

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Jany Dvořákové „Vývoj a optimalizace HPLC metod s využitím kolon s pevným jádrem“

Úkolem diplomantky bylo zpracovat literární rešerši zabývající se novými trendy v oblasti HPLC se zaměřením na kolony s pevným jádrem. Cílem experimentální části práce bylo optimalizovat dvě HPLC stanovení a aplikovat ji na reálné vzorky. Dále bylo požadováno provést validaci jedné z metod.

V teoretické části diplomantka zpracovala základní informace týkající kapalinové chromatografie, její instrumentace a používaných kolon. Je zde zbytečně podrobně popsána teoretická část kapalinové chromatografie, instrumentace a základních kolon. Toto jsou údaje známé již několik desetiletí. Postrádám zde praktické aplikace pro stanovení látek, které diplomantka zkoumala. Při zadání klíčových slov Cymoxanil a HPLC je na WOS k nalezení 13 vědeckých odborných prací v mezinárodních časopisech. Podobné to bude nejspíš u Famoxadonu a u pentachlorfenolu to bude zajisté ještě mnohem větší počet prací. Číslování literárních odkazů neodpovídá směrnici 9/2012 Univerzity Pardubice, která říká, že číslování odkazů musí být postupné. V této práci jsou čísla náhodně vložena.

V experimentální části práce jsou uvedeny podmínky pro optimalizaci HPLC stanovení Cymoxanilu, Famoxadonu a pentachlorfenolu. Dále zde jsou uvedeny kalibrační závislosti a naměřená data. V příloze je uveden validační protokol pro stanovení Cymoxanilu.

Práce má obvyklé členění a svým uspořádáním její teoretická část působí vcelku přehledným a uceleným dojmem. Ve výsledkové části je množství nepřesností a v části týkající se stanovení pentachlorfenolu v sedimentech jsou dle mého názoru nepřesnosti. Tato část je poměrně těžko srozumitelná a nepřehledná. Za nevhodné považuji v psaném textu používat slangové označení „injektáž“ vzorku. Slovo injektáž znamená úplně něco jiného, než dávkování vzorků při chromatografické analýze.

K práci mám následující dotazy, připomínky a náměty pro diskuzi:

- Str. 17, kap. 1.2.2: je uveden průtok mobilní fáze v jednotkách ml, správně musí být uvedeno za jaký časový interval; kap. 1.2.4 má být správně kolonový termostat a ne prostor
- Str. 18: je zde špatně uvedeno, že hmotnostní detektor je selektivní a vodivostní detektor je univerzální. Ve skutečnosti je to naopak
- Str. 22: nezdá se mi pravděpodobné, že by jedna věta byla citována ze dvou literárních zdrojů, jak je uvedeno v kapitole 2.4 hned u tří po sobě jdoucích vět
- Str. 23 1. Odstavec: Proč mají dvě po sobě jdoucí věty stejný literární zdroj 39?
- Str. 26 kap 2.4.3 říká, že se kolon s pevným jádrem používá v průmyslových aplikacích. S tímto tvrzením nesouhlasím a domnívám se, že se jedná o analýzy vzorků z těchto oblastí.
- Str. 29: skutečně se pentachlorfenol řadí mezi VOC, když má bod varu 310°C?
- Str. 31 a 32: není uvedeno, v jakých rozpouštědlech se připravovaly standardy a vzorky
- str. 33 kap. II. sediment: Není uvedeno kolik sedimentu bylo analyzováno
- Str. 38 kap 4.1 první věta: Skutečně se jedná o kvalitativní hodnocení. Nemá být spíše kvantitativní? Pokud je to uvedeno správně, tak nevidím důvod, proč vlastně byla dělána celá kvantifikace a validace.
- Str. 42: Volbu teploty na základě domněnky, že by se látka mohla rozkládat nepovažuji za správnou. Bylo to ověřeno v literatuře nebo experimentálně? Pokud by k tomu docházelo, tak by se to pravděpodobně projevilo na chromatogramu.
- Str. 44, tabulka 2: Chybí zde údaj o tom, co bylo fází A a co fází B. Totéž platí pro tabulku 5 na str. 48

- Str. 49, graf 1: na ose y musí být uvedeny jednotky. Totéž platí pro graf 1 na str. 75. Považuji za nevhodné, aby v práci byly dva grafy se stejným číslem. Stejně tak jsou zdvojená čísla tabulek ve validačním protokolu a v práci dříve.
- Str. 49, tabulka 6: Chybí údaj o počtu měření a SD nebo RSD. Doufám, že kalibrační závislost nebyla získána jedním měřením. **Za nevhodné považuji vytvářet kalibrační závislost dávkováním různého objemu jednoho roztoku.**
- Str. 50: chybí údaj o vlhkosti vzorku, když je zde operováno se vzorkem včetně vlhkosti a sušinou
- Str. 51: v tabulkách 7 a 8 opět chybí údaj o počtu opakování, SD nebo RSD.
- Str. 53, tabulky 10 a 11: lepší by bylo uvést jednotku posledního sloupce včetně hmotnosti sedimentu. V tabulce 11 chybí v 1. sloupci 6. řádku asi slovo: *odstředování*)
- Str. 53 dole: Výpočet účinnosti extrakce je dle mého názoru nestandardní.
- str. 53, tabulky 10 a 11: Dle postupu zpracování vzorků v kapitole 3.4.5 je uvedeno, že k sedimentu bylo přidáno 20ml acetonitrilu. **Jak je tedy možné, že bylo získáno 37 nebo 42ml kapalné fáze?** Z analytického hlediska je nepřípustné kvantifikovat látky, když přesahují nejvyšší bod kalibrační závislosti, jako u hodnot v tabulce 11. Již nemusí platit linearita závislosti plochy na koncentraci.
- Str. 54 tabulka 12: Není zde uvedeno, v jakých jednotkách jsou uvedené hodnoty. Dle hodnot v této tabulce se značné množství pentachlorfenolu někde ztrácí, když není přítomno ani v kapalné fázi ani v sedimentu. **Kam se pentachlorfenol mohl ztratit?**

Přes výše uvedené připomínky lze konstatovat, že práce přináší užitečné poznatky z oblasti využití kolon s pevným jádrem při stanovení herbicidů. Její stavba je logická s odpovídajícím počtem experimentálních výsledků. K části týkající se optimalizace a validace stanovení Cymoxanilu nemám zásadních výhrad. Část týkající se stanovení pentachlorfenolu je dle mého názoru nepřehledná a těžko se v ní orientuje.

Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji hodnocení:

- velmi dobře -

V Pardubicích dne 30. května 2014

Ing.  Aleš Eisner, Ph.D.
Oponent diplomové práce