



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Farmaceutická fakulta

Katedra farmakognózie a botaniky

Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika



Oponentský posudok

na dizertačnú prácu Mgr. Terezy Fábryovej

"Phytochemical analysis and biological activity of the alga *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella* sp."

Predložená dizertačná práca mala za cieľ skúmať a vyvíjať účinné metódy uplatniteľné v priemyselnom meradle zamerané na izoláciu karotenoidov z biomasy mikrorias pomocou vysoko účinnej protiprúdovej chromatografie a hodnotenie vybraných biologických účinkov astaxantínu a jeho esterov, keďže súčasné výrobné postupy pre získavanie týchto látok vyžadujú časovo náročné postupy často zaťažujúce životné prostredie. V súčasnej dobe spotreba týchto látok neustále rastie vo farmaceutickom, potravinárskom a kozmetickom priemysle a nie je potrebné zdôrazňovať aktuálnosť riešenej problematiky.

Predložená práca je napísaná formou komentáru k publikovaným vedeckým článkom autorky venujúcim sa danej problematike. Ťažisko práce predstavujú štyri vedecké články publikované vo vedeckých časopisoch s IF v rozmedzí od 1.9 po 4 a ako také všetky už prešli náročným procesom oponentúr a pripomienkovania. Okrem pôvodných prác v plnom rozsahu, je v dizertačnej práci vložený krátky úvod vysvetľujúci zameranie práce a dôvody skúmania, stať o biosyntéze karotenoidov v riasach so zameraním na luteín a astaxantín a rôzne biologické účinky, ktoré boli neskôr predmetom výskumu autorky. Nasledujú state, ktoré sumarizujú a zhŕňajú najdôležitejšie aspekty publikovaných prác, čo pri prítomnosti celých článkov v práci považujem osobne za trochu zbytočné a duplicitné, keďže všetky potrebné údaje a informácie je možné dohľadať v publikovaných článkoch. Poslednú časť komentáru k publikáciám predstavujú závery rozpracované na štyroch stranách a autorkin podiel a príspevky v rámci jednotlivých publikácií. Celý komentár k práci uzatvára použitá literatúra a dodatky vo forme zoznamu obrázkov, skratiek a publikácií autorky.

V rámci sledovania a splnenia vytýčených cieľov autorka zvolila štandardné a dostupné spôsoby izolácie látok a zaužívané postupy pri sledovaní biologickej aktivity. Získané výsledky navzájom vhodne koreluje a patrične diskutuje aj vo vzťahu k podobným výsledkom dostupným v literatúre. Ciele práce boli jasne definované a na základe získaných, predložených a publikovaných výsledkov vo vedeckých časopisoch, kde prvoautorstvo dizertantky je v troch článkoch (v jednom prípade je ako druhý autor), v ktorých je vlastne publikovaná nosná časť dizertačnej práce je možné konštatovať, že autorka splnila všetky vytýčené ciele

Práca je napísaná prehľadne a jednotlivé kapitoly na seba logicky nadväzujú. Delená je na základe zvyklostí a požiadaviek určených pre tento druh prác. Teoretická časť dizertačnej práce je spracovaná na vysokej úrovni a dokladuje autorkin prehľad a dobrú orientáciu v problematike.

Experimentálna časť práce svedčí o skutočnosti, že autorka má bohaté skúsenosti z oblasti izolácie a identifikácie prírodných látok a hodnotenia aktivít ako aj manažovania práce a rôznych tímov potrebných k dosiahnutiu požadovaného úspechu. Práca prináša nové poznatky v tejto oblasti ako aj možnosti ich ďalšieho využitia a doložené publikácie predstavujú hodnotné vedecké výsledky pre ďalší rozvoj vednej disciplíny.

### **Otázky a pripomienky:**

K prvým dvom pripomienkam poprosím iba krátky komentár.

-Luteín je na str 4 radený ako karotenoid a na str. 30 ako xantofyl

-Na str. 5 sa uvádza, že je známych asi 850 karotenoidov a na strane 154 ich je asi 750

-vysvetliť graf b) na str. 121. Je to frakcia získaná po HPCCC alebo aj po delení na Sephadex LH-20?

-Je metóda HPCCC vhodná na získavanie látok v priemyselnom merítku? Je po separácii touto metódou potrebná následná purifikácia frakcií (znamenalo by to finančnú a aj ekologickú záťaž).

-Je potrebné z hľadiska účinku karotenoidov a xantofylov deliť jednotlivé izoméry a používať ich ako čisté entity alebo je výhodnejšie (z hľadiska účinku či ceny) použiť zmes látok (graf 8, článok Algal Research 49 (2020))

-Je známe, že tieto rastlinné farbivá sú nestále (vzduch, teplo, žiarenie). Aký vplyv má sušenie horúcim vzduchom (článok *Algal Research* 41 (2019) vstupná a výstupná teplota vzduchu 190 resp. 90 °C).

-Bola kolóna Sephadexu LH-20 pri dodatočnej purifikácii luteínu umiestnená v tmavej miestnosti alebo inak chránená pred svetlom?

-Zaznamenali ste niekedy pri delení medzi dve nemiešateľné kvapalné fázy tvorbu „medzifázy“? Ak áno ako ste riešili problém?

-Ako by ste porovnali HPCCC metódu a superkritickú extrakciu CO<sub>2</sub> z hľadiska výhod/nevýhod?

-Príprava biomasy prebiehala asi na partnerských pracoviskách. Časť sa využila na separáciu. Ako bol vyžitý ďalší materiál (keďže sa vo fermentoroch pripravili desiatky kilogramov východiskového materiálu)

-chlorofyl deficientný kmeň *Parachlorella kessleri* HY1 mala na základe výsledkov vyšší obsah luteínu ako zelená mikroriasa *Chorella vulgaris*. Je to dané napr. geneticky alebo vyššími stratami kvôli prítomnosti chlorofylu a potreby následnej purifikácie?

## **Záverečné hodnotenie**

Predložená dizertačná práca potvrdzuje vysokú odbornú úroveň doktorandky a nemám k nej pripomienky zásadného charakteru. Odporúčam preto komisii pre obhajoby dizertačných prác aby ju akceptovala ako podklad pre ďalšie pokračovanie.

Na základe predloženej dizertačnej práce navrhujem pre Mgr. Terezu Fábryovú udelenie akademickej hodnosti PhD. v študijnom odbore Farmakognosie a nutraceutika.

V Bratislave, 09. 05. 2021

prof. PharmDr. Pavel Mučaji, PhD.