

Posudek oponenta disertační práce

„VÝVOJ METOD VOLTAMETRICKÉHO STANOVENÍ BIOLOGICKY VÝZNAMNÝCH LÁTEK“

Autorka: Ing. Alona Jiroutová

Disertační práce Ing. Alony Jiroutové se zabývá tematikou vývoje voltametrických metod stanovení látek používaných k regulaci růstu rostlin, zvyšování jejich odolnosti a ochraně před houbovými chorobami. Přes nesporně pozitivní účinky může mít rozsáhlé používání syntetických růstových regulátorů a fungicidů negativní dopad na životní prostředí. Z tohoto pohledu je téma vývoje analytických metod pro stanovení těchto látek velmi aktuální.

Předložená disertační práce je napsána v českém jazyce, má rozsah 118 číslovaných stran, obsahuje 12 schémat, 39 obrázků, 15 tabulek a 131 odkazů na původní literaturu a další informační zdroje. Je doplněna o seznamy zkratk, schémat, obrázků a tabulek. Členění práce je klasické. Po stručném Úvodu následuje teoretická část věnovaná zejména popisu vlastností studovaných látek, metodám jejich analýzy a charakterizaci voltametrických metod, jež autorka použila v praktické části práce. Experimentální část obsahuje výčet použitých chemikálií, přístrojů a popis pracovních postupů. Stěžejní je kapitola Výsledky a diskuse, v níž autorka podrobně rozepisuje vývoj voltametrických metod pro stanovení regulátorů růstu, paklobutrazolu, daminozidu a jeho degradačního produktu *N,N*-dimethylhydrazinu a dále tří fungicidů, mefentriplukonazolu, fluxapyroxadu a metkonazolu. Vedle charakterizace voltametrického chování jednotlivých analytů na borem dopované diamantové elektrodě metodou cyklické voltametrie, optimalizace experimentálních podmínek voltametrického měření (pH a složení základního elektrolytu, parametry diferenční pulzní voltametrické metody) a snahy objasnit charakter a mechanismus elektrochemických reakcí, byla věnována pozornost kvantifikaci jak jednotlivých analytů, tak i jejich vybraných směsí v modelových vzorcích. Byla provedena validace optimalizovaných metod včetně výpočtu mezí detekce a stanovitelnosti. Vypracované voltametrické metody autorka použila pro stanovení studovaných látek v reálných vzorcích, zejména obohacených vod a fungicidních přípravků. Správnost získaných výsledků byly potvrzena nezávislou HPLC metodou. V závěrečné kapitole jsou stručně shrnuty zásadní výsledky autorčina výzkumu.

Z výsledků prezentovaných v disertační práci je patrný systematický a pečlivý přístup autorky k experimentální práci i ke zpracování a interpretaci velikého množství získaných výsledků. Ačkoliv těžiště práce spočívá ve vývoji voltametrických kvantifikačních metod, velmi oceňuji vhodné využití dalších technik, a to jak experimentálních (izolační a prekoncentrační techniky, HPLC, GC-MS), tak teoretických (kvantově chemické výpočty). Je třeba zdůraznit, že většina výsledků uvedených v disertační práci byla publikována v odborných časopisech *Journal of Electroanalytical Chemistry* (2 články) a *Microchemical Journal* (1 článek) a lze tedy předpokládat, že prošly přísným recenzním řízením. U všech tří článků je Ing. Alona Jiroutová (rozená Usenko) první autorkou, což svědčí o jejím významném příspěvku k příslušné výzkumné problematice.

Formální stránka práce je na odpovídající úrovni. V textu se tu a tam vyskytují jazykové chyby (např. v Anotaci se píše o „Britton-Robinsonovém puflu“, správně „Brittonově-Robinsonově puflu“, dále chyby v dlouhých a krátkých *i*-*í* a *u*-*ů*, chyby v čárkách v souvětích), což lze přikládat faktu, že čeština není autorčiným rodným jazykem. Z dalších formálních nedostatků lze zmínit neúplný a abecedně neuspořádaný seznam zkratk (chybí např. vysvětlení zkratk DMI (str. 26), DT50 (str. 28), SDHI (str. 29)), poměrně hojný výskyt

jednopísmenných předložek na konci řádků, či nepřesnosti v překladu z angličtiny (např. na str. 49 ve větě „Jedná se o dvojnásobně oxidované druhy ...“ by bylo vhodnější místo „druhy“ napsat „sloučeniny“, „látky“ či „molekuly“). Na str. 22 zmiňovaná „fluroimmunoassay“ má být zřejmě „fluoroimmunoassay“. Na str. 60 je chybně formulovaná věta „Tato sloučenina obsahuje pouze *N,N*-dimethylhydrazidovou skupinu, a proto se může probíhat pouze o oxidaci na atomu dusíku.“ Poněkud matoucí je na str. 51 tvrzení: „Chyba stanovení nepřesahovala absolutní hodnotu 4,79 %“, neboť 4,79 % vyjadřuje relativní, nikoliv absolutní chybu. Přesnější by bylo napsat „Chyba stanovení nepřesahovala hodnotu $\pm 4,79\%$ “ nebo „ $|4,79|\%$ “. Pokud jde o terminologii, v oboru analytické chemie je pojem „stanovení“ synonymem ke „kvantitativní analýze“. Spojení „kvantitativní stanovení“, použité na str. 61 a dále v textu, je z tohoto pohledu redundantní.

