

### **Analýza těkavých organických látek v přírodních matricích metodou HS-SPME/GC-MS**

Autorka si v předložené disertační práci vytyčila jako hlavní cíl izolaci organických těkavých látek kombinací prekoncentračních technik headspace (HS) a mikroextrakcí tuhou fází (SPME) s následnou analýzou pomocí GC-MS.

V úvodní teoretické části práce jsou popsány jednotlivé skupiny těkavých látek a jejich výskyt v rostlinných materiálech. Přehled poté pokračuje metodami izolace těchto analytů z matric pomocí destilačních a extrakčních metod. Autorka se zaměřila na mikroextrakci tuhou fází, kde jsou podrobněji popsány jednotlivé kroky extrakce i desorpce a především parametry, kterými je možné optimalizovat výtěžek SPME. Protože je těchto proměnných poměrně velké množství, autorka správně zařadila do teoretické sekce i kapitolu zabývající se statistickým plánováním experimentů a optimalizací podmínek extrakce. Dále jsou zde popsány i metody vyhodnocení experimentů, jako je analýza hlavních komponent a faktorová a diskriminační analýza, které autorka dále použila k prezentaci výsledků měření.

Úvodní část je vypracována přehledně, s množstvím odkazů na použité zdroje a doplněna obrázky a fotografiemi, takže čtenář získá potřebné informace k následným experimentům.

V praktické části byly analyzovány těkavé látky ve vybraných matricích, konkrétně šlo o okvětní lístky 6 druhů růží, 24 domácí vyrobených ovocných destilátů, 13 druhů alkoholických destilátů a likérů z prodejen v PL a jeden druh tonkových bobů. I když se jednalo o rozdílné matrice, byl postup, který autorka zvolila ve všech případech podobný: příprava a homogenizace vzorku, optimalizace extrakčních podmínek a volba správného SPME vlákna pomocí statistického plánování experimentů, vyhodnocení statistických dat a určení parametrů ovlivňujících výtěžek extrakce – z hlediska počtu detekovaných píků nebo maximální odezvy v GC-MS. Následovalo vlastní měření pro optimalizované podmínky a vyhodnocení formou tabulek identifikovaných komponent, seskupení analytů do jednotlivých skupin dle chemického složení a prezentace složení grafickou formou. Za zdařilé považují porovnání aromatických profilů, kde se vynášejí pro jednotlivé vzorky relativní zastoupení komponent (% ploch píků) proti jejich retenčnímu indexu (Obr. 38 a 34). V případě vzorků alkoholických nápojů byla vypracována PCA analýza, kde byly jednotlivé analyzované druhy velmi dobře diskriminovány

na základě prvních dvou faktorů (obr. 36 a 41). Autorka dosažené výsledky následně komentovala a snažila se vysvětlit přítomnost nalezených analytů ve vzorcích a kriticky porovnat s již publikovanými pracemi.

Proti výše uvedenému postupu experimentů nelze mít žádné objektivní námitky. Jak je v práci uvedeno, jednalo se o velmi bohaté směsi látek, kdy bylo identifikováno až 271 sloučenin. Kombinace dostupných MS knihoven (s uváděnou shodou min. 80%) a publikovaných retenčních indexů poskytuje značnou jistotu pro správnou identifikaci látek bez nutnosti mít příslušné standardy k dispozici.

K práci mám následující připomínky, dotazy a náměty do diskuse:

1) **Str. 55, Tabulka 3.** V části **3.1.2.1** autorka uvádí, že jako nezávisle proměnné byly zvoleny doby extrakce (20, 40, 60 minut). Nicméně některé experimenty v první části tabulky byly extrahovány po jinou dobu. Podobně je tomu i s teplotami extrakce.

2) Grafickou podobu disertační práce hodnotím velmi dobře až na jednu výjimku. Na **Obr. 1-12** v příloze jsou dva GC-MS záznamy (černý a růžový signál) překryté přes sebe s růžovým pozadím obrázku. To prakticky znemožňuje se v chromatogramu orientovat. Pokud by autorka zvolila v těchto případech stejný formát jako na **Obr. 35**, kde jsou tři signály s posunutou základní linií, výsledek by byl mnohem přehlednější.

3) V souvislosti s alkoholickými nápoji jsme v ČR zažili v r. 2012 tzv. „methanolovou aféru“ obrovských rozměrů. Krom toho bylo v letech 2010-2012 zveřejněno v tisku překročení koncentrace ethylkarbamátu v některých ovocných pálenkách. Tehdy poměrně přísná norma 0.4 mg/L byla později zvýšena na 1 mg/L. Autorka se v experimentální části disertační práce těmito látkami nezabývala. Znamená to, že v ovocných pálenkách nebyl ethylkarbamát přítomen nebo se ho z nějakých důvodů nepodařilo identifikovat?

