

## POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

<b>Katedra:</b>	Katedra analytické chemie
<b>Autor:</b>	Bc. Roman Hájek
<b>Název práce:</b>	LC/MS analýza polárních tříd lipidů
<b>Vedoucí diplomové práce:</b>	Ing. Eva Cífková, Ph.D.
<b>Oponent:</b>	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce se zabývá optimalizací separace polárních lipidů pomocí kapalinové chromatografie. Autor v práci testuje 12 chromatografických kolon, umožňující separovat lipidy v módu hydrofilních interakcí. Dále se zabývá nalezením vhodné mobilní fáze a pH mobilní fáze, aby došlo k co nejlepší separaci a současně mohla být použita v kombinaci s hmotnostním detektorem. Optimalizované podmínky jsou následně použity na analýzu lipidů ve vzorku prasečího mozku a prasečích ledvin.

Teoretická část práce je rozdělena systematicky na čtyři menší celky, popisující kapalinovou chromatografii, hmotnostní spektrometrii, třídy lipidů a možnosti analýzy lipidů chromatograficky. Teoretická práce vychází z úctyhodných 100 literárních odkazů, převážně na mezinárodní publikace. Experimentální část je psána dle zvyklostí, nicméně některé údaje chybí, např. jak byla připravena mobilní fáze nebo určitě bylo použito více přístrojů než pouze kapalinový chromatograf Agilent a centrifuga. V kapitole Výsledky a diskuze autor jasně popisuje postup, jak byla optimalizována separace 14 tříd lipidů, jaké byly použity kolony a mobilní fáze, a komentuje, jaký to mělo následek na separaci. Nejlepší nalezené podmínky jsou následně použity na separaci a identifikaci lipidů v částech prasete. V této kapitole autor neustále používá slova dále, následně nebo nejprve a to i v několika větách za sebou.

Diplomová práce je velice dobře zpracována, obsahuje málo překlepů, gramatických nebo typografických chyb. K formální úpravě bych měl několik výhrad (viz směrnice UPa 09/2012): v Souhrnu a Summary (podle směrnice Anotace) chybí klíčová slova a Souhrn a Summary by měli být před Obsahem; prázdná strana 12 a 79; prohlášení na straně 6 je datované "dne 2013". Dále musím vytknout nízkou kvalitu tabulek, která snižuje dojem celé práce. Tabulka 1 je bez hlavičky a všechny jsou roztažené na několik stran (až 3 strany). Ve skutečnosti by nebyl problém tabulku rozdělit nebo ji upravit tak, aby se na jednu stránku vešla.

Níže uvádím k práci několik nejzávažnějších chyb, připomínek a dotazů:

1. Kapitola 2.4.2.1, str. 41 – autor píše, že "Při použití mobilních fází obsahujících více jak 3% vody se jedná o HILIC separaci." Pokud je použito např. 90 % vody v mobilní fázi, hovoříme stále o HILIC separaci? U každého chromatogramu v diplomové práci jsou uvedeny podmínky gradientu mobilní fáze a začínají na 99,7 % acetonitrilu, tedy 0,3 % vody. Jedná se o HILIC?
2. Str. 55 – prosím o vysvětlení: "Dále byla testována mobilní fáze obsahující 20 mM vodný roztok mravenčanu amonného o různých hodnotách pH, která testována mobilní fáze obsahující 5 mM, 10 mM a 20 mM octanu amonného při pH 4."
3. Podle jakého klíče byly vybrány skupiny lipidů a standardy lipidů použité v diplomové práci?
4. Jak dlouho byly ustalovány počáteční podmínky před analýzou? Je všeobecně známé, že v HILIC chromatografii je čas equilibrace kolony důležitý pro vytvoření vodné vrstvy na stacionární fázi, která se podílí na separaci.
5. Kolikrát byly jednotlivé separace při optimalizaci mobilní fáze měřeny? Byla vyhodnocena reprodukovatelnost retenčních časů?

Závěrem mohu konstatovat, že výše zmíněné nedostatky nesnižují hodnotu celé práce a zadání diplomové práce bylo splněno. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji známkou

**Výborně**

V Pardubicích 25. 5. 2015

  
Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.