

Oponentský posudek diplomové práce

Bc. Lucie Dostálová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Katedra biologických a biochemických věd

Využití spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS) při vyhodnocování testů ekotoxicity na kroužkovci *Enchytraeus crypticus*

Hlavním cílem předložené diplomové práce bylo optimalizovat přípravu vzorků kroužkovce *Enchytraeus crypticus* pro analýzu metodami spektroskopie laserem buzeného plazmatu (LIBS) a energiově disperzní rentgenfluorescenční spektrometrie (ED XRF). Experimentální část práce je zaměřena na navržení metodiky stanovení zinku ve tkáňových vzorcích roupic *Enchytraeus crypticus* výše zmíněnými metodami, jejich optimalizace a navržení techniky kalibrace.

V teoretické části se studentka zaměřila na metodu LIBS, principy a způsoby vyhodnocení výsledků (kalibrační postupy a bezkalibrační metoda). Následuje část věnující se použití metody LIBS pro analýzu biologických materiálů (rostlinného i živočišného původu) a technikám přípravy vzorků. Zmíněno je i testování toxicity nanočistic oxidu zinečnatého na roupicích. Dále práce obsahuje část „Experimentální část“ a kapitolu „Výsledky a diskuze“. Zde je nejdříve popsána použitá instrumentace a popsán postup výběru vhodného nosiče. Následující část obsahuje informace o postupu přípravy tkáňových vzorků včetně kalibračních standardů a zabývá se optimalizací podmínek LIBS měření. Na základě získaných výsledků bylo provedeno stanovení Zn v reálných vzorcích roupic z toxikologického experimentu. V části „Výsledky a diskuze“ jsou provedené experimenty dále vyhodnoceny a odpovídajícím způsobem v textu adekvátně komentovány.

Připomínky: V textu se objevuje řada chyb či nepřesností, případně nesprávných formulací. Již na první straně v úvodu je uvedeno že ... hlavním cílem je vývoj metody pro *analýzu zinku* ve tkáňových vzorcích... Nutno však dodat, že v dalším textu už se píše správně o stanovení zinku. Podivná je také věta věnující se instrumentaci LIBS ... spektrometr se skládá z ... disperzního prvku jako je monochromátor (Czerny-Turner, Echelle) nebo difrakční mřížky... . Tvrzení, že LIBS technika využívá laserové pulzy s velkou opakovací frekvencí je také diskutabilní, neboť typická opakovací frekvence používaných laserů se pohybuje v hodnotách jednotek maximálně desítek Hz. Formulace ... plazma se nechá využít a nabýde na objemu... nebo ... v lidských nehtech měl vápník koncentrace ... zbytečně snižují úroveň jinak kvalitního textu. Výtku bych měl i k uvádění odkazů na literaturu, neboť v některých případech jsou uvedeny, až na koncích kapitol což znesnadňuje čtenáři orientaci v odkazované literatuře. Příliš podrobný popis obsahu jednotlivých prací (str. 30-35) působí poněkud únavně i když je pravda, že může být z praktického hlediska užitečný (především pro čtenáře, kteří nemají přístup k primární literatuře).

V experimentální části se také vyskytuje řada nedostatků. U obrázků tkáňových vzorků připravených k analýze (Obr. 9, 10, 11, 12 a 13) není uvedeno měřítko, takže si čtenář těžko udělá představu o skutečné velikosti nanesených vzorků. Užitečná by také jistě byla fotka vzorku po provedené analýze metodou LIBS. Není úplně jasné, jak se zpracovávala data z měření a zda bylo odečítáno pozadí, popřípadě jakým způsobem. To by mělo být také

komentováno v souvislosti se zápornými úseky všech kalibračních křivek. Vypočítané hodnoty limitů detekce se vzhledem k záporným úsekům kalibračních křivek nezdají příliš důvěryhodné. Statistické zhodnocení některých získaných výsledků dle mého názoru zasluhovalo větší pozornost. Především bych předpokládal, že pokud jsou porovnávány různé metody (ICP-OES, LIBS, ED XRF) bude rovněž proveden test na shodnost výsledků obdržený těmito metodami.

Hodnocení: Výše uvedené připomínky nepovažuji za zásadní. Studentka prokázala píti i tvůrčí přístup k experimentům a navržené postupy jsou dle mého názoru po dalším zdokonalení použitelné pro praktické využití v oblasti sledování ekotoxicity. Práci doporučuji k obhajobě s hodnocením **B**.

Dotazy:

1. Proč byl zvolen pro obohacování tkáňových vzorků zinkem právě chlorid zinečnatý?
2. Koncentrace Zn v roupicích je v práci vyjadřována v $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Jedná se o koncentraci na hmotnost živých roupic? Byly nějakým způsobem zohledněny případné rozdíly v obsahu vody?
3. Můžete stručně shrnout výhody a nevýhody technik LIBS a ED XRF pro sledování Zn v tkáních?
4. Bylo by možné některou z těchto technik využít i pro in-situ monitoring obsahu Zn ve vzorcích roupic? Na mysli mám například využití mobilního nebo ručního zařízení v terénu.

V Brně 17. 5. 2018


Doc. Mgr. Karel Novotný PhD.