V Pardubicích dne 24.5. 2019

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Miroslava Jonáková
Název práce: Vývoj metody pro stanovení biogenních aminů v potravinách.

Bc. Miroslava Jonáková se v diplomové práci zabývá analýzou biogenních aminů ve víně a zrajících sýrech po derivatizaci dansylchloridem. Pro analýzu bylo využito spojení kapalinové chromatografie se spektrofotometrickým detektorem a hmotnostním spektrometrem.

V teoretické části diplomantka popisuje vlastnosti biogenních aminů včetně toxikologických účinků, věnuje se moderním instrumentálním metodám, které se pro jejich analýzu využívají. Dále zdařile diskutuje publikované práce zaměřené na analýzu biogenních aminů ve víně a sýrech. Celá teoretická část se opírá o velké množství převážně anglicky psané literatury (celkem 82 citací). V experimentální části jsou popsány podmínky a postupy stanovení, závěrem jsou diskutovány dosažené výsledky, které jsou doloženy obrázky a tabulkami.

Diplomová práce je psána přehledně, avšak s řadou překlepů či neobratných formulací, zejména ve výsledkové části je vyjadřování dosti kostrbaté, často jsou užity nesprávné technické výrazy, které pramení z malé zkušeností autorky a především z nesprávného překladu z anglicky psaných textů. Správné technické vyjadřování se jistě v budoucnu zlepší se získanými zkušenostmi autorky.

Připomínky či náměty k diskuzi:

- UPLC je značka systémů firmy Waters. Pro ultra vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii byla zavedena obecná zkratka UHPLC.
- Str. 19 – diplomantka uvádí, že u makrel při vyšších teplotách dochází k nárůstu množství histaminu. Makrely se často prodávají uzené, dočetla se diplomantka o vlivu uzení na obsah biogenních aminů?
- Str. 21, 24, 27 – chybí citace u konkrétních diskutovaných technik a postupů, či jednotlivých derivatizačních činidel. Citace jsou uvedeny až na konci odstavce. Bylo by vhodné používat danou citaci pro problematiku, která se právě v textu diskutuje. Pro čtenáře je poté jednodušší si vyhledat původní zdroj a zjistit více informací.
- Str. 32 – diplomantka píše, že u alkoholických nápojů může fenylethylamin v množství 3 mg/l způsobit negativní fyziologické účinky. Přesto bylo v některých publikacích (str. 34,35) stanoveno 7,82 nebo 8,15 mg/l tohoto biogenního aminu. Co může způsobit taková dávka fenylethylaminu a jaká je jeho toxická dávka?
- Str. 42 – experimentální podmínky – u popisu podmínek dochází k míchání anglických a českých výrazů, což nepůsobí dobře. Většina z popisovaných parametrů mají český ekvivalent.
- Str. 45, obr. III (příloha) – obrázek s profily gradientů není moc přehledný. Diplomantka mohla pro popis testovaných gradientových elucí najít vhodnější způsob. V diskuzi mohlo být uvedeno, jaké parametry byly při optimalizaci měněny (počáteční koncentrace, strmost, atd).
- Kapitola 3.2.3 – str. 45 – gradientová eluce trvala 12 minut a v diskuzi se píše, že látky byly rozděleny za 20 minut. Po 12 minutě pak následovala isokratická eluce? Jak vypadal tedy skutečný profil gradientu?

- Kapitola 3.2.5 – v psaném textu by se měla autorka vyvarovat přejatých anglických výrazů – positiv a negativ – místo toho se používá snímání kladných nebo záporných iontů.
- Str. 46 – při popisu nastavení parametru „cílová hmota“ (target mass) by mělo být uvedeno, že je to parametr pro nastavení podmínek skenování. Bez tohoto vysvětlení je pro čtenáře neznalé hmotnostní spektrometrie obtížné pochopit co diplomantka dělala.
- U obrázku IV bych ocenila v popisku víc informací o podmínkách analýzy, aby nemusely být dohledávány.
- Obrázky IV a V jsou pouze kopírovány z datového programu. Ocenila bych úpravu popisků os, iontů, celkově zlepšit grafickou stránku, aby byly informace lépe čitelné.
- Diplomantka uvádí, že spektrofotometrická detekce byla pro kvantifikaci derivátů biogenních aminů citlivější než hmotnostně spektrometrická detekce. Proč se hmotnostní spektrometr používal a čím si tuto horší citlivost vysvětluje?
- Kalibrační závislosti – str. 76 – byly nějakým způsobem vyhodnoceny odlehlé body? Byla testována významnost absolutního členu?
- Str. 49 – výraz jednociferné nebo dvouciferné číslo by mohl být nahrazen výrazy, jednotky, desítky, stovky. Co nám říká směrnice kalibrační závislosti?
- Str. 52 – mohla by diplomantka objasnit, jak se dělala „intraday“ a „interday“ opakovatelnost? Opakování pětkrát znamená pětkrát změřený derivát nebo byla pětkrát provedena derivatizace? U „interday“ opakovatelnosti mi postup není úplně jasný. Z uvedeného popisu bych pochopila, že každý den provedla jednu analýzu po dobu deseti dnů. Je tomu tak?
- Str. 53 – co znamená, že bylo na kolonky aplikováno 5 ml roztoku derivátů? Celkový objem po derivatizaci popsané v experimentální části činí 2,7 ml.
- Str. 54 - analýza vzorků vín – diplomantka popisuje, že vlivem většího množství ethanolu ve vzorcích nedochází k zachycení analytů na extrakčních kolonkách. Nezkoušela diplomantka víno naředit a poté aplikovat zředěný vzorek na kolonku? Koncentrace alkoholu by nebyla tak vysoká.
- Str. 60 – čím si diplomantka vysvětluje snížení obsahu tyraminu v sýru pro 14 dnech skladování a vzniku fenylethylaminu? Nemohlo by to spolu souviset?

Závěrem mohu konstatovat, že diplomantka Miroslava Jonáková 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.