

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

Katedra analytické chemie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Jiří Hromádko**

Vedoucí práce: RNDr. Hana Kočová Vlčková, Ph.D.

Rok obhajoby: 2020

Konzultant/ka práce:

Oponent/ka: doc. PharmDr. Petr Chocholouš, Ph.D.

Název práce:

**Vývoj UHPLC-MS/MS metody a postupu přípravy vzorků pro stanovení  
steroidních látek v potkaní plasmě**

---

Rozsah práce: počet stran: 91, počet obrázků: 42, počet tabulek: 25, počet citací: 57

**Hodnocení práce:**

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: velmi dobrá
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): velmi dobré
- d) Kvalita získaných experimentálních dat: výborná
- e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: výborné
- g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: výborná
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: výborná
- i) Splnění cílů práce: výborné
- j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: výborné
- k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): výborná
- l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): velmi dobrá

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Práce je sepsána v češtině. Popisuje rozsáhlé testování podmínek pro analýzu 37 steroidních látek s velmi blízkou strukturou a podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi v potkaní plazmě. Pro separaci v UHPLC-MS/MS bylo testováno 11 chromatografických kolon, optimalizovány podmínky hmotnostní detekce, optimalizováno složení mobilní fáze, gradient eluce a teplota separace. Optimalizován byl i postup úpravy vzorku pomocí proteinové precipitace tak, aby co nejméně ovlivnil kvalitu analýzy. Zde bylo využito statistické modelování experimentu. Výsledky jsou rozsáhlé a řádně hodnoceny pomocí bodových grafů a diskutovány s ohledem na složitost analýzy. Postup experimentální práce je logický a jasně ukazující, že je důležitá optimalizace každého kroku metody, a i jejich vzájemná souhra. Je zřejmé, že velká pečlivost ve výběru podmínek analýzy hrála klíčovou roli při vývoji takto komplexní metody. Výsledky veškerých kroků jsou diskutovány a závěry jsou jasné a správné. Práce je takřka úplným popisem vývoje metody pro separaci látek s velmi blízkou strukturou v biologickém vzorku a může být kvalitním východiskem pro vývoj podobných metod i pro poznávání schopností moderních bioanalytických metod.

Dotazy a připomínky: Rozsah práce je nadprůměrný, ale autor se nevyvaroval některým nepřesnostem. V abstraktu by měly být použity jen obecně známé zkratky. Celý abstrakt je méně čtivý díky zjednodušení některých částí textu. Číslování literatury není postupné, začíná od čísla 33. Cíle práce jsou jasné, ale text obsahuje i popis experimentů a závěry. Některé pojmy a názvy jsou nepřesné (separace na reverzní fázi, Phenomedex, první a třetí kvadrupól mají funkci hmotnostních analyzátorů, krystalické pevné látky, vnitřní standardní látky). Není uvedena čistota u standardů jednotlivých látek a přesnost navažování při přípravě roztoků. V teoretické části se objevují kapitoly patřící do experimentální (3.1.3 a 3.3.5), v experimentální části se zase objevují kapitoly patřící spíše do výsledků (vývoj a optimalizace). Objem precipitačního činidla v textu i tabulkách je uváděn v mililitrech, předpokládám, že správnou jednotkou jsou mikrolitry - prosím opravte v erratech.

1. Kolik plasmy jste měli k dispozici při vývoji a optimalizaci metody a kolik analytů obsahují vzorky, které budou pomocí metody stanovovány?

2. Jak si vysvětlujete odlišné chování analytu č. 25 jak při separaci, tak při detekci?

3. Pokud byl jako významný parametr úpravy vzorku vyhodnocen objem precipitačního činidla, proč nebyl testován i vyšší objemy než vybrané?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 14. 9. 2020

.....  
podpis oponentky / oponenta