

V Praze dne 3. 6. 2019

Oponentský posudek
disertační práce Mgr. Ondřeje Hodka
„Determination of proteinogenic amino acids by high performance separation techniques“

Disertační práce Mgr. Ondřeje Hodka je zaměřena na analýzy aminokyselin. Třebaže je této problematice věnována v literatuře velká pozornost, s rozvojem metaboliky je stále potřeba rychlých a citlivých metod k jejich stanovení.

Disertační práce obsahuje dvě studie: první je věnována vývoji kapilární elektroforózy pro stanovení aminokyselin v rostlinách tabáku, druhá pak využití superkritické fluidní chromatografie pro stanovení aminokyselin v lidské plasmě.

Významnou částí první studie byla optimalizace extrakce aminokyselin z rostlinného materiálu postupem “design of experiments” (DoE), pomocí kterého byly vyhodnoceny faktory ovlivňující výtěžek extrakce a jejich optimální hodnoty byly určeny pomocí “response surface methodology” (RSM). Vlastní stanovení probíhalo pomocí CE s bezkontaktní vodivostní detekcí.

V druhé studii byla pro stanovení aminokyselin aplikována superkritické fluidní chromatografie s hmotnostní detekcí. Metoda vyžadovala kromě optimalizace separace též derivatizaci aminokyselin s 1-chlorbutanem.

Závěrem byly obě metody porovnány z hlediska jejich separační účinnosti, mezi stanovitelností a provozních nákladů.

Autor splnil cíle práce a vypracoval kvalitní disertační práci. Mgr. Hodek je autorem 6 publikací v impaktovaných časopisech, dvě jsou připraveny do tisku a 5 prací ve sbornících.

Práce je velmi dobře sepsána. Je logicky členěna, výsledky jsou správně interpretovány. Je třeba ocenit velmi dobrou angličtinu. Po formální stránce není práci co vytknout.

Dotazy a připomínky:

1) Nesouhlasím s tvrzením, že LC analýza aminokyselin je rychlejší než GC (str. 14). Na základě našich výsledků (např. P. Příkryl a spol., J. Sep. Sci. 2006, 29, 2653 – 2663) se potvrdilo, že GC je rychlejší a levnější než HPLC s fluorescenční detekcí. GC byla přibližně dvakrát rychlejší. Obě metody vyžadují derivatizaci a jsou zhruba stejně citlivé (LOD v desítkách pmolů). Lineární rozsah GC-MS byl o dva řády vyšší než HPLC-FD.

2) Velmi výhodné se jeví použití SFC s MS detekcí. Třebaže SFC je známá již dlouho, její comeback umožnila komerčně dostupná instrumentace. Souhlasím s autorem, že její aplikace vyžaduje zkušeného operátora. Doporučil by autor tuto metodu do klinických laboratoří?

3) Bylo by možné místo butyl esterů využít i methyl nebo ethyl estery, podobně jako v GC?

Závěr:



Výsledky disertace představují významný příspěvek k vývoji a využití kapilární elektroforézy a superkritické fluidní chromatografie při stanovení aminokyselin a mají reálné uplatnění v analytické praxi. Autor prokázal velmi dobré teoretické znalosti zkoumané problematiky a schopnost tvůrčí vědecké práce. Doporučuji, aby disertační práce Mgr. Ondřeje Hodka byla přijata k obhajobě a aby se stala základem pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc.