

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **Mgr. Ján Stariat, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2012

Autor/ka práce: Andrea Mrvová

Název práce:

Metabolomic analysis of urine samples using ultra performance liquid chromatography and high resolution mass spectrometry

Rozsah práce: počet stran: 62, počet grafů: 0, počet obrázků: 38,

počet tabulek: 12, počet citací: 30, počet příloh: 1

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: výborný
- e) Presentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce je napsaná v anglickém jazyku, je členená do 8 kapitol a je zpracovaná přehledně. Teoretická část je poměrně stručná (13 stránek), autorka se v její úvodě věnuje problematice metabolomiky a základním aspektem hmotnostní spektrometrie. Následně je pozornost věnována popisu HILIC a reverzního separačního módu, včetně charakteristik použitých kolón. V závěrečné teoretické části jsou představeny vlastnosti použitého analytického programu a výhody volně přístupné metabolické databáze METLIN.

Experimentální část, včetně kapitoly věnované výsledkům a diskusi, jsou poměrně rozsáhlé a detailně komentované.

Dotazy a připomínky:

Připomienky:

- V práci je málo gramatických preklepov a nesprávnych termínov (napr. str. 5 - "mass spectrograph", str. 53, obr. 36 - pravdepodobne prehodené označenia píkuv v chromatograme), avšak v anglických vetách je mnohokrát použitý český slovosled. Text práce by bolo vhodnejšie zarovnať na stred.
- Zoznam skratiek by bolo vhodnejšie uviesť v abecednom poradí a nie v poradí podľa ich výskytu v texte.
- V teoretickej časti nie sú v texte uvedené odkazy na niektoré obrázky (napr. 1-4), v experimentálnej časti bola u viacerých chromatografických záznamov a hmotnostných spektier zlá čitateľnosť názvov os.

- V teoretickej časti by bolo vhodné zamerať sa vo väčšej miere na výhody použitej inštrumentálnej techniky, definovať niektoré dôležité pojmy ako analýza s vysokým rozlíšením a správnym určením hmotnosti, vrátane chyby merania (ppm).
- Str. 10 - podkapitola "3.2.2 Columns" je trochu nelogicky umiestnená do kapitoly venovanej hmotnostnej spektrometrii (3.2 Mass spectrometry).

Otázky:

- Na str. 12 píšete, že chromatografia v reverznom móde je ideálna pre separáciu polárnych látok. Aké prístupy sa využívajú pre zvýšenie retencie polárnych analytov v reverznom móde? Sú takéto prístupy kompatibilné s hmotnostnou spektrometriou?
- Na str. 13 uvádzate, že u separačného módu v reverznom usporiadaní sa v prípade gradientovej elúcie zvyčajne zvyšuje podiel viac hydrofóbného rozpúšťadla. Využíva sa u reverzného módu aj opačný prístup, tj. zvyšujúca sa hydrofilita mobilnej fázy počas gradientu?
- Str. 19-20, úprava vzorky pred analýzu - prečo bola vzorka určená pre HILIC kolónu v rámci jej úpravy ponechaná 100 min v chlade? Prečo bola u prípravy blanku určeného pre analýzu na kolóne F5 použitá namiesto moči voda, avšak u kolóny HILIC bol použitý acetonitril?
- Str. 21 - je príprava štandardov aminokyselín uvedená správne? Výsledná koncentrácia (cca 31,25 µg/ml) pre každý štandard je pri použití hmotnostnej spektrometrie neúmerne vysoká.
- Na str. 22 uvádzate, že skenovacie rozmedzie hmotnostného spektrometru bolo nastavené v rozsahu m/z 50-1600, avšak pri analýze dát ste využili iba rozsah m/z 60-250 (str. 25). Bolo nutné zaznamenávať takto vysoký rozsah?
- Str. 28 - na základe čoho bola vybraná daná skupina polyaminov, ktorá bola zahrnutá do databázy? Vzhľadom na nastavený rozsah sledovaných hmôt (m/z 60-250) ste posledný z nich prakticky nemohli hodnotiť (m/z 286).
- V diskusii uvádzate, že identifikácia niektorých analytov zlyhala vzhľadom na nesprávne určenie ich hmotnosti. V niektorých prípadoch bola chyba merania > 10 ppm, pričom výrobca uvádza u daného hmotnostného spektrometru teoretickú chybu merania ~ 0,5 ppm. Skúmali ste, čím mohla byť spôsobená takto vysoká chyba v určení hodnoty m/z ?

Celkové hodnotenie: výborně, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 29.5. 2012

.....
podpis oponentky / oponenta