

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor: Mgr. Ariana Opletalová (rozená Fargašová)
Název práce: Analytické využití nanočástic ušlechtilých kovů
Obor: Fyzikální chemie
Oponent: Prof. Ing. V. Švorčík, DrSc., VŠCHT Praha

Cílem této disertační práce byla příprava a modifikace nanočástic stříbra pro aplikaci v povrchově zesílené Ramanově spektroskopii (SERS) se zaměřením na analýzu biologicky významných molekul a bakterií. Jednotlivé syntetizované materiály byly charakterizovány řadou technik.

V přehledu o současném stavu problematiky autorka shrnuje základní poznatky o Ramanovské spektroskopii a SERS metodě. Dále charakterizuje koloidně disperzní systémy kovových nanočástic, přípravu nanočástic ušlechtilých kovů a jejich využití v analytické chemii včetně biologické SERS analýzy.

(i) První část experimentální práce byla zaměřena na vliv koncentrace chloridových iontů používaných jako činidlo pro aktivaci nanočástic stříbra. Byl popsán vztah mezi koncentracemi iontů a intenzitou signálu SERS za použití adeninu jako modelové sloučeniny. Z výsledků studia morfologických změn AgNP se ukázalo, že nižší koncentrace iontů vedly k transformaci AgNP (především agregace) ve srovnání s vyššími koncentracemi.

(ii) Druhá část experimentální práce se zabývala vývojem rychlé detekce infekce protetických kloubů na základě magneticky stimulované Ramanovy spektroskopie (MA-SERS). Detekce MA-SERS a identifikace bakterií byla studována na modelových vzorcích bakteriálních lyzátů. Kombinací mikro-Ramanové spektroskopie a diskriminační analýzy lze spolehlivě použít k rychlé detekci a identifikaci infekce protetických kloubů bez nutnosti kultivačních metod.

(iii) V poslední části experimentální práce se doktorandka zabývala studiem aplikačního potenciálu nanočástic stříbra v povrchově zesílené Ramanově spektroskopii, kde byla využita stříbrná vrstva nebo Ag jako součást magnetického kompozitu.

Výsledky této disertační práce na základě detekce infekce protetických kloubů lze aplikovat pro rychlou diagnostiku meningitidy. První výsledky naznačují, že tato cesta by mohla být nadějná.

Podle **mého názoru** se jedná o zdařilou a metodicky komplexní práci, kde disertantka dokázala zvládnout spektrum fyzikálně chemických i analytických metod včetně vyhodnocení výsledků těchto měření.

Doložená publikační aktivita studentky je dostatečná. Nejzajímavější výsledky byly publikovány v časopisech a ve sbornících konferencí. Podle Web of Science (ke dni 8.8.2017) je disertantka spoluautorkou 7 prací, které byly 61 x citovány (58 x bez autocitací) a H-index = 4.

Disertantka prokázala následující schopnosti

- ✓ věnovat se vysoce aktuálnímu výzkumnému tématu,
- ✓ obsáhnout a zajistit široké spektrum analytických metod,
- ✓ provádět i experimentální práci, která souvisí s buněčnou biologii,

- ✓ prosadit své výsledky do impaktovaných zahraničních časopisů, což je „čím dál“ obtížnější a přijetí prací v časopisech svědčí o originalitě získaných výsledků.

Připomínky k disertační práci

- ✓ doktorandka používá v doktorátu poněkud zvláštní formulace: např. str. 56: „V naší předešlé studii [74] bylo dokázáno...“, „Tato základní studie byla prohloubena dalším originálním výzkumem...“; str. 82: „Výsledky této práce popisují modifikaci...“. Asi mělo být v textu: „V této práci jsem studovala...“, vždyť v doktorátu diskutuje a popisuje svoje výsledky i když vycházíte z vašich publikací,
- ✓ nízká kvalita Obr. v textu (Obr. 15, 16, atd.), citované práce jsou vaše práce, neměla jste k dispozici originály,
- ✓ nekonzistentní uvádění obrázků v textu, někdy píšete obrázek X a někdy Obr. X, mělo by být jednotné,
- ✓ autorka někdy používá nevědecký a nekonkrétní popis výsledků, např. str. 63: „Většina změn se projevila během prvních pár minut“,
- ✓ chemikálie někdy píšete „slovně“, někdy „vzorcem“, opět nejednotné, váš obor je fyzikální chemie a tak bych preferoval vzorce.

Dotazy k disertační práci

- ✓ jaké magnetické mikročástice funkcionalizované karboxylovými skupinami byly použity na přípravu magnetického SERS biosenzoru, to není uvedeno v experimentální části,
- ✓ píšete: „Pro SERS je nezbytná funkcionalizace povrchu nanočástic prostřednictvím vhodných funkčních skupin (např. COOH, NH₂, SH)“, proč byly vybrány právě tyto skupiny,
- ✓ jaké jsou chyby měření (z kolika měření se hodnoty stanovovaly) např. u profilu časových závislostí intenzit SERS signálu na Obr. 16A a dalších Obr., aby mohly být učiněny příslušné závěry; u jednotlivých měření chybí směrodatné odchylky,
- ✓ obr. 17, 18 - píšete: „Chybové úsečky představují rozmezí hodnot (nejmenší a nejvyšší), které byly získány během třech nezávislých měření“, nejasný popis, jakou jste zvolila statistiku,
- ✓ co se děje s AgNP, že při určitých koncentracích dochází k jejich agregaci,
- ✓ můžete vysvětlit větu v souvislosti s měřením zeta potenciálu (-23 mV) na str. 65: „Tento relativně vysoký záporný povrchový náboj je přičítán přítomnosti početných volných karboxylových skupin.“, jak vypadá volná resp. „nevolná“ karboxylová skupina,
- ✓ měření zeta potenciálu - je zásadní rozdíl mezi hodnotami 9.63, 10 a 10.4, kterými dokládáte průběhy reakcí? Opět, z kolika měření jste je získala, jaká je chyba měření (hodnoty by měly být uvedeny na stejný počet desetinných míst),
- ✓ str. 67: „IR spektrum primárních MNP vykazuje charakteristické vibrační módy (např. 1726 cm⁻¹) typické pro karboxylové vibrace“, jedná se o „čisté“ karboxylové skupiny a nebo o karbonyl v karboxylové skupině; proč uvádíte transmitanci a ne obvyklejší absorbanci,
- ✓ jaká vidíte potenciální rizika a obtíže při možnosti detekce infekce protetikých kloubů při meningitidě a lze snadno přenést poznatky „z infekce kloubů na infekci mozkových blan“?

