

Válasz Nagy Géza egyetemi tanár az MTA doktora bírálatára

Hálásan köszönöm Nagy Géza egyetemi tanár, az MTA doktora alapos és részletekbe menő értékelését, valamint a méltató szavakat, amellyel Professzor úr visszaigazolja a téma időszerűségét és a felvetett élelmiszerbiztonsági kérdések fontosságát, a területen kifejtett kutatásaim értékét. Köszönöm az igen részletes bírálatot, elfogadom és megszívlelem a jogos kritikai észrevételeket, különösen az olykor pontatlan, vagy nem megfelelő fogalmazásra utaló megjegyzéseket. Ezekre a pontokra nem is térnék ki a válaszomban, ugyanakkor a bírálat több pontja lehetőséget adott számomra a kutatási eredmények pontosabb, szabatos megfogalmazására.

Elfogadom, hogy az irodalmi áttekintésben a címválasztások nem tükrözik kellően az ismertetett tudományos területet. Ugyancsak egyetértek a dolgozat tagolására tett bírálattal, szerencsésebb lett volna a 2.2. fejezetet másként tagolni.

Egyetértek, hogy elsősorban a jelölésmentes detektálási módszereket ismertető ábrák kiválasztása nem a legszerencsésebb. Helyesebb lett volna a különböző technikák mérési elvét bemutatni, nem pedig a mérési elrendezést.

14. oldal: Az integrált optikát a 70-es években fejlesztették ki. A vékony film technológiát az elektronikában már széles körben alkalmazták és igény merült fel kisméretű optikai elemek kifejlesztésére. Ekkor kezdődött el az integrált optika felhasználásának kutatása és az optikai szálak alkalmazása a telekommunikációban.

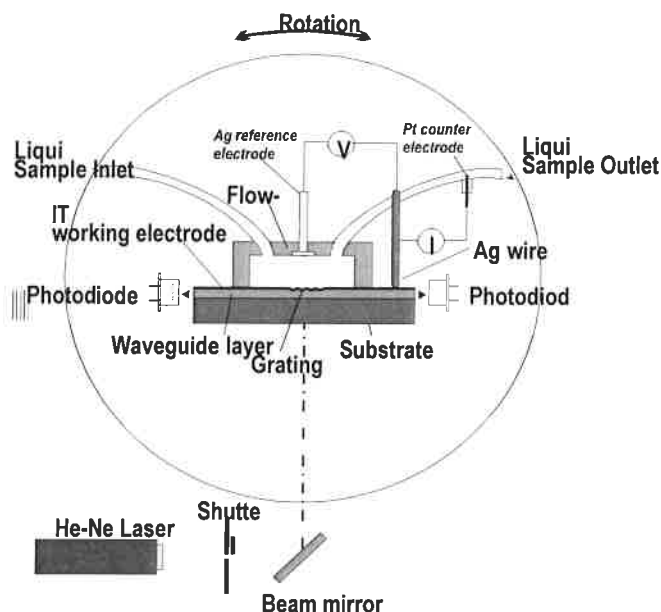
15. oldal: A modnat helyesen: A szögelfordulást mechanikus goniométerrel meghatározva, a mérés pontossága összemérhető a monokromátor pontosságával, valamint a hullámvezető anyag hőmérséklet- szabályozásának pontosságával.

A 2.3.1. alfejezetben nem kívántam a teljes levezetést megadni, hiszen azt már Vörös János a PhD dolgozatában ismertette, ahhoz további tudományos kiegészítést nem tettem, csak a jelen dolgozathoz elengedhetetlenül fontosnak tartott részleteket vettem át. Talán a legrészletesebb matematikai levezetést Hild Erzsébet (2011) adta, akinek a munkájára ugyancsak hivatkozom a dolgozatban. Ugyanakkor egyetértek, hogy a hiányos leírást nehéz követni, a jelölések nem következetesek.

A 2.6. ábra a 2.1. ill. 2.5. ábrán szereplő integrált hullámvezető szenzor hullámvezető rétegének nagyított ábrázolása, illetve a sugároptikai szemléltetése. Az a és b a beeső fénysugár; az a' és b' a diffraktált fénysugár; k a térerővektor.

