

## POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: Aplikace kapalinové chromatografie za ultravysokého tlaku a hmotnostní spektrometrie v analýze polyfenolických látek

Autor: Mgr. Zdeněk Spáčil

Oponent: Doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Předkládaná doktorská disertační práce se věnuje využití kapalinové chromatografie pracující za ultravysokých tlaků (UHPLC) a hmotnostní spektrometrie pro analýzu vybraných skupin polyfenolů. Sestává z teoretické části, komentovaného přehledu publikací, které jsou těžištěm autorovy vlastní experimentální práce (kapitola Výsledky a diskuse), závěrů, přehledu použité literatury a příloh. Teoretická část vychází z popisu transportu analytu chromatografickým ložem, přičemž se opírá zejména o Giddingsovy myšlenky a odpovídající formalismus. V těchto kapitolách autor logicky směřuje k důsledkům použití stacionárních fází s velikostí částic menších než 2  $\mu\text{m}$ . Dále je popisována technika hmotnostní spektrometrie. Zde se autor zaměřuje především na oblast tandemových technik a z nich na trojitý kvadrupól. Tato část práce dobře pokrývá sledovanou oblast, je psána přehledně a stylisticky čistě. Z textu je patrné, že autor se v problematice chromatografie a hmotnostní spektrometrie velmi dobře orientuje. Dále je popisována oblast polyfenolických látek. Zde bych očekával poněkud zevrubnější informace, zejména z oblasti analýzy těchto látek.

V kapitole Výsledky a diskuse autor komentuje čtyři publikace, které jsou do práce vevázány formou příloh. Všechny čtyři práce jsou publikovány v prestižních impaktovaných časopisech (Talanta 2x, Food Chemistry, Rapid Communications in Mass Spectrometry) a prošly tedy kritickým recenzním řízením. Výsledky jsou zajímavé a jistě představují hodnotný příspěvek do oblasti moderní analýzy polyfenolických látek.

K práci mám následující připomínky, dotazy, případně náměty do diskuse:

1. str. 31., ř. 23-24, věta: „*A narrow distribution in particle size and more even packing results in a smaller value of  $\lambda$ , while  $H_f$  is eliminated completely for capillary columns [1].*” Jaké kapilární kolony má autor na mysli? Pokud uvažuje otevřené kapiláry (typu OTLC), kde stacionární fáze je zakotvena pouze na vnitřní stěně kolony, pak by bylo vhodné na tento fakt ve větě upozornit.
2. str. 33., ř. 12-13, chybí jednotky u hodnot parametrů A, B a C.
3. str. 41., ř. 12-15, Autor uvádí, že ionizační techniky LDI a MALDI vyžadují pro svoji práci vakuum. Zde je vhodné upozornit na fakt, že existují i přístroje, u kterých ionizace probíhá za atmosférického tlaku (např. PA-AP-MALDI). V některých případech uváděných v literatuře poskytuje AP-MALDI dokonce lepší výsledky než MALDI s ionizací ve vakuu.
4. str. 49, Diskuse spojení oxidativního poškození organismu a degenerativních onemocnění. Je rakovina striktně „*age-related degenerative disease*“ ?

5. str. 50, ř. 1-6., popis skupin flavonoidů. Flavan-3-oly by neměly být řazeny mezi rostlinné pigmenty. V souvislosti s rostlinnými extrakty někdy mluvíme o těchto látkách spíše jako o kopigmentech (látkách měnících barevný profil způsobený jinými typy flavonoidních látek).

Náměty do diskuse:

I. Supplement I.: Jedním z parametrů, jímž se (vedle použité stacionární fáze a délky) odlišovaly testované kolony Zorbax SB C18 a Acquity BEH C18 je i vnitřní průměr kolony. V případě kolony Zorbax SB C18 byl vnitřní průměr 4,6 mm a v případě Acquity BEH C18 2,1 mm (průměr obvykle již spojovaný s „microbore“ kolonami). Může autor na základě svých praktických zkušeností shrnout rozdíly mezi oběma rozměry z pohledu moderní chromatografie?

II. Supplement I.: V této práci je popisována velmi zajímavá změna elučního pořadí 6-methylkumarinu a daphnoretinu. Čím si lze tuto změnu vysvětlit?

Připomínky stylistického, grafického a gramatického charakteru:

1. str. 39, ř. 10, though --> through
2. str. 40, ř. 20, věta: “The great effort ....macromolecules”. Formulace může navozovat dojem, že ESI je desorpční technika.
3. str. 42, ř. 18, „orici“ ?

Uvedené připomínky jsou drobného rázu a nesnižují vysokou kvalitu předkládaného díla. Lze konstatovat, že práce je zdařilá po obsahové, jazykové i formální stránce a přináší množství hodnotných výsledků.

Práce splňuje požadavky kladené na disertační práce a proto ji rád **doporučuji** k obhajobě.

V Olomouci, dne 6.9. 2010

doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.  
Katedra analytické chemie  
PřF UP Olomouc