Mikuš K., Regvar M., Mesjasz-Przybyłowicz J., Przybyłowicz W.J., Simčič J., Pelicon P., Budnar M. 2008. Spatial distribution of Cd in leaves of metal hyperaccumulating *Thlaspi praecox* using micro-PIXE. *New Phytologist* 179: 712–721; doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02519.x
76. Wang Y.D., Mesjasz-Przybyłowicz J., Tylko G., Barnabas A.D., Przybyłowicz W.J. 2013. Micro-PIXE analyses of frozen-hydrated semi-thick biological sections. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 306: 134-139. DOI information: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2012.12.051>.
77. Watt F. 1997. The nuclear microprobe: a unique instrument. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 130: 1-8.
78. Watt F. and Grime G.W., eds, *Principles and Applications of High Energy Ion Microbeams*, Hilger, Bristol, 1987.
79. Watterson J.I.W., Fearick R.W., Connel S.H., Annegarn H.J., Przybyłowicz W.J., Andeweg A.H., McQueen I. and Sellschop J.P.F. 1993. Innovative features of the Schonland proton microprobe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 77: 79-84.
80. Xenophontos L., Stevens G. and Przybyłowicz W.J. 1999. Micro-PIXE elemental imaging of pyrites from the Bulawayan-Bubi Greenstone Belt, Zimbabwe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 150: 496-501.
81. Xenophontos L., Stevens G. and Przybyłowicz W.J. 2001. The pyrite-gold association in dolomites and carbonated metavolcanics from the Turk Mine, Zimbabwe: the link between late shearing and gold introduction. *South African Journal of Geology*, Vol. 104: 217-230.

Wojciech Przybyłowicz