

Oponentní posudek na disertační práci Mgr. Ondřeje Hodka

Předložená disertační práce s názvem: „Stanovení proteinogenních aminokyselin vysokoúčinnými separačními technikami“ se zabývá velmi aktuálním tématem, jakým bezesporu je stanovení volný aminokyselin v komplexních matricích, jako je rostlinný materiál nebo lidská krevní plasma. Za tímto účelem byly vypracovány dvě rozdílné analytické techniky:

i) kapilární elektroforéza s bezkontaktní vodivostní detekcí (CE/C⁴D), kterou se podařilo stanovit 18 aminokyselin v listech tabáku, po extrakci roztokem HCl. Dosažený limit kvantifikace se pohybuje v rozmezí 60 až 230 μ M.

ii) superkritická fluidní chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií, kterou bylo stanoveno 20 aminokyselin v lidské krevní plasmě po derivatizaci 1-chlorbutanem. Dosažený limit kvantifikace se pohybuje v rozmezí 0,8 až 70 nM, což je o 4 až 5 řádů nižší hodnota v porovnání CE/C⁴D.

Prvně zmiňovaná metodika byla opublikována v *Analytical and Bioanalytical Chemistry* a druhá je ve formě manuscriptu připravena k publikaci; u obou článků je Ondřej Hodek uveden jako první autor. Navíc je prvním autorem nebo spoluautorem dalších pěti publikací v renomovaných časopisech s impakt faktorem.

Vlastní disertační práce je sepsána jako ucelená literární rešerše zahrnující obecný význam a výskyt proteinogenních aminokyselin, jejich stanovení pomocí chromatografických a elektroforetických metod se zaměřením na detekční techniky. Vlastní výsledky jsou shrnuty v příložených publikacích. Práce působí uceleným dojmem a svědčí o vysoké odborné vyzrálosti autora. Navíc práce obsahuje naprosté minimum formálních překlepů a chyb. K práci bych měl několik poznámek a připomínek:

1. Jak si vysvětlujete původ obrovského systémového píku a princip jeho potlačení, viz. Obr. 1 v *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 2383-2391.
2. Dosažené LOD a LOQ pro CE/C⁴D stanovení aminokyselin mi osobně přijdou jako podhodnocené, což může být způsobeno použitím starší verze C⁴D s duální vodivostní celou a absencí stacking technik. Přesto bych se chtěl zeptat, zda nebyly LOD a LOQ omylem počítány ze směrnice kalibrační závislosti pro plochu píku, jak je uvádělo v přehledné Tabulce 1 v *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 2383-2391. Směrnice kalibračních závislostí pro výšku píku nejsou vůbec zmiňovány.
3. Aminokyselina glycin neobsahuje chirální uhlík, proto by neměl být označován jako L-Gly, viz. připravovaný manuscript.
4. Byla změřena mobilita elektroosmotického toku v nepokryté kapiláře za použití 1,8 M kyseliny octové jako základního elektrolytu, viz. Obr. 4, str. 32, když se v příloženém textu potlačením elektroosmózy detailně zabýváte? Zóny elektroneutrálních látek byste se určitě dočkali v rozumném čase.

Závěrem bych chtěl konstatovat, že disertační práce Mgr. Ondřeje Hodka vykazuje všechny náležitosti požadované pro tento typ prací a vřele ji doporučuji k obhajobě.

V Českém Brodě dne 12. června 2019

Doc. RNDr. Ing. Petr Tůma, Ph.D.

A handwritten signature in blue ink, reading "Petr Tůma". The signature is written in a cursive style with a long horizontal stroke at the end of the name.