

## POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

<b>Katedra:</b>	Katedra analytické chemie
<b>Autor:</b>	Bc. Martina Havelková
<b>Název práce:</b>	Vývoj HPLC metod pro identifikaci stereoizomerů triacylglycerolu
<b>Vedoucí diplomové práce:</b>	Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.
<b>Oponent:</b>	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce Bc. Martiny Havelkové se zabývá problematikou chromatografické separace triacylglycerolů mastných kyselin. Teoretická část zabírá 22 stran a je členěna na tři kapitoly zabývající se kapalinovou chromatografií, hmotnostní spektrometrií a lipidy. Základy kapalinové chromatografie jsou popsány na 5 stranách textu, nicméně zde postrádám cokoli o argentační a komplexačních kolonách. Veškeré separace v této diplomové práci jsou provedeny právě na těchto kolonách. V druhé kapitole jsou přehledně uvedeny iontové zdroje a hmotnostní analyzátory používané v hmotnostní spektrometrii. Čtivost celé práce výrazně snižuje neustálé používání zkratk, hlavně FA a TG (např.: V přírodě se vyskytující TG obsahující až na výjimky nevětvené FA...) a opakování některých faktů v rámci jedné kapitoly. V experimentální části autorka vyjmenovává chemikálie a přístroje používané během diplomové práce a popisuje přípravu kolon a postupy měření.

Výsledky a diskuze jsou rozepsány na 24 stranách a autorka porovnává čtyři chromatografické argentační kolony použité na separaci různých typů standardů triacylglycerolů mastných kyselin, popisuje optimalizaci separací na připravených komplexačních kolonách a následně porovnává jejich účinnost. V této části bych vytkl nelogické uspořádání některých tabulek a příloh.

Celkově lze konstatovat, že tato diplomová práce přináší nové poznatky v oblasti separace triacylglycerolů mastných kyselin na vlastnoručně vyrobených komplexačních kolonách.

Dále mám k práci následující připomínky, dotazy a náměty pro diskusi:

1. V tabulce 3.1 (str. 40) nejsou uvedeny všechny používané mastné kyseliny. Chybí např. petroselin (Pe), gamalinolein ( $\gamma$ Ln) a vacetin (Va) ze směsi mixTG.
2. Kapitola 4.1 (str. 47): ...chromatogram byl od druhé poloviny záznamu chvostovaný. Chromatogram nechvostuje, chvostují pouze separované píky.
3. Nelogické uspořádání tabulek a příloh: odkaz na tabulku 4.2 je v kapitole 4.3, ale celá tabulka je až v kapitole 4.4.; přílohy v textu nejsou řazeny postupně, ale v pořadí E, D, C, F, G a B.
4. Kapitola 4.1 (str. 47): Autorka uvádí, že nejlépe jsou regioizomery separovány na koloně BioBasic SCX a ChromSphere (Obr. 4.3 – B a C). Pokud se porovnáme separace na obrázku 4.3, jednoznačně nejlepší separace je koloně ZirChrom-PEZ (Obr. 4.1 – A).
5. Tabulka 4.2 o složení gradientu (str. 55) je nesrozumitelná. Tabulka uvádí, že na počátku separace je 20 % A + 80 % HEX. V textu (kapitola 4.3 str. 54) je mobilní fáze A hexan a mobilní fáze B hexan/2-propanol/acetonitril (98/0,1/0,1). U popisků separací je tomu naopak.
6. V kapitole 4.4 (str. 54) jsou porovnány separace na různých kolonách a k honocení autorka používá rozlišení. Bylo rozlišení počítáno matematicky?
7. V příloze G jsou znázorněny separace směsi EEE/OOO na různých kolonách. V každé separaci je jen jeden pík bez označení. Co tento jediný představuje?
8. Jaká byla reprodukovatelnost separací na argentační a komplexačních kolonách v rámci následných analýz? Byla testována reprodukovatelnost přípravy komplexačních kolon?
9. Jakou chromatografickou kolonu z veškerých testovaných by diplomantka doporučila na separaci triacylglycerolů mastných kyselin a proč?

Závěrem mohu konstatovat, že bylo splněno zadání diplomové práce. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím známkou

**Velmi dobře**

V Pardubicích 26. 5. 2012

  
Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.