

## POSUDEK

na doktorskou disertační práci Mgr. Jany O r s a v o v é s názvem –  
**„Bioaktivní látky u netradičních surovin rostlinného původu.“**

---

Předkládaná doktorská disertační práce je obsahově zaměřena na studium biologicky aktivních látek v ovoci, které se vzhledem na svou menší rozšířenost doplňováno přívlastkem netradiční. Pozornost je v prvních kapitolách věnována botanickým charakteristikám jednotlivých druhů, rodů a čeledí vybraného ovoce. Další část je pak věnována přítomným biologicky aktivním látkám, především fenolickým sloučeninám a vitamínům a jejich obsahy jsou porovnány s obsahy v různých druzích zeleniny. Dále jsou popsány různé metody stanovení antioxidační aktivity těchto látek obsažených v extraktech z vybraných netradičních druhů ovoce. Na závěr těchto úvodních kapitol jsou vymezeny cíle práce.

Autorka si k řešení a dosažení cílů disertační práce zvolila na jedné straně nespecifické metody stanovení antioxidační aktivity na principu spektrometrického měření různých barevných produktů redoxních reakcí vhodných ke stanovení antioxidační aktivity (DPPH, Folin-Ciocalteu činidla, a dalších) a fotochemiluminiscenční metodu založenou na zhášení standardizovaného množství specifického radikálu. Na druhé straně autorka použila specifickou metodu RP-HPLC/UV-VIS, kterou stanovovala jednotlivé konkrétní sloučeniny, které pak podle struktury zařadila do jednotlivých skupin BAL. Na základě těchto měření byly porovnány výsledky nespecifických stanovení s výsledky získanými specifickým stanovením (resp. jejich součty obsahů v jednotlivých skupinách) a jejich výsledky stanovení různými metodami vzájemně korelovány. Nakonec bylo výsledkům jednotlivých stanovení přiřazeno bodové hodnocení a na základě toho hodnocení byla vyhodnocena nejlepší odrůda.

Vlastní práce je sepsána v klasické formě členění čítající 224 stran textu, 21 obrázků, 57 tabulek a 8 příloh. Po úvodu do problematiky, v rámci teoretické části práce věnované literárnímu přehledu, který nás uvádí do problematiky charakteristiky jednotlivých vzorků ovoce, jejich klasifikace, třídění a možnostech pěstování včetně analytických metod, které se

používají na stanovení biologicky aktivních látek, jak specifických, tak nespecifických, jsou vytýčeny základní cíle práce.

Následuje praktická část, která se zabývá metodikou experimentu a stanovením jednotlivých parametrů ovoce jako je zastoupení celkových polyfenolů (CP), flavonoidů (FL) a antokyanů (AT), dále stanovení zastoupení antioxidačních vitamínů a stanovení antioxidační aktivity extraktů ovoce různými metodami.

Následuje kapitola Hlavní výsledky práce – kde jsou dosažené výsledky jednotlivých dílčích cílů podrobně komentovány a podrobeny detailní diskuzi a srovnány s dostupnými literárními údaji, které jsou pak stručněji shrnuty v závěru práce. Před těmito závěry je kapitola shrnující přínos práce pro vědu a praxi.

Práci uzavírá literární přehled zahrnující 242 literárních zdrojů a seznamy publikací autorky a seznam příloh, které vhodně doplňují předloženou práci.

K práci mám zásadní připomínky, ale kromě formálních, zahrnující méně vhodné formulace a nepřesnosti, mohu celkově konstatovat, že práce je zpracována poměrně pečlivě, na vyhovující stylistické i grafické úrovni a chtěl bych vyzdvihnout velké množství zpracovaného experimentálního materiálu.

#### Dotazy a připomínky:

Formální připomínky se týkají volby nesprávných výrazů – lyofilizovaná vlhkost, lyofilizovaná sušina, metoda standardního přídávku – str. 63 (dnes se používá název – metoda přídávku standardu), oxido-redukční (redoxní), dále pak vyjadřování některých hodnot výsledků v g, mg nebo mmol jednou vztaženo na 100 g, jinde na g, kg nebo l – v textu jinak, v tabulkách a grafech také jinak (str. 31-44, 66, atd.), nejmarkantněji v grafu 4.5.5.1 na str. 163.

