

UNIVERZITA SV. CYRILA A METODA V TRNAVE

FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava

Posudok na dizertačnú prácu

Názov práce: **Identifikace a izolace PHA produkujících bakterií**

Autor práce: **Ing. Iva Pernicová**

Oponent práce: **doc. RNDr. Miroslav Ondrejovič, PhD.**

Akademický rok: **2020/2021**

Študijný odbor: **Chémie a technologie potravín**

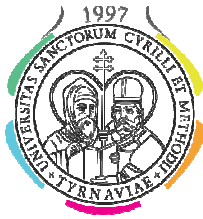
Školiace pracovisko: **Ústav chémie potravín a biotechnológií, Fakulta chemická, VUT v Brne**

Téma dizertačnej práce je veľmi aktuálna, nakoľko sa dotýka dvoch významných aplikačných oblastí biotechnologického výskumu a to tak riešenia problému s hromadením petrochemických plastov v rámci environmentálnych biotechnológií ako aj konverzie priemyselných odpadov na technologicky využiteľné komponenty. Navyše je práca zameraná na extrémofilné organizmy, čo z môjho pohľadu ešte zvyšuje atraktivitu danej témy.

Hlavnými cieľmi predloženej dizertačnej práce boli:

- štúdium produkcie PHA extrémofilnými zbierkovými bakteriálnymi kultúrami,
- izolácia extrémofilných PHA producentov z prirodzených mikrobiálnych konzorcií,
- taxonomická klasifikácia izolátov a ich štúdium pomocou nástrojov molekulárnej biológie,
- štúdium biotechnologického potenciálu izolátov v kontexte produkcie PHA
- optimalizácia biotechnologického procesu produkcie PHA u vybraných mikrobiálnych kultúr.

Parciálne ciele práce boli z môjho pohľadu vypracované správne a sú vhodné pre naplnenie základného zámeru práce, ktorým bola izolácia a overenie ich použiteľnosti extrémofilných baktérií pre produkciu PHA. V poradí, v ktorom sú uvedené, sú prezentované aj **výsledky napĺňajúce jednotlivé stanovené ciele** v rámci kapitoly „Výsledky a Diskuse“. Priložený zoznam publikácií pokrýva prakticky celú oblasť stanovených cieľov s výnimkou optimalizácie



biotechnologického procesu produkcie PHA, o ktorej si predpokladám prečítam v príspevkoch študentky publikovaných v uznávaných vedeckých časopisoch po obhájení práce, pretože je cítiť, že práve táto časť aj v rámci výsledkov má svoje rezervy.

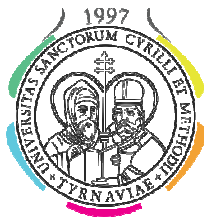
Miernu disharmóniu v rámci časti „Výsledky a diskusie“ je cítiť predovšetkým vstupom aplikačných experimentov, ktoré boli pravdepodobne riešené v rámci projektov, na ktorých daná študentka spolupracovala, pretože odvádzajú z môjho pohľadu pozornosť čitateľa od hlavného smerovania v zmysle stanovených cieľov, i keď samozrejme s danou témou súvisia. Konkrétne:

- využitie peria pre produkciu PHA baktériami rodu *Pseudomonas* je využité v časti orientovanej na štúdium produkcie PHA extrémofilmi, pričom produkcia testovaným spôsobom už nebola aplikovaná pri hodnotení získaných mikrobiálnych izolátov,
- aplikácia aeróbného dynamického kŕmenia (ADK) na izoláciu producentov PHA, pričom v literárnom prehľade práce je správne navrhnutá taktika na identifikovanie baktérií schopných produkovať PHA aj bez tohto systému, ktorý je aj napriek uvádzanému odklonu od témy pre mňa veľmi zaujímavý. Tejto veci by som sa súčasne rád spýtal:

1. Prečo vôbec bola daná metodika použitá na obohatenie mezofilnej populácie, ako uvádza autorka v práci, o producentov PHA, keďže cieľom práce sú extrémofily a nie mezofily?
2. O akú hypotézu sa opierala autorka pri dizajnovaní daného experimentu? Sú skutočne podmienky ADK vhodné ako selekčný faktor pre reprodukciu iba producentov PHA?

Samotná izolácia, taxonomické a fenotypické zaradenia bolo realizované štandardným spôsobom a z môjho pohľadu prináša zaujímavé výsledky, ktoré rozširujú súčasné poznatky o bakteriálnych producentoch PHA. Rezervy v práci vidím predovšetkým v časti venovanej optimalizácii biotechnologickej produkcie, pretože prezentované výsledky je možné skôr nazvať výberom vhodných podmienok a nie optimalizáciou. Optimalizácia je totiž matematický proces hodnotenia experimentálnych dát za účelom hľadania lokálneho maxima závisle premennej a následne tzv. optimálnych hodnôt nezávisle premenných, ktoré vedú pri dodržaní konštantného stavu ostatných podmienok experimentu k dosiahnutiu daného maxima. Preto by som sa rád spýtal študentky:

3. Ste si istá, že ste robili optimalizáciu?
4. Ak áno, aký spôsob optimalizácie ste zvolili?



Na druhej strane veľmi oceňujem, že práca pokračovala v rámci hodnotenia typu fermentačného prístupu (vsádzkovým, prítokovým a vsádzkovým s recykláciou buniek). Tieto výsledky opäť považujem za obohatenie súčasného stavu literatúry, pretože autori sa väčšinou uspokojujú so vsádzkovým spôsobom fermentácie, čo samozrejme má pri tomto type výroby niekoľko úskalí. Pre komplexnosť overenia rôznych fermentačných prístupov mi chýba prietokový systém. Preto by som sa rád spýtal študentky:

