

Posudek oponenta doc. Ing. Jana Fischera, CSc. na diplomovou práci Bc. Michaely Košnářové nazvanou

### **Mikrokolonová a kapilární chromatografie oxidačních metabolitů acetaminofenu.**

V diplomové práci se diplomantka Bc. Michaela Košnářová zabývá optimalizací mikrokolonové chromatografické separace acetaminofenu a jeho metabolitů za izokratických i gradientových podmínek eluce včetně finální separace reálných vzorků buněčné kultivace.

Úvodní teoretická část popisuje vlastnosti a metabolizaci acetaminofenu (paracetamol) včetně jeho toxických účinků a rizikových faktorů jeho toxicity. Dále je uveden popis instrumentace pro chromatografii, resp. pro mikrochromatografii včetně mechanismu separací v některých systémech, z nichž však většina nemá přímou souvislost s řešenou tematikou (RP-HPLC) a jsou uvedeny příklady stanovení metabolitů acetaminofenu. V experimentální části jsou dostatečně popsány a charakterizovány prováděné experimenty. Postup jednotlivých kroků při optimalizaci izokratických i gradientových mikrokolonových separací acetaminofenu a jeho metabolitů je popsán a diskutován v následující kapitole, kde jsou též uvedeny výsledky kvantitativní analýzy lyzátů buněk kultivovaných v prostředí acetaminofenu.

Práce je sepsána standardním způsobem, avšak podle mého názoru mohla být její finalizaci věnována větší pozornost. V práci jsem objevil některé obsahové i formální nedostatky, nejdůležitější připomínky a komentáře jsou uvedeny dále:

- str. 23, 1. odst.: gradientová eluce může být běžně realizována v různých separačních systémech;
- str. 34, kap. 3.1.1, str. 36, kap. 3.1.2, konce odstavců: jak si vysvětlit konstatování problémů s modulem měření průtoku (mobilní fáze)?;
- str. 39 a dále: poněkud netradiční číslování rovnic, navíc ne všechny rovnice jsou citovány v textu;
- str. 39, 1. odst., posl. ř.: odpovídala zvolená hodnota počtu teoretických pater (10 000) reálné účinnosti separací? Oponentovi vyšla účinnost pro první pík na obr. 13 na str. 43 cca 1 100 teoretických pater;
- str. 43, obr. 13, 14 a další obrázky chromatogramů: legenda obrázků je nedostatečná;
- str. 45, 1. odst., posl. ř.: odpovídá zvolená účinnost kolony (10 000 TP) opět skutečně realitě (na obr. 24 na str. 51 je pro 1. pík účinnost cca 3 000 TP)
- str. 47, rovnice 14: vztah pro normalizované rozlišení je chybný;

- str. 47, 1. odst. uprostřed a dále v textu a na obrázcích 17-22: jednotka parametru B je chybná;
- str. 52, kap. 3.4.1., 1. odst.: na základě čeho byl zvolen gradient 5-85 % methanolu za 12 minut? Tento gradient nebyl součástí optimalizace (max. koncentrace methanolu 75 %, viz str. 45, obr. 16);
- str. 52, 2. odst. a str. 53, tab. 4: jakou metodou byl vyhodnocen limit detekce a jaký byl limit kvantifikace?;
- drobné formální nejednotnosti v citované literatuře (neúplný odkaz [12], nejednotnost v citacích jmen).

Práce je celkově zajímavá a přínosná, avšak výčet zde uvedených poznámek a připomínek mohl být podstatně menší při její pečlivější finální editaci. Diplomovou práci Bc. Michaely Košnářové doporučuji k obhajobě s hodnocením

– C –.

V Pardubicích, 24. května 2024.

doc. Ing. Jan Fischer, CSc.