

## ANALÝZA LÁTEK S ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU V MEDOVINÁCH

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na vývoj a aplikaci metody kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií pro stanovení fenolických látek ve vzorcích medovin. Diplomantka na 78 číslovaných stranách a v krátké přílohové části uvádí výsledky kvantitativní analýzy 23 fenolických látek, zahrnující fenolické kyseliny a dále aglykony a glykosidované struktury heterocyklických polyfenolů, jež analyzovala ve 22 vzorcích medovin. Dále je v práci porovnán přístup analýzy původních vzorků a vzorků po extrakci.

Diplomová práce je psána čtivou formou a téměř bez překlepů. Studentka zpracovala bohatou teoretickou část, která dopodrobna popisuje veškeré aspekty týkající se medu, medovin, studovaných antioxidantů a jejich analýzy. Některé statě teoretické části by však bylo lépe vypustit, což by dle mého názoru přispělo k celkové vyváženosti práce (teorie končí na straně 48, výsledková a diskusní část je podstatně kratší). Drobným nešvarem teoretické části je občasná nejednotnost názvosloví (fenolické *vs.* fenolové kyseliny, guajakol *vs.* guaiakol, vanilová *vs.* vanillová kyselina atd.) a dále používané názvosloví enzymů (glukózaoxidáza má být správně glukosa oxidasa). K experimentální a výsledkové části práce mám následující komentáře a dotazy:

- V tabulce 5 je u mnoha vzorků uvedena pomlčka pro obsah alkoholu. Znamená to, že tyto medoviny alkohol neobsahují?
- V části 2.3.2 je uváděna příprava vzorků ředěním mobilní fáze obsahující 20 % acetonitrilu. Použití rozpouštědla s vyšší eluční silou, než má mobilní fáze na počátku gradientu a skokový profil gradientu (tabulka 7) by mohl vést k deformaci fronty píků a jejich štěpení, obzvláště pro látky s nízkou retencí. Byly tyto efekty pozorovány?
- V části 3.1 věnované optimalizaci HPLC/MS analýzy uvádí diplomantka, že byla provedena optimalizace koncentrace kyseliny mravenčí, dále počáteční koncentrace v gradientu a strmost gradientu, ovšem jakákoliv optimalizační data v diplomové práci chybí. Jaká vstupní data a výpočetní metoda byla použita pro optimalizaci gradientového profilu? O výsledcích s ohledem na koncentraci kyseliny mravenčí není v diplomové práci rovněž jiná zmínka.
- Bylo by vhodné uvést mrtvý objem kolony a zpoždění gradientového systému, diplomantka se na tyto veličiny odkazuje v diskusi na str. 53.
- Na obr. 17 jsou uvedeny separace *cis*- a *trans*-formy kyseliny ferulové. Na základě čeho bylo zjištěno pořadí eluce těchto forem? Matoucí je také označení píků v chromatogramu (např. kyselina gentisová a 3,4-dihydroxybenzoová je u dvou píků, stejně tak epikatechin a katechin a další látky). Jedná se také o stereoizomerní formy? Ve výřezu je pravděpodobně chybně označen pík „14a“.
- Regresní diagnostiky a grafy uváděné na str. 55 v diplomové práci chybí. Na str. 56 je uvedeno, že byl vypuštěn nejnižší bod z kalibračních závislostí. Jednalo se o vlivný bod?
- Čím si vysvětlujete nízkou shodu retenčních časů na obr. 17 a 18? Na obr. 18 je uvedeno opačné eluční pořadí látek 17-16-15.

- Získaná kvantitativní data jsou vícerozměrného charakteru a interpretace vlivu podmínek zpracování na obsah studovaných látek je, jak uvádí autorka, obtížná, ne-li nemožná. Bylo by možné získat detailnější informace např. s použitím metody hierarchického shlukování?

Do diskuse bych rád vznesl následující dotaz:

- Jaký je názor diplomantky na využití „konfirmačního iontu“ při kvantifikaci v HPLC/MS analýze s využitím MRM přechodů?

Závěrem mohu konstatovat, že diplomantka splnila zadání diplomové práce. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou

**- výborně-m -**

V Pardubicích dne 30. května 2017



doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.