

POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: Matricové efekty v LC-MS analýze: vznik, hodnocení a jejich odstranění.

Autor: Mgr. Pavel Svoboda

Celá disertační práce P. Svobody má 131 stran. Z toho 72 představuje vlastní text obsahující zejména teoretickou část a komentáře k publikovaným pracem. Zbytek, tj. 58 stran, tvoří pět přiložených kopií prací publikovaných autorem, které se zabývají studovanou problematikou. Náplní práce je výzkum matricových efektů, které negativně ovlivňují analýzu vzorků obsahujících velké množství komponent s použitím hmotnostní spektrometrie (MS). Tento problém je natolik závažný, že se mu věnuje řada i věhlasných skupin na celém světě a je tedy naprosto v pořádku, že skupina na FaF v Hradci Králové se danou problematikou rovněž zabývá.

Teoretická část se věnuje zejména vzniku a hodnocení matricových efektů a metodám používaným pro jejich odstraňování. Jedná se zde o základní poznatky, jež jsou vhodným uvedením do problematiky potřebným pro čtenáře, kteří nejsou specialisty v tomto oboru. Z hlediska pokroku v oboru však nepřinášejí nic nového. Opak je pak pravdou v následující části, kde autor hodnotí nové výsledky, kterých dosáhl v jeho vlastní experimentální práci. Jejich jednotícím motivem je posouzení či eliminace matricových efektů. Tak např. při stanovení katechinů ve vzorcích čaje byla použita kombinace UHPLC a MS-MS analýzy. Další práce pak pojednává o přípravě molekulárně vtištěného sorbentu (MIP) umožňujícího velmi selektivní vychytávání neurotoxické aminokyseliny z environmentálních zdrojů, v daném případě ze sinic. Podobný přístup, tedy použití MIP, byl rovněž zvolen ve vývoji metody pro stanovení statinů a jejich metabolitů v seru. Podobná metoda zahrnující použití MIP byl zvolena i pro stanovení jednoho ze statinů v přírodních zdrojích. Konečně, serum jako velmi komplexní matrice bylo základem i při vývoji metody pro stanovení různých forem vitamínu A s použitím kombinace superkritické fluidní chromatografie a MS.

Celkově k disertační práci nemám žádných vážných výhrad. Její téma považuji za aktuální a důležité pro další rozvoj oblasti matricových efektů z přesahem přinejmenším do oblastí klinické analýzy, ochrany životního prostředí, a kontroly kvality potravin.

Po přečtení celé disertační práce mám několik drobných připomínek:

1. Ačkoliv všech pět publikovaných prací popisuje samostatné projekty, nerozumím zcela jejich řazení. Podle mého názoru by bylo lepší je řadit podle metody použité pro eliminaci matricových efektů, tedy např. použití UHPLC, UHPSFC, a MIP. Zejména poslední z nich, metoda využívající MIP, byla použita ve třech případech a je tedy dominantní v celé disertaci a měla by být pojednána pospolu.
2. Při teoretickém popisu přípravy MIP autor v úvodu uvádí, že byly připraveny ve směsi methanol-voda a dokonce i v čisté vodě. Zde by se velmi hodily reference.
3. Struktura označená v obr. 1 na straně 88 jako N-methyl-L-alanine se mi zdá být chybnou porovná-li jí se strukturou alaninu v témže obrázku.
4. Ačkoliv nejsem podrobně obeznámen se současnou odbornou češtinou, přijde mi divné

používání výrazů jakoby českých jako „vtištěný“ jež je ekvivalentem pro imprinted, nebo „celostní“ pro comprehensive na jedné straně, ale elektrosprej, peak, validace, či blank (dříve jsme říkali slepý vzorek) na straně druhé.

5. V chromatografii je běžnější použití Kozeny-Carmanovy rovnice pro výpočet zpětného tlaku v koloně spíše než rovnice Darcyho (str.25).
6. Správný název polymeru popsáno na str. 26 je poly(styren-divinylbenzen).
7. Hodnota kapacity uvedena na str. 43 není dobře pochopitelná. Její hodnota 1 μg by měla být vztažena k váze nebo objemu sorbentu což zdá se není. Co znamená číslo 25 mg uvedené v závorkách?
8. Nevím je-li předepsán tisk disertace pouze na jedné straně papíru. Nicméně tisk po obou stranách by ušetřil poměrně výrazné množství papíru a celá práce by byla „zelenější“. Stejně tak by bylo příjemné pro čtení, kdyby kopie stran publikovaných článků pokrývaly celou stránku. Technicky to není problémem.

Náměty do diskuse:

1. Rád bych slyšel jakým způsobem byly voleny podmínky přípravy MIP. Ta by měla vycházet, jak sám autor uvádí, z požadavku tvorby komplexu mezi templátem a funkčním monomerem. Jaké tedy byly např. očekávané interakce mezi aminoskupiny obsahujícím silanem (APTES) a na aminoskupiny poměrně bohatými templáty? Podobně, simvastatin použitý jako templát zdá se neobsahuje funkčnost schopnou tvořit pevný komplex s methakrylovou kyselinou. Jak je tedy možné, že připravené MIP jsou schopné selektivně zadržet požadované molekuly? V této souvislosti stojí rovněž za diskusí porovnání kapacit připravených MIP s podobnými MIP připravenými jinými výzkumnými týmy.
2. Co vedlo autora ke stanovování právě katechinů v čajích. Byly extrakty prostě použity jako komplexní matrice a zkoumány jako takové. Předpokládám však, že motivací by mohla být třeba i kontrola kvality. Z úctyhodného počtu testovaných vzorků byly nesporně získány údaje, které by měly nějak souviset s kvalitou čajů. Z úvodu k publikované práci jsem vyrozuměl, že katechiny mají příznivý zdravotní dopad. To pak znamená, že čím více, tím lépe? Jsou snad i jiná kritéria pro hodnocení kvality čaje. Odpovědi na podobné otázky jsem očekával v části Conclusions kde se však nehovoří o významu studie pro normálního člověka třeba v souvislosti s tím, který čaj lze doporučit jako nejlepší pro normální spotřebu.

Závěr a doporučení:

Předloženou práci i přes několik drobných připomínek považuji za velice kvalitní. Je nesporné, že představuje důležitý vklad do arsenálu metod umožňujících stanovování vybraných látek ve velmi komplexních maticích. Tato disertace též dokládá, že autor dobře zvládnul typická úskalí vědecké práce. Proto konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené zákonem na disertační práce a jako takovou jí doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.