

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Vendula Hladíková

Název práce: Stanovení vitamínu D v potravinách s využitím disperzní kapalinové mikroextrakce.

Bc. Vendula Hladíková se v diplomové práci zabývá analýzou vitamínu D v mléce a mléčných výrobcích s využitím disperzní mikroextrakce a kapalinové chromatografie. Vyvinutá metoda je účinná a nedochází k velké spotřebě organických rozpouštědel, jako je tomu u klasické extrakce kapalinou.

V teoretické části diplomantka popisuje vznik vitamínu D, jeho formy a účinky na zdraví. Věnuje se moderním instrumentálním metodám, které se pro jeho analýzu využívají. Diplomantka prokázala, že dokáže pracovat s anglicky psaným textem a zvládla vypracovat rešeršní část zaměřenou na analýzu vitamínů D pomocí separačních technik. Informace k teoretické části diplomantka čerpala z velkého množství převážně anglicky psané literatury (celkem 95 citací). Při popisu extrakčních technik jsou však postupy velmi podrobné, některé informace se do rešeršní části neuvádějí a podle odkazu na literaturu je možné si je dohledat. V experimentální části jsou popsány podmínky a postupy stanovení, závěrem jsou diskutovány dosažené výsledky, které jsou doloženy obrázky a tabulkami. Velmi zdařilá je kapitola popisující validaci metody včetně všech validačních parametrů.

Diplomová práce je psána klasickou formou, s minimálním množstvím překlepů avšak s velkou řadou neobratných formulací a nesprávných technických výrazů. Z formálního hlediska si dovoluji kritizovat použití nuly s tečkou u úvodu. Úvod je lepší nečíslovat.

Připomínky či náměty k diskuzi:

- Diplomantka si protiřečí v úvodu a na straně 17. Jednou se dozvídáme, že vitamín D si tělo umí syntetizovat a poté že neumí. Co je pravda?
- Str. 49, kapitola 2.4.3 – Kalibrační roztoky byly připraveny odpipetováním příslušného objemu do 1 ml. Proč se roztoky nepipetovaly do odměrných baněk? Dle mého názoru je tento postup nepřesný, nemůžeme zaručit stále stejný objem.
- Postupy extrakce (případně zmýdelnění) uvedené v experimentální části jsou u optimalizace, kalibrace i reálných vzorků stejné. Zbytečně se opakují.
- Str. 34 – „.....všechny body byly zmýdelněny.“ Body asi zmýdelněny nebyly, zřejmě šlo o kalibrační roztoky.
- Str. 56 – „...zkumavky byly obaleny alobalem, aby se zamezilo přístupu vzduchu“. Opravdu alobal sloužil k zamezení přístupu vzduchu?
- Kolony Kinetex 1.7 u XB-C18 jsou uvedeny dvakrát, je to překlep, nebo byly opravdu použity dvě stejné kolony? Pokud ano, jak se separace lišila, když mají stejnou stacionární fázi a stejný rozměr?
- Co znamená uspokojivá separace? Jaké parametry diplomantka použila pro hodnocení kvality separace?
- Opravdu byl optimální průtok u kolony Ascentis Express 0,7 ml/min? Dle mého názoru u této kolony je optimální účinnost u menšího průtoku. Jaký byl tlak na koloně při takovém průtoku?

- Důležité obrázky, na které se diplomantka odkazuje v textu, by měly být součástí výsledkové části a neměly by být pouze uvedeny v příloze (např. finální separace).
- U kalibrační závislosti (str. 59) je velký rozdíl v koncentracích dvou posledních bodů. Poslední kalibrační bod potom velmi ovlivňuje směrnici a celou kalibrační závislost. Proložení kalibrační závislosti u méně koncentrovaných roztoků již není patrné. Vzhledem k tomu, že byly analyzovány vzorky s přibližně stejným obsahem vitamínu D, volila bych menší rozsah kalibrační závislosti se srovnatelnými rozestupy mezi jednotlivými kalibračními roztoky.
- Pro optimalizaci chromatografické separace byla k úpravě vzorku použita hydrolýza pod zpětným chladičem a extrakce kapalinou. Poté diplomantka optimalizovala DLLME techniku z důvodu časové náročnosti předchozí metody a vyššího množství použitých rozpouštědel. Bylo také provedeno porovnání obou metod z hlediska výtěžnosti?
- Str 94. – kompletní výsledky DOE – z uvedené tabulky je patrná velká variabilita v datech, což je patrné i na obr. 22 (str.73), kde jsou odchylky u jednotlivých parametrů dosti vysoké. Lze polemizovat, jestli navržená metoda je optimální. Pokud pomínu zmíněné odchylky mezi jednotlivými experimenty, dle mého názoru nebylo u plánovaného experimentu nalezené optimum. Optimální hodnoty u všech parametrů (i u DOE1) odpovídají krajním navrženým hodnotám, nebylo pozorováno maximum. Navržené rozsahy jednotlivých parametrů mohly být upraveny a plánování experimentu opakováno. Je však možné, že u daných parametrů není možné změnit rozsah a že při tomto typu extrakce se k maximum pouze blížíme a není možné ho dosáhnout. Případnou diskuzi na toto téma bych přenechala na zvážení komise.

Závěrem mohu konstatovat, že diplomantka Vendula Hladíková splnila i přes výše uvedené připomínky zadání diplomové práce. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji

B.



doc. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.