

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Michaely Chytilové

Název práce: Stanovení abiotického rozkladu vyvíjeného bioaditiva

Autor: Bc. Michaela Chytilová

Akademický rok: 2014/2015

Oponent: Mgr. Karel Čížek, Ph.D., Výzkumný ústav organických syntéz a.s., 533 54 Rybitví

Předmětem této diplomové práce bylo studium hydrolytického chování látky Fenyl 7, která se řadí mezi syntetické strigolaktony. Strigolaktony coby zástupci rostlinných hormonů hrají důležitou roli při pěstování zemědělských plodin, jelikož jejich aplikací je možné pozitivně ovlivňovat dosahované výnosy. S vývojem nových látek, u kterých je zamýšleno jejich široké použití, souvisí i povinnost jejich registrace, což je proces, při kterém se hodnotí fyzikálně-chemické vlastnosti spolu s toxikologickými a ekotoxikologickými. Jde o proces, který v EU řeší nařízení REACH a je též implementován do českého práva. Součástí testování ekotoxikologických vlastností látky je její degradace za definovaných podmínek. Jedním z popsanych testů je abiotický rozklad: hydrolyza jako funkce pH. Právě tomuto testu byla podrobena zkoumaná látka Fenyl 7.

V teoretické části autorka přehledně seznamuje s charakteristikou rostlinných hormonů a zvláště její skupinou strigolaktonů. Zabývá se procesem registrace chemických látek a s popisem zkušební metody používané v této práci. Dále zmiňuje požadavky na validaci analytických metod a vyjmenovává nejdůležitější validační parametry, které se zjišťují a vyhodnocují.

V experimentální části autorka podává podrobný popis experimentů, kterými se v této práci zabývala. Jednalo se o provedení testů na zjištění hydrolytického chování látky Fenyl 7 v pufovaných roztocích o pH 4, 7 a 9 v temperovaném prostředí o teplotách 4, 25 a 40 °C. Je zde podrobně popsána HPLC metoda pro stanovení látky Fenyl 7, která byla před použitím verifikována. Autorka provedené experimenty vhodným a názorným způsobem zpracovala do tabulek a grafů. Uvedla grafickou závislost logaritmu koncentrace na čase, kdy sledovala rychlost úbytku počáteční koncentrace sledované látky v závislosti na pH a teplotě prostředí. Ze získaných závislostí vypočítala příslušné rychlostní konstanty a poločasy rozpadu. Dále s využitím Arrheniovy rovnice vypočítala aktivační energii a před-exponenciální faktor pro dané pH.

V diskuzi poté zhodnotila dosažené výsledky a uvedla závěry, které z nich vyplynuly. Konstatovala, že hydrolytický rozklad probíhal podle reakce pseudoprvního řádu. Obecným zjištěním bylo, že látka Fenyl 7 je velmi nestála v alkalickém prostředí, kde dochází k rychlému hydrolytickému rozkladu. Naopak v kyselém prostředí je poločas rozpadu řádově stovky až tisíce hodin.

Předložená diplomová práce je sepsána pečlivě, přesto bych k ní měl několik poznámek či dotazů, které uvádím níže.

Citace jsou obecně vhodným způsobem zpracované, ale často se autorka odkazuje na vnitřní předpisy VUOSu (výzkumné zprávy či standardní operační postupy) [citace 23, 25, 28, 29, 30a 34]. Ty z hlediska dostupnosti nejsou zrovna nejvhodnější literární zdroje. Určitě bych citoval původní OECD metodu, podle které bylo vypracováno příslušné SOP pro sledování hydrolytického rozkladu [v textu citace č. 34 na str 30 a dále v textu zmínka na str. 27].

Na str. 24 v kapitole 1.4.1 druhá věta nedává úplně smysl. Něco chybí nebo přebývá.

Na str. 28 je uvedeno, že se zkouška provádí ve skleněných nádobách v temnu a za sterilních podmínek. Jakým způsobem byly sterilní podmínky zajištěny a jak byly kontrolovány po skončení testů? Podle požadavků OECD metody je to jeden z kontrolovaných parametrů.

Na str. 33 se vyskytuje výraz „Kvantifikativní limit, LOQ“, správně by bylo použít „Kvantifikační limit“.

Na str. 38 v kapitole 2.3.3 je uvedena verifikace analytického postupu. Autorka zřejmě metodu sama nevyvinula. Bylo by dobré uvést odkaz na původní práci.

Na str. 39 ve větě „Analýza jednoho vzorku o objemu 10 µL probíhala 15 min.“ by správně mělo být uvedeno 21 min, což vyplývá z průběhu gradientu, který je uveden pod tím.

Na str. 40 a dále 41 jsou uvedeny teploty, při kterých probíhaly testy, v rozmezích 4 ± 1 °C, 25 ± 1 °C, 40 ± 1 °C a 50 ± 1 °C. Kdežto v kapitole 1.6.2 Zkušební podmínky a postupy na str. 29 se pracuje s tolerancí $\pm 0,5$ °C. Proč se tato tolerance v experimentální části změnila?

Na str. 43 v Tabulce 2 je uveden parametr „Hmotnost“, který souvisí s hmotností pipetovaného objemu a dále koncentrace kalibračního roztoku. Bylo by dobré v textu tuto skutečnost lépe popsat a uvést též hustotu acetonu, ze které se vycházelo pro výpočet této koncentrace. S tím souvisí i poznámka, že by asi bylo lepší si vybrat jednu hlavní jednotku koncentrace (mg/L nebo µM) a s ní dále pracovat, viz příprava kalibračních roztoků na str. 39.

Na str. 43 se v kapitole 3.1.1 Linearita v Tabulce 2 uvádí, že koncentrace látky Fenyl 7 byla verifikována pouze do koncentrace 1,67 mg/L, kdežto koncentrace, které se v testech měřily, byly nižší než tato hodnota, viz např. 0,16 mg/L v Tabulce 12 na str. 52.

Na str. 69 se uvádí, že v dalších pokusech bude nutné ještě identifikovat degradační produkty a určit jejich případnou toxicitu. Byl v průběhu měření pozorován vznik degradačních produktů? Pokud ano, je možné je zkusit blížeji charakterizovat již na základě získaných výsledků.

Výše uvedené poznámky či otázky nijak nesnižují vysokou odbornou úroveň předložené diplomové práce, která je sestavena přehledně a logicky. Po obsahové i odborné úrovni ji hodnotím výrazně kladně. Celkový přístup k tématu svědčí o pečlivém postupu a kvalitě odborného vedení.

Předložená práce splňuje zadání, a proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím ji jako

výbornou.

V Rybitví dne 19. 5. 2015



Mgr. Karel Čížek, Ph.D.