

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče: **Bc. Lucie Rozkocová**

Název práce: **Vývoj metod vysokoúčinné kapalinové chromatografie ke stanovení významných složek tabáku**

Bc. Lucie Rozkocová se ve své diplomové práci zabývala vývojem metod pro stanovení nikotinu a vybraných polyfenolických látek v tabáku pomocí HPLC/DAD. V teoretické části čtenáře seznamuje s historií tabáku, jeho zpracováním a některými látkami v něm obsaženými. Dále nabízí přehled publikovaných metod stanovení nikotinu a polyfenolických látek v tabáku.

Téma práce je aktuální a přínosné. Práce je laděna do praxe a její výsledky jsou v praxi přímo využitelné. V práci oceňuji důsledné ověření vlivu podmínek úpravy vzorku na výsledky stanovení nikotinu. Předložená data poukazují na vysokou robustnost metody úpravy vzorku. Spolehlivost celého analytického procesu je podložena srovnáním výsledků s výsledky získanými plynovou chromatografií. Pozitivně hodnotím rovněž využití statistiky k tomuto srovnání i v jiných částech práce. Text je psán srozumitelně a je logicky členěn.

K práci mám několik připomínek:

- Vzhledem k náplni práce je v teoretické části věnováno zbytečně mnoho prostoru náhradní nikotinové léčbě, popisu druhů tabáku a jeho zpracování. Tyto věci s vlastním obsahem souvisejí vzdáleně, nejsou součástí diskuze a nepřispívají ani k jejímu lepšímu pochopení.
- Práce je poněkud nekonzistentní, co se týče plánování experimentů. U stanovení nikotinu je velmi důkladně zkoumán vliv podmínek úpravy vzorku a je prokázána její robustnost, málo pozornosti je však věnováno vlivu chromatografických podmínek. Při vývoji metody bylo například složení mobilní fáze pouze převzato z literatury.
- Na jistou nekonzistentnost poukazuje i kontrast ve vývoji metody pro stanovení nikotinu a metody pro stanovení polyfenolů. Vývoji druhé jmenované metody bylo věnováno daleko méně pozornosti. Na druhé straně zde byl testován vliv složení mobilní fáze a gradientu.
- Překvapivý je výběr kolony pro stanovení nikotinu. Stacionární fáze s porozitou 1.8 μm je určena spíše pro UHPLC aplikace a není tedy divu, že na ní při vyšších průtocích docházelo k přetlakování. Nicméně pokud tato kolona přispěla ke snížení nákladů a metoda s ní fungovala, není její použití na závadu.

- V práci není ukázán chromatogram, který by čtenáři umožnil posoudit separaci nikotinu od ostatních složek vzorku.
- Vyjádření v kapitole 4.4.3 k Obr. 15, že ze sledovaných látek je ve vzorku nejvíce zastoupena kyselina chlorogenová, je zavádějící. Z Tab. 12 je zřejmé, že citlivost stanovení se pro různé analyty liší až o jeden řád. Tím pádem nelze pouhým okem jednoduše odhadovat zastoupení analytů ve vzorku. Uchazečka měla naměřenou kalibrační závislost, takže nevidím důvod, proč neuvedla vypočtené koncentrace jednotlivých látek.
- U odborných výrazů je v zájmu srozumitelnosti vhodné držet se ustálených zvyklostí. U chromatografických kolon se používají výrazy jako „velikost částic“, nebo „zrnitost“, nikoli „zrnění“. „Ion-pair chromatography“ se obvykle překládá jako iontově párová chromatografie, nikoli ion-párová.
- Str. 33: Testované velikosti částic tabáku 1 a 2 mm jsou podle mě zbytečně velké, když nakonec byl vzorek stejně namlet na prášek.
- V obr. 7 a 12 je osa y popsána pouze jako absorbance. Z naměřených hodnot je přitom zřejmé, že absorbance byla do grafu vynášena v tisícinách, ne v jednotkách.

Uchazeče bych rád položil následující **otázky**:

- Z kapitoly 3.3.3 se zdá, že kalibrační závislost pro stanovení polyfenolů jste měřila s jedním kalibračním roztokem a měnila jste objem nástřiku. Bylo tomu tak?
- Meze detekce a stanovitelnosti nikotinu ve vzorcích tabáku jsou uvedeny v mg/ml vzorku upraveného k analýze. Jaké jsou hodnoty LOD a LOQ přepočtené na původní materiál?
- Mohou nepravidelné tvary píků kyseliny chlorogenové a kávové v obr. 15 znamenat jejich částečnou koeluci s neznámými složkami vzorku?

Přes uvedené nedostatky splňuje předložená práce dle mého názoru požadavky kladené na diplomovou práci, a proto ji **doporučuji** k dalšímu řízení.

Navržené hodnocení:

Dne 31. 8. 2016

RNDr. Tomáš Křížek, Ph.D.