

Posudek na Diplomovou práci

Autorka: **Bc. Hana Štefanová**

Název: **Využití mikroextrakce tuhou fází pro analýzu profilu těkavých látek chmele**

Předložená diplomová práce se zabývá analýzou těkavých látek obsažených ve chmelu. Práce je přehledně členěna a podává v teoretické části ucelený přehled dané problematiky. Bohužel velká část se zabývá obecně známým popisem chromatografie a extrakce (18 stran) a část věnující se vlastnímu stanovení těkavých látek ve chmelu je **na pouhých 6 stranách**, z čehož celé 2 strany zabírají tabulky. Je zde zpracováno pouze 8 literárních zdrojů, z čehož je jedna česky psaná disertační práce. Po zadání klíčových slov „hop, SPME a GC“ univerzitní vyhledávač PRIMO poskytl více než 150 odkazů na recenzované časopisy, které se touto problematikou zabývaly. U většiny obrázků chybí citace literatury v legendě a některé mají poměrně nízkou kvalitu. Za nevhodné považuji v česky psané práci používat slovo *analyt*, když existuje český výraz stanovovaná látka.

V experimentální části je popis uspořádání a pracovní postup analýzy. V pracovních postupech (str. 50) bych očekával informaci o optimalizovaných parametrech a jejich rozsahu. Skutečně byla počáteční **teplota termostatu 250°C při GC/FID analýzách**, jak je uvedeno na str. 50? V předposledním odstavci téže strany se nejedná o teplotu iontového zdroje, ale o teplotu převodníku do MS.

Dále bych zmínil některé nedostatky, které vyplynuly pravděpodobně i z nezkušenosti autorky se zpracováváním naměřených dat a psáním ucelené vědecké práce:

- str. 18 Z jakého literárního zdroje pochází nejznámější odrůdy českého chmele, když literatura 17 je o chmelu z Austrálie?
- str. 21 V čem se liší silice chmele a chmelové silice, jak je v názvu kapitol 1.5.1 a 1.5.2?
- str. 22 Domnívám se, že nelze zaměňovat uhlovodíková a uhlíková frakce a kyslíkatá a kyslíková frakce.
- str. 24 Skutečně je vitamín E derivátem chromanu, jak je uvedeno v posledním odstavci? Co znamená chromovaný cyklus?
- str. 30 Použitá zkratka PA v tabulce je vysvětlena jako polyakrylát a v seznamu zkratk je to označení pro Pensylvánii. Co je správně? Nelze používat stejné zkratky pro různé věci.
- str. 31 Domnívám se, že anglické *direct immersing* lze přeložit do češtiny.
- str. 32 Poslední odstavec - je citována literatura 46 za odkazem na tabulku 3, kde je citována literatura 42. Co je správně?
- str. 35 Postrádám odkaz na zdrojovou literaturu. Totéž na str. 37 ve druhém odstavci.
- str. 41 V kapitole 1.14.1 chybí jeden krok při SPE. Jaký krok předchází vlastní extrakci stanovovaných látek při SPE? Jak se při SPME dělá selektivní desorpce?
- str. 41 - 42 Poslední odstavec je citován literatuře 60 a je v něm odkaz na tabulky 5 a 6, které mají ale odkaz na literaturu 62. Co je správně? Hodnoty v tabulce 5 jsou zaměněny. Extrakční techniky mají být obráceně. Hodnoty uvedené v tabulce 6 jsou skutečně v %, jak je zde uvedeno? Ve zdrojové literatuře tomu tak není. (viz přiložené tabulky)
- str. 54 Je zde odkaz na tabulku 13, která se v předložené práci nevyskytuje. Co má být odkázáno správně? V poslední větě asi má být červené vlákno a ne černé.