4) Pokud se vhodně modifikují podmínky u HS-SPME-GC-MS, mj. např. „solvent cut“ u MS, bude možné použít tuto techniku pro analýzu methanolu ve vzorcích alkoholických nápojů?

Uvedené připomínky nikterak nesnižují kvalitu předložené disertační práce, která je na vysoké úrovni. Text je přehledný, spojující a vysvětlující, stejně jako dosažené výsledky i jejich presentace a interpretace. Předložená disertační práce demonstruje autorčiny schopnosti samostatně zpracovat zadané výzkumné téma, dosáhnout vytyčené cíle a výsledky úspěšně publikovat v impaktovaných mezinárodních časopisech.

**Prohlašuji, že jsem doktorskou disertační práci Ing. Silvie Surmové prostudoval, považuji ji za zdařilou, a proto tuto práci doporučuji přijmout k obhajobě.**



22. 8. 2018

Ing. Josef Planeta, Ph.D.



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

## Posudek doktorské disertační práce

ing. Silvie Surmové

s názvem

**Analýza těkavých organických látek v přírodních matricích metodou HS-SPME/GC-MS**

vypracované na Katedře analytické chemie  
Chemicko-technologické fakulty Univerzity Pardubice

Předkládaná disertační práce je věnována využití izolačních/prekoncentračních technik při analýze těkavých látek v matricích biologického materiálu a ovocných destilátů, přičemž větší část práce se zabývá užitím HS-SPME. Použité postupy byly optimalizovány za použití pokročilých statistických metod, stejně tak i zpracování experimentálních výsledků.

Práce o rozsahu 167 stran je rozdělena na odpovídající kapitoly, velké množství experimentálních dat uspořádaných do přehledných tabulek a grafů, zahrnuje seznam literatury se 179 citacemi, přílohy s dalšími údaji a seznam publikací, přednášek a posterů, kde je doktorandka autorkou či spoluautorkou. Z hlediska struktury a rozsahu tedy práce zcela vyhovuje požadavkům na disertační práci. Práce je napsána čtivě a formální úprava je pěkná.



12. Na str. 60 ve výsledcích optimalizace se jako optimální hodnoty ukázaly maximální hodnoty vybraných faktorů použitých k optimalizaci. Zřejmé je to i z obr. 32. Takový výsledek většinou ukazuje na nevhodně zvolené rozsahy použitých faktorů, protože očekávané maximum evidentně leží mimo zvolenou oblast. Bylo v tomto případě možné/vhodné rozšířit uvedené rozsahy?
13. K hodnotám v tabulkách 6, 11, 12 a 16 není nikde uveden limit, nad který je považována přítomnost látky za uznanou (s číselnou hodnotou).
14. Nebylo v plánu použít pro získaná data statistické metody PCA nebo FA (jako u další kapitoly)?
15. V kapitole 3.2.1.4 GC-MS je uveden teplotní program použitý při analýzách na GC. Tento program má délku 120 min, ale na chromatogramu na obr. 35 je zobrazeno jen 31 min. Byla takto dlouhá analýza nutná?
16. Na obrázku 36 je výstup PCA metody rozdělení destilátů do skupin podle druhu ovoce. Jsou patrné dvě oddělené skupiny jablek, ale přesto jsou zahrnuty do jediné skupiny. Má to nějaký důvod?
17. V kapitole 3.3.1.4 E-nos je uveden teplotní program, který trvá 80 min. Přesto je uvedený stroj označován za ultrarychlý GC. To je z tohoto pohledu troufalé označení.
18. Proč byla u semikvantitativní analýzy vzorků tonkových bobů použita metoda GC-FID? Nebylo možno použít data z GC-MS?
19. Obrázek 47 je ukázkovým příkladem výborně zvoleného rozsahu faktorů. To se málokdy povede.
20. U obrázků 1 – 12 v příloze bylo vhodné uvést, který typ vlákna je červený (v textu růžový) a který černý. Musel jsem to hledat až na stránkách výrobce, i když je to později na jediném místě textu uvedeno (ale kdo rád stále listuje, že).

### **Překlepy**

Jako každý rozsáhlejší text, ani tento není bez překlepů. Jejich množství je minimální a nezhoršuje to obsahovou správnost textu. Jako jediný příklad uvedu použití mužského rodu v prohlášení a poděkování na samém začátku práce.



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

Předkládaná práce má nespornou vědeckou hodnotu, obsahuje velké množství správně vyhodnocených experimentálních dat a velmi se mi líbí. Uvedené komentáře a dotazy, vyplývající z mého zájmu, nejsou takového charakteru, aby snížily nebo zpochybnilly celkovou kvalitu předkládané práce, a proto ji plně doporučuji k přijetí.

Praha, 16. 9. 2018

doc. RNDr. Radomír Čabala, Ph.D.