

## 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. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Předložená disertační práce má celkem 120 stran. Z celkového rozsahu je 53 stran věnováno teoretické části, 16 stran tvoří komentáře k publikovaným pracím, souhrn posterů a přednášek na konferencích a zbytek tvoří přílohy obsahující 4 originální publikace, které jsou přímou součástí tématu předložené disertační práce. V závěru práce je krátké shrnutí dosažených výsledků výzkumu a 105 citací použité literatury.

V teoretické části se práce zabývá kapalinovou chromatografií, zejména teoretickými aspekty chromatografických procesů. Tato část je poměrně rozsáhlá, cituje známé chromatografické autority jako je van Deemter, Giddings, Horváth a další.. Rozsáhlá teorie chromatografických procesů je v teoretické části dokumentována velkým množstvím matematických rovnic a vztahů, které dokumentují principy chromatografických dějů. Tato část je pak zakončena teorií hmotnostní spektrometrie a stručnou zmínkou o stacionárních fázích a polyfenolických látkách. Text práce a doplňující rovnice jsou zpracovány návazně a přehledně, a rád bych věřil, že autor rozumí všem matematickým vztahům (cca 50), které v textu práce tak důsledně uvádí.

V druhé části práce Výsledky a diskuse autor stručně komentuje 4 z deseti publikací, které zahrnul do své disertační práce. Všechny práce byly přijaty do kvalitních impaktovaných časopisů (2x Talanta, 1x Food Chemistry, 1x Rapid Communications in Mass spectrometry). U tří z těchto prací působí Mgr. Spáčil jako hlavní autor a u jedné jako druhý autor. Práce 1 a 2 jsou zaměřením velmi blízké a zabývají se analýzou fenolických látek pomocí technik HPLC a UHPLC, přičemž první z těchto prací obě dvě techniky vzájemně porovnává. Další dvě práce se již zabývají hmotnostní detekcí, z toho jedna ve spojení s UHPLC technikou. Poslední práce byla vytvořena na zahraničním pracovišti (Stockholm University), zaměřením je odlišná od předchozích prací a zabývá se MALDI technikou stanovení polyfenolů v červeném víně. Všechny práce prošly poměrně kritickým recenzním řízením, vykazují vysokou kvalitu prokazující systematický přístup uchazeče k řešení výzkumné práce. Schopnosti Mgr. Z. Spáčila věnovat se výzkumné činnosti dokladuje i seznam dalších kvalitních prací (jedna z nich ve velice kvalitním časopise Analyst), které však nebyly z důvodů rozdílné tematiky zahrnuty do disertační práce.

### **K disertační práci mám následující připomínky a dotazy:**

Teoretická část má přiměřený rozsah a je velmi kvalitně zpracována. Totéž platí i o kvalitě anglické gramatiky.

- 1.) Nicméně vzhledem k názvu disertační práce bych očekával podrobnější srovnání např. techniky HPLC a UHPLC z praktického hlediska, místo velkého kvanta teoretických matematických formulací a vztahů.
- 2.) Jelikož je UHPLC poměrně nová technika, stálo by za zmínku podrobnější popis techniky jako takové, např. možnosti a typy stacionárních fází a sorbentů pro UHPLC, které autor zmiňuje cca pouze na jedné straně. Chybí mi i popis praktických výhod a nevýhod UHPLC techniky v porovnání s ostatními separačními metodami.
- 3.) Jelikož je práce zaměřena na stanovení polyfenolických látek, přivítal bych poněkud detailnější informace o účincích těchto látek na lidský organismus a o možnostech jejich stanovení.
- 4.) Citace 16 a 78 v seznamu literatury – překlep v koncové stránce.
- 5.) Citace 78 – opravdu se publikovaná práce jmenuje Hy-Phen-Ated Methods?

### **Dotazy a náměty do diskuse:**

Str. 48, dole - co je konkrétně myšleno větou: Více komplexní analytické postupy pro úpravu vzorku musí být použity v případě nízkých koncentrací cílových analytů či v případě složité matrice vzorku. Které postupy tímto máte na mysli?

Na str. 39 uvádíte, že přínos monolitických kolon pro LC/MS aplikace je limitován díky použitím relativně vysokých průtoků. Dotazem je, zda existují monolitické kapilární kolony a jaké průtoky používají a zda by byly vhodné pro LC/MS aplikace?

Proč název přílohy II str. 64 a str. 81 neodpovídá názvu publikovaného článku?

Byly již někdy použity v UHPLC systémech sorbenty na bázi oxidu zirkoničitého?

Jaké výhody mají tyto stacionární fáze?

### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je velmi kvalitní. Mgr. Zdeněk Spáčil prokázal schopnost dobře teoreticky a prakticky zvládnout výzkum v oblasti moderních chromatografických metod a hmotnostní spektrometrie. Publikované práce zahrnuté i nezahrnuté 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.**

Hradec Králové 14. 9. 2010

Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.  
Katedra analytické chemie,  
Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové