

Oponentský posudek
diplomové práce Bc. Jana Pavlíka
"Optimalizace SPE metody pro stanovení fytohormonů"
Mgr. Karel Doležal, Dr.

Předložená diplomová práce se zabývá návrhem a optimalizací postupu současné izolace auxinů, cytokininů a kyseliny abscisové z rostlinných vzorků, umožňujícímu jejich následné stanovení na femtomolární úrovni spojením vysokotlaké kapalinové chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie. Uvedeného úkolu se autor shostil se ctí a cíle bylo dosaženo, nehlédě na níže uvedené drobné, převážně formální nedostatky, vzniklé při finalizaci práce. Ty podstatně nesnižují celkovou úroveň práce. (Naopak, je zároveň patrné, že autor pracoval velmi samostatně, což je třeba hodnotit kladně).

Práce obsahuje 66 stran textu, 13 tabulek, 32 obrázků a 120 odkazů na použitou literaturu a je standardně členěna na Úvod a Teoretickou část, Materiál a metody, Výsledky a diskusi, a Závěr a je doplněna přehledem použité literatury, seznamem použitých zkratk a přílohami obsahujícími přehled struktur studovaných analytů. Bohužel dvě posledně jmenované kapitoly jsou poněkud nelogicky řazeny až na samotný závěr, čímž, podle mého názoru, čtenáři poněkud znesnadňují orientaci. Práce je psána velmi pečlivě a obsahuje pouze minimum překlepů (str. 7, řádek 12 „... na obrázku 5...“, str. 23, první řádek „...aduktů...“).

V úvodu teoretické části je pojednáno o historii a významu fytohormonů, se zaměřením na cytokininy, auxiny a kys. abscisovou, jejich biosyntéze a metabolismu v rostlinách. Kapitola je psána přehledně a srozumitelně, bohužel se zde však autor nevyvaroval několika drobnějších věcných chyb. Ty pramení jednak z místy ne zcela přesného překladu původního anglického textu a po hříchu občas také opakováním nešvaru, v diplomových pracích poměrně často se vyskytujícím, tedy citováním nepůvodní literatury. Například:

- na str. 7. je chybně uvedeno, že kinetin (6- furfurylaminopurin) byl poprvé synteticky připraven až dvacet let po jeho objevu v autoklávovaném sledím spermatu. Na podporu tohoto tvrzení je citován souborný článek prof. Romanova z roku 2009. Ve skutečnosti byl ale kinetin poprvé metodami organické syntézy připraven již v roce 1955 (příprava publikována v práci Miller a kol., 1955).
- na str.2. je uvedeno, že auxiny jsou chemicky různorodé látky. To je ale pravda spíše pro syntetické růstové regulátory, vykazující tento typ biologické aktivity. Endogenní auxiny jsou deriváty indol-3-ylactové kyseliny.
- na str 9 se píše že O-glykosiláty a xylosyláty jsou důležité pro skladování a přepravu CK, ve skutečnosti jsou tyto konjugáty významné pro jejich transport a uchování v rostlině.
- na str 19 píšete že:“ Kombinace dvou a více druhů SPE sorbentů je vhodná k analýze různých skupin fytohormonů.“ Co myslíte touto větou? SPE se používá k izolaci, nikoliv k analýze, které je věnována následující kapitola.
- na str. 22 píšete že elektrosprej a APCI jsou vhodné pro strukturní analýzu organických látek ve směsích. Jak toto vaše tvrzení koresponduje s faktem, že se jedná o tzv. měkké ionizační techniky, které většinou poskytují jen minimální počet fragmentů?

V experimentální části se autor omezil na stručný popis vyvinuté metody (na dvou stranách (!) doplněno jedním schématem a tabulkou), zatímco vlastní optimalizační experimenty jsou popsány v části Výsledky a diskuse, kde se ovšem náznaky diskuse,

tedy srovnání vlastních dosažených výsledků s výsledky podobných optimalizačních experimentů při izolaci fytohormonů, již dříve publikovanými jinými autory, vyskytují jen sporadicky

Z výsledků je nicméně patrné, že cílů bylo dosaženo, že optimalizovaná metoda je robustní, má vysokou citlivost a umožňuje současnou izolaci a kvantifikaci několika skupin rostlinných hormonů. Autor si osvojil základní metody práce ve výzkumné laboratoři našeho zaměření včetně interpretace získaných výsledků.

Otázky:

Dovedl by jste vysvětlit, proč se derivatizace často používá i v LC-MS analýze fytohormonů?

Závěrem konstatuji, že předložená práce dle mého názoru splňuje všechny požadavky kladené na práci diplomovou a doporučuji ji k obhajobě. Navrhované hodnocení: výborně.

V Olomouci, 9. 5. 2012

Mgr. Karel Doležal, Dr.