

## Oponentský posudek k disertační práci Mgr. Pavla Svobody

### **“*Matricové efekty v LC-MS analýze: vznik, hodnocení a jejich odstranění*”**

Hlavním motivem disertační práce Mgr. Pavla Svobody je jeden ze základních problémů analytiky a sice relevance získaných výsledků vzhledem ke komplexitě vzorku ve smyslu vyhodnocení míry matricových efektů a jejich minimalizace.

Předložená práce zahrnuje teoretické pojednání o matricových efektech, jejich podstatě, vyhodnocování jejich míry a metodách přípravy vzorku a měření, které je minimalizují či úplně eliminují. Na toto pojednání pak navazuje soubor pěti publikovaných prací, u niž je Mgr. Svoboda prvním autorem či spoluautorem, a komentáře k nim.

Žel, již na prvních stránkách teoretické části se můžeme setkat s nepřesným a nejednoznačným výkladem, např. fenomén matricových efektů dozajista nebyl poprvé popsán v roce 1993 Keberlem a Tangem, to platí až pro matricové efekty při ionizaci elektrosprejem. Také není možné souhlasit s tvrzením, že „Vlastní potlačení nebo zesílení ionizace ovlivňuje citlivost detektoru, ...“, ať už pro mluvnickou nejasnost (co je podmínem a co předmětem?), tak i pro faktickou nesprávnost – tyto dva jevy, účinnost ionizace a citlivost detektoru, spolu přímo nesouvisí. Hned na další stránce se vyskytuje příklad nepřesnosti v citačních dokladech – dizertant píše, že „Následkem toho dochází ke snížení schopnosti analyzované látky *přecházet z těchto kapiček do plynné fáze*, což způsobí potlačení ionizace [4][7].“ Minimálně autoři v práci [7] uvádějí „The exact mechanism by which the nonvolatile materials inhibit release of analyte into the gas phase has not been clearly demonstrated“, protože existují minimálně dva různé modely mechanismu ionizace elektrosprejem a model odpařování iontů (*ion evaporation model*) je jen jedním z nich. Abych Mgr. Svobodovi nekřivdil, frekvence podobných nedostatků se v dalším textu výrazně snižuje, ale stále je možné je nacházet (např. str. 10 „Extrakce z kapaliny do kapaliny je založena na převedení analyzované látky z vodné do organické fáze, a to na principu rozdělovacího koeficientu oktanol/voda.“, „potencionálně“ tamtéž, či na str. 11 „Molekulárně vtištěné polymery jsou syntetickým materiálem, který ve své struktuře obsahuje specifická rozpoznávací místa neboli kavity.“). Na druhou stranu, výklad u většiny metod je přehledný a věcný. Obsahově do teoretické části úplně nepatří více méně triviální úvod do chromatografie

(kapitola 3.3.2), ze kterého není úplně jasné, jaký má vztah k probíranému. V kapitole 3.4.3 (tu jde o drobnou chybu, patří správně 3.3.3) už autor dokázal skloubit výklad o hmotnostní spektrometrii s tematikou matricových efektů. V kapitole 3.4.4.1 (3.3.4.1) oponent postrádá zmínku o využití vnitřních standardů značených stabilními izotopy pro účely kvantifikace v MS, dizertant zmiňuje jen „V případě LC-MS jsou vnitřní standardy [značené stabilními izotopy] používány především z důvodu kompenzace chyb plynoucích z MS detekce“. A to pomíjíme fakt, že slovní spojení „MS detekce“ je velmi zjednodušující pohled na roli MS v LC-MS; MS je separační metoda sama o sobě.

Závěrečné dvě části obsahují nejprve komentáře k jednotlivým předloženým publikacím, některá dizertantova scientometrická data a publikace samotné (na nich se podepsalo vložení původních souborů ve formátu \*.pdf do MS Wordu, protože velikost fontů zvláště v popiscích k obrázkům výrazně omezuje čitelnost textu). Komentáře rozšiřují publikované práce o podrobnější popis motivací a postupů při získávání výsledků. Oponent by ocenil širší rozbor předpokladů a testovaných hypotéz, protože to jsou nejzajímavější části vědecké práce a do publikaci pronikají jen stěží. U publikovaných prací pak, kde dizertant není prvním autorem, by bylo patřičné doplnit i jeho podíl na výsledcích, když je zahrnul do dizertační práce.

I přes výše zmíněné výtky je text na slušné úrovni a dizertant prokázal schopnost tvůrčím způsobem vědecky pracovat, získané výsledky zpracovat, diskutovat a publikovat, viz tři prvoautorské články v odborných recenzovaných časopisech. Mgr. Svoboda splnil dle soudu oponenta požadavky kladené na dizertační práce v oboru, a proto předloženou disertační práci doporučuje k obhajobě.

18. 8. 2017, vypracoval Jan Havliš

### Otázky oponenta:

1. Na pozadí principů formování iontů při ionizaci elektrosprejem popište a vysvětlete základní vlivy způsobující potlačování ionizace (*ion suppression*).
2. Sám jste při vašich výzkumech imunoafinitní extrakci na pevnou fázi nepoužil, ale šlo by ji použít i pro vaše analyty a eventuálně za jakých okolností?
3. Čím je v tabulkách 2 a 3 práce Svoboda *et al.*, *J Pharm Biomed Anal* 114 (2015) 62 dán zde uvedený počet desetinných míst hodnot přesností (precizností)?
4. Jaký byl čas prodlevy nástupu gradientu eluční síly mobilní fáze (*dwell-time*) pro chromatogram v obrázku 1A v práci Svoboda *et al.*, *J Pharm Biomed Anal* 114 (2015) 62 za daných podmínek? Zakreslete do tohoto chromatogramu průběh gradientu pro dané měření.
5. Je možné nějak rozhodnout, jsou-li závislosti obsahu TAC pro různé doby louhování při teplotách 80 a 100 °C v obrázku 2C práce Svoboda *et al.*, *J Pharm Biomed Anal* 114 (2015) 62 totožné či nikoliv? V případě, že by byly totožné, máte nějaké vysvětlení pro tento jev s ohledem na podobné analýzy u jiných typů čajů?

18. 8. 2017, vypracoval Jan Havliš