

## VYUŽITÍ MIKROEXTRAKCE TUHOU FÁZÍ PRO ANALÝZU AROMAPROFILU PIVA

Cílem předložené diplomové práce bylo charakterizovat profily těkavých látek vybraných druhů pív. Diplomantka se zaměřila hlavně na optimalizaci podmínek mikroextrakce těkavých látek z headspace (HS-SPME). Získané extrakty byly následně separovány pomocí plynové chromatografie (GC) a detekovány pomocí hmotnostního spektrometru (MS) a plamenově-ionizačního detektoru (FID). Diplomová práce je po experimentální i obsahové stránce přiměřeně rozsáhlá.

V teoretické části diplomantka zpracovala rešerši týkající se mikroextrakce těkavých látek tuhou fází, a to fyzikálně-chemických principů extrakce, experimentálního uspořádání, používaných sorbentů, extrakčních módů, a také jednotlivých parametrů ovlivňujících extrakční proces. Dále jsou v teoretické části popsány rozdíly v profilech těkavých látek různých druhů pív, což je dáno vlivem technologie výroby piva a použitými surovinami. Rešerše je přehledná a srozumitelná s dostatečným výčtem citací odborné literatury.

V praktické části diplomantka prezentuje nejprve výsledky optimalizace mikroextrakce těkavých sloučenin a dále také profily těkavých látek deseti vzorků pív. Optimalizovány byly tyto parametry extrakce: teplota inkubace vzorku, teplota a doba extrakce, možnost použití více extrakčních kroků při různých teplotách, přidavek NaCl, pH a doba desorpce. Bylo využito také statistického plánování experimentu a vyhodnocení optimálních podmínek některých parametrů bylo provedeno metodou odezvové plochy. Optimální podmínky extrakce byly aplikovány při extrakci těkavých sloučenin ze vzorků pív. Analýzy extraktů byly realizovány pomocí GC-MS, přičemž identifikace jednotlivých sloučenin byla provedena porovnáním naměřených hmotnostních spekter s knihovnamí, a zároveň také s využitím retenčních indexů. Procentuální zastoupení jednotlivých složek bylo vypočteno z chromatografických záznamů získaných pomocí GC-FID.

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

- Str. 35, 2. odstavec: tady soudím, že se nejedná o neridol, ale nerolidol.
- Str. 42, kapitola 1.5, 2. odstavec: NIST 14 je poměrně nová verze (r. 2014) databáze NIST/EPA/NIH, Stein a Scott publikovali své výsledky v roce 1994, určitě ji ještě neměli k dispozici.
- Str. 42: popis  $t'_R$  u vzorce (3) – jedná se o redukovaný retenční čas.
- Str. 48, obr. 5: jak si vysvětlujete pokles plochy píků při době desorpce  $t=2$  min oproti  $t=1$  min a  $t=3$  min?
- Str. 49, kapitola 3.1.2: jak byla volena koncentrace standardů? Dle mého, při zjišťování, zda má význam opakovaná extrakce by měl být experiment proveden se vzorkem, ne se standardy, neboť se může stát, že připravená koncentrace standardů může být příliš vysoká, čímž by bylo možno provést několik extrakcí se stejným výsledkem nebo naopak nepřiměřeně nízká.
- Str. 50, kapitola 3.1.3: optimalizace teploty extrakce na směsi standardů se mi v tomto případě nezdá vhodné z důvodu kompetice dalších těkavých složek o aktivní centra při extrakci reálného vzorku.

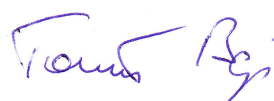
- Str. 51, 2. odstavec: jaká byla teplota v laboratoři a jak byla kontrolována teplota 20°C v kolonovém prostoru GC? Termostat je chlazen okolním vzduchem, teplota laboratoře by tedy měla být reálně cca o 5°C nižší než nastavená teplota termostatu, cca 15°C v laboratoři se mi nezdá jako reálná teplota.
- Str. 51, 5. odstavec: nezdá se mi vhodné volit teplotu inkubace nižší, než je teplota extrakce, logicky pak ustavování rovnováhy trvá delší dobu a za stejnou dobu pak může dojít k extrakci nižšího množství sloučenin. Naopak bych zvolil porovnání s extrakcí při vyšší teplotě (80°C) a zároveň kratším extrakčním časem (10-20 min) s inkubací při teplotě extrakce.
- Str. 52, 1. odstavec, komentář k Obrázku I/2 v Příloze I: na chromatogramu pro extrakční teplotu 80°C jsou na první pohled vyšší píky těkavějších látek a na chromatogramu pro teplotu 30°C zase vyšší píky výševroucích látek. Jaká byla zvolena hranice mezi těkavými a středně těkavými látkami?
- Str. 55 a 56, obr. 25 a 27: porovnáním plochy píků mi vychází, že použití doby extrakce 15+15 min (obr. 25) je nejvhodnější, ale nekoreluje to s hodnotami na obr. 27. Čím je to dané?
- Str. 59 a 60: Podle Paretova grafu na obr. 31 vpravo je patrné, že změna pH je na hranici významnosti pro proměnnou „počet píků“, kdežto pro proměnnou „plocha píků“ je změna pH nevýznamná. Proč byl tedy další experiment se změnou pH na obr. 33 vyhodnocován podle plochy píků a ne podle počtu píků?
- Str. 67, poslední odstavec, komentář pro černé vlákno: jak je definována „první část chromatogramu“? Na příslušném obr. v příloze (Obr. I/4) je vidět na chromatogramu pro extrakci při dvou teplotách pouze 2 píky vyšší než na chromatogramu pro extrakci při jedné teplotě (do 20 minuty, tj. poloviny chromatogramu). Bylo porovnání obou chromatogramů vyjádřeno i číselně (počet píků, celková plocha píků)? Stejně tak na Obr. I/6 se mi na první pohled nezdá, že použití dvou teplot při extrakci má lepší výsledky než použití jedné teploty. Celkově by bylo vhodné uvádět i číselné porovnání chromatogramů v přílohách.
- Str. 70, Tabulka 5: rozdíl RI 20-30 jednotek u některých sloučenin je velký na to, aby se mohlo jednat o potvrzení identifikace látky.

Rozsah diplomové práce je přiměřený. Formální úroveň práce je velmi dobrá, ojediněle se vyskytují gramatické chyby a překlepy, chyby formátování se prakticky neobjevují. Po odborné stránce se vyskytují některé výše popsané nedostatky, hlavně z důvodu nezkušenosti diplomantky s danou tematikou. Předložená práce i přes uvedené nedostatky splňuje požadavky kladené na diplomové práce.

Navržený stupeň hodnocení: **– velmi dobře –**

Závěrečné stanovisko: **doporučuji k obhajobě**

V Pardubicích dne 22. května 2017



Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.

Oponent diplomové práce