

Oponentský posudok na dizertačnú prácu

Názov práce: **Hodnotenie obsahu fenolických látok v rastlinnom materiáli**

Autor práce: **Mgr. Marcela Hollá**

Selektivita je jedným z účinných nástrojov pri vývoji metódy chemickej analýzy aplikovateľnej pre rýchlu, spoľahlivú analýzu reálnych vzoriek. Voľba analytu/analytov, odberu a spracovania vzorky, separačného princípu, v kombinácii s dostupnými typmi selektív určuje čo, kde, v čom a za akých okolností budeme schopní analyzovať.

Dizertačná práca Mgr. M. Hollej dokumentuje, že vhodnou voľbou selektív, prípadne aj ich kombináciou, možno vyriešiť niektoré problémy súvisiace so separáciou väčšieho počtu štruktúrne podobných látok alebo polárnych látok. Dizertantka vhodne využila pri vývoji metód pre stanovenie fenolových látok v rastlinných materiáloch viaceré typy selektív, selektivitu úpravy vzorky, selektivitu separácie a selektivitu detekcie, čím sa jej podarilo vypracovať účinné, ekologicky prijateľné a aj pre prax akceptovateľné metódy založené na kombinácii optimálnych extrakčných postupov a kvapalinovej chromatografie s viacerými typmi detekcie.

Doktorandka využila pre naplnenie cieľov práce pokročilé a aj inovatívne prístupy v oblasti kvapalinovej chromatografie a techník prípravy vzorky na analýzu, a to návrh experimentu pre optimalizovanie podmienok extrakcie, extrakciu podporenú ultrazvukom aj extrakciu kvapalinou obohatenú plynom ako jednoduché, perspektívne a ekologické spôsoby prípravy vzorky. Pre separácia látok zvolila a otestovala kvapalinovú chromatografiu v HPLC aj UHPLC prevedení s využitím rôznych typov separačných mechanizmov (RP, HILIC) a technológií výroby stacionárnych fáz s cieľom dosiahnuť čo najkratší čas analýzy a zároveň účinnú separáciu zvolených skupín látok. Využitie bežných aj pre prax netradičnejších spôsobov detekcie pomocou DAD, CAD, CD detektorov a vzájomná korelácia získaných výsledkov je prínosom pre komplexné hodnotenie cieľových látok v testovaných rastlinných vzorkách.

Teoretická aj výsledkový časť práce je členená do troch celkov podľa riešených problematík, i) príprava vzorky na analýzu pomocou extrakčných techník, ii) separácia kvapalinovou chromatografiou s využitím viacerých separačných mechanizmov a foriem, iii) detekcia. Spracovanie práce považujem za celkom vhodné a primerané ak sa stručnejší komentár číta spolu s dokladovanými článkami autorky pre podrobnejšie vysvetlenia. Finálna práca poskytuje dostatočný prehľad o súčasnom stave v riešenej problematike, dosiahnutých výsledkoch autorky a celkovom prínose práce. Sumarizované výsledky z troch nosných oblastí spracované v kapitole 3, publikačné výstupy (3x publikácie Q1-Q3, 3x metodické príručky, príspevky na konferenciách), poukazujú na kvalitu dosiahnutých výsledkov. Pobytu a zapojenie do riešenia grantov poukazujú na široký záber doktorandky, záujem a aktivitu v danej výskumnej oblasti. Kladne hodnotím spoluprácu s inými v práci uvedenými pracovníkmi, čo prispieva k jej vedeckej príprave. Ciele vytýčené pre doktorandské štúdium aj ciele uvedené v dizertačnej práci považujem za splnené.

Prínos dizertačnej práce vidím v podobe vypracovania a aplikovania nových čiastočne validovaných metód s prvkami ekologickosti, vysokej selektivity a účinnosti pre stanovenie vybraných fenolových látok vo vzorkách ovocia a iných rastlinných materiálov.

