

**Posudek na Diplomovou práci Bc. Jany Břeňové**  
**“Stanovení vybraných oxokyselin v biologických vzorcích metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí”**

Předložená diplomová práce se zabývá simultánním stanovením sedmi významných 2-oxokyselin ve vzorcích biologického původu (plazma a plná krev) s využitím plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. V teoretické části je nejprve shrnuta problematika stanovovaných 2-oxokyselin, včetně vybraných metabolických poruch souvisejících s těmito kyselinami. Další část teoretické části je věnována metodám stanovení 2-oxokyselin (zahrnuje papírovou chromatografii, vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii a zejména se zaměřuje na plynovou chromatografii a v ní používaná derivatizační činidla). Jsou zde zmíněny i referenční hodnoty vybraných kyselin v biologických vzorcích.

V experimentální části je uveden popis získání biologických vzorků, jsou zde sumarizovány použité chemikálie, pomůcky a přístroje. V jednotlivých kapitolách jsou uvedeny chromatografické podmínky včetně podmínek používaných na plynovém chromatografu.

Dále bych zmínila některé nedostatky, které vyplynuly pravděpodobně z ne zkušenosti autorky:

- **str. 52** – zajímalo by mne, z čeho vychází (z jakého literárního zdroje) celá příprava jak standardů, tak vzorků plné krve a plazmy. Proč jsou zvolena právě uvedená množství a koncentrace jednotlivých roztoků.
- **str. 47** – zajímalo by mne, jaké váhy byly použity k navažování tak malých množství jednotlivých standardů.
- **str. 67:** kapitola 4.7 resp. 5.6 – je uvedena testovaná linearita sedmi testovaných látek v rozsahu 0 až nějaká hodnota. Je možné testovat linearitu od hodnoty 0? U analytických charakteristik postrádám stanovení limitu detekce a kvantifikace, včetně výtěžnosti. V tabulkách 9-11 zcela chybí testovaný rozsah – které kalibrační body byly připraveny. U tabulky 12 a 13 není uvedeno, kolikrát byl vzorek extrahován pro zjištění přesnosti a na jaké koncentrační hladině.
- V celé práci postrádám hmotnostní spektra připravených derivatizovaných standardů včetně strukturních vzorců připravených standardů. Z uvedeného komentáře není nikde jasné, zda vyhodnocení analytických parametrů bylo provedeno ve Scanu nebo SIMu. Pouze v příloze 3 a 4 je zmíněna SIM metoda – resp. dvě hodnoty  $m/z$  při kterých bylo měřeno – ale není nikde vysvětleno proč právě tyto dvě hodnoty – jsou to charakteristické ionty pro všechny sloučeniny? Hodnota  $m/z = 73$  je typická pro silylaci – ale rozhodně není charakteristickým iontem pro danou sloučeninu. Pro jednotlivé standardy by bylo dobré uvést přehlednou tabulku včetně intenzit jednotlivých iontů a retenčních časů.

V celé experimentální části včetně části výsledky a diskuze se velmi těžko orientuje. Přestože autorka provedla řadu experimentů, není snadné se orientovat ve výsledcích a závěrech vyvozených z měření. Zcela postrádám zhodnocení výsledků celé vypracované metodiky, z pohledu například uvedených referenčních hodnot na str. 42.

Diplomovou práci doporučuji s výše uvedenými výhradami k obhajobě a hodnotím ji známkou

**velmi dobře - m**

V Pardubicích 26. května 2017

  
doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.