

OPONENTNÍ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor práce: Ing. Michal Kašpar
Název práce: Vývoj metod analýzy fenolických látek v rostlinných produktech pomocí kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie
Oponent: Ing. Veronika Škeříková, Ph.D.
Pracoviště oponenta: Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT v Praze

K posouzení mi byla předložena disertační práce s názvem „Vývoj metod analýzy fenolických látek v rostlinných produktech pomocí kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie“ v rozsahu 114 stránek textu, včetně příloh (tabulek a obrázků), použitých zdrojů a seznamu zkratk. Práce je rozdělena do šesti kapitol, a to včetně úvodu a závěru. Členění svojí strukturou odpovídá požadavkům kladeným na vědecké práce.

Svou práci doktorand formálně rozdělil na čtyři části. V první části se věnuje fenolickým sloučeninám a vývoji metody pro jejich stanovení kapalinovou chromatografií se spektrofotometrickým detektorem, druhá část je pak věnována vytvoření MS/MS metody pro detekci vybraných fenolických sloučenin. Ve třetí a čtvrté části je pak vytvořena LC-MS/MS metoda použita pro analýzu octů a kávových zrn.

Aktuálnost daného tématu

Doktorand zpracoval přehled literatury týkající se problematiky nových trendů v kapalinové chromatografii, včetně jejího spojení s hmotnostními detektory, fenolických látek, octů a kávy. V částech věnovaných literární rešerši, která čítá více jak 150 odkazů, se věnuje klasifikaci fenolických látek, charakterizaci kolon v kapalinové chromatografii a jejich spojení s hmotnostním detektorem, stejně jako charakterizaci octů, jejich dělení a výrobě, a kávovým zrnům, jejich pražení i kávě. Doktorand zde shrnul aktuální poznatky o současném stavu problematiky, vymezil se vůči stávajícím poznatkům a prokázal prvek novosti a aktuálnosti daného tématu.

Metody zpracování

Pro dosažení cíle doktorand využil vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii v systému s obrácenými fázemi spojenou se spektrofotometrickým detektorem, pro volbu kolony, a hmotnostním detektorem při optimalizaci podmínek separace fenolických látek a jejich detekci a kvantifikaci v octech a kávových zrnech. V případě kávových zrn byly fenolické látky získány extrakcí do methanolu v ultrazvukové lázni. Samozřejmostí byla i validace optimální metody analýzy fenolických látek, stejně jako použití statistických metod při porovnávání obsahů fenolických látek ve vzorcích.

Doktorand zvoleným metodám věnoval dostatečný prostor, podrobně je specifikoval a teoreticky popsal.

Cíle práce

Doktorand si stanovil následující cíle práce: Zhodnotit základní retenční charakteristiky vybraných fenolických sloučenin; Vývoj univerzální, rychlé a spolehlivé LC-MS/MS metody pro kvalitativní i kvantitativní stanovení fenolických sloučenin a její validace; Ověření univerzálnosti vytvořené metody porovnáním fenolického profilu různých typů octa a sledováním změn v množství fenolických látek během pražení kávových zrn.

Mohu konstatovat, že doktorand cíle disertační práce splnil.

Výsledky disertační práce

V první části doktorand proměřoval retenční charakteristiky vybraných fenolických látek, respektive jejich dvojic, na různých kolonách. Současně také hodnotil účinnost vybraných kolon podle průběhu H-u křivky pro fenolické látky a na základě parametrů Van Deemterovi rovnice pro alkylbenzeny. Ve druhé části pak přidal optimalizaci podmínek hmotnostní detekce, včetně výběru MRM přechodů pro kvalitativní a kvantitativní stanovení fenolických látek, a vyvinutá metoda byla validována.

Navržená univerzální metoda byla použita ve třetí části pro porovnání fenolického profilu celkem dvaceti vzorků octů. Vybrané vzorky byly zástupci šesti různých typů octů a doktorand zde ukazuje jak látky specifické pro jednotlivé typy octů, tak látky společné pro všechny octy. Ve čtvrté části byla univerzální metoda použita pro sledování změny obsahu fenolických sloučenin v kávových zrnech v průběhu pražení. Během tohoto procesu docházelo ke snižování (např. kys. chlorogenová) i zvyšování (např. kys. protokatechuová) obsahu některých fenolických látek. Analyzována byla kávová zrna jak kávy Arabika (původem

z Brazílie), tak Robusta (původem z Indie). Zrna byla odebírána ve dvouminutových intervalech od začátku pražení a výsledky analýzy jejich extraktu byly porovnávány s analýzou extraktu zelených (nepražených) zrn. V případě kávy Robusta byla zrna navíc „přepražena“, aby bylo možné sledovat i další osud fenolických látek.

Uvedené výsledky disertační práce jsou dostatečně podložené a průkazné a diskutované s literaturou. Hlavním přínosem disertační práce bylo vytvoření univerzální metody pro určení profilu fenolických látek a jejich kvantitativní stanovení v různých potravinách.

Formální náležitosti

V práci jsou citovány aktuální zdroje vztahující se k tématu. Celkově je formální a jazyková úroveň práce dobrá, množství překlepů a chyb odpovídá rozsahu práce. V práci je pár drobných formálních nedostatků:

- Str. 34 – v tabulce 5 jsou čísla s desetinou tečkou
- Str. 36 – Obr. 5 je nečitelný
- Str. 48 – legenda obrázku 8 pokračuje na další stránce
- Str. 53/54 - chybějící hlavička tabulky při pokračování na další stránce (stejně tak v přílohách)
- Str. 14 + str. 16 – v obrázku je uvedena K4-HB a v legendě Kp-HB
- Str. 70 – věta „Kyselina galová nebyla neidentifikována v žádném ze tří vzorků ...“. Jak si tuto větu přeložit?
- Str. 78 – používání anglicko-českých názvů látek, kyselina p-coumaroylchinová, caffeoylchinová, dicaffeoylchinová, když jinak je používáno české pojmenování kyselina p-kumarová a kyselina hydroxykořičová
- Str. 79 – nebylo by vhodnější použít na místo „protokatechuový aldehyd“ pojmenování „3,4-dihydroxybenzaldehyd“?

Nicméně, výše zmíněné připomínky nikterak nesnižují kvalitu práce.

Závěr



Doktorand ve své práci vykonal velké množství experimentů, přičemž prokázal schopnost využít teoretické znalosti a aplikovat je na problémy praxe. Doktorand projevil tvůrčí myšlení a schopnost systematické práce.

Na základě předložené disertační práce navrhuji doktorandovi, po úspěšné obhajobě, udělit vědecko-akademické hodnosti doktor ve zkratce Ph.D.

Otázky

1. Jaký je rozdíl mezi kolonami Luna Omega PS C18 a Luna Omega Polar C18 a kolonami Kinetex C18 a Kinetex EVO C18?
2. V bublinových grafech na obr. 16 - 17 je možné pozorovat dvě soustředné kružnice kolem kolmice s označením Tyrosol. Který z nich odpovídá Tyrosolu?
3. Kávová zrna byla extrahována do 50% methanolu ve vodě a ředěna také 50% methanolem ve vodě. Mobilní fáze však obsahovala acetonitril a vodu. Proč nebyla pro ředění použita směs acetonitril/voda? Nebyl obsah 50% methanolu moc vysoký vůči počátečním 10% acetonitrilu v mobilní fázi?

V Praze 30.8. 2024



Ing. Veronika Škeříková, Ph.D.