



Olsztyn 2017-09-10

Prof. Dr hab. Hanna Radecka

Pracownia Bioelektroanalizy

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności

Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

Recenzja rozprawy doktorskiej Mgr Edyty Matysiak-Bryndy

**pt: "Elektrogravimetryczna detekcja wybranych metaloprotein w
roztworach wodnych i płynach ustrojowych"**

wykonanej w Pracowni Teorii i Zastosowań Elektrod Zakładu Chemii
Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
pod kierunkiem Dr hab. Anny M. Nowickiej

Głównym celem rozprawy doktorskiej Pani Mgr Edyty Matysiak-Bryndy pt:

"Elektrogravimetryczna detekcja wybranych metaloprotein w roztworach
wodnych i płynach ustrojowych"

była konstrukcja elektrochemicznych czujników do detekcji paramagnetycznych metaloprotein obecnych we krwi, takich jak: hemoglobina, ceruloplazmina, transferyna i ferrytyna.

Autorka skoncentrowała swoje badania na opracowaniu modyfikacji powierzchni elektrod złotych w celu uzyskania odpowiedniego sygnału elektrochemicznego wybranych metaloprotein z zachowaniem ich właściwości elektrokatalitycznych.

Do realizacji głównego celu rozprawy Autorka zastosowała nano-kapsuły węglowe zawierające żelazo. Wykorzystując ich właściwości ferromagnetyczne, Autorka podjęła się zbadania wpływu pola magnetycznego na intensywność uzyskiwanych sygnałów prądowych badanych metaloprotein.

Rozprawa została podzielona na: Część literaturową i Część eksperymentalną. Tu zabrakło wyraźnego zaznaczenia części dotyczącej omówienia wyników i dyskusji.

W „Części literaturowej” Autorka szczegółowo opisuje zjawiska zachodzące w płynach ustrojowych, szczególnie podkreślając rolę białek, wyróżniając metaloproteiny będące przedmiotem rozprawy. Rozdział 4.3. poświęcony metodom oznaczania zawartości białek w płynach ustrojowych bardzo dobrze ilustruje ich niedoskonałości, co stanowi dobre uzasadnienie celu zrealizowanej rozprawy doktorskiej.

Podjmując się opracowania elektrochemicznych czujników do detekcji paramagnetycznych metaloprotein, Autorka w Części literaturowej szczególną uwagę poświęca elektroaktywności metaloprotein zdeterminowanej transportem elektronów pomiędzy centrum redoks aktywnym a powierzchnią elektrody.

Autorka szczegółowo przedstawia dotychczas stosowane sposoby unieruchamiania białek na powierzchni elektrod, podkreślając ich wady i zalety. W ten sposób uzasadnia celowość podjętych badań.

W roli mediatora, Doktorantka zastosowała nano-kapsuły węglowe zawierające żelazo. Zatem, w części literaturowej omawia szczegółowo nanomateriały stosowane do modyfikacji elektrod, podkreślając przydatność magnetycznych nanokapsuł węglowych, umożliwiających zastosowanie pola magnetycznego w transporcie związków elektroaktywnych do powierzchni elektrody.

Precyzyjnie przedstawione podstawy teoretyczne stosowanych licznych metod badawczych (woltamperometria cykliczna, liniowa i różnicowa, elektrochemiczna mikrowaga kwarcowa, elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna, skaningowy mikroskop elektrochemiczny, spektroskopia Uv-vis) świadczą o doświadczeniu i dojrzałości naukowej Doktorantki.

Literatura, licząca aż 471 pozycji została bardzo dobrze dobrana w celu uzasadniania wyciąganych przez Doktorantkę wniosków.

Uzyskane wyniki Autorka przedstawia i analizuje w rozdziałach 10, 11, 12 i 13. Na szczególną uwagę zasługuje staranny i logiczny dobór eksperymentów kontrolnych. Ich przeprowadzenie miało na celu uzyskanie wiarygodności wyciąganych wniosków.

Wyniki zostały zaprezentowane w postaci 105 Rysunków oraz 14 Tabel.

Niektóre podpisy pod Rysunkami są niepełne. Brak w nich określenia: stosowanej techniki i warunków pomiarowych takich jak wartość potencjału przy którym odczytywane były wartości natężenia prądu.

Pani Mgr Edyta Matysiak-Brynda wykonała staranną charakterystykę zmodyfikowanych powierzchni stosując techniki woltamperometryczne, elektrochemiczną mikrowagę kwarcową, elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną, skaningowy mikroskop elektrochemiczny, spektroskopię Uv-vis Do pomiarów EIS Autorka zastosowała roztwór zawierający 5 mM

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Chciałbym poprosić Doktorantkę do przedyskutowania wpływu obecności centrów redoks aktywnych obecnych na powierzchni

zmodyfikowanej elektrody złotej (Fe w nanokapsułach oraz Fe i Cu obecne w cząsteczkach metaloprotein) na pomiar elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS).

