

Posudek na disertační práci Mgr. Alžbety Kuižové „Drop coating deposition Raman spectroscopy of biologically important molecules“

Doktorandka se v předkládané práci věnuje rozvoji specializované metody Ramanovy spektroskopie, Drop coating deposition Raman spectroscopy (DCDR). Aplikuje tuto metodu na biologicky významné molekuly. V práci jsou prezentovány dvě oblasti použití, v první se posuzují možnosti detekce škodlivých látek např. v potravinářských produktech a v druhé se metoda používá na studium vlastností dehydratovaných fosfolipidů. Detekce kontaminantů pomocí prezentované metody má přímé využití v kontrole kvality a nezávadnosti potravin určených například dětem. Studium dehydratovaných, vyschlých biologických molekul by mělo přinést dodatečné informace pro charakterizaci vlastností biologických struktur tvořených amfifilními molekulami, jejichž hydrofilní část je v buňce vystavena vodnému prostředí, ale vlastnosti důležité pro jejich biologickou funkci jsou určovány i hydrofobní oblastí.

V úvodu práce doktorandka provedla přehledné zasnění do použitých metod a zkoumaných problematik. Doktorandka se podílela na 3 přehledových článcích, které představují používanou metodu DCDR i v kombinaci se SERS spektroskopií, což potvrzuje její hluboký vhled do prezentované metodologie s jejími aplikacemi. V samotné práci jsou zastřešena a doplněna témata řešená v prezentovaných publikacích. Do disertace jsou kromě již zmíněných review vloženy další 4 články publikované v prestižních zahraničních časopisech věnujících se příslušným oblastem chemie a spektroskopie. Ve třech článcích je řešena analýza kontaminantů a v jednom článku je aplikována metoda DCDR na studium dehydratovaných liposomů. V práci je dále více rozvinuto použití DCDR na studium liposomů. Byla zkoumána dynamika zasychání liposomových suspenzí na površích odvozených od PTFE, bylo srovnáno zasychání kapek se suspenzemi homogenních a nehomogenních liposomů, porovnány Ramanova spektra z nehydratovaných liposomů se spektry získanými pomocí RTM (Raman tweezer microspectroscopy) ze suspenzí liposomů, dále byla zkoumána uspořádanost dehydratované lipidické fáze v závislosti na teplotě, což umožnilo stanovit teploty fázového přechodu pro dehydratované fosfolipidy a byl posouzen i vliv vlhkosti na zasychání kapek a uspořádanost lipidické fáze. Tyto výsledky budou patrně součástí další publikace.

Práce je výborně graficky zpracovaná s minimálním množstvím formálních chyb a je napsána srozumitelnou angličtinou. Vzhledem k tomu, že součástí práce jsou 3 přehledové články, použitá literatura je více než dostatečná a pokrývá prezentovanou problematiku.

Doktorandka během své disertace získala hluboký vhled do používané metodiky a studované problematiky, což využila při psaní přehledových studií. Prokázala schopnost samostatné a systematické vědecké práce spojené s významnou publikační aktivitou a podílela se na posunutí limitů použitelnosti metody DCDR. Získané znalosti a dovednosti jsou zárukou jejího dalšího vědeckého rozvoje.

Otázky k obhajobě:

1. Na str. 18 je uvedeno tvrzení: „The longer or the more unsaturated acyl chain, the higher T_m .“
Je to správně?
2. Pomocí protlačování skrz membránu s póry lze připravit i jiné velikosti liposomů, např. 200, 400 nm. Mohlo by to nějak dále ovlivnit tvorbu depozitů z vysychající suspenze, třeba právě pozorovanou CR expanzi?
3. Limity pro stanovování kontaminantů metodou DCDR jsou srovnávány s detekčními limity získanými pomocí SERS. Zajímalo by mě, jaká je použitelnost SERS při studiu komplexních směsí, jako jsou např. potraviny?
4. V práci byly experimenty se suspenzemi liposomů prováděny za použití povrchu popsaného jako „polish stainless steel“. Mohla byste tento typ substrátu nějak popsat? Jaký má vztah ke komerčně dostupnému substrátu μ -RIM™? Na tomto povrchu byly prováděny i teplotně závislé experimenty? Mělo to nějakou výhodu?
5. Byly provedeny nějaké teplotně závislé experimenty pro depozity zasychající při nižší vlhkosti? Opravdu tyto podmínky ovlivní samotné teploty tání, jak je zmíněno v Conclusion? Za jaké vlhkosti byly vlastně teplotně závislé experimenty prováděny?

Na závěr konstatuji, že předloženou práci doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 18. 10. 2024

RNDr. Aleš Holoubek, Ph.D.

Odd. proteomiky

Ústav hematologie a krevní transfuze