

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název práce: **Charakterizace obsahu vybraných polyfenolových sekundárních metabolitů v brokolici metodou HPLC/MS**

Autor: **Bc. Vítězslav Branda**

Vedoucí práce: **RNDr. Petr Fryčák, Ph.D.**

Oponent: **doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.**

Diplomová práce Vítězslava Brandy je zaměřena na vývoj vhodné metody pro analýzu polyfenolických látek v brokolici. Metoda je založena na extrakci rostlinného materiálu, jeho přečištění extrakcí tuhou fází a na spojení ultraúčinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišující tandemovou hmotnostní spektrometrií. Tato technika umožnila necílené profilování polyfenolů s různou chemickou strukturou i kvantitativní analýzu dvou významných flavonoidů – kvercetinu a kaempferolu. Práce má klasické členění na Úvod, Teoretickou část, Experimentální část, Výsledky a diskusi, Závěr, Literaturu a Seznam použitých zkratk. Je sepsána na 58 stranách textu, obsahuje 31 obrázků, 5 tabulek a opírá se o 82 literárních citací.

V teoretické části autor popisuje strukturu, vlastnosti a výskyt polyfenolických látek, diskutuje význam a způsob měření antioxidační kapacity a v patřičném rozsahu se věnuje i analytické instrumentaci zejména s ohledem na kapalinovou chromatografii a hmotnostní spektrometrii. Další kapitoly jsou již cíleny na využití LC/MS techniky pro studium fenolických látek. Rozsah teoretické části považuji za dostatečný a zaměření jednotlivých kapitol za účelné.

Další části textu jsou již věnovány vlastní experimentální práci a získaným výsledkům. Autor provedl výběr vhodného postupu pro extrakci flavonoidů z rostlinného materiálu a přečištění extrakcí tuhou fází. Fenolické látky přítomné v extraktech poté identifikoval na základě měření přesné a správné hmotnosti analytů, způsobu jejich fragmentace a retenčního času. Dále provedl studium vlivu tepelné úpravy brokolice na obsah kvercetinu a kaempferolu a získané výsledky interpretoval v kontextu dat dostupných z literatury.

K práci mám následující připomínky a otázky:

Str. 6. Věta: "90% antokyaninů je spojováno se třemi základními antokyanidiny a jejich methylovanými deriváty: kyanidinem, delphinidinem a pelargonidinem." by mohla být vysvětlována tak, že zmíněné tři antokyaniny jsou methylované. Vhodnější by bylo upravit slovosled věty takto: "90% antokyaninů je spojováno se třemi základními antokyanidiny (kyanidinem, delphinidinem a pelargonidinem) a jejich methylovanými deriváty."

Str. 12. termín "protiležící elektroda" je zajímavý, nicméně poměrně neobvyklý.

Str. 14. spojení kvadrupólu s průletovým analyzátozem (q-TOF...). Poněkud přesněji vystihuje tento hybridní analyzátor zkratka QqTOF, kde Q je selekční kvadrupól a q je kolizní cela.

Str. 23, diskuse chromatografie antokyaninů; Věty: "Aby tyto látky v chromatogramu dávaly ostré a symetrické píky, musela být také upravena separační metoda přidáním 5-ti až 10-ti % kyseliny mravenčí jako modifikátoru. Díky tomu měla metoda pro tyto látky větší LOD než

pro ostatní flavonoidy a separace měla menší účinnost". Oproti čemu měla metoda menší separační účinnost ?

Str. 26. v kapitole Chemikálie chybí dodavatel kyseliny mravenčí.

Str. 34, na obr. 16 je chybně uvedena struktura kvercetinu. Na B-kruhu flavonoidního skeletu chybí jedna hydroxylová skupina.

Str. 41, Věta: „Stanovení limitu detekce (LOD) a limitu kvantifikace (LOQ) bylo stanoveno metodou, kdy v případě LOD je poměr píku /šumu větší než 3 a v případě LOQ větší než 10“. Ve větě vlastní metoda určení LOD a LOQ chybí, prosím o doplnění.

Str. 47, Věta: „Z grafu na obrázku 30 jde vidět....“; mělo by být odkázáno na obrázek 31.

Obr. 29 a 31, Je patrné, že úbytek obou látek v brokolici vařením je značný a jen poměrně malá část přechází do vývaru. Musí tedy docházet k masivnímu rozkladu obou látek. Pozoroval jste na chromatogramech vařené brokolice oproti chromatogramu brokolice čerstvé nějaké změny (píky), které by mohly odpovídat produktům přeměny těchto flavonoidů?

Drobné gramatické chyby a překlepy:
protokatechuová --> protokatechová
str. 9, mobliní --> mobilní
iont --> ion

Uvedené připomínky nejsou podstatné.

Předložená diplomová práce Vítězslava Brandy splňuje po obsahové i formální stránce požadavky kladené na tento typ prací a proto ji **doporučuji** k obhajobě.

V Olomouci, 7. května 2012

Doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.
Katedra analytické chemie, PřF UP Olomouc