

Recenzní posudek na diplomovou práci

Autorka diplomové práce: Bc. Veronika Žihlová

Studijní program: N1407 Chemie

Studijní obor: Analytická chemie

Název práce: **Superkritická fluidní chromatografie a hmotnostní spektrometrie
v analýze nových syntetických drog**

Superkritická fluidní chromatografie (SFC) prochází v současnosti obdobím zvýšeného zájmu podpořeným novou instrumentací, která vyřešila řadu technických nedostatků v minulosti komplikujících používání této separační metody. SFC nabízí velmi rychlé a účinné separace. O tyto její přednosti opírá svoji snahu o rychlou analýzu nových syntetických drog autorka předložené diplomové práce. Jako testovací látky využila 15 drog ze skupiny kationů a fenylethylaminů.

Práce má rozsah 65 stran a je členěna obvyklým způsobem na úvod, teoretickou část, experimentální část, výsledky a diskuzi, závěr, seznam literatury a seznam zkratk, obsahuje rovněž souhrn v českém a anglickém jazyce.

V teoretické části autorka poměrně podrobně rozebírá problematiku nových psychoaktivních látek, věnuje se vymezení pojmů, otázkám jejich šíření, četnosti výskytu, třídění na jednotlivé skupiny. Dále pojednává o superkritické fluidní chromatografii, její instrumentaci, používaných mobilních a stacionárních fázích. Diskutuje její využití při analýze drog. Navazuje krátkým pojednáním o hmotnostní spektrometrii (MS) včetně aplikací v analýze drog a o spojení SFC-MS. Teoretická část nabízí čtenáři přiměřený úvod do studované problematiky. Diplomová práce byla vypracována s využitím 111 literárních zdrojů, což představuje poměrně rozsáhlý soubor informací.

V experimentální části je popsáno provedení experimentů. Dosažené výsledky autorka uvádí a rozebírá v části výsledky a diskuze. Po otestování základních parametrů hmotnostně spektrometrické detekce se zabývá samotnou separací. Studuje vliv složení mobilní fáze (přídavek methanolu, aditiv), testuje čtyři různé stacionární fáze, vliv teploty a hledá nejvhodnější kombinaci experimentálních podmínek, aby dosáhla především separace izobarických látek neodlišitelných hmotnostní spektrometrií. Nakonec prezentuje úspěšnou separaci v čase kratším než tři minuty a porovnává dosažený výsledek s literárními údaji o analogických metodách HPLC-MS. Své výsledky shrnuje a hodnotí v závěru.

K předkládané práci mám následující připomínky:

- K formálním prohrškům patří překlepy či jazykové nebo formulační chyby např.: v souhrnu i jinde má být „hmotnostně spektrometrická“; v anglické verzi souhrnu raději používat „new designer drugs“ – těm se autorka v experimentální části věnuje; str. 7, obr. 3 – správně má být „fenylethylaminy“; str. 10, obr. 4 – prohozeny struktury JWH-122 a APINACA; str. 24 – řazení analyzátorů by mělo odpovídat zmíněným skupinám (průletové vs iontové pasti); str. 27 – UHPLC je přesněji ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie; str. 31 – obr. 4 nebylo nutné přebírat, jde o jednoduché schéma, které autorka mohla nakreslit na základě svých znalostí; str. 35 – směs obsahovala zásobní roztok – lépe byla připravena ředěním zásobních roztoků (mísením zásobních roztoků); str. 38 poznámka dole – systematický název se má striktně řídit českým chemickým názvoslovím; str. 50 – formulace „nevyžaduje příliš jiné vybavení“ může být zavádějící.
- Str. 8 – opravdu nejsou ještě k dispozici data za rok 2013? Nebo je toto konstatování důsledkem delší přípravy diplomové práce?
- Str. 22 – byla doložena reakce amfetaminů nebo podobných látek s CO₂ při separaci pomocí SFC?
- Str. 26 – štěpení konjugátů může být užitečné, ale také se část informace ztrácí.
- Str. 27 – nejnižší uvedená mez stanovení – pro jakou látku při použití HPLC a pro jakou při GC?
- Str. 29-30 – jaké konkrétní hodnoty měly lineární dynamické rozsahy pro Q-TOF a trojitý kvadrupól?
- Str. 31 nahoře – u jímání frakce na základě signálu vybraného iontu je uvedeno, že se tato aplikace rychle rozmáhá, jsou známy počty instalací takovýchto zařízení?
- Str. 32 – co je „definitivní metoda“?
- Str. 39 kap. 4.1 – pro čtenáře by zde mohly být zajímavé základní fragmentační cesty, např. naznačené obecně na vybraných strukturách.
- Str. 42, obr. 17 – patrně prohozeny chromatogramy?
- Str. 50 - za jakých podmínek dochází k úspoře minuty při použití FPh a 2-EP?

K předkládané práci mám následující náměty k diskusi:

U instrumentace pro SFC je zmiňováno řešení využívající kapilární kolony (str. 16 a následující). Je zde zmíněna možnost gradientové eluce (patrně změnou hustoty) a následně konstatování, že „těžko dovoluje gradient složení“ (str. 18). Může autorka komentovat tuto

charakteristiku zařízení? Uvést důvody zmíněného omezení? Co znamená „těžko“ – vůbec nelze, nebo částečně lze realizovat gradient?

Na str. 23 je zmíněn vliv pH na symetrii píků. Jaké jsou příčiny? Co změna pH způsobuje?

Pro které látky byla prováděna automatická optimalizace (str. 35)? Jak se pro ně lišilo optimum?

Na str. 41, tab. VIII je uvedeno hodnocení s využitím poměru intenzity iontu k celkovému iontovému proudu. Jaké je riziko tohoto hodnocení?

Čím si vysvětlujete rozdíl na začátku chromatogramů na obr. 15 (str. 41)?

Kolona 2-EP dopadla z hodnocených nejhůře, bylo by možné separaci zlepšit, byť za cenu prodloužení doby analýzy?

Je třeba zdůraznit, že uvedené formální i další připomínky nesnižují úroveň diplomové práce, nikterak nebrání jejímu předložení k obhajobě. Autorka zpracovala teoretickou část s využitím rozsáhlého souboru zdrojů, prokázala i potřebné experimentální dovednosti. Provedené experimenty náležitě zpracovala a zhodnotila dosažené výsledky. Lze konstatovat, že cíle diplomové práce byly splněny. Předložená práce rozvíjí aplikace superkritické fluidní chromatografie ve významné oblasti, kterou je analýza drog. Dosažené výsledky naznačují možnosti rychlé a kvalitní separace uplatnitelné ve screeningu i stanovení konkrétních cílových analytů.

Práce ukazuje, že autorka zvládla studovanou problematiku po teoretické i praktické stránce v potřebném rozsahu. Na základě výše uvedeného **doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě.**

V Olomouci 11. 5. 2015

prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.
vedoucí diplomové práce