A film a hullámvezető réteg, ami szol-gél formájában kerül az üveghordozóra.

A 2.3.2. részben az EC- OWLS technika kombinált alkalmazásának ismertetésénél be kellett volna tennem az elektrokémiai cella ábráját, ahol egyértelmű az elektródok elrendezése: az ITO mérőelektródot, Ag referencia elektródot és Pt segédelektródot alkalmaztunk.



Az elektrokémiai-OWLS cella felépítése

19. oldal: Rosszul fogalmaztam a mondatot, az ITO bevonat felülete heterogén, amely befolyásolja az elektród folyamatokat. Ennek oka egyrészt a felület esetleges széntartalmú szennyezettsége lehet, másrészt az indium-oxid reakciója a levegő páratartalmával, mivel az elektrokémiaailag inaktív, hidroxidos felületet eredményez.

25. oldal: Az aflatoxinok difurán kumarin származékok. A mondat úgy lett volna még elfogadható, hogy kémiaailag benzpirén típusú szerkezeti elemet tartalmazó, többszörösen konjugált, policiklusos vegyületek.

A 2.11. ábráról lemaradtak az R csoportok megnevezése:

R1; R4 – hidroxil csoport

R2 – hidrogén

R3 – metilcsoport (CH₃)

R5 – oxigén

24. oldal A trifluralin a káros ökotoxikologiai, endokrin és immunmoduláns hatása miatt 2001-ben felkerült az Európai Unió Bizottsága által kiadott 262. számú listájára.

Egyetértek, hogy a célkitűzéseket nem a megfelelő stílusban írtam le.

35. oldal: Az általános vegyszerek közé a savakat, pufferoldatok összetevőit, stb., soroltam, amik rendszerint a Reanal-tól vagy a Sigma-Aldrich Co. Ltd.-től kerültek beszerzésre.

4.2. ábra: Az ábrán modellkísérletből származó görbével kívántam érthetővé tenni a mérés menetét, vagyis azt, hogy a mért görbe minden egyes mérési pontja az adott *chipre* jellemző pillanatnyi intenzitáspektrum alapján kerül automatikusan értékelésre. A réteg vastagsága helyett borítottságot kellett volna említeni.

A 38. oldalon az immunszérumok kisózásos módszerrel történő tisztítása során a 70%-os ammónium-szulfát-oldattal elegyített oldat pH-ját 25%-os ammónia oldattal állítottuk be pH 7,0-re. További kétórás kevertetés után a szuszpenziót centrifugáltuk (20 perc, 2500 fordulat/perc).

39. oldal: Az amu az atomi tömegegység rövidítése (atomic mass unit).

5.1. A műszer kezdeti felépítésében nem tartalmazott átfolyó küvetát és FIA rendszert. A korábbi FIA rendszerekkel szerzett tapasztalatom alapján a laboratóriumunkban kísérleti berendezést állítottuk össze, aminek alapján került kialakításra az átfolyó cella, a FIA rendszer valamint az inkubációs küvetta. Ezek az egységek az új készülékek alap felszereléséhez tartoznak, az aktuális műszerleírásokban szerepelnek.

45. oldal: A szilánréteg vastagságát az OWLS berendezéssel határozzuk meg. A szenzorok vastagságát szárazon szilanizálás előtt és utána is megmértük. Az alkalmazott módszer reprodukálhatósága $\pm 0,05$ nm.

46. oldal A szilanizálást laboratóriumi körülmények között hajtottuk végre. 50 ml-es pohárba kb. 10 ml szilánoldatot tettünk, a szenzorokat pedig úgy helyeztük el, hogy ne érjenek bele az oldatba. A távtartáshoz egy 2 cm magas üveggyűrűt használtunk, a szenzorokat kvarc spirálba fogva egyszerre több, 5-10 szenzor szilanizálását végeztük el. A poharat óraüveggel és egy nagyobb átmérőjű üvegharanggal fedtük le, és 75 °C-on 6 óráig szárítószekrényben tartottuk. Az oldat és a szenzorok távolsága kb. 15 mm volt.

