

# OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

**Autor:** Bc. Petr BRŮHA

**Název práce:** Optimalizace přípravy vzorku před stanovením *N*-nitrosaminů pomocí GC-MS

Úkolem diplomanta bylo vypracovat literární rešerši na téma stanovení *N*-nitrosaminů v potravinách, tyto látky charakterizovat a popsat metody jejich analýzy včetně postupů úpravy vzorků před samotnou analýzou. Cílem experimentální části bylo optimalizovat metodu GC-MS pro separaci směsi *N*-nitrosaminů a nalézt vhodné podmínky pro aplikaci metod SPME a QuEChERS pro izolaci sledovaných látek před vlastní GC-MS analýzou. Záměrem bylo uvedené postupy porovnat a zhodnotit použitelnost pro daný účel.

V teoretické části jsou prezentovány základní charakteristiky *N*-nitrosaminů a dusitanů jako možných prekurzorů. Popsány jsou zde i obě extrakční metody, které byly testovány i v praktické části práce. Jedná se o SPME (mikroextrakce tuhou fází) a QuEChERS (s anglického **quick, easy, cheap, effective, rugged/robust and safe**). Stručně jsou uvedeny i principy plynové chromatografie, hmotnostní spektrometrie a spojení obou těchto metod.

V praktické části diplomant provedl optimalizaci nejprve GC-MS podmínek pro analýzy směsi šesti vybraných *N*-nitrosaminů a následně i optimalizaci postupů pro obě extrakční metodiky. Nalezené podmínky byly aplikovány na reálné vzorky 4 různých potravin. Jako vhodnější byla vyhodnocena metoda QuEChERS, a to především kvůli lepší reprodukovatelnosti. Co se obsahu sledovaných sloučenin v reálných vzorcích týká, tak u všech sledovaných látek se obsahy ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí detekce.

Co se hodnocení práce týká, tak tato má obvyklé členění, avšak rozsah je na samé hranici doporučeného rozsahu pro diplomové práce dle směrnice č. 7/2019 Univerzity Pardubice. Jazyková úroveň celé práce je poměrně nízká, a to zvláště s ohledem na fakt, že jde o práci diplomovou. Některé věty by si zasloužily překlad do spisovné češtiny (např. „(vlákna) ... mají tendenci být fyzicky křehké kvůli svému složení“ – str. 16). V práci se vyskytuje přiměřené množství překlepů (např. sorbce – str. 17), ale nachází se zde i gramatické (např. na str. 25 „v důsledku nežádoucích interakcí s aktivních míst na inletu a koloně“, nebo str. 40 „byl **takové** vyhodnocen jako“) a anglikanismy nebo slangové výrazy (např. injektor nebo inlet – str. 25). V práci není používán jednotný způsob vyjadřování. Příkladem může být poslední odstavec na str. 36, kde jsou různé slovesné tvary použity dokonce v jednom souvětí. Seznam zkratk je rovněž psaný nedbale. Jednak zkratky nejsou řazeny abecedně, a především tam mnoho zkratk z textu chybí (např. DNA, EFSA, FTICR, GCB, LC, PSA, SPE a další). Celkově práce působí dojmem, že byla psaná ve spěchu kvůli blížícímu se termínu odevzdání, což je vzhledem k celé experimentální práci velká škoda.

## ***K práci mám následující dotazy, připomínky a náměty pro diskuzi:***

- Str. 12 – V obrázky 1 jsou chybné názvy pro NMEA a NDBA. Navíc vzorec u NMEA vůbec neodpovídá *N*-nitrosaminu.
- Str. 13 – Tvzení „Dusitany neboli nitrily“ je nesmysl. Jde o úplně jiné sloučeniny. Jak to mělo být správně?
- Str. 15 – Kapitola 1.4 se odkazuje na vyhlášku č. 304/2004 Sb., avšak tato vyhláška není v seznamu literatury. Navíc způsob citace, kdy je tečka před i za citací, je na úrovni pravopisné chyby. Tento problém se v práci vyskytuje opakovaně.
- Kap. 1.5.1 Pokud se diplomant rozhodně použít nějaký český ekvivalent pro SPME, měl by se jej držet v celé práci a nemíchat tak pojmy „mikroextrakce na pevnou fázi“ a „mikroextrakce tuhou fází“.
- Str. 16 – V práci by měly být preferovány primární zdroje. Zde je odkazováno na první práci o SPME od Pawliszyna a kol, avšak citace [2] je na práci úplně jinou.
- Str. 19 – SPME vlákna nejsou křemičitanová, ale křemenná.

- Str. 20 – Prosím o vysvětlení výrazu: „při teplotě (doplňte)“ – 4. řádek.
- Str. 22 – Obr. 4 popisuje již konkrétní aplikaci, nikoli obecný postup. Mohl by diplomant tuto konkrétní aplikaci upřesnit?
- Str. 26 – Jak je správně vzorec pro hydrogenuhličitan amonný?  $\text{HCO}_3\text{NH}_4$  to jistě nebude.
- Str. 28 – Proč je hmotnostní spektrometrie jako podkapitola u plynové chromatografie? Jde přece o samostatnou analytickou metodu.
- Str. 32 – V teplotním programu jistě nebyl použit náboj 50–110 Coulombů?
- Kap. 2.3 – Specifikace vzorků je zcela nedostatečná. Odkud se vzorky vzaly? Jak byly zpracovány a uchovávány do doby analýzy? O jak staré vzorky jde?
- Str. 35 – Je uvedeno: „*1 g vzorku byl navážen ...*“, ale není jasné, zda šlo o 1 kus nebo o rozmělněný vzorek. Navíc, nikde není uvedeno, zda jde o DI-SPME nebo HS-SPME.
- Str. 41 – Byly po celou dobu separace sledovány všechny uvedené m/z nebo byl použit nějaký MS program?
- Str. 42 – Látky NMOR a NPYR mají velmi podobný retenční čas. Byly zvolené m/z fragmenty dostatečně selektivní? Bez prezentace MS spekter toto nelze z práce zhodnotit.
- Str. 51 – Zde je uvedeno, že pro experimenty bylo vyzkoušeno různé množství solí NaCl a  $\text{MgSO}_4$ . Šlo tedy o směs těchto solí v nějakém poměru? Pokud ano, v jakém?
- Kap. 3.3 a 3.5 – Zde jsou uvedeny výsledky analýz reálných vzorků, ale vždy pouze jednoho. Proč nejsou, např. formou příloh, uvedeny i ostatní vzorky?
- Seznam literatury se zdá být poněkud zastaralý – 34 z 59 zdrojů je starších 10 let. Navíc některé citace (např. [41] a [42]) e zdají být neúplné.

Přes výše uvedené připomínky lze konstatovat, že práce přináší užitečné poznatky z oblasti analýzy *N*-nitrosaminů v potravinách metodou plynové chromatografie po předchozí izolaci vhodnou extrakční technikou. Její stavba je logická a s odpovídajícím počtem experimentálních výsledků. Je ale velká škoda, že diplomant nevěnoval více času a pečlivosti zpracování celé práce.

Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce **Bc. Petra Brůhy** splňuje požadavky kladené na diplomové práce, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji hodnocení:

– D –

V Pardubicích dne 27. května 2022

doc. Ing. Martin ADAM, Ph.D.  
Oponent diplomové práce