

## Posudek oponenta disertační práce

# „VOLTAMETRICKÉ A AMPEROMETRICKÉ STANOVENÍ HOMOVANILOVÉ, VANILMANDLOVÉ A 5-HYDROXY-3-INDOLOCTOVÉ KYSELINY“

**Autor: RNDr. Anna Němečková (roz. Makrlíková)**

Předložená disertační práce je napsána v anglickém jazyce. Sestává ze souhrnu, jehož rozsah činí 58 stran včetně abstraktu a referencí (celkem 161) a příloh, které obsahují 4 články autorky publikované v časopisech *Chemické Listy* (IF 0,311), *Electroanalysis* (IF 2,691, dva články) a *Analytica Chimica Acta* (IF 5,256) a jeden článek zasláný do časopisu *Journal of Electroanalytical Chemistry* (IF 3,218). Ve všech článcích je autorka uvedena na prvním místě a její autorský podíl je dle potvrzení školitele v příloze VI ve všech případech vysoký (40 – 80 %). Součástí práce (příloha VII) je seznam publikačních výstupů autorky (6 článků v odborných časopisech, 17 ústních a 2 plakátové prezentace na konferencích a odborných seminářích), praxe a grantů, na nichž se podílela jako hlavní řešitelka nebo členka řešitelského týmu. Tento přehled dokládá autorčinu nadstandardní odbornou aktivitu během doktorského studia.

Autorka se ve své disertační práci zabývá vývojem elektrochemických metod pro stanovení tří biomarkerů nádorových onemocnění: homovanilové (HVA), vanilmandlové (VMA) a 5-hydroxy-3-indoloctové (5-HIAA) kyseliny. Ačkoliv v práci nejsou explicitně definované její cíle, je z ní zřejmý promyšlený a systematický přístup k řešení dané problematiky. Důkladná literární rešerše poskytla autorce dobré východisko pro následné experimenty. Je potřeba vyzdvihnout značné množství zpracované literatury (celkem 161 citací, k tomu je třeba připočítat další, které jsou uvedeny v přiložených publikacích). Rozsáhlá experimentální práce logicky začíná (bohužel poněkud povrchním) zkoumáním základního voltametrického chování studovaných látek na sítotiskových uhlíkových elektrodách (SPCEs) metodou diferenčně pulzní voltametrie ve vsádkovém uspořádání. Následuje podrobnější elektrochemické studium v analyticky výhodnějším průtokovém uspořádání metodou průtokové injekční analýzy s ampérometrickou detekcí na SPCEs a borem dopované diamantové elektrodě (BDDE). Z praktického analytického pohledu je přínosná snaha o nalezení podmínek pro souběžné stanovení HVA a VMA. Pro potřeby analýzy studovaných látek ve složitějších biologických matricích byla v závěru vyvinuta metoda HPLC s ampérometrickou detekcí (s elektrodou ze skelného uhlíku ve wall-jet uspořádání detektoru zkonstruovaného v laboratoři), která umožňuje rychlé simultánní stanovení všech tří látek ve fyziologických i patologických koncentracích v moči.

### **K práci mám jen několik drobných poznámek, komentářů a otázek:**

- Str. 8: Domnívám se, že symbol pH (the negative decimal logarithm of the hydronium ion aktivity, nikoliv „negative of the decadic logarithm...“) je v chemii natolik základní a známý, že ho není třeba uvádět a vysvětlovat v seznamu použitých symbolů a zkratk.
- Občas se v textu vyskytují drobné chyby či překlepy (např. na str. 19 popisuje autorka u diamantu „large bang gap“ místo „band gap“; na str. 20 „diamond surface...manifest..“ místo „...manifests...“).

