

**Oponentský posudek doktorské disertační práce Ing. Kristýny Moučkové  
Univerzita Pardubice**

**Fakulta chemicko-technologická**

**Název: Extrakce a analýza přírodních látek s využitím chromatografických technik**

Předložená disertační práce uchazečky Ing. Moučkové je založena na publikovaných člancích, kde je disertantka první autorkou nebo je členem autorského kolektivu. Články prošly recenzními řízeními a jsou hodnoceny příslušnými impakt faktory. Uchazečka tím splnila jednu ze základních podmínek pro uskutečnění obhajoby disertační práce

Anotace zmiňuje obsah teoretické a experimentální části. Jsou zde uvedeny základní instrumentální techniky, kterých bylo využito v rámci extrakce a stanovení biologicky aktivních látek a jsou zde zmíněny hlavní byliny, které byly analyzovány a jejichž výsledky analýz byly publikovány v impaktovaných časopisech. Co mi však v anotaci chybí jsou hlavní dosažené výsledky práce.

Cíle práce jsou stručné, výstižné, nemám připomínek.

Úvod je věnován extrakčním technikám z oblasti „Green Extraction Techniques“, které se v analýze, nejen potravin, začínají posouvat do popředí. Stručně je nastíněna možná souvislost mezi chemickou strukturou biologicky aktivních látek, a hlavně jejich působení v komplexech, nikoliv jako jediné substance, jako tomu je často ve farmacii.

Teoretická část je sepsána cca na 60 stranách. První kapitola je věnována využití rostlinných extraktů v přírodní medicíně. Podkapitola 1.1.2 věnující se flavonoidům měla být více rozpracována, je příliš stručná, chybí mi zde zmínka o antokyanových barvivech. Kapitola 2 se věnuje vybraným rostlinám, který byly využity v experimentální části. Zde bych doporučila jednotnost v jejich charakteristikách, u mnohých druhů nejsou zmíněny hlavní biologicky aktivní látky, či zesílení fontu písma v popisu fyziologických účinků, které je opět nejednotné. Kapitola 3 sumarizuje postupně jednotlivé způsoby extrakcí včetně mikroextrakcí, stručně jsou nastíněny jejich principy a také příklad aplikace. U Soxhletovy metody mi chybí zmínka její úpravy pomocí Twisselmannova nástavce. Asi bych také zmínila, že extrakční techniky, například pomocí MAE – Microwave-Assisted Extraction, mohou být prováděny také za vakua nebo v přítomnosti ochranného plynu (např. N<sub>2</sub>) z důvodu zabránění oxidace analytů. Kapitola 4 je věnována analýze těkavých látek metodou GC-MS s podrobnou interpretací v identifikaci složek esenciálních olejů. Naproti tomu pátá kapitola, věnována analýze netěkavých flavonoidních sloučenin je příliš stručná. Kapitola 6, věnující se metodám testování antimikrobiálních vlastností extraktů, je velmi dobře zpracována jak formou textu, tak také obrázků.

Experimentální část je zpracována na více jak 80 stranách. Veškerá data jsou zpracována na vysoké úrovni, formou tabulek, grafů, chromatogramů. Zajisté se dalo očekávat, že vysoká antimikrobiální aktivita byla naměřena právě u zakoncentrovaných hydrolátů, např. pomocí SPE. V diskuzní části je věnována pozornost i odlišnostem v dosažených výsledcích. Konkrétně lze zmínit nízkou antimikrobiální aktivitu hydrolátů s linalolem či nižší antimikrobiální účinek hydrolátu z vavřínu proti G<sup>+</sup> bakteriím. Uchazečka uvádí, že hydroláty

by mohly být využity v přírodní medicíně či k prezervačním účelům. K tomuto tvrzení navazuje má otázka č. 4. Kapitola 9 je věnována převážně mikrovlnné extrakci iontovou kapalinou pro stanovení profilu flavonoidů. Je zde popsána dostatečným způsobem syntéza iontových kapalin jak imidazoliového, tak guanidiniového typu, s optimalizací jejich výběru jako vhodného extrakčního činidla vzhledem k analytům rutin, kvercetin a apigenin. Výsledky stanovení jsou diskutovány, zde nemám žádných připomínek.

