

Oponentský posudek

Diplomová práce: **Využití chirálních stacionárních fází na bázi teikoplaninu a teikoplanin aglykonu pro enantioseparaci FMOC-derivatizovaných aminokyselin**

Diplomant: **Bc. Pavel Repko**

Studijní program/obor: Klinická a toxikologická analýza

Diplomová práce Pavla Repka je zaměřena na aktuální problematiku separace a kvantifikace skupiny aminokyselin, které jsou součástí potravin i potravinových doplňků. Vzhledem k tomu, že se jedná o sloučeniny bez výrazných chromoforů, optimalizace metody zahrnuje jak separaci, tak derivatizaci aminokyselin za účelem snížení detekčního limitu.

Předkládaná práce představuje obrovský kus rešeršní, experimentální i „sepisovatelské práce“. Vše je pěkně zpracováno, rozmyšleno a jsou ukázány logické souvislosti. Pouze občas trochu kostrbaté vyjadřování ukazuje na jistou publikační nezkušenost autora. (Krásně zní: „rozdílné rozdělávání dělených látek“.) Bohatá diskuze k množství výsledků však není snadná. Nicméně některé základní informace se příliš často opakují, až se čtenář spíše v textu ztrácí. Stylistické či tiskové chyby nepřesahují běžný standard.

K práci mám některé dotazy nebo spíše náměty pro diskuzi.

- 1) HILIC je zkratka pro hydrofilní interakční kapalinovou chromatografii.
- 2) pK_a je záporný logaritmus disociační konstanty.
- 3) „Při chirálních separacích metodou kapilární elektroforézy se obecně dosahuje dokonce účinnějších a rychlejších enantioseparací než v případě kapalinové chromatografie.“ (s. 15). Umíte vysvětlit proč?
- 4) „Molekuly (MA) obsahují ...**mnoho** ionizovatelných kyselých i bazických funkčních skupin, ...“ (s. 16). Jaké skupiny máte na mysli?
- 5) Prosila bych vysvětlit větu, která se týká derivatizační reakce (str. 21). „Na druhou stranu, jestliže při reakci vzniká více produktů, může tato informace přispět k pochopení samotného interakčního mechanismu.“
- 6) Na str. 26 je zmíněn octanový pufr pH 7,0. Jak moc tento pufr v dané oblasti pH pufruje?
- 7) Na str. 29 je přehozené označení retenčních časů ve vysvětlivkách k rovnici (2).
- 8) Proč byla využita UV detekce při 262 nm (str. 33), když v citacích 89 a 36 je uvedena vhodná vlnová délka 254 nm?
- 9) Na str. 38 se v prvním odstavci uvádí, že pro separaci derivatizovaných FMOC-aminokyselin lze použít stejný separační systém jako pro nederivatizované analogy. Proč by se tedy měl optimalizovat separační systém pro FMOC-aminokyseliny, což se řeší na řadě dalších stránek?
- 10) Tvzení, že „se stoupajícím nadbytkem derivatizačního činidla stoupá výtěžnost derivatizační reakce“ nekorespondují s hodnotami v tabulce 4 (str. 47).
- 11) Jak bylo přesně prováděno ředění základního roztoku pro získání kalibračních závislostí?
- 12) Jaké jsou souvislosti (vztahy) mezi selektivitou rozlišením a symetrií píků? Na str. 69-71 se tyto souvislosti poněkud nepatříčně mísí.
- 13) Ke komentáři na str. 69-71 by bylo lépe přidat obrázek, ukazující rozdíly v enantioseparaci za různých podmínek. Pouhý komentář je velmi náročný na sledování.
- 14) Pro srovnání separace na kolonách Chirobiotic T a Chirobiotic TAG byla zvolena stejná mobilní fáze. Třeba by však bylo vhodnější optimalizovat složení mobilní fáze v systému s kolonou Chirobiotic TAG, aby bylo docíleno lepší separace i na této koloně.

15) Pro další zhodnocení této práce by se velmi dobře hodila ukázka aplikace optimalizované metody na analýzu reálného vzorku.

Uvedené připomínky nemají nikterak snížit kvalitu předkládané diplomové práce. Předkládaná práce je opravdu velice dobrá. Diplomant ukázal schopnost samostatného vědeckého bádání, zpracování výsledků i vyvození zobecňujících závěrů. Ráda doporučuji diplomovou práci Bc. Pavla Repka k obhajobě a dalšímu řízení.

Eva Tesařová

V Praze dne 22.8.2011