



Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc.
Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
ALBERTOV 2030, 128 40 Praha 2, ČR
tel. + fax +420224913538, pacakova@natur.cuni.cz

Oponentský posudek diplomové práce Karla Musila „Vývoj HPLC-DAD-MS/MS metody pro stanovení vybraných toxinů v muchomůrce zelené“

Diplomová práce pana Musila je věnována vývoji metody stanovení amatoxinů (α - a β -amanitinu) a falotoxinů (falacidinu a faloidinu) v extraktu klobouku muchomůrky zelené. Téma práce je velmi aktuální vzhledem k častým otravám způsobených použitím této houby a vzhledem k neexistenci spolehlivé diagnostické metody.

Autor optimalizoval extrakci toxinů z muchomůrky zelené a jejich separaci na reverzní fázi s gradientovou elucí a s detektorem s diodovým polem. Pomocí standardů identifikoval a kvantifikoval 4 toxiny. Metodou HPLC-MS/MS pak potvrdil identitu toxinů.

Teoretické části, zejména kapitoly věnované separacím, jsou velmi obecné na úrovni základních učebnic. Třebaže citovaná literatura je obsáhlá, chybí diskuse publikovaných prací týkajících se stanovení toxinů. Mohl by autor shrnout, co bylo v oblasti HPLC publikováno a v čem jsou jeho výsledky nové a porovnat své výsledky s publikovanými daty?

V části „Výsledky a diskuse“ je věnována v práci velká pozornost extrakci, což je správné, protože při diagnostice otrav bude rychlost analýzy kritická. Jak vyplývá z výsledků práce, výtěžnost není známa a s dobou extrakce roste. Jaký je závěr týkající se optimální doby extrakce? Proč nebyla při extrakci použita zvýšená teplot, když jsou analyty teplotně stabilní? Byla testována extrakce Soxhletem či zrychlená extrakce rozpouštědly? Bylo by možné použít při stanovení vnitřní standard, jako je tomu např. v práci Gonmori a spol., citace 33?

Další dotazy:

Proč autor nazývá vliv teploty studiem termodynamiky na separaci a vliv průtokové rychlosti studiem kinetiky? (str. 45)

Tabulka 8, str. 53: jaká je chyba měřené koncentrace?

Str. 59: Jak bylo ověřeno, že výsledek je správný? Co je to uspokojivý výsledek?

Str. 60: Byly hmotnostní analýzou identifikovány i další toxiny, od nichž jste neměl standardy?

Autor získal řadu nových poznatků využitelných v toxikologické praxi. Práci doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 25.5.2015