5.2. fejezet A felületkezelések hatékonyságát minden esetben a szilanizálást követően a modellként alkalmazott BSA – anti-BSA rögzítésével, illetve mérésével ellenőriztük, aminek eredményeiről az 5.3. fejezetben számoltam be, illetve mutattam be részleteket. Az olvasót valószínűleg jobban segítette volna, ha a mérési eredményeket az egyes szilanizálási eljárás mellett közvetlenül bemutatom, azonban az eredmények között jelentősen szelektálni kellett.

Az 5.6. ábra a BSA rögzítését az aminofunkcionalizált szenzorfelületen és különböző koncentrációjú anti-BSA oldatokra adott jelét mutatja be. A BSA oldatot injektálva (200 $\mu\text{g/ml}$) végeztük a rögzítést, majd az antitest oldatot különböző koncentrációban injektáltuk. 10-200 $\mu\text{g/ml}$). Ez a mérési eljárás alkalmas volt a szilanizált szenzorok összehasonlítására, azonban az immunreakciók tüzetesebb vizsgálatakor kiderült, hogy a tömény oldatok injektálása miatt a biomolekulák csak kisebb része rögzült, jelentős mennyiségük a szenzor felett (az evanescensz térben) csak áthaladt és kimosódott. Ennek tulajdonítható a görbék alakja, a kezdeti nagy jel gyorsan lecsökken, majd beáll egy közel állandó szintre. Ezt az állandósult szintet tekintettük a jelnek, amit rendszerint – a mérési körülményektől függően – az injektálást követő 5-7 percnél mértünk. Későbbi tapasztalatunk szerint akkor tudtunk hatékonyan mérni, ha az antitestet tartalmazó oldat határozott, jól kiértékelhető, de nem ennyire nagy jelet adott.

Az 5.10. ábra a karboxil-csoportokat hordozó szenzoron való BSA rögzítésének és az anti-BSA-koncentráció mérésének folyamatát mutatja be. A BSA rögzítését, illetve az ehhez szükséges EDC/NHS reakciót is a szenzoron végeztük, áramló rendszerben. Az ábráról hiányzik a 0,05 M sósav injektálásának a jelzése, amivel az immunreakció után az antitestet lemoszuk a szenzor felületéről. Kísérleteink azonban azt mutatták, hogy a reakcióidő igen rövid az átfolyó cellában, ezért célszerű a rögzítést a cellán kívül, álló rendszerben, hosszabb reakció idővel végezni. Ez az eljárás lehetőséget adott egyszerre több szenzor előkészítésére, ezzel jelentősen lerövidítve a mérés napi előkészítésének, a rögzítésnek a folyamatát.

53-54. oldal: A különböző töménységű borostyánkősav anhidriddel kezelt szenzorokon vizsgáltuk a BSA rögzítésére adott jelét, a különböző koncentrációjú anti-BSA standardok jelét, valamint az egymást követő azonos koncentrációjú standardok jelét. A különböző koncentrációjú anti-BSA standardok jele nem különbözött egymástól a koncentrációnak megfelelően, de ugyanakkor az azonos koncentrációjú oldatokat egymás után injektálva a jelek igen gyorsan csökkentek, nagy volt a szórás közöttük. Az 5.11. ábra mutatja be a 0,1 - 0,5 % borostyánkősav anhidriddel kezelt szenzorokon rögzített BSA-val mért 20 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú anti-BSA standardok jelét. Még a 0,5%-os borostyánkősav anhidriddel kezelt szenzorokon mért jeleknél is látszik ez a hatás, az egymás után injektált jelek jelentősen

