

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení:	Bc. Viktor Kubeček
Studijní program:	Analýza biologických materiálů
Specializace:	Analýza biologických materiálů
Název diplomové práce:	Stanovení aminokyselin v biologických vzorcích metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí
Vedoucí diplomové práce:	prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D.
Konzultant diplomové práce:	Mgr. Michal Kopčil

Bc. Viktor Kubeček se ve své diplomové práci zabývá vývojem a optimalizací metody pro stanovení aminokyselin ve vzorku suché kapky krve kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Stanovení hladin aminokyselin v krvi podává významné diagnostické informace o vážných chorobách, např. o fenylketonurii nebo nemoci javorového sirupu. Jednou z možností laboratorního vyšetření je málo invazivní technika suché kapky krve, která se běžně používá při novorozeneckém screeningu.

V teoretické části se autor zabývá aminokyselinami a jejich metabolismem. Dále se dočteme o metodikách stanovení aminokyselin v biologických vzorcích, přičemž se práce nejvíce zaměřuje na kapalinovou chromatografii s hmotnostní detekcí. V experimentální části se popisuje vývoj metody, její optimalizace, validace a vliv několika faktorů na stanovení. Kapitola Výsledky a diskuze obsahuje velké množství grafů a tabulek, které nejsou komentovány. K 8 grafům a 6 tabulkám jsou pouze 2 strany textu, který je velmi strohý a nediskutuje dosažené výsledky. Navíc je zbytečně vynecháno místo na str. 48 a 50.

Diplomová práce je psána klasickým způsobem, s logickým členěním do jednotlivých kapitol. Vyskytuje se zde velké množství překlepů a nepřesných formulací. Po formální stránce je práce na velmi nízké úrovni. Je zřejmé, že práce s programy WORD a EXCEL dělá studentovi velké potíže. Už v obsahu můžeme vidět špatné formátování, kdy text by měl být pod sebou. U seznamu obrázků, grafů, rovnic, tabulek a příloh není dodržena jednotnost mezer ani řádků ani mezi slovy (viz. Graf 3, Graf 4, Tabulka 1), špatné formátování přetrvává, text není pod sebou, jsou použity různé druhy pomlček, zbytečné roztahování textu. V celé diplomové práci není zachována jednotnost tabulek, každá tabulka má jiné ohraničení a různorodé zaokrouhlování desetinných míst.

Níže jsou uvedeny připomínky a dotazy k předkládané práci.

Připomínky:

- Prohlášení autora nesplňuje směrnici Směrnice č. 7/2019.
- Seznam zkratk není kompletní, chybí např. FTA, UV, Vis...
- Citace literatury:
 - není dodržena jednotnost, např. u zdroje 39 je použita zkratka názvu časopisu a u zdroje 40 je použit plný název toho samého časopisu.
 - některé zdroje na časopisy nemají uvedeno dostupné z: DOI, i když ho mají.
 - u knih není uvedeno ISBN.
 - zdroj by měl být uveden na jednom listě (zdroje 19, 36, 43, 52 jsou nevhodně rozděleny).
 - dochází k roztahování řádků, např. zdroj 17.
- V Tabulce 1 isoleucin jako jediný nemá zkratku, u tyrosinu se překrývá vzorec s názvem.
- Str. 17 – u glycinu při popisování katabolismu jsou použity stejné závorky u číslování drah jako u literatury. Není zřejmé, zda se jedná o odkaz na literaturu, nebo opravdu jen označování drah. To samé nastává u cysteinu, str.20.
- Str. 23 – výraz „aby se předcházelo chybám a aby se šetřilo časem“ by šel jistě popsat vhodnějším způsobem.
- Obrázek 5 obsahuje způsoby zavádění vnitřního standardu do vzorku suché kapky krve označované písmeny A – E. Bylo by vhodné, tato písmena aplikovat do textu a popsat tyto metody v obrázku.
- Str. 32 – pokud jsou cíle práce takto krátké, zahrnují se spíše do diskuze.
- Str. 33 – kyselina mravenčí $w = 0,98 - 100$. Opravdu se takto uvádí?
- Str. 34 – kapalinový chromatograf – jiné úrovně odrážek by měly být odsazeny.
- Str. 36 – přílišná mezera mezi kapitolami 3.4.4 a 3.4.5.
- Experimentální část zahrnuje velké množství kapitol a podkapitol, které jsou velmi stroze popsány. Od strany 36 po stranu 42, kde je popsána příprava vzorků, standardů, podmínky metody aj., je použito 22 kapitol. Velmi často je kapitola popsána jen jedním souvětím.
- Graf 1 a 2 – Graf 2 je pokračováním Grafu 1. Neuvádí se 1. část a 2. část, ale Graf 1 – pokračování, stejně jako je uvedeno u tabulek.
- U Grafu 3 je jen část legendy, jsou popsány pouze 4 barvy z 8.
- Graf 4 v kapitole 4.1.2. není vůbec okomentován.

K práci mám několik dotazů:

- V kapitole 4.1.5. Linearita metody uvádíte, že hodnoty LOD a LOQ jsou vysoké a nepřijatelné. Bohužel mi chybí vysvětlení, proč to tak je. Mohl byste zdůvodnit tyto vysoké hodnoty parametrů? Dále prosím vysvětlíte, proč jsou kalibrační roztoky připraveny také ve vodě – Tabulka 12.
- Mohl byste vysvětlit u Grafu 8, kde uvádíte účinky matrice metody pro stanovení aminokyselin ve vzorcích DBS, zápornou hodnotu citrulinu u přídatku P1?

I přes uvedené připomínky bylo splněno zadání diplomové práce, proto ji doporučuji k obhajobě, avšak na základě velmi nízké úrovně a výše uvedených připomínek ji hodnotím známkou

E.

Ing. Martina Špryncová, Ph.D.