

## Posudek oponenta bakalářské práce

Student: Regina Michalčíková

Studijní obor: Chemie životního prostředí

Název bakalářské práce: Stanovení enantiomerů aminokyselin metodou HPLC

Předkládaná bakalářská práce kolegyně Reginy Michalčíkové je zaměřena na separace enantiomerních forem aminokyselin s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a chirálních stacionárních fází (CSP). Rešeršní část shrnuje obecné pojmy jako je chiralita a s ní související vlastnosti jednotlivých enantiomerů, dále se autorka věnuje vysokoúčinné kapalinové chromatografii a popisu chirálních stacionárních fází s důrazem na CSP na bázi makrocyclických antibiotik. Pozornost je též věnována derivatizaci aminokyselin, resp. alaninu a chirálním separacím těchto analytů pomocí HPLC. Experimentální část práce se zabývá optimalizací enantioseparace alaninu na dvou rozdílných teikoplaninových kolonách, následnou kvantifikační studií v optimalizovaných systémech a experimenty s reálným vzorkem (ovocný džus) a nastínění problému derivatizace alaninu pomocí dabsyl chloridu.

Rozsah bakalářské práce a její členění je přiměřené, z hlediska odborné správnosti se v práci vyskytly několik nejasností a chyb ve výkladu, které byly s uchazečkou probrány a objasněny. Jazyk práce je velmi dobrý, s několika stylistickými neobratnostmi a gramatickými chybami. Po grafické a formální stránce je práce na velmi dobré úrovni.

K práci mám několik připomínek a dotazů:

1. V teoretické části v kapitole 2.5 je zmínka o možnosti použití chirální *mobilní* fáze pro enantioseparace obecně. Čtenář by uvítal nějaký konkrétní příklad, můžete ho poskytnout?
2. Na str. 15 uvádíte, že teikoplaninové kolony je možno mimo normální a reverzní režim použít i v polárně organickém módu. Jaké je potom složení mobilní fáze v tomto režimu?
3. Jaké typy interakcí se uplatňují na použitých teikoplaninových CSP v reverzním módu?
4. V kapitole 2.8 uvádíte příklad stanovení aminokyselin pomocí dvoudimenzionálního HPLC systému složeného mj. z mikro-ODS kolony. V seznamu zkratk chybí vysvětlení zkratky ODS. Co tedy znamená?

5. V experimentální části v kapitolách 3.1 a 3.2 nejsou sjednoceny informace o firmách, od kterých byly přístroje, pomůcky a chemikálie zakoupeny. Měl by být vždy uveden název firmy, město a země, ve kterém sídlí. U použitých chemikálií také postrádám jejich čistotu, která je pro HPLC velmi důležitá.
6. Ve vzorcích, uvedených na str. 26, jsou drobné chyby, které ovšem pozměňují jejich význam (viz výpočet retenčního faktoru a rozlišení). Doporučovala bych vzorce psát ve zlomcích, čímž je možno takovýmto chybám předejít.
7. Nyní k výsledkům: mrtvý čas byl na koloně Chirobiotic T určován pomocí KI pro jednotlivé mobilní fáze. U druhé použité kolony, Chirobiotic T2, byla pro všechny zkoušené mobilní fáze použita jediná hodnota mrtvého času, získaná v mobilní fázi MeOH/H<sub>2</sub>O, 50/50 (v/v). Autorka uvádí důvod, že tato hodnota byla nejnižší, což ale není opodstatněné. Každý separační systém poskytuje *jiný* mrtvý čas. Pomocí čeho byla hodnota  $t_M$  na koloně Chirobiotic T2 určena a proč i na této koloně nebyly určeny hodnoty  $t_M$  pro jednotlivé mobilní fáze?
8. Kvantifikační studie D- a L-alaninu na koloně Chirobiotic T2 poskytly hodnoty LOD a LOQ větší nebo rovny než nejnižší měřená koncentrace D- nebo L-alaninu, což ukazuje na nižší citlivost stanovení těchto analytů v daném separačním systému a také na nepříliš přesnou kalibraci (viz korelační koeficienty jednotlivých závislostí).

Předkládaná práce přes uvedené připomínky vyhovuje požadavkům na bakalářskou práci, a proto ji doporučuji k přijetí k dalšímu řízení.

Dne 7.6.2010 v Praze

Mgr. Lucie Janečková