



RNDr. Eva Kočíšová, Ph.D.

**Fyzikální ústav MFF
Univerzita Karlova**

Ke Karlovu 5
121 16 Praha 2

tel: 221 911 349

e-mail: eva.kocisova@mff.cuni.cz

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Jany Hrnčířové

Optimization of conditions and SERS spectral monitoring of biological important molecules

Optimalizace podmínek a SERS spektrální monitorování biologicky významných molekul

Disertační práce Mgr. Jany Hrnčířové je věnována detekci tří antiretrovirálních léčiv pomocí spektroskopického přístupu, metodou spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS) s využitím stříbrného koloidu připraveného podle zavedeného protokolu Leopolda a Lendla. Získaná data (spektra) jsou dále zpracovávána pokročilejšími způsoby s cílem je otestovat a následně zavést ke kvantifikaci studovaných léčiv, zejména v klinicky relevantních koncentracích. Ke studiu byla vybrána tři léčiva ze skupiny nukleotidových inhibitorů reverzní transkriptázy (NRTI), a to emtricitabine, lamivudine a tenofovir, která jsou buďto samostatně nebo v kombinacích i s dalšími léčivy používána v prevenci a terapii u pacientů postižených infekcí HIV.

Předložena práce má jasně stanovené cíle, rozdělené do čtyř částí, která byla postupně plněna. Pečlivě popisuje přípravu a realizaci experimentu, postup přípravy zkoumaných vzorků, vymezení studovaných koncentrací a měření na skenujícím Ramanovském spektrometru Wasatch Photonics, vyvinutém a patentovaném v USA v roce 2013 skupinou John B. Coopera. Vzorky byly nakapávány do jamek speciálně připravené hliníkové desky, dále vysušeny a následně měřeny, resp. skenovány definovaným způsobem. Celkový postup a experimentální podmínky byly optimalizovány. Naměřené spektrální sady byly analyzovány, přičemž vyhodnocování je založeno na určování indexu kvality spekter (Q_i) a kumulativní distribuční funkci (CDF) ve spojení s Q_i . Je to nový a doposud běžně nepoužívaný způsob, který jak se ukazuje, ve spojitosti s další selekcí spekter použit pro konstrukci kalibračních křivek, vede ke zvýšení informační výtěžnosti, a tedy i citlivosti detekce. Tento výstup byl porovnán s výsledky faktorové analýzy, která je často při podobné analýze uplatňována, dále také s určováním integrálních intenzit, a jak bylo ukázáno, tyto výsledky se vzájemně podporují a souhlasí.

Text práce je srozumitelný, dobře vystavěný, vzhledem k jeho délce s přiměřeným počtem chyb, nepřesností nebo překlepů. Jediné, co mi chybělo, je více informací ke zpracování dat, tedy obecnější úvod k určování indexu kvality spekter (Q_i) a kumulativní distribuční funkci (CDF), kalibračních křivek atd., již v první kapitole. Součástí práce jsou 4 publikace (publikované v kvalitních impaktovaných časopisech), přičemž na dvou z nich je Mgr. Jana Hrnčířová první autorkou.

K práci mám několik otázek:

Čím se řídil výběr materiálu desky, která byla použita pro nakapávání vzorků a jaká je jeho smáčivost (kontaktní úhel)? Můžete popsat vyschlé depozity kapek? Liší se tvar a forma depozitu pro jednotlivé molekuly/léčiva, případně jejich koncentrace?

V práci je popsán postup čištění desky/jamek k opětovnému použití. Neovlivňuje tento postup vlastnosti povrchu, např. jeho hladkost/drsnost, která by následně mohla mít vliv na formu/tvar vysychajícího depozitu?

Ke spektrální detekci byla použita excitace 785 nm s výkonem 15 mW. Podle literatury většina studovaných stříbrných koloidů je spíše excitována laserovým svazkem ze zelené oblasti spektra. Čím se řídil výběr vlnové délky v tomto případě? Uváděný výkon 15 mW je výstupní výkon laseru? Pokud ano, jaký byl výkon na vzorku a jak byl optimalizován pro experiment.

Celý experiment byl konstruován jako testovací a měl by být základem pro detekci a kvantifikaci léčiv v reálném vzorku, např. krevní plazmě. Na základě již získaných zkušeností, jak by se dal optimalizovat postup pro takovéto měření?

Závěrem konstatuji, že práce dostatečně splňuje požadavky kladené na disertační práci a tímto ji plně doporučuji k obhajobě.

V Praze, 3. 3. 2025

RNDr. Eva Kočiřová, Ph.D.