Disertační práce je podložena 290 odbornými publikacemi.

V práci se minoritně objevují méně vhodné terminologie či formální chyby, jako např. antimikrobiální aditivum, u rostlinných matric bych volila raději terminologii pletiva než tkáň, tabulka 1 je až na str. 38, nikoliv 37. Také je vhodnější, pokud je to možné, tabulku dát vždy celou na jednu stránku, pozor na jednotnost pomlček jak v textu, tak mezi čísly, drobné překlepy typu „izotermální“. Začátek kapitoly 5 bych očekávala na nové straně, jako je tomu u kapitol ostatních.

Závěrem bych ráda konstatovala, že předložená práce, byť s jemnými formálními výtkami, je na velmi dobré odborné úrovni, mé připomínky nejsou zásadního charakteru a určitě nesnižují úroveň předložené práce. Hodnotím práci výborně, **doporučuji ji k obhajobě** a po jejím úspěšném obhájení doporučuji uchazečce udělit akademický titul „doktor“.

Otázky:

1. Charakterizujte/popište Soxhletovu extrakci s úpravou aparatury dle Twisselmann a rozdíly mezi nimi.
2. Prosim o charakteristiku extrakce ASE – Accelerated Solvent Extraction (lze ji najít i pod označením PFE – Pressurized Fluid Extraction), která stojí na rozhraní technik SFE a Soxhleta a nebyla v teoretické části zmíněna.
3. V teoretické části byla pouze zmínka o možnosti využití elektrického pole k extrakci. Věděla by uchazečka popsat techniku PEF – Pulsed electric field assisted extraction a vyhledat nějakou její aplikaci?
4. Na str. 83 (a v podstatě i na str. 132) je uvedena hypotéza o prezervačních účelech v použití hydrolátů. Můžete toto rozvinout konkrétněji? Zajímají mě podrobněji přínosy pro praxi.

Ve Zlíně dne 1. listopadu 2021

  
doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

## Posudek doktorské disertační práce

ing. Kristýny Moučkové

s názvem

**Extrakce a analýza přírodních látek s využitím chromatografických technik**

vypracované na Katedře analytické chemie

Chemicko-technologické fakulty Univerzity Pardubice

v roce 2021

Předkládaná disertační práce je věnována extrakci esenciálních olejů a flavonoidů z vybraných rostlin s důrazem na environmentální dopady extrakce. Byly studovány postupy extrakce hydrodestilací, destilací s vodní párou a extrakce iontovými kapalinami. Složení získaných extraktů bylo charakterizováno metodami GC-MS, GC-FID a HPLC-DAD a stanovena antimikrobiální aktivita jak kapalně, tak i plynné fáze extraktů na vybraných rodech bakterií.

Práce o rozsahu 190 stran je rozdělena na kapitoly, podle publikací, ve kterých byly získané výsledky publikovány, a jedna kapitola uvádí výsledky nové, nepublikované. Experimentální data jsou uspořádána do přehledných tabulek a grafů v celkem 9 kapitolách. Práce zahrnuje seznam literatury s účtyhodnými 290 citacemi. Příložen je rovněž 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.



### Dotazy a komentáře

K práci mám následující dotazy, komentáře a náměty k diskusi.

