

Bc. Zuzana Škraňková

Elektrochemická detekce patogenních mikroorganismů s využitím kovových nanočástic jako signál-generujících značek

Tématem předložené diplomové práce je příprava elektrochemického imunosenzoru pro rychlou detekci bakterií *Salmonella* spp. a *Campylobacter jejuni*. V úvodu autorka představuje metody detekce a stanovení patogenů v potravinách a srovnává výhody a nevýhody jednotlivých analytických metod založených na PCR, různých typech biosenzorů a imunoanalytických technik. V další části se diplomantka zaměřuje na bakteriální kontaminaci mléka a uvádí přehled nejdůležitějších patogenů. V praktické části se pak autorka věnovala přípravě elektrochemických imunosenzorů na bázi magnetických částic, kde pro zvýšení citlivosti v detekčním kroku bylo použito značení protilátek silika nanočásticemi a polymerními dendrony s navázanými kvantovými tečkami nebo zlatými nanočásticemi.

Diplomová práce je velice rozsáhlá provedenými experimenty a dle mého názoru by mohla být bez potíží rozdělena na dvě plnohodnotné práce, které se budou zabývat vývojem elektrochemického imunosenzoru pouze pro danou bakterii. Na celkem 106 stranách, z nichž 55 stran je věnováno popisu experimentů, výsledkům a diskuzi, autorka uvádí jednotlivé experimentální etapy a problémy, na které během své práce narazila a které se pokoušela logickým přístupem vyřešit. Počet zvláště kontrolních experimentů, které přímo nesouvisí s elektrochemickým imunosenzorem, ale jsou nutné při jeho návrhu, je obdivuhodný. I když získané výsledky zřejmě nesplnily očekávání do diplomové práce vkládané, budou zcela určitě solidním základem pro navazující výzkum.

Značný rozsah práce a nutnost zpracovat velké množství naměřených výsledků se však (bohužel) podepsali na ne příliš důkladné korektuře diplomové práce. V textu se velmi často objevují překlepy a chybné mezery, není sjednoceno psaní velkých a malých písmen v seznamech, střídavě jsou uváděny české a anglické názvy chemikálií. Další připomínky jsou uvedeny chronologicky níže (tučně jsou označeny dotazy a připomínky pro diskuzi):

- Zkratka pro Úřad pro kontrolu potravin a léčiv je FDA, nikoliv FAD. Překlad „nádoba pevné fáze“ pro „solid phase vessel“ v seznamu zkratk není moc vydařený.
- Číslování v nadpisech kapitol by mělo být bez mezer.
- **Str. 21, 3. odst.: jaký je správný rozsah teplot místo uvedených 35-35 °C?**
- Str. 26, 5. odst.: „annealing“ místo „annealig“.
- Str. 26, 6. odst.: „nadbytku“ místo „nadbytu“.
- Str. 29, 2. odst.: chyba v odkazech.
- Podkapitoly v kap. 1.2.6 (str. 30) by měly být také číslovány.
- str. 31, 2. odst.: „protilátek“ místo „poritlátek“.
- str. 31, 4. odst.: „chronoamperometrickou detekcí“ místo „chromamperometrickou detekcí“.
- **V teoretické části v kapitole 1.2.5 chybí přehledová rešerše konkrétních elektrochemických imunosenzorů pro detekci bakterií. Autorka zmiňuje některé v další kapitole 1.2.6, kde popisuje využití různých nanomateriálů, avšak kromě elektrochemických imunosenzorů uvádí také jeden optický (využívající povrchový plasmon), což není tématem diplomové práce.**

- **Kap. 3.2:** chemické názvy organických látek se píšou bez mezer před a za pomlčkami. Jakou chemikálii má autorka na mysli pod označením „Základní chemikálie čistoty p.a (Lach-Ner a.s., Neratovice, ČR)“ v uvedeném seznamu?
- **Kap. 3.6.1, str. 53:** autorka používá označení „silika nanočástice“, pro které uvádí zkratku SiNPs (není uvedena v seznamu zkratk). Může autorka upřesnit, z jakého materiálu jsou tyto nanočástice, zda z oxidu křemičitého nebo křemíku?
- **Kap. 3.6.3, str. 55:** mohla by autorka podat detailnější informace o dendronech a jejich struktuře? V práci toto chybí.
- **Tab. 5, str. 59:** co představují parametry E a T v prvním a druhém řádku tabulky? Z textového popisu to není jasné. Proč se u techniky SWCV čeká 120 s při potenciálu 0,15 V před vlastním rozpouštěním Au nanočástic?
- **Tab. 6, str. 62:** tabulka by neměla být na stránce rozdělená, případně by se mělo opakovat její záhlaví na další stránce.
- **Str. 69, 3. odst.:** mohla by diplomantka vysvětlit, proč se při elektrochemické detekci rozpuštěných kvantových teček přidávaly do analyzovaného roztoku bismutité ionty?
- **Kap. 4.4.2, str. 70:** diplomantka mohla uvést alespoň jeden ilustrační záznam SWASV detekce iontů Cd a Pb.
- **Obr. 28, str. 70 a dále:** je zbytečné na osách y uvádět nulu za desetinnou čárkou, pokud jsou značky na ose v desítkách.
- **Obr. 31, str. 72:** při objemu konjugátu 30 μ l je patrný obrovský rozptyl jednotlivých měření. Je pro to nějaké vysvětlení?
- **Obr. 33, str. 33:** v grafu chybí osa y.
- **Obr. 35, str. 76 a dále:** obrázky jsou vloženy s příliš malou kvalitou, skoro na hranici čitelnosti zobrazovaných údajů.

Závěrem mohu konstatovat, že diplomantka Bc. Zuzana Škraňková splnila zadání diplomové práce, diplomovou práci s velmi zajímavým a aktuálním tématem doporučuji k obhajobě, avšak vzhledem k řadě formálních nedostatků ji hodnotím stupněm

C.

V Pardubicích 29. května 2019

Ing. Radovan Metelka, Ph.D.