Z drobných věcných chyb bych upozornila na chybějící popis experimentálních parametrů metody GC-MS (průtoková rychlost nosného plynu, teplotní program, objem nástřiku, ionizační napětí) v Experimentální části. Na str. 73 je v textu popsán posun potenciálu píku metkonazolu s rostoucí koncentrací při pH 3,08 s odkazem na obr. 23b, kde jsou ale voltamogramy registrované při pH 7,03.

Na str. 49 je uvedena spekulativní úvaha o struktuře iontu s $[M+H]^+$ m/z 367. Podle mých zkušeností by se opravdu mohlo jednat o produkt reakce s acetonitrilem. Acetonitril přítomný v elektrolyzovaném roztoku (33 %) se chová jako nukleofil a může se adovat na kladně nabitý meziprodukt elektrochemické oxidace. Acetamidace je při elektro-oxidačních reakcích v prostředí acetonitrilu s vodou běžně pozorována a popisována v literatuře (např. H. Lund, O. Hammerich (Eds.): *Organic Electrochemistry*, 4th edition, CRC Press, 2001, str. 520) podobně jako hydroxylace ve vodném prostředí.

Otázky k obhajobě:

- Na str. 44 je popsán postup zakoncentrování daminozidu z vody s dovětkem, že tento postup je použitelný i pro zpracování vzorku opláchnutého ovoce. Na str. 72 v tabulce 7 jsou pak uvedeny výsledky analýzy oplachové vody. Jak byl připraven vzorek oplachové vody, aby bylo možné kvantifikovat obsah analytu ve vzorku jablek? Existují předpisy určující přípustný obsah daminozidu resp. *N,N*-dimethylhydrazinu v/na ovoci?
- Hodnoty *LOD* a *LOQ* vypočítané z regresních parametrů kalibračních přímek mohou být v případě velmi těsné regrese podhodnocené. Např. u fluxapyroxadu vypočtená hodnota *LOD* 13,98 nmol/l odpovídá podle regresní rovnice (14) proudu píku 0,65 nA, což je pod hranici šumu použitého potenciostatu. U mefentriřlukonazolu hodnota *LOD* 10,81 nmol/l odpovídá dokonce záporné hodnotě proudu píku (-2,5 nA) podle rovnice (13). Bylo experimentálně ověřeno, že signály při koncentracích analytů rovnajících se hodnotám *LOD* a *LOQ* jsou na voltamogramech rozlišitelné od linie základního elektrolytu? Jakým způsobem se vyhodnocovala výška píku u látek (např. metkonazolu), které poskytují analytický proudový signál při pozitivních potenciálech blízkých rozkladu elektrolytu či rozpouštědla?
- Ve schématu 11 jsou navrženy možné reakční cesty pro anodickou oxidaci daminozidu. Na základě srovnání s literárními údaji a voltametrickým chováním strukturních analog byly navrženy pravděpodobné produkty elektrochemických přeměn tohoto růstového regulátoru. Byly tyto produkty, případně produkty jeho degradačního produktu, *N,N*-dimethylhydrazinu, v elektrolyzovaných roztocích analyzovány a identifikovány? Mohla by autorka navrhnout nějaké metody použitelné pro tyto účely?

- Obrázek 30 na str. 85, jehož špatné rozlišení velmi ztěžuje čitelnost popisů, má ukazovat LC-MS chromatogramy pro vybrané ionty v reakční směsi po elektrooxidaci mefentriplukonazolu (MFZ) a dokládat přítomnost iontů s m/z 398 (protonovaná molekula MFZ), m/z 288, 304 a 315 (příslušející reakčním produktům MFZ). Pouze shora druhý a čtvrtý chromatogram odpovídají iontům 315 a 304. Další chromatogramy na obrázku byly extrahovány pro hodnoty m/z 121,5-122,5; 241,5-242,5; 286,5-287,5 a 396,5-397,5 a tudíž nedokládají přítomnost produktu s $[M+H]^+$ m/z 288 ani výchozí látky. Navíc na posledních třech chromatogramech (počítáno shora) se analytický signál ztrácí v šumu. Nejlépe rozlišitelný je signál v prvním chromatogramu extrahovaném pro rozmezí m/z 121,5-122,5. Má autorka představu, jaké struktury by mohl ion s m/z 122 odpovídat?
- V interferenční studii, jejíž výsledky jsou uvedeny v tabulce 14 (str. 93) byly zjištěny interference studovaných látek s jinými pesticidy při vyšších koncentracích interferentů, které velmi zkreslovaly či znemožňovaly voltametrické stanovení cílových látek. Jak by bylo možné problém takových interferencí vyřešit?

Shrnutí:

Výsledky prezentované v disertační práci Ing. Alony Jiroutové jsou kvalitní a přispívají k rozvoji analytických metod v oblasti environmentální analýzy. Hlavní přínos vyvinutých voltametrických postupů stanovení studovaných růstových regulátorů a fungicidů vidím zejména v instrumentální jednoduchosti a možnosti provádět analýzy přímo v terénu. Použité metody i přístup k tématu korespondují s aktuálními trendy výzkumu v této oblasti. Výše uvedené připomínky a komentáře mají převážně formální charakter. Posuzovaná práce dokumentuje autorčinu schopnost vědecky pracovat a získávat nové výsledky důležité pro praxi. Disertační práci Ing. Alony Jiroutové proto **doporučuji** přijmout k obhajobě.

V Olomouci, 8. 8. 2024

.....
doc. RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.
Katedra Analytické chemie, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Palackého v Olomouci