

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

Katedra analytické chemie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Michaela Lejnarová**

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

Rok obhajoby: 2019

Konzultant:

Oponent/ka: doc. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název práce:

**Porovnání dvou způsobů hodnocení matricových efektů při LC-MS/MS analýze**

---

Rozsah práce: počet stran: 87 včetně příloh, počet grafů: 34 v příloze, počet obrázků: 40, počet tabulek: 12, počet citací: 41.

Práce je: experimentální

a) Cíl práce je: zcela splněn

b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá

c) Zpracování teoretické části: dobré, avšak s mnoha výhradami

d) Popis metod: velmi dobrý

e) Prezentace výsledků: velmi dobrá

f) Diskuse, závěry: velmi dobré

g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

**Případné poznámky k hodnocení:**

Předložená diplomová práce se zabývá velice aktuální tematikou matricových efektů v LC-MS analýze. Práce dodržuje klasickou doporučenou strukturu a členění, které splňují formální požadavky.

V teoretické části se autorka věnuje popisu ionizačních technik a teorii vzniku, eliminaci a hodnocení matricových efektů. Úroveň odborného vyjadřování a správnost terminologie by však zasluhovaly mnohem větší pozornost stejně jako revize mnoha zbytečných překlepů či gramatických chyb. Termíny jako „kvantitativní stanovení“ nebo dokonce „kvalitativní stanovení!“ „výhodná separace“ by se na úrovni diplomové práce již vyskytovat neměly. Kromě nepřesných termínů jsou zde i naprosto chybná vyjádření, jako např. citace z úvodu: „Ionizace probíhají v kapalně fázi“ – není pravda, že ionizace s využitím všech API technik probíhá v kapalně fázi, nebo „Použitá ionizační technika vyžaduje správné zvolení ionizačního módu na základě acidobazických schopností látek a molekulových hmotností“, nebo, v části popisující APCI: „I přes to není stupeň ionizace často dostatečný, tak se APCI nejčastěji kombinuje s analyzátořem typu trojitěho kvadrupólu....“ a mnohé jiné. Tato naprosto nesprávná

tvrzení bohužel významně snižují kvalitu práce, a tak by si celá teoretická část zasloužila důkladnou revizi a opravu v Erratech. Tyto aspekty jsou samozřejmě důvodem ke snížení stupně známkování, neboť znalost základní terminologie je v pátém ročníku magisterského studia nepostradatelná. Dále není zřejmé ani členění všech podkapitol, jako např. v části 3.2. Podobně název kapitol 3.4.2 a 3.4.4 je nešťastně zvolen a působí zavádějícím dojmem díky využití pojmu směrnice ve dvou různých kontextech. Kromě toho, od roku 2019 existuje nová směrnice ICH, která též adresuje validaci bioanalytických metod, a tudíž uvedené informace jsou neúplné.

V teoretické části obecně dochází k mnohým opakováním a naopak, zcela chybí logické návaznosti. Poznátky z literatury jsou nesystematicky a neúplně vkládány do textu bez souvislostí a mnohdy ne zcela správně, a tak úvod to studované problematiky je spíše zmatený než přehledný a naprosto z něho nevyplývají obecné zákonitosti a závěry. Je tedy zřejmé, že autorka se v kontextu problematiky zcela neorientuje.

Dále v textu na str. 21 autorka zmiňuje, že rozpouštědlo vzorku bylo zvoleno na základě rozdělovacích koeficientů látek. Je škoda, že základní fyzikálně-chemické vlastnosti a struktury studovaných analytů nejsou v teoretické části vůbec uvedeny.

Další části diplomové práce jsou sepsány o něco zdařilejším způsobem.

