

## POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

<b>Katedra:</b>	Katedra analytické chemie
<b>Autor:</b>	Bc. Ilona Chalupová
<b>Název práce:</b>	Optimalizace derivatizačních a extrakčních postupů pro HPLC/MS analýzu metabolitů obsažených ve vzorcích tělesných tekutin
<b>Vedoucí diplomové práce:</b>	doc. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.
<b>Oponent:</b>	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Předkládaná práce se zabývá výběrem vhodného derivatizačního postupu, který by měl být použit na stanovení molekul s aminovou a hydroxylovou funkční skupinou, které se vyskytují v tělesných tekutinách, hlavně v moči a složkách krve. Metody derivatizace a případné následné extrakce byly testovány na standardech aminokyselin, biogenních aminů a hydroxysloučenin. K identifikaci získaných derivátů byla použita metoda kapalinové chromatografie s UV/VIS detekcí nebo hmotnostním spektrometrem.

V Teoretické části práce jsou popsány metabolity, na které byla práce zaměřena. Dále jsou zde charakterizovány druhy vzorků, shrnuty principy kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie, a také popsány nejběžnější derivatizační činidla. Teoretická část je psaná pečlivě s dostatečným počtem literárních citací, nicméně by bylo vhodné přidat obrázky chemických struktur zkoumaných látek. Experimentální část je psána obvyklým způsobem, jsou zde uvedeny přístroje, zařízení, chemikálie a postupy, podle kterých diplomatka pracovala. V Kapitole Výsledky a diskuze autorka na 20 stranách logicky a výstižně vysvětluje, popisuje a komentuje výsledky měření dosažené použitím čtyř různých derivatizačních činidel.

Celková čtivost i grafická úroveň práce je na velmi dobré úrovni, s minimem gramatických, typografických nebo věcných chyb. Např.: některé zkratky nejsou uvedeny v seznamu zkratek (1,7-DIA, TEA – nenašel jsem ani v textu); str. 43: rozměr kolony 15 cm x 3 mm x 3,5 mm; str. 62: nejedná se o obrázky 24 a 25, ale 23 a 24; str. 18: „vnikající“ místo vznikající; obrázek 16 má legendu až na další straně, atd.

Dále uvádím k práci několik nejzávažnějších chyb, připomínek a dotazů:

1. Názvy některých obrázků a tabulek by mohly být konkrétnější a výstižnější. Např. Obrázky 20 a 21 nejsou MS spektra glukosy a kyseliny gallové, ale jedná se o jejich deriváty s benzoylchloridem. Podobně Tabulka 2 se nazývá Souhrnné informace o separovaných látkách. Přitom jsou zde uvedeny jen molekulové hmotnosti látek a jejich derivátů s fenylisothiokyanátem (obdobně Tabulka 3).
2. Kapitola 2.3.2.1, str. 41: Po reakci s PITC byl vzorek vysušen, rozpuštěn v 200 µl methanolu, odstředěn a zfiltrován. Bylo možné takto malý objem přes stříkačkový filtr zfiltrovat? Případně jak velký filtr byl použit?
3. Obr. 18: Jak si autorka vysvětluje malou účinnost extrakčního činidla pro některé deriváty AMK?
4. Byla testována opakovatelnost derivatizačních reakcí? Poskytuje reakce reprodukovatelné výsledky?
5. V Anotaci autorka píše, že „Výsledky získané pomocí jednotlivých činidel jsou diskutovány a porovnány“. Nicméně v kapitole Výsledky a diskuze jsem žádné porovnání výsledků čtyř použitých činidel mezi sebou nenašel. Jaké činidlo je tedy nejvhodnější a proč?

Závěrem mohu konstatovat, že i přes veškeré nedostatky a poruchy přístroje bylo zadání diplomové práce splněno. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji známkou

A

V Pardubicích 22. 7. 2020

---

Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.