- *str. 47* Nepovažuji za vhodné používat termín extrakce na tuhé vlákno pro SPME. (2. a 4. odstavec) Správně je extrakce tuhou fází.
- *str. 49* Čistota plynu se běžně uvádí číselným označením a ne pojmem ultra čistý. Jakou čistotu helia posluchačka používala?
- *str. 50* Považoval bych za vhodné uvést konkrétní knihovny hmotnostních spekter včetně čísel.
- *str. 55* Skutečně byla optimalizace metodou CCD prováděna 3x, jak vyplývá z legendy obrázků 14 a 15? Není to obvyklé řešení optimalizace touto metodou. Stejný dotaz platí pro data prezentovaná na obrázcích 25 - 30.
- *str. 56* Proč u kombinace teplot není použita metoda CCD, když u ostatních optimalizací byla používána?
- *kap. 3.4* Proč nebyly zvoleny optimální podmínky kombinace časů extrakcí podle CCD? Nepovažuji za vhodné volit podle jednoho bodu optimalizace. Pokud byla tato volba provedena, tak bych očekával, že bude experimentálně potvrzena porovnáním hodnot s optimálními z CCD. Bylo toto provedeno a lze to doložit výsledky?
- *str. 63* Podle čeho na obrázku 23 lze udělat závěr, že doba druhé extrakce je statisticky nevýznamný parametr, jak je uvedeno na str. 63 v poslední větě a na str. 65 ve druhém odstavci? Toto by bylo vhodné doložit příslušnou tabulkou z používaného programu pro statistické zpracování dat.
- *str. 64* Asi má být citován obrázek 29 a ne 98 jak je pod ním uvedeno v textu.
- *str. 65* Proč nebylo u testovaných vláken při extrakci označené II využíváno optimálních teplot pro každé vlákno nalezených dříve v kapitole 3.4? Pro všechna vlákna zde byla jako optimální zvolena kombinace 90 a 40°C a tady se používá 90 a 30°C.
- *str. 66* Co znamená číslo měření na obrázcích 31 až 34? Skutečně je každý sloupec na tomto obrázku průměrem 3 hodnot, když jsou zde uvedeny chybové úsečky?

Skutečně jsou v příloze V sloučeniny detekované metodou GC/FID? Jak byly počítány retenční indexy **mimo homologickou řadu uhlovodíků**? Podle experimentální části byla používána homologická řada uhlovodíků C6 – C40 (str. 49) a v tabulce jsou hodnoty 700 – 800 označené jako mimo homologickou řadu. **Jak je to možné?** V závěru bych očekával optimální podmínky pro stanovení těkavých látek obsažených ve chmelu.

Po formální stránce předložená diplomová práce odpovídá směrnici č. 9/2012 Univerzity Pardubice.

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

- - - C - - -

V Pardubicích 29. května 2019

Ing. Aleš Eisner Ph.D.

processes take place like with materials such as Carboxen/PDMS and Carbowax/Divinylbenzene. We used PDMS exclusively in this study for both SPME and SBSE.

The following table shows the experimental and/or predicted Log K_{ow} values and the calculated recoveries for the 16 EPA 610 PAH compounds under consideration in this work. The recoveries are calculated on the basis of a 10 mL sample volume, the 100 μ m PDMS phase (0.612 μ L PDMS) for SPME and the 10 mm TWISTER with a phase thickness of 0.5 mm (24 μ L PDMS) for SBSE.

Table 1. Log K_{ow} values for US EPA 610 PAH as predicted from „SRC KowWin“ ver 1.66 [4] and experimental values from references therein

Compound	CAS Number	Log K_{ow} (Exp./Calc.)	Recovery SPME	Recovery SBSE
Naphthalene	[91-20-3]	3.30 / 3.17	0.11	0.83
Acenaphthylene	[208-96-8]	3.94 / 3.94	0.35	0.95
Acenaphthene	[83-32-9]	3.92 / 4.15	0.34	0.95
Fluorene	[86-73-7]	4.18 / 4.02	0.48	0.97
Phenanthrene	[85-01-8]	4.46 / 4.35	0.64	0.99
Anthracene	[120-12-7]	4.45 / 4.35	0.63	0.99
Fluoranthene	[206-44-0]	5.16 / 4.93	0.90	1.00
Pyrene	[129-00-0]	4.88 / 4.93	0.82	0.99
Benz[a]anthracene	[56-55-3]	5.76 / 5.52	0.97	1.00
Chrysene	[218-01-9]	5.81 / 5.52	0.98	1.00
Benzo[b]fluoranthene	[205-99-2]	5.78 / 6.11	0.97	1.00
Benzo[k]fluoranthene	[207-08-9]	6.11 / 6.11	0.99	1.00
Benzo[a]pyrene	[50-32-8]	6.13 / 6.11	0.99	1.00
Indeno[1,2,3]pyrene	[193-39-5]	--- / 6.70	1.00	1.00
Dibenz[a,h]anthracene	[53-70-3]	6.80* / 6.70	1.00	1.00
Benzo[g,h,i]perylene	[191-24-2]	6.63 / 6.70	1.00	1.00