Závěr

Na závěr svého posudku konstatuji, že i přes uvedené připomínky doktorská práce Mgr. Ariany Opletalové splňuje požadavky kladené vysokoškolským zákonem č.111/98Sb. na disertační práci a je v souladu se Studijním a zkušebním řádem Přírodovědecké fakulty UP v Olomouci.

Práci **doporučuji** k obhajobě a po obhajobě **doporučuji** udělení akademického titulu PhD.



.....
V. Švorčík

V Praze dne 9.8.2017

Posudek na disertační práci

Název práce: Analytické využití nanočástic ušlechtilých kovů

Autor: Mgr. Ariana Opletalová

Ramanova spektroskopie patří mezi vibrační spektroskopické techniky, které zažívají v posledních letech díky výraznému vylepšení technických parametrů spektrometrů (lasery, detektory a spojení s mikroskopii) nebývalý rozvoj. Vedle „roztokové“ RS se prudce rozvíjí také metoda povrchem zesílené Ramanovy spektroskopie (SERS), u níž dochází k enormnímu zvýšení Ramanova signálu po adsorpci analytu na povrchu kovových (zejména Ag, Au, Cu) nanomateriálů. Díky zvýšení signálu se SERS stává velmi citlivou analytickou technikou, která se uplatňuje při studiu biomolekul, tak také v oblasti detekce živých systémů, buněk a jejich komponent. Jako substráty se využívají elektrody, koloidní částice a substráty na bázi nanočástic stříbra či zlata. Příprava těchto substrátů je důležitou součástí SERS metodiky, protože umožňuje připravit stabilní nanočástice s definovanou velikostí a tím také s definovaným stupněm zesílení.

Disertace Mgr. Opletalové pokrývá výše zmíněné oblasti, tj. přípravu a charakterizaci nanočástic, jejich stabilizaci nanesením na skleněných površích, resp. spojení s magnetickými částicemi železa. Připravené částice pak byly využity k detekci patogenních bakterií pomocí biosensoru, který využívá techniky magneticky asistované SERS.

Předložená disertace sestává z úvodu, teoretické části, která zahrnuje také cíle práce. Následují Výsledky a diskuze, Závěry, Seznam použitých zkratk a literatury. Práce je doplněna o 4 publikace, z nichž první tři se bezprostředně týkají disertace a 4. je „bonus“ který ale se studovanou tematikou úzce souvisí .

Seznam literatury obsahuje 175 položek, je uspořádán jednotně. Jen bych se zeptal, proč máte u lit. 7-9 datum stažení z internetu, má to nějaký důvod?

Práce byly publikovány ve velmi kvalitních časopisech s vysokým impaktním faktorem. Disertantka je prvoautorkou dvou z nich, u třetí je autorkou druhou.

To samo o sobě dokládá dostatečný podíl na vypracování jednotlivých prací. Je možné předpokládat, že všechny práce prošly náročným recenzním řízením a o to je moje úloha jako recenzenta snadnější.

Práce je napsána přehledně, překlepy a chyby jsem snad ani nezaregistroval
K práci mám následující připomínky a dotazy:

Na str. 16 zmiňujete experiment, který vedl k objevu SERS techniky. Autoři použili stříbrnou elektrodu. Ta se elektrochemii až tak frekventně nepoužívá. Nevíte náhodou, jaké pohnutky vedly autory k použití Ag elektrody?

Při vysvětlování mechanismu jsou zmiňovány dva mechanismy :
elektromagnetický a chemický O jejich zastoupení se vedou dlouhou dobu diskuze. Mohla by jste mi sdělit Váš názor na tuto problematiku, resp. jestli je některý z těchto mechanismů považován za výrazně účinnější a proč?

K přípravě vodné disperze nanočástic Ag jste si vybrala redukci maltózou? Proč jste zvolila právě toto činidlo?

Na str. 56 a dále diskutujete aktivaci připravených nanočástic pomocí chloridových iontů s použitím adeninu jako analytu. Z literatury je známo že kombinace adenin/ Cl^- / Ag koloid poskytuje velmi intenzivní sers spektra prakticky nezávisle na činidle, které bylo použito k redukci. Co by se stalo, kdyby jste použila např. bromidové nebo síranové ionty, resp. jako analyt např. thymin? Hrají chloridové ionty v případě adeninu nějakou specifickou roli?

Pokud by byla jako analyt využita směs bazí A,T,G,C, jak by vypadalo zaznamenané spektrum jednotlivých bazí a jejich intenzit? Myslím z hlediska zastoupení vibračních pásů?

Závěr: předložená disertační práce splňuje požadavky na tento druh prací. Disertantka podle mého názoru prokázala schopnost tvůrčí vědecké práce, stejně jako schopnost zpracovat a adekvátně vyhodnotit získané výsledky.

Práci doporučuji k obhajobě

V Brně, dne 2.10

Doc. RNDr. Oldřich Vrána, CSc.