

Posudek oponenta diplomové práce

Analýza glycerolipidů pomocí UHPLC/MS

V předložené diplomové práci se Bc. Tomáš Seneta věnuje optimalizaci UHPLC/MS metody vhodné pro analýzu nepolárních lipidů, a to zejména triacylglycerolů. Hlavním cílem práce bylo vyvinout vhodnější metodu pro rychlé stanovení těchto látek a její následné použití v analýze reálných vzorků. Práce je klasicky členěna na teoretickou, experimentální a výsledkovou část. Diplomová práce obsahuje významné množství experimentálních dat svědčících o diplomantově péči a pracovitosti.

V teoretické části diplomant popisuje nejprve jednotlivé metody sloužící k analýze lipidů (kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie) a podrobněji se věnuje jednotlivým typům ionizačních technik, hmotnostních analyzátorů a použití spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií v analýze lipidů. Tato část tvoří dobrý úvod pro následnou diskuzi, ačkoli se domnívám, že i případné užší zaměření pouze na použité techniky a vzorky by bylo dostatečné.

V experimentální části diplomant popisuje použité chemikálie, úpravu vzorků, optimalizaci použité analytické metody a její následnou validaci. Zde bych se rád zastavil nad značením použitých mobilních fází. Myslím, že by bylo vhodnější používat procentuální zastoupení i pro majoritní složku mobilní fáze, jako např. 97 % ACN + 3 % H₂O místo používaného ACN + 3 % H₂O. Stejně tak se domnívám, že vhodné shrnutí používaných mobilních fází, aditiv a podmínek gradientové eluce v tabulkách by přispělo k lepšímu porozumění a přehlednosti experimentálních podmínek.

Vzhledem k relativně velkému množství optimalizovaných proměnných by možná bylo vhodné použít matematické plánování experimentu, což by přispělo ke snížení časové náročnosti optimalizace, a zároveň poskytlo informace o důležitosti a vlivu jednotlivých proměnných na experimentální výsledek.

Drtivá většina výsledkové části se věnuje optimalizaci použité metody s jasnou snahou zrychlit čas analýzy a zlepšit účinnost analýzy. Jaké optimalizační kritérium bylo použito v případě účinnosti analýzy? Práce popisuje zejména vliv změny experimentálních podmínek na dobu analýzy a intenzitu signálu jednotlivých látek.

Jaká je časová náročnost použitých extrakčních technik ve srovnání s optimalizovanou metodou? Přispívá optimalizovaná metoda k výraznému snížení doby analýzy (od začátku přípravy vzorku ke konečnému výsledku v podobě koncentrace jednotlivých lipidů v něm)?

Poslední část výsledkové části se věnuje jednak validaci optimalizované metody a dále stanovení lipidů v reálných vzorcích (krevní plasma, rybí a slunečnicový olej, vepřové sádlo, červený rybíz). Zde mi velmi chybí diskuze dosažených výsledků. Diplomant se bohužel pouze odkazuje na jednotlivé tabulky a záznamy. Proč diplomant nediskutuje hladiny lipidů stanovené v jednotlivých vzorcích? Je škoda, že absence celkové diskuze dosažených výsledků a jejich zasazení do širšího rámce významně snižuje kvalitu velkého množství dosažených výsledků.

Z čistě formálního hlediska bych také doporučil podrobnější členění výsledkové části do sekcí týkajících se jednotlivých kroků optimalizace, použití formátu čísel s oddělovačem tisíců v tabulkách s intenzitami signálů, vhodnější organizace textu, tabulek a obrázků, aby se předešlo prázdným místům na konci stránek a v neposlední řadě i finální úpravu textu a jeho formátování, zejména s ohledem na předložky končící na jednotlivých řádcích. Diplomant se také nevyhnul několika překlepům a nejasným formulacím, které ale nesnižují dosažené výsledky.

I přes výše uvedené připomínky doporučuji práci k obhajobě a hodnotím ji stupněm:

výborně-m


RNDr. Jiří Urban, Ph.D.

V Pardubicích 28. května 2015