

Posudek na Diplomovou práci Lenky Bartůňkové "Analýza významných antioxidantů v bylinách s využitím moderních extrakčních technik"

Předložená diplomová práce se zabývá možností izolace vybraných antioxidantů z různých vzorků bylin. Práce je přehledně členěna a podává v teoretické části ucelený přehled celé problematiky. V teoretické části bych vytkl, že se diplomantka příliš podrobně věnovala HPLC, kterou používala jako vyhodnocovací nástroj. Spíše by bylo vhodnější uvést podrobněji aplikační část týkající se extrakcí. Tato část je poměrně chudá. V celé předložené práci je poměrně nízká kvalita většiny obrázků.

V experimentální části je popis uspořádání a pracovní postup analýzy. Dále je tu poměrně podrobně popsáno provedení extrakcí a zpracování extraktů. Za nevhodné považuji filtrování extraktů před jejich doplněním po rysku, jak je popsáno v kapitole 3.5.5 na straně 55. Může tak docházet ke ztrátám vyextrahovaných látek na diskovém filtru.

Dále bych zmínil některé nedostatky, které vyplynuly pravděpodobně i z nezkušenosti autorky se zpracováváním naměřených dat:

- Str. 18: 4. odstavec – je uvedeno, že antioxidační kapacitu lze stanovit metodou HPLC. Jak se data z HPLC převádějí na antioxidační kapacitu?
- Str. 23: kapitola 2.5.1.2 – 1. Odstavec – Lze použít extrakt po desorpci kapalinou pro GC? Zde je uvedeno, že lze použít pouze pro HPLC a elektroforézu.
- Str. 24: slovo „monitoring“ nahradit českým sledování
- Str. 24: kapitola 2.5.1.3 – nepoužívá se **detekce diodovým polem**, ale UV/VIS detekce s diodovým polem
- Str. 33: 2. Odstavec – Toto tvrzení platí obecně pro nadkritickou tekutinu a ne pouze pro oxid uhličitý
- Str. 35: 2. Odstavec – Nedochází k čerpání extrakčního roztoku. V extrakci nadkritickou tekutinou se používá plynů, k jejichž dopravě se používá jednopístových pump a ne čerpadel.
- Str. 36: kapitola 2.5.8.1 – kapitola se jmenuje nevýhody, ale žádné nejsou uvedeny
- Str. 37: kapitola 2.5.8.2 – Skutečně se pomocí SFE extrahují ionty kovů?
- Str. 38: poslední odstavec – neshodují se s tvrzením, že pro μ -HPLC se nedají použít MS detektory. Mnoho firem toto uspořádání dodává.
- Str. 54: kapitola 3.5.3 – zkoncentrováno na 20 ml a pak do 25 ml baňky (poměrně málo na kvantitativní převedení a filtraci); **Z jakého důvodu byl zvolen právě metanol pro extrakci pomocí Soxhletova extraktoru?**
- Str. 59: LoD a LoQ byla tedy stanovena experimentálně ředěním roztoků nebo podle vzorců 8-10? Pokud byla dělána experimentálně, tak podle standardů v čistém rozpouštědle nebo v reálných vzorcích?
- Str. 60: Bylo by vhodné kalibrační křivky uvést alespoň do příloh. Považuji za vhodné uvést, o jakých koncentracích byly připravovány kalibrační roztoky, kolik bodů kalibrační křivky bylo proměřováno. Skutečně byly připravovány kalibrační roztoky o přesných koncentracích odpovídajících LoQ? Byla kalibrace validována?
- Str. 61: Na předchozí straně je uvedeno, že se doba extrakce optimalizovala v rozmezí 1-5hod a v grafu je uvedena hodnota pro 0,5hod. Na ose X je chybně uvedena doba extrakce v minutách. Čím by se dal vysvětlit nárůst vyextrahovaného množství látek po 2,5hodinách oproti 2 hodinám extrakce?
- Str. 62: Obr. 26 – Podivné kolísání výtěžku stanovovaných látek se změnou teploty.
- Str. 63: kapitola 4.3.3 – Nevhodná optimalizace. Přidané látky v ethanolickém roztoku se nechovají stejně jako látky obsažené v bylině. Navíc etanol působí jako modifikátor oxidu uhličitého. Dále by mne zajímalo, jaká byla extrakční účinnost, když byl vzorek uměle připraven o známé koncentraci. Tvrzení, že látky se po čase delším než 20min

degradují, nemůže být správné, když po 20 minutách jsou již vyextrahovány v záchytném rozpouštědle.