Na Rysunku 60 i w Tabeli 10 Autorka zaobserwowała brak wpływu nano kapsuł zawierających Fe na opór transferu elektronów. Dlaczego?

Autorka zaobserwowała oscylację drgań kryształu kwarcu, których amplituda była zależna od stężenia wiązanej do powierzchni immunoczuJNIka transfery. To ciekawe zjawisko zostało wykorzystane do oznaczania stężenia tego białka (Rysunek 73). Chciałbym poprosić Doktorantkę o przedstawienie propozycji mechanizmu generowania takiego sygnału. Czy można je obserwować tylko w obecności transferryiny ?

Autorka zaobserwowała przesunięcie o ok. 200 mV potencjału sygnału prądowego generowanego przez hemoglobinę obecną w osoczu w porównaniu z sygnałem uzyskanym w buforze (Rysunek 48). Pomimo tego, do określenia stężenia hemoglobiny w badanych osoczach, zastosowano krzywą kalibracyjną uzyskaną w obecności buforu. Czy kalibracja w obecności osocza nie byłaby lepszym rozwiązaniem ?

Synteza magnetycznych nanokapsuł węglowych zawierających żelazo oraz zdjęcia SEM wykonane zostały przez inne osoby. Świadczy to o umiejętności nawiązania przez Doktorantkę dobrej współpracy.

Niewątpliwym sukcesem Pani Mgr Edyty Matysiak-Bryndy jest zastosowanie opracowanych czujników do określenia stężeń wybranych metaloprotein (hemoglobiny, ceruloplazminy, transferryiny oraz ferrytryny) w osoczu krwi.

Wartości stężeń powyższych białek uzyskanych przy pomocy opracowanych czujników Autorka z powodzeniem porównuje z wynikami otrzymanymi standardowymi metodami klinicznymi.

Opracowując szereg czujników w oparciu o nanocząstki magnetyczne Autorka wykazała korzystny wpływ pola magnetycznego na generowanie elektrochemicznych sygnałów przez paramagnetyczne metaloproteiny.

Doktorantka przedstawia uzyskane wyniki w postaci 105 Rysunków oraz 14 Tabel.

Niektóre podpisy pod Rysunkami są niepełne. Brak w nich określenia stosowanej techniki i warunków pomiarowych takich jak wartość potencjału przy którym odczytywane były wartości natężenia prądu.

W podpisie pod Rysunkiem 46 wkraść się błąd w oznaczeniach krzywych EIS.

Na Rysunku 104 przedstawiono zależność natężenia prądu odczytywanego przy potencjale 0.45 V (sądzę, że tu się wkraść błąd) w zależności od stężenia ferrytyny. W jaki sposób wybrano tę wartości potencjału ?

Ocena dorobku

Pani Mgr Edyta Matysiak-Brynda wybrała 5 publikacji oraz dwie monografie będące podstawą rozprawy doktorskiej. W czterech publikacjach jest pierwszym Autorem. Zostały one opublikowane w renomowanych czasopismach takich jak Biosensors & Bioelectronics, Sensors & Actuators, B: Chemical, Langmuir. Są to czasopisma wiodące w obszarze dotyczącym rozwoju nowych urządzeń i metod analitycznych.

Pani Mgr Edyta Matysiak-Brynda jest również pierwszą Autorką dwóch artykułów nie włączonych do rozprawy opublikowanych w czasopismach o bardzo wysokiej randze: Sensors & Actuators, B: Chemical oraz Electrochimica Acta. Swoje zainteresowanie czynnikami wpływającymi na uszkodzenie DNA wyraziła w rozdziale ACS Symposium Series , 2015.

Za swoje osiągnięcia naukowe Pani Mgr Edyta Matysiak-Brynda została nagrodzona stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w roku akademickim 2016/2017.

Podsumowanie

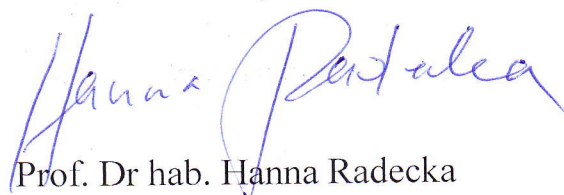
Pani Mgr Edyta Matysiak-Brynda podjęła się zbadania skomplikowanych procesów zachodzących pomiędzy powierzchnią elektrody a centrami redoks wchodzących w skład metaloprotein.

Przydatność pola magnetycznego w celu uzyskiwania sygnałów elektrochemicznych odpowiednich do określania stężeń metaloprotein w obecności osocza została w pełni przez nią udowodniona.

W podsumowaniu, stwierdzam, rozprawa doktorska pt: **”Elektrogravimetryczna detekcja wybranych metaloprotein w roztworach wodnych i płynach ustrojowych”** autorstwa Pani Mgr Edyty Matysiak-Bryndy spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki stawiane rozprawom doktorskim.

Zatem, zwracam się do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego z wnioskiem o dopuszczenie Pani Mgr Edyty Matysiak-Bryndy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



Prof. Dr hab. Hanna Radecka