5. Neuvažovali ste aj nad týmto spôsobom fermentácie?

6. Ak nie, aký bol dôvod?

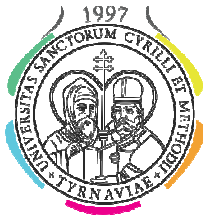
Štandardnou súčasťou dizertačných prác býva kapitola „Budúce perspektívy“. Keďže predložená práca neobsahuje túto kapitolu. Rád by som sa touto cestou spýtal študentky na jej názor ohľadom pokračovania tejto témy:

7. Vidíte priamo aplikovateľnosť Vašich výsledkov v praxi, alebo skôr predpokladáte nevyhnutnosť dokončiť/doplniť niektorú z prezentovaných častí, aby sa mohlo prísť k aplikácii týchto výsledkov do praxe?

Aj napriek uvedenému považujem dosiahnuté výsledky za významné a obohacujúce súčasné znalosti v danej oblasti výskumu. Tieto výsledky budú určite veľmi hodnotným podkladom pre vývoj nových, moderných technológií využiteľných pre konverziu priemyselných odpadov priamo u ich primárneho producenta na plnohodnotné bioplasty.

Čo sa týka **formálnej úpravy a jazykovej úrovne**, práca obsahuje zopár preklepov a štylistických nepresností, ktoré opäť zhoršujú dojem z predloženého dokumentu. Pre príklad uvádzam zopár príkladov:

- V abstrakte autorka píše o solídnych výsledkoch – čo znamenajú solídne výsledky?
- Str. 18 – buzení by bolo vhodnejšie označovať excitácia (v práci sa používajú oba termíny)
- Str. 45 - Tabuľka 11 – Zloženie média K4(B54) autorka uvádza 1000 ml nutričného bujónu/L média + ďalšie zložky.
- Strana 47 – po kultivácii na agarových platniach obsahujúcich Nílsku červenú boli platne ožiarené UV žiarením, pričom v prehľade je uvedené, že oranžová fluorescencia je „buzená“ pri vlnovej dĺžke 543 nm. Patrí vlnová dĺžka 543 nm do oblasti UV žiarenia?



UNIVERZITA SV. CYRILA A METODA V TRNAVE

FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava

- Str. 117 – Tabuľka 30 – pravdepodobne išlo o redukciu nitrátov nie redukci
- Str. 121 – Obrázok 40 – síran amónny má vzorec $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Zoznam literatúry je spracovaný jednotným štýlom len škoda, že rovnaký štýl nebol použitý aj v prípade zoznamu bibliografických odkazov na vlastné publikácie, v ktorom je cítiť niekoľko rôznych štýlov.

Okrem už vyššie uvedeného mám ešte niekoľko všeobecnejších otázok:

8. Prečo ste pre izoláciu termofilných producentov PHA zvolili práve aktivovaný kal a kompost? Je to typický zdroj termofilných organizmov?
9. Na str. 30 uvádzate, že kultiváciou termofilov sa znižujú náklady na chladenie a eliminuje sa kontaminácia, ale keďže pracujete s aeróbnymi mikroorganizmami, prehrievanie kultúry vlastnou metabolickou aktivitou nebude z môjho pohľadu tak významné ako napríklad v prípade anaeróbnej fermentácie kvasinkami, pretože vhaňaný vzduch zväčša limituje tento problém. Navyše pri vyššej teplote je nižšia rozpustnosť kyslíku a tým dochádza vytvoreniu ďalšieho obmedzujúceho faktoru pre rast a produkciu daných mikroorganizmov. Okrem toho nebude náhodou drahšie udržiavať 72 hodín danú kultúru pri teplote 50°C , ktorá navyše neeliminuje všetky nežiadúce mikroorganizmy zo surovín, pretože aj Vy ste pri danej teplote izolovali rad mikroorganizmov, ako sterilizovať 20 minút pri 121°C ?
10. Na str. 57 uvádzate, že ste používali odpadový glycerol. Možno som to prehliadol, ale nenašiel som, aký bol zdroj tohto glycerolu (potravinárska prevádzka, výroba FAME...).
11. Na str. 147 – popisujete výsledky prezentované na Obrázku 57 a nie celkom je jasné, čo ste mysleli vyjadrením „S každým nasledujúcim cyklom sa obvykle zrychluje produkce, čož pravdepodobne zapríčinilo tak rapidní pokles produkce PHA“. O produkcii čoho konkrétne píšete? Pretože v diskusii ďalej uvádzate, že sa v ďalších cykloch zväčša zvyšuje produkcia PHA. Ak ste tým mysleli produkciu PHA, v rámci danej vety si odporujete. Ak ste tým mysleli biomasu, nekorešponduje to s výsledkami na Obrázku 57. Ako si vysvetľujete namerané dáta?



UNIVERZITA SV. CYRILA A METODA V TRNAVE

FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava

Záverom možno konštatovať, že študentka preukázala schopnosť realizovať výskum v danej problematike. Použité metódy boli zvolené tak, aby viedli k splneniu stanovených cieľov, dosiahnuté výsledky a ich interpretácia poukazuje na schopnosť študentky nielen namerať správne výsledky, ale ich aj správne zhodnotiť a previazať s aktuálnou literatúrou, čo je základom pre jej úspešnú vedeckú prácu v budúcnosti. Toto potvrdzuje aj zoznam publikovaných príspevkov, na ktorých sa študentka autorsky podieľala.

Práca z môjho pohľadu spĺňa požiadavky štandardne kladené na dizertačné práce v danom odbore výskumu a odporúčam ju prijať ako podklad k dizertačnej skúške.