K dizertačnej práci mám niekoľko otázok a námetov do diskusie:

- 1) V rámci opisu extrakčných techník uvádzate aj SPE na ďalšie prečistenie primárneho extraktu (str. 14). V súčasnosti sú dostupné aj MIP selektívne pre fenolové látky. Testovali/zvažovali/je reálne, aplikovanie tejto možnosti úpravy v rámci vašej problematiky? Ďalšou alternatívou ekologických extrakčných rozpúšťadiel sú DES. Je dostupných mnoho typov zložiek DES, ktoré v kombinácii s vhodným pomerom zložiek, môžu byť ciele pripravené pre selektívnu extrakciu. Je to aplikovateľné pre vašu problematiku? Dokumentujte prosím príkladmi z vašich skúseností alebo literatúry.
- 2) Veta na str. 32 (prvý odstavec): „Podobne, YMC C18 kolóna s technológiou viacvrstvových častíc s rozmermi 250 mm × 4 mm a 5 μm bola využitá v štúdiu zameranej na hodnotenie neuroprotektívnych účinkov fenolických látok z jedle huby *Inonotus obliquus*, kde bol okrem troch vybraných fenolických látok separovaný aj enantiomerný pár [103].“, Pojednávalo sa skutočne o separáciu enantiomerného páru? Objasnite za akých podmienok možno na RP kolóne separovať enantioméry látky?
- 3) Oceňujem zaradenie informácií (kap. 2.2.3 a 2.2.4) o stacionárnych fázach s časticami s vrstvami alebo viacvrstvovými časticami do teoretickej časti a ich využitie v práci. Mohli by ste na príklade vami študovaných látok ukázať ako sa zvýšila separačná účinnosť (dokumentovať napr. parametre separačnej účinnosti) v porovnaní s inými typmi/technológiou prípravy stacionárnych fáz?
- 4) Pri UAE extrakcii vzoriek jabĺk a rastlín ste využívali ultrazvukový kúpeľ? V čom vidíte výhody/nevýhody/problémy tohto prevedenia v porovnaní s ultrazvukovou sondou?
- 5) V rámci SST pre HPLC a UHPLC metódy s gradientovou elúciou uvádzate v tabuľkových formách (Príloha 1 a 2) vyhodnotenú parametre R_s , R_f (resp. k). Ako ste vypočítavali tieto hodnoty, keďže v práci nie sú uvedené vzťahy?
- 6) Vyvinuté metódy ste čiastočne validovali na základe doporučení EMA. Pre aplikáciu v prílohe 4 by sa zrejme žiadala kompletná validácia. Aké boli kritéria pre jednotlivé vyhodnocované parametre? Boli splnené? Prečo ste nevyhodnocovali aj iné parametre metódy?
- 7) V práci (napr. príloha 4) ste zozbierali množstvo údajov pre vzorky pomocou rôznych metód (kvantifikácia látok pomocou HPLC s viacerými detekciami, antioxidačná aktivita určená dvoma spôsobmi, výsledky pomologického hodnotenia) a ukázali vzájomné korelácie niektorých výsledkov. Je reálne využiť všetky tieto údaje pre komplexné chemometrické zhodnotenie s fúziou všetkých dát?

Iné pripomienky:

- Použitie pojmu „meranie“ nie je vhodné (Abstrakt, 3. odstavec:... meraním sady jablčných odrôd pomocou detektoru diódového poľa a detektoru nabitého aerosólu.).
- V zozname skratiek je vhodné uvádzať aj anglické názvy, keďže z nich vyplývajú mnohé skratky. Skratky pre UAE (extrakcia sonikáciou) a MAE (mikrovlnná extrakcia) nie sú výstižné – vhodnejšie je extrakcia kvapalinou podporená ultrazvukom, extrakcia kvapalinou podporená mikrovlnným žiarením.

- Niektorým jazykovým formuláciám bolo treba venovať väčšiu pozornosť (chýbajú čiarky pred spojkami ale, ktorý; prietok alebo rýchlosť toku namiesto rýchlosť prietoku (str. 12); liečivých bylín namiesto medicínálnych bylín (str. 18); hustota namiesto denzity (str. 19); výška teoretickej priehradky namiesto výška teoretického patra (str. 24); dávkovacej slučky namiesto nastrekovej smyčky (str. 25), a ďalšie.
- Namiesto jednotky tlaku „bar“ je vhodnejšie používať SI jednotky. Pre kritický bod vody by mali byť uvedené okrem teploty aj tlak. (str. 19).
- Čo chápete pod pojmom „identifikácia pík“ (str. 34)?

Záver

Mgr. Marcela Hollá vo svojej dizertačnej práci preukázala zvládnutie metodiky vedeckej práce a schopnosť samostatne vedecky pracovať. Uvedené pripomienky neznižujú jej pozitívne stránky a dosiahnuté výsledky.

Predloženú prácu odporúčam prijať ako podklad k obhajobe a po jej úspešnom obhájení navrhujem udeliť Mgr. Marcele Hollej akademický titul PhD.

V Bratislave 06.11.2023

doc. Ing. Katarína Hroboňová, PhD.