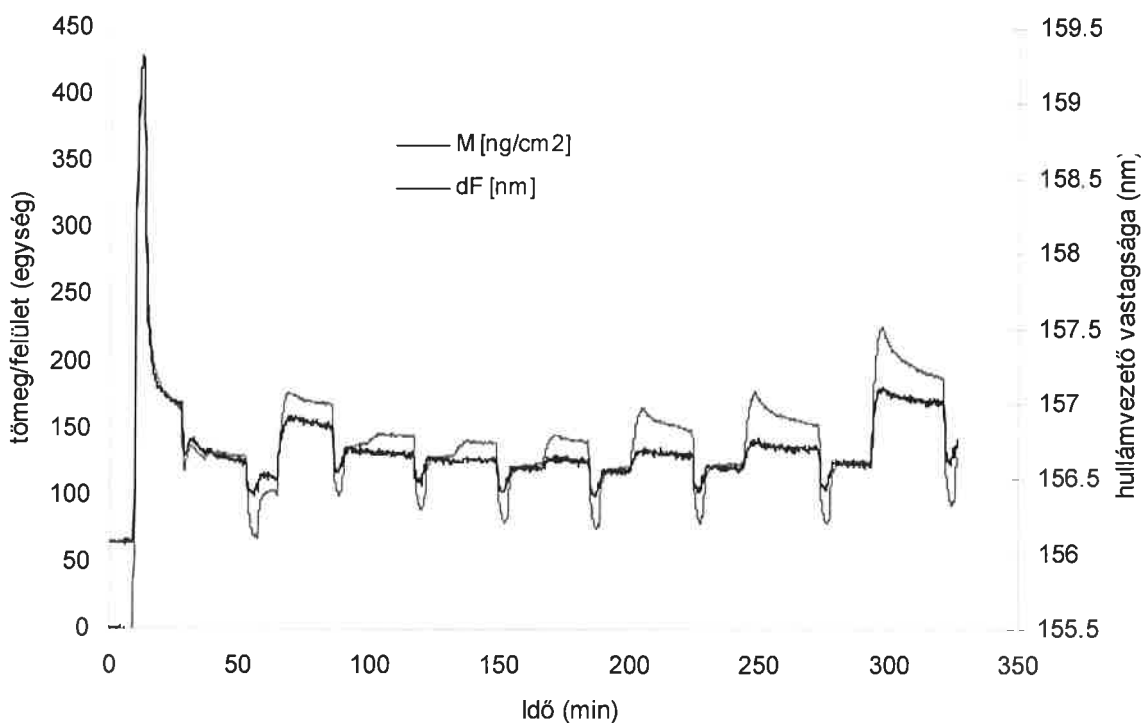
csökkentek. Ugyanakkor a jelek a 0,2%-os oldat alkalmazásakor voltak a legstabilabbak, 12 injektálás után a mért jelek nagysága a kezdeti érték 80%-a volt.

Az 5.14., 5.18., 5.21. ábrákon a log koncentráció tengely skálán nem egységes, az ábra készítésénél, vagy az áthelyezésénél nem vettem észre a hibát.

59. oldal: A szenzor felületén a rögzítéshez 10 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú trifluralin-BSA-konjugátum oldatot injektáltunk. Az OWLS mérés során ugyanúgy lehet mérni a réteg tényleges vastagságát, mint a felületen kötődő tömeg változását.

A görbék összehasonlításának érdekében egymásra másoltam azokat, 0 időpontnak a mintának a cellába érkezésének pillanatát vettem, míg az ordináta értékeként az adott minta injektálását megelőző alapvonalat vettem 0-nak.

A mérés során az OWLS kiértékelő programjában kiválaszthatjuk, hogy mit ábrázoljunk, pl. a becsatolási szöveget, az effektív refrakciós indexet, a hullámvezető vastagságát. Példaként egy BSA-anti BSA mérés ábráját mutatom be.



BSA-anti BSA folyamatos mérés

60. oldal: Az 5.16. ábrán a szenzorjeleket ábrázoltam a szérumhígítás függvényében. Az ábra ismertetésénél hibás a szenzorhígítás kifejezés, az anti-trifluralin szérum különböző hígítású oldatainak méréséről van szó.