1. V kapitole 3 na str. 30 je uveden pojem „zelenější extrakční technika“. Zajímalo by mne, co je měřítkem „zelenosti“ extrakce.
2. Na straně 36 v kapitole 3.5.2 je uvedeno „Byly zkoumány tři různé teploty vody v nadkritickém stavu a to 100, 150 a 200°C“. Správně má být v přehřátem stavu. V originální práci je použit termín „superheated water“.
3. Na straně 47 a 48 v kapitole 3.6.1.3 je uveden postup z literatury, kde je rostlina extrahována 70% ethanolem a k extraktu je přidána voda a směs „oddělena v rotační odparce“. Dále je uváděna vodná a organická fáze extraktu. Ethanol je ale mísitelný s vodou, takže by dvě fáze neměly vzniknout. Lze to vysvětlit?
4. V Tabulce č. 7 na straně 89 jsou pro fenyl a hřebíčkovec uvedeny stejné počty identifikovaných sloučenin (11) pro H(SD\_SPE) a H(HD\_SPE). Jak je možné, že procentuálně vycházejí stejná čísla, když se počty pík, ze kterých se vychází při výpočtu liší?
5. Obrázek č. 36 na straně 98 – záznamy chromatogramů jsou asi vzájemně posunuty (viz peak č.3)
6. Na straně 99 je v textu uveden údaj pro podíl identifikovaných látek v hydrolátu pro H(SD\_SPE) 84,1%, ale v Tabulce č. 10 je uveden údaj 83,6%.
7. Na straně 114 v kapitole 8.1.5 je uvedena tloušťka filmu stacionární fáze 2,5 mikrometru u GC kolony SLB-5MS firmy Supelco. Nemá být správně 0,25 mikrometru?
8. V kapitole 8.2.1 na straně 115 je uveden odkaz na tabulku 15, ale správně je na tabulku číslo 14. Obdobně na straně 123 má být odkaz na tabulku číslo 15, nikoliv číslo 16.
9. Na straně 124 a 125 se odkazy v textu na mnoho hodnot v tabulce číslo 16 neshodují s těmi v tabulce.
10. Mám problém s termínem „vodný roztok iontových kapalin“ v případě hydrofilních IL na straně 133 v kapitole 9. Pokud totiž rozpustíme hydrofilní IL ve vodě, dostaneme normální roztok iontů vzhledem k jejich disociaci. Po vytvoření micel z volných kationtů po překročení CMC se pak jedná o extrakci micelami a nikoliv extrakci IL. Navíc v tabulce číslo 24 na straně 152 jsou jako IL prezentovány i pevné látky.
11. Prosil bych vysvětlit tvrzení na straně 142: „ ... získané optimální podmínky byly extrapolovány pro ostatní testované IL“.



PŘÍRODOVĚDECKÁ  
FAKULTA  
Univerzita Karlova

12. Na straně 144 je jako jeden z hlavních faktorů uvedena „teplota MW záření“. Jak se prakticky nastavuje?
13. Na konci kapitoly 9.3.3 na straně 151 je uvedeno, že „IL s halogenidovými anionty, jako je  $\text{Cl}^-$  nebo  $\text{Br}^-$ , jsou tedy mísitelné s vodou v jakémkoliv poměru, ale IL obsahující  $\text{PF}_6^-$  jsou hydrofobní. Já si myslím, že se hydrofilní IL ve vodě rozpouštějí a ne, že se s vodou mísí.
14. Na straně 155 na obrázku 43 není pro *Magnifera sp.* uveden výsledek extrakce  $[\text{C}_{16}\text{MIm}^+][\text{Br}^-]$  jako u *Passiflora sp.* V textu není důvod uveden.
15. Nebylo by při posuzování antimikrobiální aktivity plynné fáze esenciálních olejů vhodnější znát i složení plynné fáze? To se může kvantitativně lišit od složení kapalnou fáze. Mělo by to význam?

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

Praha, 19.11. 2021

doc. RNDr. Radomír Čabala, Ph.D.

docent,  
RNDr.

Radomír  
Čabala, Dr.

Digitálně  
podepsal docent,  
RNDr. Radomír  
Čabala, Dr.  
Datum:  
2021.11.19  
14:51:07 +01'00'