Formulace na str. 48 – „Spektrofotometrické ET metody měří kapacitu antioxidantů redukovat barevnou složku, která během této reakce mění barvu.“ – je značně nepřesná – měříme koncentraci oxidované nebo redukované formy příslušné látky nebo radikálu (podle zvolené metody) na příslušné vlnové délce absorpčního maxima.

U některých výstupů chybí, jakou metodou byly výsledky stanoveny – kap. 4.1.2. (str. 65), dále např. tabulka 4.1.2. – polyfenoly (CP), Sběr – 2013, JA – 16,30 g GA.kg<sup>-1</sup>, tj. 16300 mg GA.kg<sup>-1</sup> a v grafu 4.1.3.1 je hodnota CP (RP-HPLC) cca 1000 mg.kg<sup>-1</sup>, takže hodnoty nekorespondují dost zásadně a další také. Podobně i jinde – str. 115 – CP (Krasavica) 7610

mg GA.kg<sup>-1</sup>, v tabulce 4.3.2., v grafu 4.3.3. (Krasavica) cca 3250 mg.kg<sup>-1</sup> a v tabulce (Krasavica) 4.3.3.1 - 714,3 mg.kg<sup>-1</sup>, dále tab. 4.4.2, grafy 4.4.3 a tabulky 4.4.3.1 – vysvětlete! V tabulkách např. 4.1.3.4 a 4.1.3.5 uvádíte názvy *t*-skořicová a *p*-kumarová, které se píšou s písmeny před pomlčkou kurzívou – *t*-skořicová a *p*-kumarová.

#### Dotazy:

- První zásadnější otázka se týká kapitoly 3.3.11 Statistické vyhodnocení získaných dat. Uvádíte, že každá analýza byla provedena třikrát ve dvou opakováních, takže jste získala celkem šest hodnot měření, což je velmi malý výběr. Můžete vysvětlit, jak jste si poradila s odlehlými výsledky? Dále uvádíte, že data byla testována na normalitu pomocí Shapirova-Wilkova testu, případně Kruskal-Wallisova testu. Byly splněny podmínky pro aplikaci těchto testů a kolik souborů nevykazovalo normalitu? Je střední hodnota jako aritmetický průměr (mean) nejvhodnější způsob zpracování dat tak malých souborů ( $n = 3, 6$ )? Jaké by bylo vhodnější vyjádření střední hodnoty v tomto případě a jaká by byla jeho hlavní přednost?
- V některých tabulkách např. 4.4.3.2 a 4.3.3.3 uvádíte hodnoty  $nd$  – nebylo detekováno a pak u některých hodnot výsledek 0,0 (SD 0,0). Jak se tyto výsledky navzájem liší a jak by měly být podobné výsledky správně vyjádřeny?
- Další zásadní připomínka se týká určování korelací. Jednak regresní analýza za účelem určení korelačních koeficientů se může týkat pouze parametrických (číselných) hodnot. Takže všechny formulace typu „...a posoudit korelaci jejich obsahu s odrůdou“ – str. 53, a dále v tab. 4.1.7.1 str. 90, 4.1.7.2 str. 92, 4.1.7.3 str. 93, 4.2.7.1 str. 108, 4.2.7.2 str. 111, 4.2.7.3 str. 112, 4.3.7.1 str. 127, 4.3.7.2 str. 129, 4.3.7.3 str.130, 4.4.7.1 str.152, 4.4.7.2 str.155, 4.4.7.3 str.156: Korelační koeficienty mezi metodami stanovení.....“, jsou chybně formulovány a chtěl bych se zeptat, zda můžete vysvětlit jaký smysl mělo určování vzájemných korelací?
- Další dotaz souvisí s předchozím. Korelace vyplývající z posouzení hodnot Pearsonových korelačních koeficientů, jak uvádíte v kapitole 3.3.11 slouží k zjištění lineárních závislostí mezi různými veličinami a dosahuje hodnot  $<-1, 1>$ . Primárně, než k tomuto testování přistupujeme, bychom měli vyhodnotit možnou kauzalitu navzájem testovaných veličin, protože i mezi veličinami s vysokou korelací ( $\sim 1$ ) nemusí být kauzální vztah. Proto bych se, na základě výše uvedeného, rád zeptal na věrohodnost některých výroků – např. na str. 68 – „Z dosažených výsledků vyplývá, že obsah jednotlivých fenolických sloučenin na odrůdě závisí.“

