

## **Detekce neurotransmiterů v kapilárních biamperometrických detektorech**

V předložené diplomové práci se Bc. Lenka Němečková věnuje přípravě a charakterizaci biamperometrických detektorů v kapilárních průtočných systémech. Práce se zaměřuje na studium vlivu materiálu použitého k přípravě vlastních detektorů, a to zejména na uhlíková a platinová mikrovlákná a jejich vzájemnou kombinaci.

Významná část teoretické práce je zaměřena na popis vlastností a působení jednotlivých neurotransmiterů. Na druhou stranu, část věnující se možnostem stanovení neurotransmiterů pomocí elektrochemických metod je zpracována velmi stručně a ani zdaleka neodpovídá popisu řešení této problematiky v současné literatuře (viz Tabulka 1 odkazující na knihu z roku 1989 a dva zahraniční příspěvky z roku 2013).

V Experimentální část diplomantka popisuje přípravu studovaných biamperometrických detektorů a je velká škoda, že se při jejím zpracování až nadměrně inspirovala předchozími diplomovými pracemi.

V úvodu kapitoly týkající se popisu výsledků a následné diskuze by pro zvýšení porozumění bylo vhodné shrnout jednotlivé materiály mikrovláken použitých pro přípravu testovaných biamperometrických detektorů a jejich vzájemné kombinace (uhlík – uhlík, uhlík – platina a platina – platina).

Moje největší připomínka se však týká zpracování dosažených výsledků a jejich následnou diskuzí, která v práci zcela chybí. Jednotlivé podkapitoly této části vždy – téměř doslovně – opakují pouhý souhrn dosažených výsledků bez sebemenšího pokusu o jejich zhodnocení.

Vzhledem k této situaci bych rád, kdyby se diplomantka k jednotlivým bodům alespoň rámcově vyjádřila.

Podkapitola 4.1.3 – V textu je uvedeno, že při vyšším pracovním potenciálu může docházet k pasivaci elektrod a ke snížení signálu. Proč následně vyšší potenciál vybírá pro další měření? Pouze na základně vyšší intenzity signálu? Zde by také bylo vhodné srovnat konkrétní intenzity dosažených signálů.

Legendy ke grafům č. 1 a 2 jsou totožné. Chápu, že jde v obou případech o srovnání velikosti proudu oxidace, ale hodilo by se rozlišení jednotlivých grafů i konkrétní legendou. Podobný nešvar se vyskytuje i v dalších legendách.

Při testování připraveného biamperometrického detektoru kombinujícího dvě uhlíková vlákna poskytuje dopamin vyšší odezvu v mobilní fázi obsahující pouze fosfátový pufr (Graf 1 a 2). V případě kombinace uhlíkové a platinové mikroelektrody neposkytuje dopamin v mobilní fázi fosfátový pufr : acetonitril (1 : 1) žádný použitelný signál. Na druhou stranu, v případě kombinace dvou platinových mikroelektrod je dosažený proud vyšší při použití mobilní fáze kombinující fosfátový pufr s acetonitrilem (1 : 1) (Graf č. 5 a 6). Jak si diplomantka vysvětluje tyto významné rozdíly v dosažených intenzitách proudu v závislosti na použitém materiálu mikroelektrod a složení mobilní fáze?

Sekce 4.1.5 se věnuje opakovatelnosti odezvy dopaminu na připravených detektorech. Zde mi chybí statistické zpracování jednotlivých analýz vedoucí k jasnému závěru, který z připravených detektorů poskytoval nejrobustnější výsledky v závislosti na použité mobilní fázi. Stejně tak chybí hodnoty intenzity proudu dopaminu pro postupná dávkování vzorku, aby bylo možné dojít k závěru ohledně (možné) pasivace elektrod. Znamená to tedy, že z použitých kombinací materiálů se nejméně pasivuje kombinace uhlíkové a platinové elektrody? Jaký vliv na pasivaci elektrod má použití pulzní biamperometrické detekce?

Jak si diplomantka vysvětluje významnou nelinearitu signálu dopaminu (nejen) při jeho nízkých koncentracích stanovenou pomocí pulzní biamperometrické detekce na detektoru kombinujícím uhlíkovou a platinovou mikroelektrodu (Graf č. 9 a 10)?

Obávám se, že diplomantka použila špatně vzorec pro výpočet výtěžnosti stanovení dopaminu (Tabulka č. 15).

Ačkoli jsou jednotlivá data uvedena v tabulkách, bylo by vhodné na závěr srovnat intenzitu signálu (např. pro jednu vybranou koncentraci dopaminu) na všech testovaných detektorech v různých mobilních fázích při použití jak klasické, tak i pulzní biamperometrické detekce. Práce by získala konkrétní závěr, který by bylo možné okomentovat a zdůraznit výhody a nevýhody jednotlivých experimentálních kombinací.

Závěrem mi dovoluete několik formálních připomínek k předložené diplomové práci:

- Za jednotlivými úrovněmi nadpisů se nepiší tečky
- Seznam literatury je uveden zcela nekonzistentně a neodpovídá zavedeným formálním zvyklostem
- Jsem si jistý, že diplomantka použila i jiný mikromanipulátor, než uvedený
- V případě porovnání dosažených výsledků s předchozí diplomovou prací mi zcela chybí odkaz na tuto práci v textu. Ten se sice vyskytuje v Teoretické části na straně 17, je zde ale citován pouze ve vztahu k textu týkajícího se kapalinové chromatografie.
- Diplomantka bohužel nevěnovala dostatečnou pozornost ani závěrečné formální úpravě předložené diplomové práce, o čemž svědčí množství překlepů a nejasných formulací v textu.

Předloženou diplomovou práci doporučuji s výhradami k obhajobě a hodnotím ji stupněm

– dobře –

V Pardubicích 1. června 2016

  
RNDr. Jiří Urban, Ph.D.