- Str. 64: Naprosto nevhodný je modifikátor směs acetonitrilu a koncentrované kyseliny octové (1:1). Hrozí destrukce celého zařízení.
- Str. 92: nesouhlasím s druhou větou – u některých látek jsou velké rozdíly mezi obsahem stanoveným podle kalibrační křivky a metodou standardního přídatku, někde několikanásobně (např. *tab. VII* na str. 68 eskuletin a apigenin po extrakce SFE; *tab X* na str. 73 7-hydroxykumarin oběma extrakčními metodami; *tab. XI* na ste. 74 eskuletin a rutin; *tab. XII* na str. 76 apigenin po extrakci SFE; *tab. XV* na str. 80 všechny stanovované látky kromě eskuletinu po extrakci SOX a další)
- Str. 97: Uvedené hodnoty antioxidační kapacity v *tabulce XXIII* jsou pro získané extrakty nebo pro měřené roztoky? Podle uvedených hodnot v extraktech pomocí SFE bylo až řádově méně antioxidantů a přitom naměřená antioxidační aktivita je někdy nižší, někdy stejná a jindy vyšší než u extraktů ze SOX. Čím si to lze vysvětlit?

Ve výsledcích je uveden pouze jeden chromatogram extraktu získaného pomocí Soxhletova přístroje. Domnívám se, že by bylo vhodné je uvést alespoň v příloze. Při citaci chromatogramů v textu je všude napsáno, že „*chromatogramy byly získány při extrakci nadkritickou tekutinou*“, což asi nebude pravda. U většiny chromatogramů je nevhodně zvolené měřítko osy Y. Stanovované látky nejsou téměř vidět (viz *obr. 31-34; 36; 38; 39; 41-43; 45-47*). Na mnoha chromatogramech je velmi mnoho píku a některé se pohybují v okolí retenčních časů standardů. U většiny chromatogramů je vidět odchylka retenčních časů od retenčních časů standardů uvedených v *tab. V* na str. 59 (např. *obr. 31, 34, 47* atd.). Navíc jsou kvantifikovány některé píky, které jsou koelucí několik látek, nebo jsou nedostatečně rozdělené (viz. *obr. 31, 38, 39, 41, 42, 43, 45*). Podle jakého kritéria byly látky identifikovány? V předložené práci postrádám informace o tom, jak byla prováděna metoda standardního přídatku a jak byly počítány výsledky touto metodou, což považuji za poměrně velkou chybu. Považuji za zbytečné natahovat tabulky o látky, které nebyly stanoveny ani jednou extrakční technikou, jak je tomu ve všech uvedených tabulkách ve výsledkové části.

Obecně bych řekl, že bylo naměřeno mnoho experimentálních dat, ale vhodnější by bylo více se zaměřit na optimalizaci extrakčních parametrů na vybraných vzorcích bylin, než extrahovat velké množství neznámých vzorků.

Dále bych se rád zeptal:

- Jaké jsou hlavní výhody PFE oproti extrakci v Soxhletově přístroji, kromě úspory rozpouštědla?
- Jaká výbojka se používá pro VIS oblast?
- Při jaké teplotě se extrahuje při extrakci pomocí Soxhletova přístroje při použití methanolu?

Diplomantka **splnila** zadání své práce, a vzhledem k výše uvedeným připomínkám ji hodnotím známkou

- **v e l m i d o b ř e** -

V Pardubicích 27. května 2010

Ing. Aleš Eisner Ph.D.

