

Oponentní posudek – disertační práce

Student: Ing. Miroslava Zichová
Název práce: „Příprava mikrobiálních metabolitů z odpadních surovin“
Obor DSP: Potravinářská chemie

Oponent: prof. RNDr. Ivana Márová, CSc., FCH VUT v Brně

Předložená disertační práce je zaměřena na vysoce aktuální studium problematiky využití vybraných odpadních surovin k biotechnologické produkci vybraných metabolitů pomocí kvasinek a bakterií. Cílem práce bylo posouzení možností využití odpadního papíru k produkci biopaliv včetně výběru vhodného produkčního kmene. K produkci byly využity volné i imobilizované buňky mikroorganismů a rovněž imobilizované celulólytické enzymy.

Disertační práce je sepsána na 93 stránkách textu a je klasicky členěna na úvod, teoretickou část (22 stran), cíle práce, použité metody (14 stran), výsledky s diskusí (31 stran) a stručný závěr. Kapitoly jsou vyvážené a přiměřeného rozsahu. Dále práce obsahuje 4 přílohy: plnotextové kopie dvou odborných publikací (studentka je první autorkou), patentový spis a dokument o zápisu užitého vzoru (u obou dokumentů je studentka spoluautorkou).

Odborný životopis a celkový přehled odborných a publikačních aktivit studentky je součástí autoreferátu. Disertantka je první autorkou 2 uveřejněných prací v časopisech s IF, jedné práce v časopise bez IF, 2 článků s plným uveřejněním textu v konferenčním sborníku. Dále je studentka spoluautorkou 1 patentu a 1 užitého vzoru zaměřeného na imobilizaci celulólytických enzymů na nosič z PET lahvi. Jako hlavní autor či spoluautor se ing. Zichová zúčastnila 10 odborných konferencí, převážně mezinárodních a podílela se na řešení projektu FRVŠ jako hlavní řešitel. Dále absolvovala odbornou stáž na Chemickém ústavu SAV v Bratislavě. Z uvedeného přehledu vyplývá, že dosavadní odborná a publikační činnost autorky dostatečně splňuje požadavky kladené na absolventy doktorského studia.

Teoretická část práce hutným a koncentrovaným způsobem uvádí základní východiska práce. Práce je sepsána na vysoké formální úrovni s minimem překlepů a chyb. Drobné formální připomínky jsou uvedeny dále. Práce je doplněna souborem 175 literárních zdrojů citovaných dle příslušné normy, přičemž většinu představují aktuální separáty odborných článků z posledních 10-15 let. Závěry stručně a výstižně shrnují hlavní výstupy práce.

Výsledky jsou zpracovány přehledně a vhodně doplněny tabulkami a grafy s příslušnými popisy a vysvětlivkami. Bylo realizováno značné množství experimentů s přímým praktickým dopadem. Celkově lze konstatovat, že předložená práce je velmi cenná s ohledem na rozsah experimentů, tak i na řadu metodických postupů, které bylo třeba zvládnout k řešení dílčích cílů práce. Z celkové koncepce a úrovně práce je patrné, že Ing. Zichová je komplexní a vyzrálou osobností schopnou samostatné vědecké práce.

Vzhledem k tomu, že značná část výsledků práce byla již publikována v časopisech s IF a prošla náročným recenzním řízením, není třeba detailně diskutovat veškeré odborné aspekty práce. Níže uvedené poznámky, připomínky a dotazy mají sloužit spíše jako náměty do diskuse.

a) formální připomínky, dotazy a poznámky ke slovnímu komentáři:

- str.23, kap. 2.4.2 – názvy enzymů se v češtině píšou jedním slovem, př. pyruvátdehydrogenáza, alkoholdehydrogenáza apod.
- str. 23- není jasně vysvětlen Pasteurův efekt a jeho role v procesu fermentace u *S. cerevisiae* (v průmyslovém měřítku)
- str. 24 – chybně uveden termín polyvinylalkohol

- str. 24 – u SHF se uvádí, že je výhodná pro procesy s vysokým dávkováním substrátu; v další větě se uvádí, že nevýhodou je inhibice produktem, což vyžaduje nižší dávkování substrátu – jak se tedy má dávkovat substrát?
- str. 34 – uvádí se, že v průběhu měření růstové křivky byly vzorky z média odebírány v pravidelných intervalech do doby ustálení naměřených hodnot – můžete podrobněji vysvětlit postup? Kolik ml vzorku bylo celkem odebráno z média? Kolik paralelních kultivací bylo provedeno pro stanovení růstové křivky?
- str. 35 – uvádí se, že kultivace probíhala 12 hodin do výsledné OD 1,2 – bylo to vždy stejné?
- str. 42 – u provedení SSF ve fermentoru není zcela jasné složení média
- str. 44 – bylo nějak ověřeno, jak se chemicky mění PET nosič po ošetření plazmatem?
- str. 72 – správně je adsorpce
- str. 73 – na jaké množství nosičů Sorsilen a Eupergit C bylo vázáno 5 mg enzymů?

b) poznámky k metodické a experimentální části:

- Jaký lihovarský kmen *S.cerevisiae* byl použit v práci?
- Jak byla zajištěna stabilita a mikrobiologická čistota imobilizovaných buněk *S.cerevisiae*, případně nosičů s imobilizovanými enzymy?
- Za jakých podmínek probíhalo pomnožení buněk v nosiči (aerobně či anaerobně) a na základě čeho byl zvolen příslušný způsob? Sleduje se nějak dynamika imobilizovaných kultur během jejich používání?
- Na str. 42-43 jsou uvedeny 3 různé metody pro stanovení glukózy – můžete upřesnit, kdy byly využívány jednotlivé popsané metody a proč?
- Kolikrát byly opakovány pokusy s volnými buňkami? Jsou rozdíly hodnot v grafu 22 (str. 66) statisticky významné?
- Kolikrát byla opakována imobilizace enzymů na PET a další typy nosičů? Byly výsledky statisticky zpracovány?
- Jak byla získána kinetická data v kap. 5.12.2.7?
- Jak lze z měření viskozity odvodit způsob štěpení substrátu a mechanismus celulólytického účinku (kap. 5.12.2.8, str. 77)?

c) otázky a náměty do diskuse:

1. Jaká je reálná perspektiva využití SSF pro výrobu bioethanolu z odpadního papíru a kde vidíte největší omezení?
2. Imobilizované enzymy byly využity k hydrolýze rozpustného modifikovaného celulózyového substrátu (CMC). Jaké by bylo uspořádání pro využití imobilizovaného enzymového komplexu k hydrolýze pevného lignocelulózyového substrátu?
3. Jaké strategie navrhuje pro zvýšení výtěžku bioethanolu v procesu SSF?

Závěrem lze konstatovat, že kandidátka Ing. Miroslava Zichová jednoznačně prokázala předloženou kvalitní disertační práci schopnost samostatné odborné práce a vyhovuje tak požadavkům platné legislativy pro udělení vědecké hodnosti.

Na základě uvedených skutečností doporučuji práci k obhajobě a po úspěšném obhájení udělení vědecké hodnosti PhD.

Brně 16.5.2017

Prof. RNDr. I. Márová, CSc.
Fakulta chemická VUT v Brně, ÚCHPBT