

Posudek oponenta diplomové práce

Stanovení vybraných aminokyselin v suché kapce potu

Diplomantka: Bc. Darja Javorská

Vedoucí diplomové práce: prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Mgr. Michal Kopči

Bc. Darja Javorská ve své diplomové práci studovala stanovení vybraných aminokyselin v potu dobrovolných dárců. Cílem diplomové práce bylo vyvinout a optimalizovat metodu HPLC s fluorescenční detekcí, která umožňuje jejich separaci a kvantitativní stanovení. Teoretická část je věnována popisu a rozdělení aminokyselin, tvorbě a analýze lidského potu a derivatizaci aminokyselin v kapalinové chromatografii. V experimentální části autorka charakterizovala dobrovolné dárce potu, popsala odběr potu, přípravu vzorků potu k analýze a metodiku analytického postupu HPLC. V tabulkách 7 – 9 jsou uvedeny analytické parametry použité metodiky. V kapitole výsledky a diskuze autorka v tabulkách prezentovala výsledky experimentů a krátce je diskutovala. Ve velmi stručném závěru sepsaném na osmi řádcích diplomantka konstatovala, že získala zajímavé výsledky, které vedou k zamyšlení a budou předmětem dalšího zkoumání.

K předložené diplomové práci mám následující připomínky a dotazy:

Popis, rozdělení a reakce aminokyselin uvedené v teoretické části na str. 15 – 22 jsou učivem z 2. roč. bakalářského studia a tato stať nepřináší žádné nové poznatky ke studovanému tématu. Obr. 3, 4 a 6 jsou zcela schematické, bez uvedení enzymu katalyzujícího uvedenou reakci a bez mechanismu těchto reakcí. V obr. 5 chybí šipky znázorňující reverzibilitu reakcí. Derivatizační reakce uvedené v obr. 8 - 10 autorka v diplomové práci nepoužila, naopak rovnice reakce použitého derivatizačního činidla NDA zde uvedená není – proč? Popis fluorimetrického detektoru obsahuje pouze všeobecné údaje na šesti řádcích (str. 31), naproti tomu popis hmotnostní spektrometrie a elektroforetických technik, které autorka v práci nepoužila, je zbytečně rozsáhlý (str. 31 – 32).

V kapitole 4.1 autorka v posledních dvou řádcích uvádí, že: „Byla testována celá řada mobilních fází, především směsi různých pufrů a organických rozpouštědel, jako jsou ACN, methanol, ethanol a řada sekvencí gradientové eluce. Kritéria byla rozlišení, stabilita fluorescence a rychlost analýzy.“ Výsledky těchto optimalizací jsem ale nikde v diplomové práci nenalezl. Otázka: Proč je autorka v práci neuvedla? Může je autorka doplnit v prezentaci?

K seznamu aminokyselin v tabulce 7 mám připomínky a dotaz. Je zde pouze 17 kódovaných aminokyselin, chybí Cys, Lys a Pro. Cit (citrulín není kódovaná aminokyselina) a Tau (taurin) není aminokyselina, ale biogenní amin. Proč je autorka zařadila do hodnocených analytů, a proč nestanovovala obsah Cys, Lys a Pro v potu.

Charakteristika dobrovolných dárců v tabulce 3 na str. 36 je pro kvantitativní analýzy nedostatečná, není uvedena doba cvičení, tělesná váha, teplota prostředí při cvičení a při odběru potu, cvičení zřejmě sloužilo pouze k získání bližší neurčeného množství potu. Zde měly být odběrové karty okamžitě po odběru zváženy, aby bylo možné určit odebrané množství potu. Následující tabulky 10 – 11 jsou pak pouze semikvantitativní, autorka zde předpokládala, že odebrané množství potu bylo stejné. Použitelná data jsou zřejmě pouze údaje z tabulek 12 a 13. Jedná se zde o poměrné zastoupení aminokyselin v odebraném

vzorku, což eliminuje různé množství odebraného vzorku potu. Nález rozdílného zastoupení aminokyselin mezi muži a ženami je pochopitelný, ale autorka tento nález dále nediskutuje a neuvádí jeho využitelnost. Tento fakt byl již mnohokrát popsán v literatuře i s diagnostickými závěry.

Závěrem mého posudku mohu konstatovat, že cíl diplomové práce byl splněn, aminokyseliny lze v suché kapce potu stanovit, ale uvedené analytické parametry metody jsou nepřesné a mají velký rozptyl (str. 49).

Diplomová práce splňuje základní stanovené požadavky a vzhledem celkové úrovni diplomové práce a k uvedeným připomínkám ji hodnotím známkou:

E

V Pardubicích 23. 7. 2020

prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.