61. oldal: A mérés során kapott jelnek az egyes mintáknál az alapvonal (az injektálás előtti 1 perc mérési pontjainak átlaga) és a beinjektálást követő 5-6 vagy 6-7 perc közötti mérési pontok átlagának különbségét tekintjük. A kompetitív módszer esetén a reagens vak minta, vagyis a szérum megfelelően hígított oldata nagy borítottságot, nagy jelet eredményez. Ha a következő injektált minta az antigén és az antitest keverékét tartalmazza, akkor a koncentrációtól függően kisebb jelet kapunk. Ha ezt a két mintát mértük többször egymás

után, akkor ugyan a jelek csökkentek, de a reagens vak minta és az antigént is tartalmazó minta jele közötti különbség pl. a 0,1 ng/ml koncentrációjú trifluralin standard minta esetében 9 párhuzamos mérés alapján $9,97 \pm 0,82$ tömeg/felületegység volt. Ezért a standardok minták között rendszeresen mértünk vakmintát is, és ennek a jeléhez viszonyítottuk a standardok jelét.

A 61. oldal: Egyetérték azon megjegyzéssel, hogy nem hasonlítható össze közvetlenül az OWLS immunszenzor és az ELISA kalibrációs görbe meredeksége. Ugyanakkor az 5.18. ábrán a két kalibrációs görbét feltüntetve jól látszik a két módszer dinamikus méréstartományja közötti különbség.

62. oldal: A szelektivitás függhet a relatív koncentrációtól, éppen ezért a vizsgálataink során a különböző dinitro-anilin-herbicidek, azok hapténszármazékai és a különböző szintetikus közti termékek gátlási görbáját kimértük, kiszámítottuk az aktuális IC_{50} értéket, a keresztreakció %-át az IC_{50} értékek alapján számítottuk ki. A trifluralin mérését ismertető cikkben az alábbi táblázat szerepelt:

Compound	IC_{50} (ng ml ⁻¹)	CR ^a (%)	CR ^b (%)
Trifluralin	6.10×10^{-7}	100	100
Ethalfuralin	8.88×10^{-6}	6.9	2.9
Benfluralin	1.75×10^{-5}	3.4	5.2
Isopropalin	2.35×10^{-4}	0.26	<0.1
2,6-Dinitro-4-trifluoromethylaniline	6.90×10^{-4}	0.09	0.18
Pendimethalin	5.80×10^{-3}	>0.01	≪0.1
2,6-Dinitro-4-trifluoromethyl-1-chlorobenzene	$>10^{-2}$	≫0.01	≪0.1
2,6-Dinitroaniline	$>10^{-2}$	≫0.01	≪0.1
Aniline	$>10^{-2}$	≫0.01	≪0.1

^a Relative cross-reactivity defined as a percentage obtained by calculating the ratio of the IC_{50} value of the reference compound (trifluralin) to that of the given compound in the immunoanalytical system.

^b Data from the literature.

67. oldal: A gátlási vizsgálatokban adott felületi antigén koncentráció mellett rögzített szérumhígítást alkalmazunk, s ehhez adagoltuk a meghatározni kívánt célvegyületet (zearalenon) változó koncentrációban a mérési koncentrációtartomány, az IC_{50} értékek, valamint a detektálás alsó határa megállapítására. Az érzékenységen az 50%-os gátlás (IC_{50}) értékeket értettük.

5.6. táblázatra vonatkozóan célszerű lett volna a táblázatokat azonos formában szerkeszteni.

73. oldal: A mátrixhatást az adott mintáknál figyelembe vettük, a vizsgálandó antigént nem tartalmazó mátrix mérésével határoztuk meg a vakminta jelét.

5.26. ábra. A versengő, kompetitív immuno-assay alkalmazásánál a jelöléstől függően szokás indirekt módszerről beszélni, a jelölésmentes mérési eljárásnál nem szabatos a kifejezés.

5.26. ábra: „Aflatoxin B1 mikotoxinnal mesterségesen szennyezett paprikaminták indirekt immunszenzorral mért kalibrációja” lenne a megfelelő cím.

73. oldal: Az aflatoxin B1 fűszerpaprikából történő meghatározásához a mintaelőkészítés ismertetésénél a 4.3.3. fejezetre hivatkoztam, mivel itt ismertettem a minták eredetét. A fejezetben a 4.3.2. pontra utalok, ahol az acetonitril-víz kivonatok készítésének receptje részletesen tárgyalásra került.

