



OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce:	Vývoj metod analýzy fenolických látek v rostlinných produktech pomocí kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie
Autor:	Ing. Michal Kašpar
Školitel:	doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.
Instituce:	Univerzita Pardubice, Fakulta Chemicko-technologická, Katedra analytické chemie
Studijní program:	Analytická chemie
Studijní obor:	Analytická chemie
Oponent:	doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Disertační práce Ing. Michala Kašpara se věnuje vývoji a validaci metody HPLC-MS s následnou aplikací pro stanovení fenolických profilů v maticích kávových zrn a octů. Práce obsahuje všechny formální náležitosti a respektuje obvyklou formu pro tento typ prací. Jsou definovány cíle práce, které byly postupně naplněny.

Anotace disertační práce stručně charakterizuje postup práce v jednotlivých logických sledech, ale neobsahuje žádný údaj o hlavních dosažených výsledcích, jen konstatuje, co bylo uděláno. U klíčových slov bych formálně volila jednotné číslo, např. místo kávová zrna, kávové zrna apod.

Úvod jasně a stručně deklaruje význam fenolických látek a jejich problematiku při jejich stanovení, načež navazují cíle práce. Tyto jsou obecně definovány, nicméně jejich logický sled dává nástin řešené problematiky a rozděluje práci na 4 hlavní celky. Oceňuji, že cíle práce byly naplněny s podporou projektů Grantové agentury České republiky.

V kapitole 1 bych se vyvarovala tvrzením: Konzumací rostlinné stravy (je míněno fenolické látky) jsou pak přijímány zvířaty a lidmi, kterým přináší celou řadu zdravotních benefitů. Spíše volit formu podpůrných zdravotních benefitů z důvodu legislativy o výživových a zdravotních tvrzeních (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006). Mezi ne flavonoidní fenolické látky potom patří fenolické kyseliny, stilbeny, kumariny, lignany a taniny. To, jestli jsou dané sloučeniny těkavé či ne, nehraje v dělení roli. Kapitola moderní trendy v kapalinové chromatografii je dobře zpracována, jsou zmíněny jen ty techniky či odborné znalosti, které mají tematicky nejbliže k řešené problematice disertační práce. Jen v kapitole Charakterizace kolon pro separace fenolických sloučeniny je spíše pojednáno o mobilních fázích. Téma chtělo více rozpracovat.

Experimentální část věnovaná prvnímu z cílů disertační práce obsahuje veškeré náležitosti k metodické části věnované testovaným chromatografickým parametrům jako byly retenční faktory, symetrie píků, selektivita atd. V kapitole 1.3.3 mi chybí odkaz na nějakou literaturu,

na základě níž, byly zvoleny pro tento experiment chromatografické podmínky. Oceňuji zpracování výsledků závislosti výškového ekvivalentu teoretického patra na rychlosti toku MF pro jednotlivé analyty pro definování účinnosti separace testovaných kolon. Výsledky experimentální části prvního okruhu jsou komentovány, avšak nejsou podloženy žádným odkazem na reference.

V teoretickém úvodu u kapitoly 2 mi trošku chybí popsat princip elektrospreje, jako ionizační techniky, která byla použita následně v experimentální části 2 a také typ analyzátoru, který byl v hmotnostním spektrometru QTrap 4500. V kapitole Optimalizace podmínek HPLC separace oceňuji, že uchazeč nejen deklaruje chromatografické podmínky a jejich volbu, ale nastiňuje i případnou problematiku spojenou s vyšším objemem nástřiku, což souhlasím, by negativně ovlivnilo účinnost separace analytů. Stejně tak souhlasím s navrhovaným postupem optimalizace gradientu. V této části student prokázal, že je schopen se v rámci řešené problematiky orientovat a aplikovat teoretické znalosti chromatografických separací do praxe. Validací parametry pro výběr vhodné metody jsou správně zvoleny a dostatečně popsány, dosažené výsledky srovnány se studiemi.

Třetí část práce je věnována fenolickému profilu octů. Zde bych doporučila ocet definovat pouze dle Vyhlášky č. 248/2018 Sb. o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí, kdy kvasný ocet je považován za ochucující potravinu a je zde uvedeno i jeho členění na lihový, vinný a ovocný atd. Jiné členění či názvosloví je zbytečně zmatečné, včetně tvrzení, zda ocet je či není potravina. Velmi dobře je v disertační práci stručně popsána technologie výroby či výchozí suroviny pro výrobu jednotlivých druhů octů. Kladně hodnotím stručnou tabulku č.12 s přehledem studií zabývajících se stanovením fenolických látek v matricích octů. Metodika experimentu ve třetí části vychází z optimalizace a validace metody z druhé části, takže pouze charakteristika úpravy vzorku před samotným stanovením je naprosto dostačující. Možná mohla být lépe provedena charakteristika vzorků ve smyslu uchovávání vzorků apod. Výsledky stanovení jsou zpracovány formou obrázkových grafů, lze vidět profil nejvýznamnějších zástupců z řady analytů, které byly kvantifikovány, výsledky stanovení jsou diskutovány s dostupnou literaturou.