#### **Experimentální část:**

Obsahuje přesto mnohé nepřesnosti, jako např. ve vyjadřovaných jednotkách (chybí nebo jsou chybné, např. str. 25, kolizní energie v Tab. 4 a 5) či ve využití desetinných teček namísto desetinných čárek, jak je v českém textu obvyklé. Standard atomoxetinu byl získán z firmy Zentiva. Bylo by vhodné používat české názvy pro všechny použité látky (str. 21), jako např. daklatasvir, maravirok, či pitavastatin, vápenatá sůl a tokotrienol, který mimochodem v seznamu použitých látek v kapitole 4.3 chybí. Podobně další termíny, jako např. mix se dají snadno vyjádřit česky či terminologicky správněji (např. „neionizuje v pozitivu“).

#### **Výsledky a diskuse:**

Dle mého názoru by bylo vhodnější používat termín optimalizace místo termínu výběr.

Kapitola 5.1 je popsána velmi vágně bez jasné informace, která nastavení byla vlastně optimalizována. V kapitole 5.2 jsou znovu uvedeny hodnoty z tabulek 4 a 5, což je zbytečné opakování. Tyto tabulky by bylo vhodné sjednotit.

V kapitole 5.3.1 jsou díky zvolené barevné škále grafy na obr. 8-10, ale i mnohé další obrázky, velmi obtížně interpretovatelné. Nevidím také důvod prezentace grafů pro jednotlivé směsi 1-3 v pozitivním záznamu iontů a poté souhrnný graf v negativním záznamu. Proč nejsou oba typy grafů souhrnné? Popisky obrázků by zasloužily větší pozornost (např. pro obr. 10: Optimalizace napětí na kapiláře pro směs 3 v pozitivním záznamu iontů apod.).

V kapitole 5.5 jsou použity na první pohled velice hezké grafy pro zobrazení optimalizace kolizní energie a výběru SRM přechodů. Čtenář však velmi těžko může posoudit, zda jsou zvolené SRM přechody vybrány správně díky posunu, 3D struktuře grafů a nejasně porovnatelné intenzitě.

Negativně hodnotím, že prakticky polovinu části výsledků tvoří jen optimalizace nastavení podmínek hmotnostního spektrometru, které jsou v této diplomové práci jen přípravnou fází a mohly by tak být uvedeny v příloze a nahrazeny souhrnnou tabulkou, případně některými zajímavými příklady.

Str. 47: Termín UPLC-MS/MS nelze ve spojení s označením techniky použít!

V kapitole 5.9 není zřejmé, proč byla zvolena prezentace porovnání matricových efektů dle jednotlivých směsí. Zajímavější by bylo pokusit se hledat nějaké souvislosti a případně doplnit i experiment postkolonové infuze.

#### **Přílohy:**

Prezentace kalibračních křivek by měla větší smysl, kdyby byla standardní křivka a matricová prezentována v jednom obrázku a ještě lépe, s částmi obrázku a, b, c, které by zobrazovaly jednotlivé transformace os.

**Otázky do diskuse:**

- (1) Str. 1: Vysvětlete, proč si myslíte, že validační autority přesně nespecifikují, jak mají být matricové efekty hodnoceny. Na str. 19 pak uvádíte, že vyhodnocení absolutních matricových efektů má nižší relevanci. Vysvětlete, proč si to myslíte. Co když naměříte absolutní matricové efekty -500%?
- (2) Str. 13: Vysvětlete, proč si myslíte, že technika LLE přináší vyšší riziko vzniku matricových efektů.
- (3) Str. 15: Jaký je váš názor na techniku Echo píku?
- (4) Str. 24: Jaký typ předkolony byl použit při vašich analýzách? (v práci není specifikováno).
- (5) Na str. 52 tvrdíte, že příčinou vysokého matricového efektu byla pravděpodobně látka se stejným SRM. To si v principu odporuje. Vysvětlete své tvrzení a také navrhněte, jak byste tento fakt ověřila.
- (6) Str. 53: Byla úprava navržená pro kalibrační křivku s logaritmickou transformací experimentálně ověřena?

**Celkové hodnocení, práce je: velmi dobrá, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 03. 06. 2019

.....  
podpis oponentky / oponenta