



# UNIVERZITA KARLOVA

## Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

V Hradci Králové dne 23. srpna 2022

Renata Neznámá  
Vědecké oddělení  
Farmaceutická fakulta UK

## Posudek na disertační práci Mgr. Anežky Adamcové

Disertační práce Mgr. Anežky Adamcové s názvem „Využití HPLC techniky v analýze fenolických látek v rostlinném materiálu ovocných stromů“ je sepsaná jako závěrečná práce obsahující teoretickou část, experimentální část, výsledky a závěr (není to tedy komentovaný souhrn) v délce 104 stran + přílohy, obsahuje 93 citací, 29 grafů, 32 tabulek a 10 obrázků. Její členění odpovídá běžným standardům, text je logicky členěn a popisuje problematiku stanovení fenolických látek z pohledu jejich fyzikálně-chemických vlastností, výskytu v rostlinném materiálu, a stručně také přípravu vzorku a validaci analytické metody. V experimentální části a výsledcích je popsán vývoj separačních metod s využitím HPLC techniky a UV detekce pro stanovení vybraných analytů v plodech, listech, kůře, pupenech a štěpce z jabloní a hrušní. Bylo provedeno porovnání většího počtu odrůd a také porovnání obsahu fenolických látek získaných v různém vegetačním období, s cílem navrhnout vhodný materiál jako potenciální zdroj pro získání hlavních obsahových látek pro jejich využití v potravních doplňcích.

Disertační práce působí přehledně, obsahuje jen minimum překlepů nebo nepřesností – záměna metanol/methanol, etanol/ethanol, vodní/vodná část mobilní fáze, „core-shell“ kolona/sorbent, infuze/odvar arbutinu, chromatografický systém/software, které ale nesnižují pochopitelnost textu. Z výsledku kontroly plagiátorství vyplynula shoda s větším počtem dokumentů (celkově 40 resp. 32 % podle použité databáze), v prvním případě je založena na citovaných zdrojích samotné autorky, včetně certifikované metodiky, diplomové práce autorky a studentek, které s autorkou spolupracovaly (všechny zdroje jsou řádně citované). V druhém případě se jedná o shodu nepřesahující 5 % zejména v obecných informacích, názvech standardů, popisu pracovního postupu apod. Z tohoto pohledu tedy nepředstavuje taková shoda s vyhledanými dokumenty žádný problém s plagiátorstvím. Přesto bych doporučovala citovat původní zdroje, např. v případě citací validačních autorit, a ne učebnice, kde jsou sice základní informace uvedené, ale také s odkazem na původní zdroj.

K disertační práci mám několik připomínek (jejich počet vyplývá z formy disertační práce):

Na str. 34 tvrdíte při porovnání SFC a UHPLC, že v případě SFC je dosaženo většího rozlišení a doba analýzy je kratší – je to tak vždy a z čeho toto tvrzení vychází?

Na str. 42 uvádíte čistotu standardu kvercitrinu větší než 78 % - je taková čistota dostatečná a jak můžete zjistit čistotu konkrétního standardu? Jak byl hodnocen obsah kvercitrinu, když na str. 49 uvádíte korekci na čistotu standardů?

Na stranách 46 a 48 uvádíte počet vzorků pro vyhodnocení validačního parametru přesnost – jednou 8 a podruhé 6 vzorků – z jakého doporučení vycházíte a kolik vzorků je tedy potřeba?

Na str. 50 uvádíte, že pro separaci byly použity podmínky uvedené v kapitole 4.4.1, kde píšete, že pro gradientovou eluci byly testovány různé podmínky – můžete prosím uvést konkrétní podmínky a doplnit je do disertační práce formou Errat?

Na str. 51 a v přílohách se věnujete tlakovým limitům a uvádíte, že kolony Kinetex (s částicemi 2,6  $\mu\text{m}$ , zpětný tlak cca 20 MPa) generovaly vyšší zpětný tlak blízko max. pracovního rozsahu HPLC přístroje – jaký je tlakový limit v HPLC systému?

Na str. 54 v tabulce 7 uvádíte hodnocení validačních parametrů včetně výtěžnosti, která pro kyselinu chlorogenovou vyšla více než 120 % - jak to můžete vysvětlit a vyhovuje taková hodnota požadavkům?

Na str. 67 a 69 popisujete problém se separací derivátů kyseliny chlorogenové z důvodu jejich nedostatečného rozlišení – nebylo by vhodnější uvést jejich celkový obsah jako sumu obou derivátů?

Na str. 81 porovnáváte vodný extrakt z listů hrušně získaný při vyšší teplotě (40-90  $^{\circ}\text{C}$ ), jako optimální hodnota byla zvolena teplota odpovídající 60  $^{\circ}\text{C}$  – je tu pro většinu látek viditelný statistický rozdíl? V grafu nejsou uvedené chybové úsečky, ale z jednoduchého porovnání je patrný rozdíl pouze u jednoho z derivátů kyseliny chlorogenové, prosím o doplnění hodnot SD a krátký komentář k výběru teploty. To samé na str. 82 v grafu 28 – prosím doplnit SD.

#### Dotaz

Jak ve vašem případě ovlivnila příprava vzorku obsah fenolických látek s ohledem na princip extrakce a typ analyzovaného materiálu? Jak vaše výsledky korelují s předchozími pracemi?

V seznamu publikací autorky by bylo dobré uvést její podíl, i když předpokládám, že jako první autorka se minimálně u dvou publikací věnovala jak experimentu, tak sepsování. Všechny 3 dosud publikované práce vyšly v open access časopisech, což ale nesnižuje kvalitu těchto prací s ohledem na IF těchto časopisů i jejich umístění v Q1/Q2 podle AIS.

Předložená disertační práce je kvalitní a drobné připomínky její kvalitu nesnižují. Vyvinuté extrakční a chromatografické metody a publikované výsledky mají výbornou vědeckou úroveň a tím také pozitivní přínos v oblasti nejen analýzy rostlinného materiálu, ale také jeho možného využití jako zdroje biologicky aktivních látek.

Disertační práci Mgr. Adamcové proto doporučuji k obhajobě a k udělení titulu Ph.D.

Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.

Katedra analytické chemie FaF UK