

Posudek školitele diplomové práce

Student: Bc. Iveta Kulhánková

Název diplomové práce: Porovnání metod a postupů přípravy vzorku pro stanovení hladiny glutathionu v lidské krvi získané technikou suché kapky

Školitel diplomové práce: prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.

Diplomová práce studentky Ivety Kulhánkové se věnuje problematice stanovení glutathionu v lidské krvi získané technikou suché kapky metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. V úvodu se studentka zabývá vlastnostmi a významem glutathionu v lidském organismu, možnostmi přípravy vzorku před analýzou, technikou suché kapky krve a metodami stanovení glutathionu v biologických vzorcích. Cílem diplomové práce bylo porovnat postupy přípravy vzorku pro stanovení hladiny glutathionu v lidské krvi získané technikou suché kapky, studovat vybrané parametry ovlivňující kvantitativní výsledky a porovnat hladiny glutathionu ve vzorcích suché kapky krve získané spektrofotometrickou metodou a metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Největším problémem při stanovení glutathionu v biologických vzorcích je jeho snadná oxidace vedoucí k falešně nízkým hladinám. Proto je třeba glutathion v biologickém vzorku vhodně stabilizovat, v této práci byl glutathion redukován a stanovena hladina tzv. celkového glutathionu. Experimentální část diplomové práce je srozumitelná a obsahuje potřebné informace k přípravě vzorků suché kapky krve a metodě kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Zpracování výsledků a jejich diskuse činilo studentce velké problémy. Zda má hodnota hematokritu vliv na hladinu glutathionu ve vzorcích suché kapky krve, nelze jednoznačně potvrdit, jelikož rozptyl získaných výsledků je velký. Hladina glutathionu se zvyšovala se zvyšujícím se množstvím nanášené krve na odběrovou kartu, hladina glutathionu v discích vyražených ze středu a periferie krevní skvrny se významně nelišila, lze tedy předpokládat, že krev se na odběrové kartě šíří homogenně. Přesnost metody v sérii je pro vzorky suché kapky krve přijatelná (hodnota variačního koeficientu do 10 %), mezi sériemi už méně přijatelná (hodnota variačního koeficientu nad 10 %). Výtěžnost metody je nedostatečná, se zvyšujícím se přidavkem glutathionu ke vzorku krve před jejím nanesením na odběrovou kartu se výtěžnost snižuje. Hodnoty meze stanovitelnosti a detekce jsou vysoké, v čemž nespatřuji problém. Kalibrační standardy jsou totiž připravovány tak, že standardy glutathionu o různé koncentraci jsou smíchány s krví a poté naneseny na odběrovou

kartu. Bylo by vhodné, aby studentka v rámci obhajoby o této problematice pohovořila, stejně tak o porovnání hladin glutathionu získaných spektrofluorimetrickou metodou a metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí.

Závěrem konstatuji, že cíle diplomové práce byly splněny, studentka přistupovala k práci svědomitě, avšak její slabinou bylo zpracování získaných výsledků a sepsání textu diplomové práce. Diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou **C**.

V Pardubicích 19. 5. 2025

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.