- Str. 17: Podle citované literatury (odkaz 77) se HVA projevuje na voltamogramech pouze jediným anodickým píkem, na rozdíl od VMA, která poskytuje při elektrochemické oxidaci dva píky. Avšak v experimentech publikovaných v článku [2] (v příloze II) jsou na voltamogramech dva dobře oddělené píky i pro HVA. Mohla by autorka objasnit tuto rozdílnost ve voltametričtém chování HVA?
- Str. 31, ř. 31: Proč byla použita „směs octanového a fosfátového pufru o pH 2,5? Jaký význam má octová kyselina v této směsi?
- Str. 85, příloha III, obr. 4B – výšky proudového sigálu na amperogramech (3) pro konc. 0,4  $\mu\text{mol/l}$  5-HIAA neodpovídají čtyřnásobku výšky píků na amperogramech (2) pro 0,1  $\mu\text{mol/l}$ .
- V grafech, kde jsou vyneseny průměrné hodnoty z několika opakovaných měření (např. v příloze III obr. 1 – 3, v kalibračních závislostech v člancích v přílohách IV a V), by bylo vhodné vyznačit odhady rozptylů pomocí chybových úseček.
- Str. 108, příloha V, obr. 2A: Vyšší citlivost (hodnota směrnice kalibrační závislosti) u 5-HIAA v porovnání s dalšími dvěma kyselinami je dána jiným mechanismem elektrochemické oxidace, který patrně zahrnuje větší počet elektronů účastnících se elektrodového děje (bylo by to vidět z hydrodynamických voltamogramů (HV), pokud by byly měřeny v daném detekčním systému za daných podmínek; lze se však opřít i o HV v publikaci [3] v příloze III, obr. 1). Podobně lze vysvětlit i poněkud vyšší směrnici kalibrační funkce u VMA oproti HVA.
- Str. 108, příloha V, obr. 2 a str. 112, obr. 4: Proč byla pro vyhodnocení chromatogramů v HPLC-ED i HPLC-UV a konstrukci kalibračních závislostí použita výška píku místo častěji používané plochy píku?

### Otázky k obhajobě:

- Ve studované problematice zůstává nedořešeným problémem mechanismus elektrochemické oxidace sledovaných látek. Mohla by autorka navrhnout metody, které by mohly přispět k jeho objasnění (zjištění počtu elektronů odevzdaných při anodické oxidaci, určení produktů elektrochemické reakce, zjištění vlivu adsorpce analytů v mezifázi elektroda/roztok,...)?
- Mohla by autorka podrobněji popsat, jak kvantifikovala obsah HVA, VMA a 5-HIAA v moči (výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 3 na str. 114 v příloze V)? Jaká jiná metoda kvantifikace by se dala použít pro HPLC-ED stanovení studovaných látek v moči?
- Kterou z elektrod, jež používala při svém elektroanalytickém studiu HVA, VMA a 5-HIAA, má autorka nejraději a proč? Kterou z vypracovaných metod by doporučila pro stanovení studovaných látek v klinické praxi a proč?

Práce je sepsána srozumitelně, dobrou angličtinou (zde je třeba ocenit schopnost autorky sepsat odbornou práci v angličtině) a shrnuje značné množství výsledků experimentální práce. Snad pouze prezentace výsledků v kapitole 4 je místy méně přehledná (čtenář je nucen listovat a hledat příslušnou obrazovou dokumentaci v přílohách). Výše uvedené připomínky a komentáře mají převážně formální charakter a mají sloužit autorce k podpoře jejího dalšího vědeckého úsilí.

Celkově lze shrnout, že výsledky disertační práce RNDr. Anny Němečkové, převážně již publikované v impaktovaných odborných časopisech a tedy prošlé recenzním řízením, přinášejí nové poznatky v aktuální problematice analýzy produktů metabolismu neurotransmiterů a mají potenciální význam pro klinickou praxi. Autorka prokázala, že je schopna samostatné tvůrčí práce v dané oblasti výzkumu a jsem přesvědčena, že její práce splňuje požadavky kladené na disertační práce v oboru analytické chemie. Proto ji k obhajobě a dalšímu řízení

***doporučuji.***

V Olomouci, 14. 8. 2020

.....

RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.  
Katedra Analytické chemie, Přírodovědecká fakulta,  
Univerzita Palackého v Olomouci