Čtvrtá část disertační práce se věnuje analýze změn fenolického profilu kávových zrn. Je uveden stručný popis vrstev kávového zrna, jeho charakteristika a stručně popsána technologie jeho zpracování včetně charakteristiky fenolických látek kávových zrn. Pozor jen na překlad fenolických kyselin z angličtiny do češtiny. Metodická část je dostatečně popsána, včetně vysvětlení, proč nebylo nutno optimalizovat metodu extrakce. Dosažené výsledky (kvantita) jsou dostatečně prezentovány formou grafů, a to i v závislosti na době pražení.

Za každou experimentální částí je velmi vhodně zařazeno shrnutí hlavních dosažených výsledků. Závěr práce už jen stručně shrnuje hlavní dosažené poznatky. Cíle práce byly naplněny, aplikace jednotlivých analytických stanovení najdou uplatnění v praxi pro konkrétní matrice potravinářských surovin.

Disertační práce využívá 174 relevantních odborných publikací a velmi kvalitně zpracovaný přílohový materiál.

Práce je podpořena 4 kvalitními impaktovanými publikacemi, z nichž u dvou je uchazeč uveden na prvním místě jako autor. Dále student předkládá citace 3 posterů a přednášky na konferencích, z toho dvě jsou zahraniční.


K vlastní práci mám následující dotazy:

1. Na principu jakého klíče byly kombinovány jednotlivé vzorky octů a pražená kávová zrna? Jak spolu tyto dvě komodity souvisejí?
2. Můžete blíže charakterizovat typy kolon používaných pro separace fenolických látek?

3. Na základě jakých znalostí, referencí apod. jste volil chromatografické podmínky pro experimentální část 1? Proč byla zvolena konkrétně teplota 40 °C pro separaci analytů? Tato teplota je většinou hraniční pro velkou škálu fenolických látek z důvodu jejich degradace (pozn.: částečně máte volbu této teploty zmíněnou ještě v experimentální části 2)
4. Na obr.12 u jablečného octu mě zaujala koncentrace analytu cca v 7,5 minutě? Vzhledem k její vyšší koncentraci, snažili jste se tento identifikovat?
5. Ve své práci v diskuzi v kapitole 3.3.2 uvádíte: V rýžovém octu značky Pearl River Bridge bylo nalezeno malé množství 4-vinylfenolu, což je látka specifická pro vinné bílé octy. Zároveň zde byla pod mezí kvantifikace identifikována kyselina gallová, což by mohlo naznačovat, že k tomuto octu mohl být přidán vinný bílý ocet. Tady mě jen zajímá čistě pro zajímavost, na základě čeho usuzujete na přídavek vinného bílého octu? Je to jen na základě vyšší koncentrace kyseliny gallové v tomto typu octů nebo je to známo i z dostupné literatury? Mohlo by to například ukázat na falšování octů? Jen spekulují.
6. Při stanovení pyrogallolu u pražení kávových zrn uvádíte: Prakticky lze vyloučit vznik pyrogallolu tepelnou degradací kyseliny gallové, jelikož tato kyselina nebyla identifikována v žádném z testovaných vzorků. Je možno odhadnout cestu jeho vzniku? Podobně u octů píšete: Pyrogallol nebyl identifikován u všech vzorků vinných octů, naopak byl přítomen v některých jablečných octech, které neobsahují tak vysoké množství kyseliny gallové, tudíž pro objasnění původu pyrogallolu v octech by bylo zapotřebí dalších studií. Dá se toto tvrzení použít i u procesu pražení kávových zrn a tvorby pyrogallolu? Opět jen pro zajímavost. Mohlo by to ukazovat například na vyšší koncentraci kyseliny tříslové v kávových zrnech? Je tato v zrnech kávy přítomna?

Doporučuji disertační práci Ing. Michala Kašpara přijmout k obhajobě a na základě její úspěšné obhajoby udělit akademický titul *Philosophiae Doctor* (Ph.D.) ve studijním programu Analytická chemie.

Ve Zlíně dne 9. 8. 2024


doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.
Ústav analýzy a chemie potravin
Fakulta technologická
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně