

Oponentský posudek disertační práce

Název: Testing of new electrode arrangements for monitoring of electrochemically oxidisable biologically active organic compounds

Autor: Mgr. Milan Libánský

Školitel: Prof. RNDr. Jiří Zima, CSc.

Školitel specialista: Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc.

RNDr. Hana Dejmková, Ph.D.

Předložená disertační práce je tvořena komentovaným souborem 6 publikací, z nichž 2 již byly uveřejněny v impaktovaném, resp. recenzovaném odborném časopise a 1 byl přijat do tisku. Další 3 zahrnuté publikace byly v okamžiku podání práce odeslány resp. připravovány k odeslání do redakcí (Autor by mohl během obhajoby aktualizovat informace o osudu těchto prací. Prošly již recenzním řízením a s jakým výsledkem?). Práce Mgr. Libánského je zaměřena na vývoj a testování elektrochemických vlastností nových uhlíkových a zlatých elektrodových materiálů, jejich modifikací a různých experimentálních uspořádání. Jedná se o velice zajímavé a originální téma, které je v současné době bezesporu aktuální.

V první části práce se autor zabývá studiem aplikačních možností kompozitních filmových elektrod uspořádaných jako set na mikrotitrační destičce. Navazuje tak na svou diplomovou práci, v rámci níž toto uspořádání vyvinul a provedl základní testování. Jako analyty pro tyto studie byly zvoleny významné biomarkery různých onemocnění – kyseliny homovanilová (HVA) a vanilmandlová (VMA) nebo indoxylsulfát (ISu). Studium voltametričného chování těchto látek a vývoj metod jejich stanovení proběhl standardně a dosažené výsledky (včetně dostatečně nízkých mezí stanovitelnosti a dobré opakovatelnosti měření) potvrdily, že tyto elektrody v daném uspořádání mohou být úspěšně používány v oblasti analýzy biologicky významných organických látek. Škoda jen, že v případě HVA a VMA nebyl učiněn pokus o analýzu vzorku moči s ohledem na v práci několikrát zmíněnou plánovanou aplikaci při medicínském screeningu. V případě ISu tento pokus učiněn byl, ale prozatím neúspěšně vzhledem ke složitosti biologické matrice.

Druhá polovina práce byla zaměřena na elektrochemickou charakterizaci zlatých nanostrukturovaných filmových elektrod (GFNE), které byly připravovány naprašováním na povrch různě předupravených polytetrafluorethylenových substrátů. Ke studiu elektrochemických vlastností těchto elektrod byly použity známé redoxní systémy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a hydrochinon/benzochinon. Hydrochinon, podle autora běžný environmentální kontaminant, byl navíc využit jako analyt pro ověření aplikovatelnosti GFNE při praktické analýze. Avšak dosažené hodnoty LOQ byly vyšší než hodnoty prezentované v literatuře pro jiné voltametričké metody. Elektrochemické parametry těchto elektrod ale byly srovnatelné s parametry dosaženými pro zlatou „bulk“ elektrodu. V další fázi pak byl povrch takto připravených elektrod modifikován polymerem pNIPAAm nebo různými funkčními skupinami. Zatímco modifikace polymerem přinesla výhodu v podobě možné akumulace

analytu během analýzy, testování GNFE modifikovaných různými funkčními skupinami vedlo spíše k zablokování povrchu elektrody a postupně až k vymizení signálů $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$.

Z hlediska formální stránky předložené práce je třeba ocenit, že byla sepsána v anglickém jazyce, přestože by byla namísto nějaká forma jazykové korektury. Mgr. Libánský prokázal schopnost psát delší souvislé texty a vypracovat podrobnou literární rešerši na základě dostupných literárních pramenů. Práce je sepsána srozumitelně s vhodným členěním, jen přehlednost je poněkud horší vzhledem k nutnosti listování mezi komentářem v úvodu a příloženými publikacemi při hledání konkrétních informací. Navíc je škoda, že u posledního článku je v příloze VI uvedena (a tím vytržena z kontextu) pouze krátká pasáž z výsledkové části připravovaného rukopisu, týkající se pouze elektrochemického testování elektrod, a nikoli celý článek. Z výsledkové části i příložených publikací vyplývá, že student je schopen samostatné tvůrčí činnosti ve výzkumné oblasti. Jeho experimentální práce a získané výsledky jsou přínosem v oblasti vývoje nových elektrochemických nástrojů pro analýzu a monitoring bioaktivních látek významných jak z hlediska medicínského tak environmentálního.

Formální připomínky:

1. Některé zkratky používané v textu nebyly při prvním použití řádně zavedeny (platí o česky psaném autoreferátu i vlastní práci).
2. V česky psaném autoreferátu bych doporučovala používat termín „jednorázový“ a nikoli „disposabilní“ systém resp. senzor.
3. V seznamu zkratek by měly být u všech veličin uvedeny i jednotky jako je tomu v případě koncentrace.
4. Symboly veličin se píšou kurzívou, ale indexy ani čísla v indexech nikoli (např. seznam symbolů a zkratek – I_p , I_c , R^2 ...).
5. Str. 12, odst. 2 – „... *possibility of **chemical** or/and **chemical** modification ...*“
6. Str. 23, Obr. 2-3 – obrázek je na straně 23 a popis až na následující straně 24.
7. V textu zůstaly pozůstatky práce v režimu sledování změn ve Wordu (legenda k obrázku 2-4, 2-5).
8. Znaménko mínus je vhodnější vkládat jako symbol – a nikoli jako pomlčku -. Tím se autor vyhne situacím, kdy se na konci řádku oddělí - a číslo je na začátku druhého řádku (str. 35, odst. 2 – $\mu\text{mol L}^{-1}$).
9. Str. 35, odst. 3 – opakuje se slovo – „... *but this this the aim...*“
10. U všech rovnic prezentovaných v příložených člancích, resp. u hodnot směrnic a úseků postrádám příslušné intervaly spolehlivosti.
11. Str. 72, Tab. 1 – v titulku k tabulce má být DPV a nikoli DVP.
12. Str. 100, Obr. 1 – Obrázek je umístěn v předchozím odstavci před posledním řádkem.

Dotazy a podněty k diskusi:

1. Jaké jsou náklady na 1 systém uhlíkových kompozitních filmových elektrod (CFE) v plastových měrných celách mikrotitrační destičky používaný v této disertační práci? Byla prováděna nějaká elektrochemická aktivace CFE před měřením (např. cyklováním nebo vkládáním vhodných potenciálů)? Bylo by možné využívat systém opakovaně při zařazení nějakého vhodného regeneračního kroku?

2. Příloha I

- Na obrázcích 2 a 3 jsou uvedeny vždy 2 koncentrační závislosti pro HVA i VMA. V Tab. 1 jsou ale uvedeny parametry vždy jen pro jednu závislost pro každou látku, resp. každý pík. Jedná se o souhrnné závislosti v celém měřeném rozsahu ($1-100 \mu\text{mol L}^{-1}$) nebo jde o závislost jen v některém z měřených koncentračních rozsahů (podle obrázků 10-100 nebo $1-10 \mu\text{mol L}^{-1}$)?
- Podle uvedeného textu byly rovnice 4, 5 a 6 odvozeny z Tab. 1. Rovnice ale číselně neodpovídají hodnotám úseků a směrnic uvedených v tabulce. Může to autor vysvětlit?
- Tab. 3 shrnuje výsledky stanovení VMA a HVA v modelových směsích. Jaká byla opakovatelnost těchto stanovení? Uvedené výsledky jsou výsledky jednoho stanovení nebo byl proveden určitý počet analýz a jsou uvedeny průměrné hodnoty?

3. Proč nebyly v rámci vývoje metod stanovení VMA a HVA na závěr analyzovány také vzorky moči (stejně jako u indoxylsulfátu), když by uvedená metoda měla sloužit pro medicínský screening? Jak je to s koncentrací HVA a VMA v moči? V práci uvádíte koncentrační rozmezí $7-40 \mu\text{mol L}^{-1}$. To je běžné rozmezí u zdravého člověka? Jaké jsou zvýšené koncentrace v případě nemoci?

4. Příloha II

- Str. 83 – Autor píše, že oxidační mechanismus indoxylsulfátu na CFE byl porovnáván s literaturou [25] pro GCE a že se shoduje pouze v případě 2. píku. U 1. píku byly pozorovány rozdíly způsobené různým typem použité uhlíkové elektrody (GCE/CFE). Může to autor vysvětlit?
- Byla při vývoji metody pro analýzu indoxylsulfátu provedena interferenční studie? Byly identifikovány konkrétní interferenty, které znemožňují jeho stanovení v moči?

5. Je u GNFE nutná nějaká aktivace před měřením? Nemohlo by zařazení vhodné aktivace zlepšit sledované elektrochemické vlastnosti?

6. Reverzibilní redoxní systém $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ používaný pro charakterizaci GNFE elektrod patří mezi „*inner-sphere*“ nebo „*outer-sphere*“ systémy? Pokud vím, tak se může jeho zařazení lišit podle použité pracovní elektrody.

7. Autor uvádí, že počítal elektrochemicky aktivní povrch GNFE podle Randles-Ševčíkovy rovnice. Jakou hodnotu difuzního koeficientu pro výpočet použil, případně z jakého zdroje čerpal? Z kolika měření byl povrch, resp. příslušný konfidenční interval počítán? Proč si autor pro výpočet zvolil rychlost polarizace 50 mV/s ?

8. Příloha III

- Str. 8-9 – Autor píše v komentáři k obrázku 1: „... *In the case of GNFE-Pristine, it is obvious that the gold layer exhibited extensive disruptions, gold layer was tattered with exposed PTFE surface and adhesion of gold layer was the weakest.*“ Jak je možné na základě snímků ze SEM hodnotit adhezi? Je to nějak vidět? Nebo byla adheze testována jiným způsobem?
- Tab. 3 – Autor píše v textu: „*In comparison to gold bulk electrode, all types of GNFE showed lower repeatability of heights of the peaks ...*“ Z uvedené tabulky 3 ale vyplývá, že hodnoty RSD vypočítané pro GNFE – Plasma (1,1 a 1,2 %) jsou

nižší než RSD pro „bulk“ elektrodu (2,8 a 1,9 %). To by znamenalo naopak lepší opakovatelnost pro GNFE – Plasma než pro Au „bulk“ elektrodu. Jak je to tedy doopravdy?

9. Pro jaké konkrétní aplikace by měly být vyvíjené GNFE a jejich modifikace určeny? Co by měly přinést za výhody modifikace elektrody testovanými funkčními skupinami?

Závěrem konstatuji, že Mgr. Milan Libánský prokázal tvůrčí vědecké schopnosti, neboť je schopný získávat nové informace, vyhodnotit je a zobecnit. Stanovené cíle práce byly splněny a výsledky částečně opublikovány v odborných časopisech s tím, že další publikace budou následovat. Výše uvedené připomínky a dotazy nijak nesnižují úroveň předložené práce, která po odborné i formální stránce zcela splňuje požadavky kladené na disertační práce v daném oboru. Proto disertační práci Mgr. Libánského **doporučuji** k obhajobě.

V Pardubicích 7. 4. 2017



.....
Doc. Ing. Renáta Šelešovská, Ph.D.