

# OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

**Autor:** Bc. Sandra HLADÍKOVÁ

**Název práce:** Analýza vybraných kanabinoidů

Úkolem diplomantky bylo zpracovat literární rešerši zaměřenou kanabinoidy a možnosti jejich stanovení v biologických vzorcích. Cílem experimentální části bylo navrhnout a ověřit metodu GC-MS pro stanovení vybraných kanabinoidů a validovanou metodu aplikovat na reálné vzorky.

V teoretické části jsou popsány základní charakteristiky kanabinoidů, jejich rozdělení na kanabinoidy přírodní a syntetické a účinky na lidský organismus včetně metabolismu. Prezentovány jsou i legislativní limity pro THC a syntetické kanabinoidy (SK). Pozornost je věnována analytickým postupům pro stanovení těchto látek, a to od odběru vzorku přes izolaci a zakoncentrování až po samotnou analytickou koncovku. Hlavní důraz je kladen na metody kapalinové a plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

V praktické části diplomantka navrhla a pomocí vybraných validačních parametrů ověřila GC-MS metodu pro stanovení pěti vybraných kanabinoidů. Pro jejich identifikaci i kvantifikaci využila deuterované standardy. Navržená metoda byla úspěšně aplikována na vzorky od pacientů užívajících želatinové medvídky obsahující SK, kde byl identifikován a následně i kvantifikován hexahydrokanabinol (HHC).

Práce má obvyklé členění a dostatečný rozsah dle směrnice č. 7/2019 Univerzity Pardubice, i když pouhých pět stran kapitoly Výsledky a diskuze (včetně obrázků) působí až zbytečně stručným dojmem a jistě jí mohla být věnována větší pozornost. V práci se vyskytuje přiměřeně malé množství překlepů a gramatických prohrěšků (např. *deprivatizace*, *rozsah byla prokázán* nebo *selektivit byly ověřena*). Negativně lze hodnotit nadměrné používání slangových výrazů, jako např. vortexovat, odpipetovat, alikvotní, vialka, centrifugovat... Za slangové je považováno i vyjadřování molárních koncentrací ve formě M namísto mol/l (nebo mol/dm<sup>3</sup>). Po formální stránce je třeba upozornit i na to, že čísla kapitol jsou číslovky základní (nikoli řadové) a citace jsou vždy součástí věty (patří tedy před tečku). V neposlední řadě nelze opomenout i fakt, že ne každá zkratka je definována nejen v seznamu zkratek, ale především při prvním použití v textu.

## ***K práci mám následující dotazy, připomínky a náměty pro diskuzi:***

- Str. 18 – Co je myšleno termínem „stechiometrie“ v souvislosti se strukturou kanabigerolu (CBG)?
- Str. 33 – Na konci prvního odstavce je chybně uvedeno, že chromatogram „je graf závislosti času na intenzitě měřené veličiny“. Toto je principiálně nesmysl. Mohla by to diplomantka uvést na správnou míru?
- Str. 37 – Spojení plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií se obvykle značí zkratkou GC-MS/MS a nikoli pouze GC-MS.
- Str. 37–42 – U kapitol věnovaných stanovení kanabinoidů v biologických matricích s využitím GC-MS, resp. LC-MS, jsou vždy uvedeny pouze podmínky zpracování vzorků, ale chybí tam alespoň základní informace o vlastním stanovení (např. typ kolony, použitá mobilní fáze a další).
- Str. 43 – V tabulce 1 je sloupec Citlivost nazván chybně, neboť v tomto sloupci nejsou údaje o citlivosti, ale pouze hodnoty LOD a LOQ, což není to samé. Navíc to je i v přímém rozporu s definicí citlivosti na straně 46 této práce.
- Str. 47 – Mohla by diplomantka blíže specifikovat směsné sérum použité v této práci?
- Str. 50 – S knihovnamy jistě nebyly porovnávány píky, ale šlo o hmotnostní spektra.
- Str. 50 – V kapitole „Optimalizace metody“ ani jinde v práci jsem nenašel chromatografické podmínky použité v této práci (tj. objem analyzovaného vzorku, teplota nástřikového prostoru, teplotní program, průtok nosného plynu, atd.).
- Str. 53 – Co znamená zkratka G-MAS u jednoho z roztoků v rámci hodnocení selektivity?

- Str. 54 – V poznámce je uvedeno, že: „Všechny roztoky drog a uměle připravené vzorky byly připraveny Mgr. Petrou Boguschovou z Oddělení klinické biochemie a diagnostiky Pardubické nemocnice.“. Jaký byl důvod pro tento postup?
- Str. 55 – U obou chromatogramů chybí popisky os.
- Str. 56 – V jakých jednotkách jsou v tabulce 6 uvedeny kolizní energie? Mimochodem v celé práci není dodržen jednotný formát tabulek.
- Str. 58 – Mohla by diplomantka blíže specifikovat, jak byla vyhodnocena výška šumu pro výpočet hodnot LOD a LOQ?
- Str. 60 – Nebylo možné v rámci studie získat vzorky, kde by bylo možné stanovit nebo alespoň prokázat i jiné studované sloučeniny než pouze HHC?
- Seznam literatury – U některých zdrojů chybí stránkový rozsah nebo číslo článku (např. 11, 57 nebo 58). Chybně jsou pak prezentovány citace 63 (prof. Holčapek, pokud vím, je stále z Katedry analytické chemie), 57 (jedním ze 3 spoluautorů tohoto vydání je i doc. Česla – proděkan FChT) a 86 (citace na zdroj od vedoucí této diplomové práce, avšak nelze zjistit, o co se jedná – skripta to určitě nejsou).

Přes výše uvedené připomínky lze konstatovat, že práce přináší užitečné poznatky z oblasti analýzy kanabinoidů a navržená metoda má potenciál rutinního využití v příslušných laboratořích. Její stavba je logická, s odpovídajícím počtem experimentálních výsledků a v souladu se zadáním práce.

Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce **Bc. Sandry Hladíkové** splňuje požadavky kladené na diplomové práce, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji hodnocení:

– C –

V Pardubicích dne 21. května 2025

doc. Ing. Martin ADAM, Ph.D.  
Oponent diplomové práce