* Average from 3 references

From table 1 it is obvious that SBSE will theoretically lead to quantitative extractions for all compounds except naphthalene whereas SPME shows quantitative extractions only for compounds ranging from benz[a]anthracene to benzo[g,h,i]perylene. Using SPME, for example, the extraction efficiency for naphthalene will only be 10%. For those compounds with quantitative recoveries there should be no advantage in using SBSE instead of SPME.

We evaluated this theoretical prediction by comparative measurements of PAHs in spiked water samples and soil samples.

compounds like PAHs. The use of the CIS as a cryo trap in the venting mode allows high desorption flows without the need to split the sample. For SPME a split seems to be necessary to efficiently desorb the PAHs from the 100 μm PDMS fiber. Although further method development is expected to improve the precision, we believe that both techniques would show improvement.

For SBSE long term storage of the TWISTERS in the TDS A might be a problem. Haesselbarth [11] indicated that losses of sorbed compounds (5 to 40 %) can be observed when the residence time of TWISTERS in the TDS A autosampler exceeds 20 hrs. This effect may of course influence the precision when working with long sequences but probably only for compounds more volatile than PAHs.

Sensitivity experiment. We performed four-point calibrations for both techniques. Due to limited sensitivity of the SPME techniques we had to use 100 times higher concentrations than for SBSE. Calibrations for SBSE were performed at 10, 40, 80, and 100 ppt, while 1, 2, 3, and 4 ppb were used for SPME. Table 3 shows sensitivities, linearities, and detection limits obtained for SBSE and SPME.

Table 3. Sensitivities, linearities, and detection limits as calculated from four different concentrations per extraction technique (SBSE: 10, 40, 80, 100 ppt; SPME: 1, 2, 3, 4 ppb)

Compound	SBSE			SPME		
	Sensitivity [area/ppt]	Det.Limit [ppt]	Linearity	Sensitivity [area/ppt]	Det.Limit [ppt]	Linearity
1 Naphthalene	638	0.5	0.9877	9	83.8	0.9511*
2 Acenaphthylene	699	0.1	0.9457	9	16.5	0.9781
3 Acenaphthene	466	0.6	0.9407	18	5.1	0.9653*
4 Fluorene	562	0.1	0.9651	21	11.6	0.9725*
5 Phenanthrene	792	0.9	0.9832	34	4.2	0.9842
6 Anthracene	836	0.2	0.9780	31	1.1	0.9907
7 Fluoranthene	1091	0.7	0.9976	51	1.7	0.9942
8 Pyrene	1122	1.3	0.9976	55	3.6	0.9946
9 Benz[a]anthracene	1026	1.2	0.9948	32	0.3	0.9726
10 Chrysene	1031	1.8	0.9954	44	1.4	0.9952
11 Benzo[b]fluoranthene	1030	0.5	0.9988	40	2.3	0.9768
12 Benzo[k]fluoranthene	1123	0.1	0.9947	43	5.1	0.9850
13 Benzo[a]pyrene	931	0.5	0.9973	28	6.0	0.9697
14 Indeno[1,2,3]pyrene	538	0.2	0.9886	23	7.0	0.9603
15 Dibenz[a,h]anthracene	481	0.3	0.9980	16	2.6	0.9065
16 Benzo[g,h,i]perylene	577	0.2	0.9794	26	6.3	0.9133

* = regression uses 3 data points (1, 2, and 3 ppb) only.