A görbék kiértékelésekor az injektálás előtti 1 percben az alapvonal pontjait átlagolva vontuk ki a görbe injektálást követő 5-6. vagy 6-7. perc közötti mérési pontjainak átlagából. A szórás értékét az átlagolt görbepontok szórása adta. A kimutatási határ megállapítására a fentiek alapján határoztuk meg a vak minta közepes válaszijét, és a vak minta válaszijét háromszoros tapasztalati szórását.

77. oldal Az 5. 29. ábrán a bormintákat úgy választottuk, hogy egy könnyebb, egy testesebb és egy édes vörösbor legyen. A három pontsor az egyes borokkal 3 szenzoron végzett mérések átlagát ábrázolja. Mivel a minták egy nagyobb méréssorozatból származtak, a pontos eredetüket nem adhattuk meg, azonban egyetérték Bírálómmal, hogy nem lehet 3 minta alapján ilyen kijelentést tenni.

78. oldal: Az anti-DON poliklonális ellenanyagot a szérum tisztítása, illetve a liofilizálása után ELISA rendszerben ellenőriztük és megállapítottuk a szérum titereket. A leírásban szereplő „kimutatási érzékenység” nem a megfelelő kifejezés, a szérum mérésre alkalmas hígítását kellett volna alakalmazni.

78. oldal, 5.31. ábra: Az eredmények összegzésénél utaltam arra, hogy a vakmintához képest a jelek közötti különbségek szignifikánsan csökkentek. Az 5.31. ábra mutatja a DON-BSA-konjugátum koncentrációjának hatását a DON meghatározására, a jelek csökkenését a vakoldathoz képest. Elfogadom, hogy célszerű lett volna az abszolút OWLS jel és a jel csökkenés viszonyát is megjeleníteni, bár az 5.32. ábra mutatja az abszolút OWLS jelet 256 ng/ml DON-BSA oldat injektálását követő immobilizálással.

80. oldal A DON-mentes búzalisztmintából mesterséges szennyezéssel történő standard minták mintaelőkészítésének ismertetésénél a 4.3.5. fejezetre hivatkoztam, mivel itt ismertettem a minták eredetét. A fejezetben a 4.3.2. pontra visszautaltam, ahol az acetonitril-víz kivonatot készítésének receptje került részletesen tárgyalásra.

A „lineáris méréstartomány” helyett a dinamikus méréstartomány a megfelelő kifejezés.

Egyetérték, hogy a mol/dm³ koncentráció jelölés a szabványos forma, a mol/l engedélyezett, azonban ezt a M jelölést nem lehet keverni.

5.34. ábra alatt a szövegben a hisztamin-BSA-konjugátum készítésének receptjét írtam le. A következő mondatban hivatkoztam az 5.34. ábrára, amelyen a keletkezett termék poliakrilamid-gélen izoelektromos fókuszálással történő vizsgálatának eredményét mutattam be. Hiányzik azonban az a jelzés, hogy az ábrán 7. standard-dal jelzett minta a fehérje standard, amely a Pharmacia cégtől származó izoelektromos pont szerinti fehérje sorozat.

83. oldal: Egyetérték, hogy az idézett mondatok félreérthetőek, nem elég szabatos.

5.36. ábra Egyetérték, hogy nehéz követni az 5.36. ábra magyarázatát. Egy táblázattal kiegészítve könnyebb lett volna megérteni a leírtakat.

A C (kovászos uborka) minta esetében bemutatom a leírtakat:

C minta	g/mol	HPLC-vel mért eredmény (mg/l)	HPLC-vel mért eredmény (mol/l)	OWLS-sel mért keresztreakció (%)	OWLS-re normált biogénamin koncentráció (mol/l)	OWLS-sel mért hisztamin koncentráció (mg/l)
	A	B	C=A/B	D	E=C*D/100	F
hisztamin	111,2	75,6	0,68	100,0	0,68	
putreszcín	88,2	816,6	9,26	13,6	1,26	
agmatin	102,2	188,9	0,00	4,3	0,00	
kadaverin	130,2	0,0	1,85	1,9	0,04	
tiramin	137,2	141,5	1,03	0,0	0,00	
spermidin	254,6	9,2	0,04	0,0	0,00	
Összes biogénamin hisztaminra normálva		219,52 (1,97*111,2)			1,97	206,4

Annak ellenére, hogy bizonyos biogén aminokra nem szelektív a szenzor, élelmiszerminták sorozatmérésére alkalmas, csak az adott határértéket meghaladó koncentrációt mutató mintákat kell a további vizsgálatokba bevonni.

