

POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Katedra:	Katedra analytické chemie
Autor:	Bc. Jan Vlach
Název práce:	Stanovení kyselých glykosfingolipidů v lidské plazmě pomocí hmotnostní spektrometrie
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Robert Jirásko, Ph.D.
Oponent:	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Bc. Jan Vlach se ve své diplomové práci zabýval optimalizací podmínek přípravy vzorku a podmínek stanovení sulfatidů a gangliosidů pomocí MALDI technik hmotnostní spektrometrie. Student porovnával různé extrakční přístupy přípravy vzorku k analýze a následně u nevhodnějších podmínek provedl validaci. Ve finále byla metoda otestována na referenčním materiálu.

Teoretická část práce je členěna na dva větší celky, a to na kapitulu o studovaných lipidech a na kapitulu o lipidomické analýze. Informace jsou vcelku ucelené, i když některé kapitoly by mohly být více zaměřeny na téma diplomové práce a použité techniky. Např. MALDI, které je klíčovou metodou, je věnován pouze jeden odstavec (osm řádků). Oproti tomu HPLC je rozepsáno na jeden a půl strany, a přitom v kapitole Výsledky a diskuze je o HPLC jen jedna jediná zmínka. V experimentální části jsou uvedeny přístroje, zařízení, vzorky, chemikálie a postupy, podle kterých diplomant vzorky zpracovával. V kapitole Výsledky a diskuze autor na 17 stranách vysvětluje, popisuje a komentuje výsledky získané při optimalizaci Folch a SPE-C18 extrakce, validaci vybrané a optimalizované extrakce, a testování na referenčním vzorku.

Autorovi jsou zřejmě naprosto cizí jakákoliv pravidla o citování použité literatury. V textu jsou citovány odkazy různými způsoby ([1] [2] [3], [1, 2, 3], [1–3]), není dodržena posloupnost ([16] → [20], [23] → [25] → [27], a další), v seznamu literatury jsou citace naprosto nejednotné a neúplné (např. někde je uvedena první strana publikace, někde rozsah, někde chybí úplně) a např. [13] není v textu ani v seznamu literatury. Dále pochybuji o správnosti citací. Obrázek 7 by měl pocházet z odkazu [22], nicméně se v této publikaci vůbec nevyskytuje.

Celková čtivost je průměrná, poměrně dost výrazů nebo vět je neobratných a málo pochopitelných. Diplomová práce obsahuje větší množství gramatických, typografických nebo věcných chyb. Např.: čárky ve větách; tečky na konci vět; chybějící nebo přebývající mezery; členění na 7 podkapitol je už příliš a znesnadňuje orientaci (např. 1.4.1.2.2.1.1); Obrázek 8 (str.24) chybí; na obrázku 9 (str. 33) by měly být elektrody Orbitrapu, ale jedná se o schéma Folch extrakce (str. 43); v textu je hexadecanal, na obrázku hexadecanol (str. 21); „rozpuštědla protýkala“, správně protékala; Obr. 13 a 14 má naprosto stejné názvy; v textu LH, v tabulce HL (str. 61); a další.

Kvalita tabulek a obrázků by měla být rozhodně na lepší úrovni. Např. někde chybí vyznačení os (Obr. 26), někde legenda (Obr. 25), Obrázek 24 je na třech stranách, u grafech v obrázcích by měly být značky hodnot na osách, poslední dva řádky tabulky 4 jsou nesmyslně na druhé stránce.

Dále uvádím k práci několik připomínek a dotazů:

1. Str. 35: „V biologických vzorcích tekutin, buněk a tkání se nachází nesčetné množství sloučenin, látek, molekul.“ Jaké jsou rozdíly mezi sloučeninou, látkou a molekulou?
2. Kapitola 2.3.2 (str. 40): Použitá mobilní obsahovala pouze 0,5 µl kyseliny octové na 100 ml mobilní fáze? Tedy jen 0,0005% roztok? Má takto malá koncentrace vliv na separaci nebo ionizaci molekul?
3. Kapitola 2.5.1 (str. 42): Směsný vzorek plasmy byl připraven smícháním adekvátních podílů plasmy (100 ml) od 100 dobrovolníků. Směsného vzorku plasmy tedy bylo 10 litrů?!
4. K čemu byl používán 9-AA? Nikde v kapitole Výsledky a diskuze ani Experimentální část není zmíněno proč se do vzorků přidával.
5. Kapitola 2.5.2 (str. 42): Popis postupu extrakce není úplně jasný. Na začátku je napsáno, že bylo odebráno 25, 100 a 200 µl plasmy do 4 ml vialek. Níže pak je: „pro 25 µl a 50 µl se zakoncentrováním... a pro 100 µl plasmy... Pro 200 µl bylo použito...“. Byly tedy čtyři odběry? Také prosím o vysvětlení, jak může být odpařený vzorek zakoncentrován (2x, 5x a 10x).

6. Kapitola 3.1 (str. 50): 7% a 10% NH₃ v methanolu je nevhodný na eluci aGSL. Přitom v experimentální části je uvedeno, že byl na eluci použit 5% NH₃ v methanolu. Jaké rozpouštědlo s vyšším pH by bylo možné na eluci použít?
7. Str. 60 a 61: Co autor myslí výrazem funkčnost extrakce a termínem „výsledky se zdají zdařilé a tedy přesné“. Pokud se provádí validace, tak buď jsou validační kritéria dané autority splněna nebo nikoliv. Podle jaké autority byla validace prováděna?

Závěrem mohu konstatovat, že bylo zadání diplomové práce splněno. Jedná se o zajímavou práci v oblasti lipidomiky, nicméně veškeré nedostatky výrazně snižují dojem a úroveň celé diplomové práce. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji známkou

C

V Pardubicích 30. 5. 2022

Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.