

POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Katedra:	Katedra analytické chemie
Autor:	Bc. Michaela Javůrková
Název práce:	Monitorování obsahu fenolických látek s antioxidačními vlastnostmi v průběhu kvašení nápoje kombucha
Vedoucí diplomové práce:	prof. Ing. Lenka Česlová, Ph.D.
Oponent:	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce se zaměřuje na charakterizaci vybraných vlastností nápoje kombucha. V rámci experimentální části byly sledovány změny pH, barevnosti, antioxidační aktivity a obsahu fenolických látek v průběhu fermentace nápoje připraveného z čajového nálevu, cukru a startovací mikrobiální kultury. Pro analýzu autorka využila spektrofotometrické metody i kapalinovou chromatografii spojenou s hmotnostní spektrometrií.

V teoretické části je stručně popsán nápoj kombucha, jeho historie a princip vzniku. Tato kapitola by mohla být obsáhlejší. Tato kapitola by však mohla být podstatně rozšířena. Chybí zde například konkrétnější informace o technologii přípravy nápoje – jaké typy čajů lze použít, kolik se přidává cukru, jaké jsou doporučené podmínky fermentace (teplota, čas) či jak lze výsledný produkt ovlivnit. Dále teoretická část obsahuje přehled fenolických látek obsažených v čaji, principy metod pro stanovení antioxidační kapacity a stručný úvod do kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

Experimentální část je psána obvyklým způsobem – jsou zde uvedeny použité přístroje, zařízení, chemikálie a postupy, podle kterých diplomátka pracovala. Některé důležité informace zde však chybí, například způsob přípravy kalibračních závislostí při stanovení antioxidační aktivity nebo přesné množství čaje použitého pro přípravu nápoje kombucha. Kapitola *Výsledky a diskuze* má rozsah 15 stran a obsahuje popis dosažených dat a jejich interpretaci. Některé výsledky jsou však prezentovány nepřehledně a komentáře k nim působí nejednoznačně nebo jsou nedostatečné. Dále není dodržen logický rámec psaní, kdy je nejprve vysvětleno proč a jak se daná metodika použila a pak až jaké byly výsledky. Například hned úvodní věta kapitoly *Výsledky a diskuze* shrnuje celé výsledky stanovení antioxidační aktivity a obsahu fenolických látek.

Obrázky jsou by měly být na lepší úrovni. Na většině obrázků v kapitole 2 a 3 chybí osa Y, nejsou vyznačené značky k číslům nebo jsou názvy obrázků jsou uvedeny dvakrát. Některé obrázky ani nejsou citovány a komentovány v textu (Obr. 2, 3, 4, 5, 8, 10...), stejně tak tabulky v příloze. Gramatických, věcných, ale i typografických chyb je v práci více. Např.: dost často chybí mezery; vyskytují se překlepy; nesmyslně zvýrazněná slova tučně; *degazér* má být degaser (nebo degasser); co je *K-glukosid* není nikde uvedeno (str. 31); zkratky by měly být vysvětleny česky; označení barevného prostoru je psáno několika způsoby (správně CIEL*a*b* nebo CIELab); nejednotné názvy látek nebo použitých metod: kyselina chlorogenová vs. kyselina chlorogenová, někde kvercetin, jinde quercetin, kyselina galová nebo gallová; nesmyslné jednotky *mg/gčas* (Obr.25); chybí jednotky (Tab. 8); apod.

Dále uvádím k práci několik nejzávažnějších připomínek a dotazů:

1. Kapitola 2.3.1 (str. 32): Již samotný popis přípravy na počátku fermentace není zcela srozumitelný. Není uvedeno, jaké množství čaje bylo použito na přípravu nálevu, ani z jakého postupu autorka vycházela – chybí příslušná citace. Z běžně dostupných zdrojů vyplývá, že se obvykle používá 7% roztok cukru (bez započítání objemu startéru), zatímco v práci je uvedena koncentrace přibližně 11 %. Není rovněž jasné, jakým způsobem byly vzorky odebírány a zda byly před odběrem promíchány
2. Kapitola 2.3.2 (str. 33): U všech šesti metod stanovení antioxidační kapacity a množství fenolických látek a flavonoidů chybí postup přípravy kalibračních závislostí. Navíc jsou v kalibračních křivkách uváděny koncentrace troloxu v jednotkách např. $\mu\text{mol}/100 \mu\text{l}$, zatímco ve výsledcích se objevují hodnoty v mmol/g . Není zde však uvedeno, k jaké hmotnosti se vztahují – pokud jde o čajový nálev, měla by být uvedena jeho hustota. V experimentálním postupu se objevuje formulace „*bylo přidáno 100 μl vzorku*“. Silný roztok sacharózy jistě nebude mít hustotu stejnou jako čistá voda.
3. Kapitola 2.3.2.5 (str. 35): Obrázky 17 a 18 jsou prohozené. Označení jednotlivých metod pro stanovení obsahu flavonoidů není v práci jednotné – jednou se hovoří o metodě s AlCl_3 a octanem sodným, dále o TFC 2 a později o metodě s octanem hlinitým nebo o TFC 500. V práci by měla být používána jednotná terminologie, aby byl zachován přehled.
4. Str. 37: Co znamená věta: „*Jednotlivé retenční charakteristiky byly vyhodnoceny s využitím různých typů kolon popsanych v kapitole x.*“? Žádné jiné typy kolon nebo stacionární fáze, než použitá kolona Ascentis Express C18 v práci uvedeny nejsou.

5. Obr. 19–24 (str. 39–42): Výsledky zobrazené na těchto obrázcích jsou velmi nepřehledně prezentovány. Není na první pohled zřejmé, zda sledované parametry během fermentace stoupaly, či klesaly. Grafická prezentace by byla výrazně přehlednější, kdyby osa X reprezentovala jednotlivé vzorky a barvy odlišovaly dny fermentace. Komentáře k výsledkům jsou vágní a často postrádají konkrétní výklad: co myslí autorka slovem „stabilnější“? Z obrázků a dat nic takového patrné není a např. tvrzení „*Přítomnost výrazného výkyvu u vzorku vz7 v závěru fermentace (TFC 2) může být artefaktem, ...*“ není na obrázku 23 v žádné případně patrné. Navíc obdobné, a dokonce výraznější změny, lze pozorovat i u jiných vzorků.
6. Obr. 19–24: Není vysvětlen rozdíl mezi označeními Č a 0. Jaké je vysvětlení nárůstu všech parametrů antioxidační aktivity mezi Č a 0?
7. V práci je uvedeno, že experimenty byly opakovány, ale není specifikováno, zda šlo pouze o opakované měření (např. opětovné vložení květy), nebo o kompletní zopakování chemické reakce. U grafů v kapitole Výsledky a diskuze zcela chybí chybové úsečky, které jsou pro interpretaci výsledků nezbytné.
8. Kapitola 3.5 (str. 50): Pomocí HPLC/MS byla stanovena koncentrace 23 sloučenin, nicméně kalibrační závislosti jsou uvedeny pouze pro 9 z nich. Výsledky v této kapitole jsou uvedeny pouze v příloze, a to ve velmi rozsáhlých tabulkách na jedenácti stranách! Výstupy by měly být alespoň částečně shrnuty přímo v kapitole 3.5, ideálně v grafické formě.
9. Obrázek 29 a 30 (str. 53): Název těchto obrázků uvádí „*separace směsi 23 fenolických látek*“, nicméně se zřejmě jedná o chromatogram vzorku, nikoli o skutečnou směs standardů. Navíc je v chromatogramu identifikováno pouze přibližně 11 sloučenin. Zřejmý je také výrazný posun retenčních časů u látek s vyšší retencí (např. rutin – 3,7 min vs. 4,0 min). Příčina tohoto posunu není komentována. Co tento posun způsobilo?
10. Autorka opomíjí některé faktory, které mohly významně ovlivnit výsledky. Jedním z nich je velikost (hmotnost) celulóзовé placky s mikroorganismy zajišťujícími fermentaci. Hmotnosti těchto placek se výrazně lišily, 48–180 g! Tento aspekt by měl být diskutován. Rovněž není nikde reflektován vliv teploty – čtyři vzorky byly inkubovány při 21 °C a čtyři při 25 °C, přičemž rozdílné teploty mohly zásadně ovlivnit dynamiku fermentace i složení výsledného produktu.

I přes všechny nedostatky bylo zadání diplomové práce splněno. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji známkou

D

V Pardubicích 25. 5. 2025

Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.