86. oldal 5.37. ábra Az ábrához tartozó fejezetben szerepel, hogy a tisztított szérum aktivitását a 4.2.5.1. pontban ismertetett ELISA eljárással ellenőriztük. A leírás általános, az összes ismertetett szérum vizsgálatához ezt az eljárást alkalmaztuk. A kísérlet célja annak ellenőrzése volt, hogy a kapott szérumok milyen hígításban alkalmazhatóak az adott antigén, esetünkben a béka-Lpv mérésére. Legnagyobb abszorbancia értéket az A béka esetében a 20-80x hígított szérum, míg a B szérumnál a 80-320x hígított oldat adta. A tömény antitest alkalmazásakor (10x hígított) gátló hatást fejtenek ki, kisebb értékeket kaptunk, aminek az un. Hook-hatás lehet az oka. A nagy mennyiségű antitest adagolásakor instabil lesz a rendszer, a mért jel csökkenhet.

88. oldal: A mondat talán úgy lett volna szabatos: A versengő mérés dinamikus méréstartománya a kb. 2 nagyságrenddel kisebb vitellogenin koncentrációtartományba esett, mint direkt módszerrel mérve. A szigmoid görbe alapján a gátlási középérték (IC₅₀) értéke 21,18 ± 2,86 ng/ml, míg a direkt mérés dinamikus méréstartománya 0,6 és 12 µg/ml Lpv közé esett (86. old).

5.44 ábra Az eredeti 10⁸ TKE /ml-es oldatot a forralás után használtuk.

5.51. ábra: Kalibrációs görbe alapján következtettünk a sejtszámra (5.43. ábra). A duzzadást nem tudtuk figyelembe venni, ez torzíthatja az eredményeket.

97. oldal A helyes fogalmazás: A kezeletlen minták esetében EC-OWLS módszerrel vizsgálva úgy találtuk, hogy a 28 órás inkubációs idő alatt a sejtszám 2 nagyságrenddel nőtt.

A mikro-assay mérés részletes leírását a 4.2.5.4. fejezet tartalmazza. A módszer csak becslésre alkalmas, nem végeztünk összehasonlító mérést. Arra azonban alkalmas a két módszer összehasonlítása, hogy hasonló tendenciát mérünk, az inkubációs idő függvényében a referencia oldathoz képest hasonló változásokat detektálunk.

98. oldal A sejtnövekedés helyett a sejt számnövekedés a helyes kifejezésnek.

Az optikai denzitást alapján lehet a sejt sűrűséget meghatározni, az 5.52. ábra tengelyén az OD-t kellett volna feltüntetni. Egyetértek azzal, hogy az azonos inkubációs idő jobb összehasonlítást tett volna lehetővé.

99. oldal Feltételezésünk szerint az antitestet elpusztult sejtek sejtfal antigénjével immunizáltatva készítették, ez lehet az oka, hogy nagyobb jeleket kaptunk a hőkezelt sejtekre. Így valóban korlátozott az immunszenzor alkalmazhatósága, azonban hőkezelt mintákat vizsgálva kiszűrhetőek az esetleg fertőzött minták, és csak azokat kell tovább vizsgálni.

5.56., 5.57. ábra Az ábrák különbségi jelet mutatnak, az egymás után injektált jelek nagyságát ábrázoltam az 5.56. ábrán, míg az 5.57. az egymás után mért minták jelét az összehasonlítás kedvéért azonos kezdőpontba másoltam össze, míg az ordináta értékeként az adott minta injektálását megelőző alapvonalat vettem 0-nak függetlenül attól, hogy a TEOS injektálása után magasabb az alapvonal.

102. oldal Sajnos az ábra címe hibás, természetesen nem szilanizált szenzort alkalmaztunk az adott mérésekhez, hanem hidratált szenzort.