Dále by se mi zdály diskutabilní některé závěry vyplývající z vyhodnocení korelačních koeficientů – např. korelace mezi hodnotami obsahů EL (kyseliny ellagové) a celkových polyfenolů (CP)  $r = 0,8048$  (str. 82–84 – tab. 4.1.3.6 a 4.1.4.2) a z toho údajně vyplývající největší podíl zastoupení EL na CP. Když se podíváme na číselné hodnoty v tabulkách, vidíme, že zastoupení EL je na úrovni 0,1 -1,6 mg.kg<sup>-1</sup>, kdežto zastoupení kyseliny gallové a protokatechové, které jsou na úrovních 71,2-406,5; resp. 65,8-209,0 mg.kg<sup>-1</sup> a korelují velmi slabě. Můžete tyto souvislosti vysvětlit?

- Další připomínka a dotaz se týká kapitoly 4.5 Zhodnocení netradičního ovoce různých botanických druhů. Není mi jasné a v práci není žádným způsobem definována stupnice ani způsob, podle které jste vytvořila bodové hodnocení různých botanických druhů. Opírala jste se o nějaké literární zdroje? Pokud ano o jaké? Pokud je bodové hodnocení vaším originálním návrhem, definujte a vysvětlete, jaké bodové hodnocení (jaké rozsahy bodových stupnic, zda vážené nebo nevážené) jste použila a zda jste testovala jednotlivé hodnoty na signifikantnost.
- V závěru práce pak porovnáváte stanovené hodnoty AOA v jednotkách g Troloxu.kg<sup>-1</sup> s publikovanými údaji v mmol Troloxu.l<sup>-1</sup> (extraktu) a uvádíte synergické efekty některých fenolických sloučenin v %. Jak je tento synergický efekt definován a jsou tyto efekty pouze pozitivní?

Celkově bych autorce pro další práci doporučil zaměřit se na podstatné veličiny, které mohou určovat obsahy BAL v ovoci, kterými jsou např. průměrná roční teplota, množství srážek, množství slunečního svitu, expozice, nadmořská výška, složení půdy apod. a také se zaměřit více na biologickou stránku věci, tzn. více pozornosti věnovat důvodům šlechtění jednotlivých odrůd, od genetických souvislostí až po biochemické, které mohou být určující pro vznik BAL v ovoci.

Cíle, jež si autorka v práci vytýčila, tj. stanovení nejvýznamněji zastoupených biologicky aktivních látek vykazujících antioxidační aktivitu ve vybraných vzorcích plodů netradičního ovoce a hledání jejich vzájemných vztahů vzhledem ke klimatickým parametrům, odrůdám, kvalitě plodů a ročníkům sklizně byly splněny a bohatý experimentální materiál, přinášející nové metodické poznatky v oblasti aplikací a uplatnění získaných výsledků a jejich následné statistické zpracování, jsou určitým přínosem pro další rozvoj této oblasti.

Na závěr lze konstatovat, že autorka svou práci splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru Technologie potravin a prokázala své tvůrčí schopnosti. Za předpokladu

vysvětlení sporných úseků, zodpovězení položených otázek a na základě předložené disertační práce a po její úspěšné obhajobě navrhuji

**u d ě l i t**

Mgr. Janě Orsavové vědecko-akademický titul „philosophiae doctor“ (PhD.).

Ve Zlíně 5. 5. 2019

doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

Ústav analýzy a chemie potravin

FT UTB Zlín