



Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc.
Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
ALBERTOV 2030, 128 40 Praha 2, ČR
tel. + fax +420224913538, pacakova@natur.cuni.cz
V Praze dne 12.8.2009

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Petry Holdšvendové „Využití monolitických kolon v kapilární kapalinové chromatografii“

Disertační práce Mgr. Petry Holdšvendové je zaměřena na velice progresivní oblast separačních metod, a sice na výzkum monolitických kolon na bázi organických polymerů pro kapilární kapalinovou chromatografii. Hlavními výhodami monolitických kolon na bázi organických polymerů je stabilita v širokém rozmezí pH (2-12), snadná a levná příprava a nepřítomnost frit na koncích separační kolony. Nevýhodou je nižší reprodukovatelnost jejich přípravy.

První část disertace je věnována porovnání butylmethakrylátových monolitických kolon připravených chemickou a termickou iniciací. Kolony připravené chemickou iniciací se vyznačovaly jednodušší přípravou a vyšší účinností než kolony připravené termickou iniciací, avšak jejich příprava byla méně reprodukovatelná.

Druhá část je věnována přípravě monolitických kolon, které by umožnily separaci tří oligonukleotidů. Autorka tento úkol úspěšně vyřešila použitím monolitických kolon na bázi HMMAA, tj. N-(hydroxymethyl)metakrylamidu a MAPDS, tj. [3-(methakryloylamino)propyl]-dimethyl(3-sulfopropyl) ammonium hydroxidů. Podařilo se v HILIC modu separovat oligonukleotidy lišících se o jeden nukleotid během 10 minut.

Významný je i pokus o separaci cyklenů, které mají velký potenciální význam jako kontrastní látky v tomografii. Separaci se nepodařilo dovést do konce, protože nebyla dostupná potřebná instrumentace pro gradientovou eluci.

Cíle disertace byly splněny. Byly získány nové cenné poznatky jak o přípravě monolitických kolon na bázi organických polymerů, tak i o jejich aplikaci, zejména na vysokomolekulární látky oligonukleotidy. Autorka dosáhla významných výsledků, které jsou přímo aplikovatelné v praxi. Po vyřešení problému s nižší reprodukovatelností se jistě zvýší použití monolitických kolon, např. ve farmaceutických laboratořích.

Práce byly publikované v presitizním časopise Journal of Chromatography A (2 články, Mgr. Holdšvendová je první autorkou), kde prošly recensním řízením a výsledky byly dále presentovány na řadě konferencí (5 posterů).

Práce je logicky členěna, výsledky jsou správně interpretovány. Po formální stránce není co práci vytknout.

K práci mám několik dotazů či připomínek:

1. V úvodní části postrádám citaci na přehledný článek o monolitických kolonách, publikovaný v J.Chromatogr. B 841 (2006) 79-87, jehož spoluautorkou je školitelka Mgr. Holdšvendové, Dr. Sobotníková.
2. Str. 19, rov. 3 – vztah pro rozlišení není vázán pouze na dva píky eluující vedle sebe.
3. Čím si autorka vysvětluje vliv zapojení kolon do systému na jejich účinnost.

4. V tab. 9 na str. 39 nejsou jednotky u HETP.
5. V tabulkách se uvádějí průměrné hodnoty – kolikrát bylo měření opakováno?
6. Str. 40, van Deemterovy křivky: mohla byste porovnat tyto závislosti s monolity na bázi silikagelu?
7. Na vyhodnocení opakovatelnosti přípravy by bylo možná vhodné použít PCA (Principal Component Analysis) metodu.
8. Pokud byste měla volit komerční monolitickou kolonu pro aplikaci ve vaší laboratoři, rozhodla byste se pro Chromolith nebo některou kolonu na bázi organického polymeru?

Závěr:

Výsledky disertace představují významný příspěvek k vývoji a využití HPLC a mají reálné uplatnění v analytické praxi. Autorka prokázala velmi dobré teoretické znalosti zkoumané problematiky a schopnost tvůrčí vědecké práce. Doporučuji, aby disertační práce Mgr. Petry Holdšvendové byla přijata k obhajobě a aby se stala základem pro udělení vědecké honosti Ph.D.

V. Pázn