5.58. ábra A jel csökkenésének több oka is lehet. Elképzelhető, hogy az evaneszcens tartományon kívül eső réteg növekedését nem tudjuk detektálni. A görbe alakját vizsgálva, azonban ez nem valószínű. Az injektálást követően a jel közel akkora, mint az előző két minta injektálását követően, azonban ez a jel csökken, jelezve, hogy csak kevesebb molekula tud kötődni a felületre. Ha a réteg vastagsága miatt már az evaneszcens réteg szélén mérnénk, akkor a jel alakja hasonló lenne az előzőekhez, csak kisebb tömegváltozást jelezne. A másik lehetőség a felület telítődése, aminek az oka lehet az is, hogy a réteg már egy olyan réteggel van fedve, hogy az újonnan injektált molekulák nem érnek kellő számban az enzim közelébe, és ezért kapunk kisebb jeleket hasonlóan a 5.57. ábra kapcsán említett jelenséghez.

5.59. ábra: Az oszlopdigramokon az egymás után injektált TEOS minták által mért tömegnövekedést ábrázoltam. Minden esetben hasonló görbéket kaptunk, a korábban leírtak alapján nem gondolom, hogy elérnénk az evaneszcens réteg szélét.

5.60. A tapasztalataink szerint a szenzor felületének változása okozhat különbséget a jelek nagyságában, azonban ez nem befolyásolja jelentősen a TEOS koncentrációjának hatása a bioszilika kialakulására.

104. oldal Az általunk vizsgált reakció lényege, hogy a Si tartalmú szenzor felület és a mintaként injektált TEOS monomerek között az enzim jelenlétében jön létre a polimerizációs reakció, alakul ki a bioszilika réteg. A töményebb enzimmoldat hatására a szenzor felülete telítődik az adszorbeálódó enzimfehérje molekulákkal, esetleg helyenként több molekula vastagságú réteg keletkezik, gátolva ezáltal a TEOS molekulák kötődését a felülethez. Ugyanakkor az enzimreakció következtében az oldatban lévő TEOS molekulák polimerizálódhatnak, de nem tudnak a felületen megkötődni, kimosódnak a mérőcellából.

Ezért feltételezem, hogy az enzimet 24 µg/ml koncentrációban injektálva feltehetően térbeli gátlás lépett fel.

5.61. Az ábrán sajnos nem jelöltem, hogy a BSA-val való kísérletek 15 °C-on történtek. A hőmérséklet beállítása fontos, mert így volt lehetőségünk azonos hőmérsékleten a szilikatein enzimmal végzett kísérletek eredményeivel való összehasonlításra. A mérési körülményeket az 5.13. táblázat tartalmazza.

5.64. ábra: Egyetértek, hogy célszerű lett volna az ábra szövegében megemlíteni az áramlás megszakításának tényét, a jelek alakjának értelmezése érdekében.


113. Az összefoglalásban szereplő megállapítás az 5.63. ábra alapján tettem. Egyetértek, hogy az exponenciális növekedés nem igazolható, elegendő csak a növekedés tényét rögzíteni.

Egyetértek Bírálómmal, hogy a szennyezőanyagok, szermaradványok kimutatása még további jelentős munkát igényel, ezért az eddigi eredmények ténylegesen előkísérletnek minősülhetnek.

A Tézisfüzettel kapcsolatos felvetésekkel egyetértek, a felmerült hibákra már a korábbiakban reagáltam.

Ismételten köszönöm Dr. Nagy Géza professzornak a munkám rendkívül alapos áttekintését, és a kutatási eredményeim pozitív fogadtatását. Sajnálom a disszertációban lévő hibákat és az áttekintést akadályozó, helytelenül fogalmazott mondatokat. A bírálatok alapján, a külsők szemével éreztem igazán, hogy milyen nehezen áttekinthető az a számos – egymástól alapvetően különböző – alkalmazási terület, ahol a jelölésmentes OWLS mérés technika biztosította mérési lehetőségeket kívántam bemutatni.

Budapest, 2014. szeptember 6.


Adányiné Kisbocskói Nóra