

Oponentský posudek na diplomovou práci Romany Kubíčkové

Separace polárních látek kapalinovou chromatografií hydrofilních interakcí na monolitických kolonách

Cílem předložené diplomové práce je příprava polymetakrylátových monolitických kapilárních kolon pro HILIC separace a jejich použití pro vybrané druhy polárních látek, optimalizace separačních podmínek a porovnání s komerčními kolonami.

Úvodní, teoretická část je psána stručně a věcně. Čtenář je uveden do problematiky základních principů a vztahů v HPLC a pokud je to třeba, výklad je doplněn obrázky. Zvláštní pozornost je věnována HILIC separacím, kde jsou podrobněji popsány jednotlivé stacionární fáze a jejich vliv na separaci určitých skupin analytů. Úvod se uzavírá rešerší na téma monolitických kapilárních kolon a jejich HILIC modifikacemi. Množství použitých citací z publikací odpovídá rozsahu práce.

K teoretické části mám připomínku ke str. 20, kde autorka píše: „*Je jen důležité spojit mikrokolonu přímo s dávkovačem i s detektorem tak, aby vnitřní objem spojovacích kapilár byl co nejmenší^{10,11}.*“

Spojení HPLC přístrojů pro konvenční kolony s kapilárními kolonami vnitřního průměru 320 μm (optimální průtok cca 4 $\mu\text{l}/\text{min}$) obvykle není na straně dávkování takto přímočaré. Kritickým místem je kvalita pumpy a stabilita regulace průtoku (příp. složení gradientu) při průtocích, které jsou obvykle na hraně možností systému. Např. Agilent 1200 Series uvádí minimální průtok MF 50 $\mu\text{l}/\text{min}$. V těchto případech je obvyklé použít děliče toku MF (splitter) - buď před a nebo za dávkovačem. U kolon ještě menších průměrů se obvykle bez děliče toku nelze obejít. Některé přístroje pro konvenční kolony jsou již požadovaným děličem toku vybaveny.

Experimentální část, která představuje těžiště práce, navazuje na předchozí teoretickou část. Jsou zde dobře popsány použitá zařízení, postupy přípravy kolon i podmínky měření. Dá se říci, že experimenty jsou dobře rozvrženy a autorka cíleně plní zadání práce. Naměřená data jsou adekvátně interpretována, přehledně presentována a nastíněno jejich nejpravděpodobnější vysvětlení.

K práci mám tyto připomínky a náměty do diskuse:

Str. 47: „*Připravená monolitická kolona MON-HILIC 4A byla porovnáována s výsledky naměřené na komerční koloně ZIC®-HILIC od firmy SeQuant, Uma, Švédsko⁵³.*“

Ačkoliv autorka slovně na následující stránce popisuje výsledky analýz, v diplomové práci nejsou chromatogramy připojeny. Je škoda, že pak není možné porovnat komerční kolonu s autorčinou optimalizovanou kolonou MON-HILIC 4A.

Obr. 58 a 59: Na základě jakých dat byla konstruována H-u křivka pro lineární rychlosti nižší, než je optimum? V těchto místech není tvar křivky experimentálně podložen. Autorka mohla několik bodů z pravé části křivky ozelet a podrobněji proměřit levou část (přestože je to časově náročnější).

Str. 33: „U kolon byl po prvním použití značen směr toku mobilní fáze, aby při opětovném použití kolony byl tento směr stejný, což je nutné vzhledem k deformaci pórů, k níž dochází při čerpání mobilní fáze.“

Pokud bylo nutné dodržovat směr toku MF, tak určitě nebyla zanedbatelná i deformace pórů. Projevila se tato skutečnost nějak na životnosti kolon? Docházelo k dlouhodobému snižování účinnosti vlivem deformací pórů?

Str. 54 + Obr. 59 + Tab. 32 „U butylbenzenu bylo nejvyšší účinnosti dosaženo při průtoku 1.6 $\mu\text{l}/\text{min}$, kdy počet teoretických pater byl 5230 N/m .“

Jednoduchou kalkulací zjistíme výšku ekvivalentní teoretickému patru rovnu 191 μm . Obr. 59 udává na ose y hodnotu H [μm] cca 20 μm . V odpovídající tabulce 32 pro butylbenzen je udávána hodnota H = 25.2 mm.

Str. 49 Ve druhém odstavci se autorka odkazuje na tabulky 15, 16, 17. Správně mají být odkazy na čísla tabulek 17, 18, 19.

Str. 51 „Opět na této koloně byla též provedena i gradientová eluce fenolických kyselin.“

Na některých místech by bylo vhodné upravit slovosled, případně se zamyslet nad vhodnou českou formulací.

Obr. 12: Optimalizované složení monolitu MON - HILIC 4A a optimalizovaný gradient zde umožňují poměrně kvalitní separaci osmi fenolických kyselin - považují tento chromatogram za zdařilý výsledek!

Přes uvedené připomínky se bezesporu jedná o kvalitní diplomovou práci, která se zabývá výzkumem v oblasti posledních trendů v chromatografii (monolitické kolony pro HILIC) a experimentuje i v oblastech nových (monolitické hybridní kolony). Autorka v ní demonstruje schopnosti samostatně zpracovat i náročné výzkumné téma.

Hodnotím tuto diplomovou práci klasifikačním stupněm „výborně“ a doporučuji ji přijmout k obhajobě.

V Brně dne 26. května 2009

Ing. Josef Planeta, Ph.D.

Ústav analytické chemie AVČR v Brně

