



**Univerzita Hradec Králové**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra chemie



**Hodnocení diplomové práce**

Posudek oponenta



Jméno autora: Eliška Hančová

Rok obhajoby: 2022

Název práce: SFC/MS metabolomická analýza



Vedoucí práce: doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.

Oponent práce: Mgr. Maria Khalikovs, 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: velmi dobrá úroveň

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: střední

Cíl práce: splněn

Úroveň práce: odpovídá požadavkům

Konkrétní náměty, připomínky nebo otázky vyžadující doplnění u obhajoby:

Předložená diplomová práce se zabývá optimalizací SFC/MS metody pro analýzu polárních metabolitů v biologickém vzorku. V rámci optimalizace metody studentka se zaměřila na složení a podmínky gradientu mobilní fáze, rozpouštědlo vzorku a objem nástříku. Výsledky diplomové práce ukazují možnost využití metody jak pro analýzu polárních metabolitů, tak i následnou analýzu nepolárních látek se změnou používaného gradientu. Práce je zpracována po odborné a gramatické stránce na vysoké úrovni. Teoretická část je sepsána velice pečlivě, je výstižná a informativní. O teoretickém a praktickém přínosu této diplomové práce není pochybení. V diplomové práci se překlepy a nepřesné vyjádření objevují minimálně, a proto zde nebudou zmíněny. Dovolím si vytknout několik připomínek.

- Doporučuji používat kromě slovního hodnocení „patrně lepší rozlišení“, „nejlepší tvar piků“, „částečné zlepšení a výrazné zhoršení tvaru piků“ i číselné vyjádření, které by značně usnadnilo porovnání výsledků.
- Doporučuji na osi y uvedených chromatogramů uvádět intenzitu signálu pro jednodušší hodnocení vlivu použitých podmínek na odezvu (kritické pro Obr. 8, 11 a 15).
- V části optimalizaci metody nebyl uveden počet opakování nástřiku.
- Str. 14 – zavádějící interpretace literatury o skenovací rychlosti hmotnostních analyzátorů FTICR a Orbitrap (viz. odkaz 13, str. 276-277).
- Na všech chromatogramech v části optimalizaci metody je neidentifikovaný pík mezi píky 5 a 6.
- Str. 34, na Obr. 11 je chybně označen pík 6 (50 mM).
- Str. 37 - nesouhlasím s tvrzením, že přídavek 30 mM NH<sub>3</sub> neměl žádný přínos, jelikož pik 3, 4 a 5 máji nižší tailing a pik 5 má vyšší intenzitu.
- Nedoporučuji používat koncentraci soli v modifikátoru vyšší než 20 mM kvůli omezené rozpustnosti v nad- a sub-kritickém CO<sub>2</sub> a s ohledem na perspektivu spojení s HRMS v budoucích experimentech. Vysoké koncentrace soli vysvětlují problém s přetlakováním systému, který zmiňujete v diplomové práci. Na Obr. 11 není signifikantní rozdíl mezi 20 a 30 mM AmF a pik 5 má vyšší intenzitu u 20 mM.
- Str. 40 - Není jasné proč pro opakovatelnost retenčních časů byl zvolen pik tyrosinu. V rámci optimalizaci nebyl zkoumán.
- Str. 41, Obr. 20 – pravděpodobně se jedná o chybu v popisku k obrázku (modifikátor).

#### Otázky:

- Str. 9 – uvádíte, že snahou diplomové práce je „vynalézt metodu s co nejefektivnějším dělením analytů“. Jaký chromatografický parametr vyjadřuje účinnost separaci a jak se stanovuje?
- Jak byl optimalizován průtok make-up kapaliny?
- Str. 39, Obr. 16 - Jak vysvětlujete rozdílné výsledky u původního extraktu a rekonstituovaného v metanolu (Obr. 16)? Zkoušeli jste rekonstituci v 5x nižším objemu, pravděpodobně by to vyřešilo problém s rozlišením isomeru (Obr. 17).
- Myšlenka analýzy extraktu kapalina-kapalina se zkrácením preanalitické fáze je zajímavá, nicméně je potřeba se vyvarovat určitým rizikům jako carry-over, proteinový precipitát na fázovém rozhraní, a doba potřebná pro ustálení mezifázové rovnováhy. Proces extrakci stále pokračuje ve vialce a nástřik vzorku se provádí z pravidla třikrát. Zkoušeli jste jak rychle lze dosáhnout konstantních výsledků po extrakci?

#### **Výsledné hodnocení:**

**A**

V Hradci Králové dne

---

Podpis oponenta