

Posudek vedoucího diplomové práce Bc. Lenky PORTYCHOVÉ

„Optimalizace metody pro stanovení látek typu katecholaminů“

Cílem diplomové práce Lenky PORTYCHOVÉ bylo vyvinout a validovat metodu pro stanovení plazmatických metanefrinů jako zástupců katecholaminů ve vzorcích plazmy. Pro tento účel optimalizovat jak postup izolace sledovaných sloučenin s využitím metody extrakce tuhou fází (SPE), tak i následnou analýzu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí (HPLC-ECD).

V teoretické části diplomantka zpracovala literární rešerši týkající se katecholaminů, jejich specifikaci, výskytu v potravinách a významu pro diagnostiku nádorových onemocnění, jakým je především feochromocytom, tj. tumor dřenež nadledvin. Popsány jsou rovněž možnosti stanovení katecholaminů, a to včetně zpracování biologické matrice, izolace sledovaných sloučenin i samotné analytické koncovky.


V experimentální části, která byla realizována v laboratořích VUOS a.s., byly prověřeny možnosti využití elektrochemických detektorů při HPLC analýze plazmatických metanefrinů (tj. metanefrinu, normetasnefrinu a 3-methoxytyraminu). Testovány byly detektory CoulArra a Coulochem III, přičemž tento se ukázal být výrazně citlivější než prvně jmenovaný detektor CoulArray. Jako hlavní cíl práce však bylo nalézt vhodné podmínky pro izolaci sledovaných sloučenin metodou SPE. Pro tento účel bylo testováno 14 různých SPE kolonek nejčastěji na bázi iontoměničů a zkoušeny byly i různé podmínky pro kondicionaci, promytí kolonky a eluci sledovaných metanefrinů. Zkoumány byly pufrы (fosfátový, citrátový a směsný), kondicionační a promývací roztoky a v neposlední řadě i jejich množství a případná potřeba vysušení kolonky v proudu dusíku a také potřeba odpaření získaného eluátu. Optimalizovaná metoda byla finálně aplikována na vzorky plazmy získané z 1. LF UK v Praze jako pozitivní vzorky, přičemž tato pozitivita byla potvrzena i metodou vyvinutou v této diplomové práci.

K hodnocení diplomantky lze uvést, že pracovala samostatně a především systematicky. Podařilo se jí zvládnout experimentální problémy spojené s používáním moderní analytické instrumentace a pozitivně lze hodnotit i práci s literaturou. Navíc diplomantka získala i velmi cenné zkušenosti s prací na odborném projektu v rámci práce ve VUOS a.s. Rybitví. Diplomová práce je vypracována plně v rozsahu zadaného úkolu, je srozumitelná a výsledky jsou zpracovány přehledně a na velmi dobré odborné úrovni.

Diplomovou práci hodnotím známkou:

- výborně -

V Pardubicích 29. května 2013


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