

POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: Využití moderních chromatografických přístupů a úprav vzorků v analýze biologicky aktivních látek

Autor: Mgr. Ivana Brabcová

Oponent: Pharm.Dr. Jitka Tolarová, Ph.D.

Předložená disertační práce má celkem 186 stran včetně všech příloh. Z celkového rozsahu je 78 stran věnováno teoretické části, dále následuje diskuze a výsledky experimentální části s vloženými publikacemi. Autorka v disertační práci předkládá 4 publikace s rozhodujícím podílem na vypracování, kde je uvedena jako první autorka a další 3 práce, na kterých se podílela jako spoluautorka. V závěru práce je krátké shrnutí dosažených výsledků výzkumu a 158 citací použité literatury.

V teoretické části se práce zabývá trendy v kapalinové chromatografii, zejména novými typy stacionárních fází, zelenou chromatografií a možnostmi úpravy vzorků před analýzou. Část teorie je věnována též problematice legislativy v oblasti doplňků stravy. Práce je sepsána poměrně obsáhle a text je zpracován návazně.

V druhé části práce Výsledky a diskuse autorka komentuje sedm prací rozdělených do tří tematických okruhů, tj. technika přepínání kolon; využití různých stacionárních fází v chromatografické analýze a zelená chromatografie. V diskuzi jsou popisovány optimalizace jednotlivých vyvíjených metod a nalezení vhodné úpravy vzorků a prezentován přínos nově publikovaných metod vzhledem k dosud používaným analytickým metodám. Kromě jedné prošly všechny práce kritickým recenzním řízením, jsou publikovány v kvalitních analytických časopisech a vykazují vysokou kvalitu prokazující systematický přístup uchazečky k řešení zadáne problematiky.

K disertační práci mám následující připomínky a dotazy:

Teoretická část je poměrně rozsáhlá. Pro lepší orientaci čtenáře by bylo vhodné zaměřit se na přehlednější a logické členění textu do kapitol a číslování kapitol. Některé kapitoly uvedené v textu vůbec nejsou obsaženy v obsahu, což je poněkud matoucí. Je nějaká logická souvislost kapitoly 2.2 Kolony a sorbenty pro UHPLC s kapitolou 2.2.1 Hybridní stacionární fáze, sorbenty X-Terra, nebo jde o chybné číslování kapitol? Celkový dobrý dojem ze zpracování snižuje přítomnost řady překlepů, gramatických a syntaktických chyb, namátkou např.:

- Str. 2, 1. odstavec - překlep zelpšení
- Str. 5, 2. odstavec – překlep vitamivů
- Str. 7, 3. odstavec – překlep Thie section..
- Str. 9, zkratka RoHy – překlep Satabáze
- Str. 15, předposlední odstavec – navíc čárka ve větě
- Str. 16, 2. odstavec – uvádíte: „Řešením tohoto problému, který je navíc komerčně úspěšný,...“ Je komerčně úspěšný problém nebo řešení?
- Str. 18, 3. odstavec – chybí čárka v souvětí: „Dalším typem sorbantu, který je používán v HPLC jsou monolitické materiály“

Str. 32, 3. odstavec – množství rozpouštědel a činidel, které (á) vytvářejí odpady
Str. 33, 1. věta – nevhodná formulace: „Jedním z navržených přístupů ke kvantifikaci „zelené analytické metody“ byly vytvořeny American Chemical Society Green Chemistry Institute (ACS GCI), která pracuje ve spolupráci s analytiky a odborníky na životní prostředí a vypracovala kritéria pro environmentální metody.“
Str. 39, 2. odstavec – nevhodná formulace: „Vliv teploty a průtoku na separaci sedmi pesticidů dochází k eluci všech sloučenin....“
Str. 87, poslední odstavec – nesprávně uvedeny jednotky $\mu\text{l} / \text{ml}$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)

V seznamu zkratek chybí zkratka SFC – superkritická fluidní chromatografie – použitá na straně 39. Na str. 43 je pro tutéž techniku použita zkratka SFE běžně označující superkritickou fluidní extrakci.

Dotazy a náměty do diskuse:

1. Na str. 103 uvádíte, že selektivitu metody hodnotíte pomocí chromatogramu získaného po nástřiku vzorku placebo. Měli jste k dispozici placebo od různých doplňků stravy? Jak jste je získali?
2. Co je to peak purity index a jak se stanoví?
3. V článku na str. 145 uvádíte, že technika přepínání kolon s on-line přípravou vzorku a HPLC stanovením stále není v praxi příliš populární. Jak si to vysvětlujete?
4. Jaká je cena a životnost RAM materiálů? V článku uvádíte životnost min. 200 injektů 200 μl séra. Máte nějaké nové poznatky? Byla tatáž extrakční kolona používána i pro další projekty?
5. V jakém stádiu je publikace, která je v peer review procesu (A fast micro - column sample pretreatment with HPLC column switching technique and large volume sample injection for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in human serum)?

Závěr a doporučení:

Předložená disertační práce je kvalitní. Mgr. Ivana Brabcová prokázala schopnost dobře teoreticky a prakticky zvládnout výzkum v oblasti moderních chromatografických metod. Publikované práce zahrnuté do disertační práce jsou kvalitní a mají významný impakt faktor. **Celkově lze konstatovat, že práce splňuje požadavky kladené na disertační práce, proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.**

Plzeň 21.08.2013

Pharm.Dr. Jitka Tolarová, Ph.D.
CEPHA s.r.o. – Center for Pharmacology and Analysis
Komenského 19, Plzeň