



Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra chemie



Hodnocení diplomové práce

Posudek oponenta



Jméno autora: Zdeňka Neuerová

Rok obhajoby: 2022



Název práce: Příprava vzorků pro LC/MS metabolickou analýzu

Vedoucí práce: Ing. Eva Cífková, Ph.D.

Oponent práce: Mgr. Maria Khalikova, CSc.



Téma práce: aktuální

Téma bylo v literatuře: diskutuje se o něm



Zaměření práce: původní vědecká práce

Práce je zaměřena: empiricky

Jazyková a stylistická úroveň práce: odpovídá

Rozsah práce: přiměřený

Použitá literatura: aktuální

Počet uváděných titulů: dostatečný

Citace v textu: přiměřená

Statistické zpracování výsledků: nebylo v náplni práce

Formální stránka práce: odpovídá

Využitelnost pro praxi: vysoká

Cíl práce: splněn

Úroveň práce: odpovídá požadavkům

Konkrétní náměty, připomínky nebo otázky vyžadující doplnění u obhajoby:

Diplomová práce je experimentálního charakteru a popisuje výsledky validace již dříve vyvinuté LC/MS metody pro stanovení vybraných metabolitů ve vzorku lidské placenty.

Jako hlavní cíl diplomové práce se uvádí optimalizace postupu přípravy biologického vzorku, konkrétně lidské plazmy, pro metabolickou analýzu. Teoretická část je proto zaměřená na přípravu biologických vzorků s důrazem na miniaturizační postupy jako například mikro-SPE. V teoretické části se často vyskytuje příliš obecný popis bez příkladů a dochází k záměně komerčních názvů a typů extrakce. V práci se vyskytují nepřesnosti v překladech anglických termínů, ale to nesnižuje kvalitu rozsáhle teoretické části. Experimenty jsou v práci dobře popsány a jejich množství je nadprůměrné. Oceňuji vizualizaci velkého množství získaných dat pomocí heatmap, což velmi zjednodušilo

orientaci v dané kapitole. Jedná se o první soubor výsledků na katedře chemie získaných miniaturizačními postupy extrakce vybraných metabolitů.

Protože v závěru diplomové práce uvádíte, že získané výsledky budou použity pro další vývoj extrakčních metod, dovoluji si několik připomínek a doporučení:

Extrakce „in-needle“ není jehlová, ale extrakce v jehle; Doporučuji sjednotit a používat termín disperzní extrakce, ne disperzivní; Sjednotit použití termínu metabolická a metabolická analýza.

V Tabulce 2, s. 35 - jsou zavádějící objemy přidávaných standardů (0,15 µL). Mělo by být uvedeno, že je to odpovídající objem základního roztoku standardu vypočítaný na jeden vzorek.

Doporučuji v budoucích experimentech využívat nižších otáček při extrakci, jak se uvádí v původní práci [32], ze které jste vycházeli, protože rychlost extrakce má vliv na její účinnost. Je vhodné uvádět i velikost použitého rotoru pro přepočítání na jednotky g.

Tabulka 7 a 8, s. 50 – doporučuji před nanášením vzorku zařadit ekvilibraci sorbentu pomocí rozpouštědla vzorku, aby nedocházelo ke ztrátě látek a jejich předčasné eluci.

Taky v kroku promývání doporučuji zachovat stejné pH jako u nanášeného vzorku, a to ze stejných důvodů.

Část 4.2.2., s. 55 – chybí závěr o nejlepších podmínkách eluce s přídavkem 3 % FA.

s. 54 - na základě výsledků v Tabulce 20 doporučuji se zaměřit na využití kombinace SDB a Kat disků.

s. 62 – na základě výsledků v Tabulce 25 a 26 doporučuji se zaměřit na využití kombinace YMC C8 a Empore Kat.

Dotazy, které studentka zodpoví při obhajobě:

Část 3.2.1.4., s. 39 – příprava vzorků pro zjištění správnosti a přesnosti se liší od přípravy ostatních vzorků (200 vs 300 µL homogenátu). Jaký je k tomu důvod?

Tabulka 6, s. 48 – jak vysvětlujete nízkou účinnost extrakce standardů ve vyšších koncentračních hladinách (Lys d4, GABA d6, Kyn d4)?

Část 3.2.2.2., s. 41 – Jak hodnotíte práci se sorbentem v roztoku z praktického pohledu a časové náročností? Zvažovala jste přípravu roztoků všech sorbentů a přidání přesného objemu místo malých navážek sorbentů?

Závěrem mohu konstatovat, že studentka splnila zadané cíle diplomové práce, a proto práci doporučuji k obhajobě.

Výsledné hodnocení:

A

V Hradci Králové dne 1.6.2022

Podpis oponenta