

Oponentní posudek na disertační práci
„Aplikace molekulárně-biologických metod při detekci genů a degradaci vybraných
mikrobiálních metabolitů potravinách“

Autor práce: Ing. Hana Pištěková

Pracoviště: Fakulta technologická UTB ve Zlíně

Studijní program: P2901 Chemie a technologie potravin

Předložená disertační práce byla vypracována na Technologické fakultě UTB ve Zlíně pod odborným vedením školitelky Mgr. Petry Jančové, Ph.D. a konzultantky doc. RNDr. Leony Buňkové, Ph.D. Práce byla primárně zaměřena na detekci a kvantifikaci bakteriálních genů kódujících enzymy katalyzující degradaci biogenních aminů. Na základě screeningu schopnosti bakteriálních kmenů degradovat biogenní aminy byly navrženy primery pro dva vybrané bakteriální druhy – *Bacillus subtilis* a *Lactobacillus casei*. K relativní kvantifikaci cílových genů kódujících aminooxidázu u *B. subtilis* a lakázu u *L. casei* byla využita optimalizovaná kvantitativní real-time PCR s reverzní transkripcí (RT-qPCR).

Disertační práce je zpracována v závazném formátu UTB s klasickým členěním na Úvod, Současný stav řešené problematiky, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky s diskusí, Závěr, Přínos pro vědu a praxi, Přehled literárních zdrojů, Seznamy symbolů a zkratk, obrázků, tabulek, příloh a 3 přílohy. Práce je sepsána na celkem 120 stránkách textu, přičemž vlastní text představuje celkem 77 stran v českém jazyce. Práce je sepsán většinou jazykově velmi dobře, s minimem chyb a překlepů, čitelně a srozumitelně. Rozsah kapitol je vcelku vyvážený, pokud nebereme do úvahy 43 stran příloh, různých přehledů a seznamu literatury.

V teoretické části práce je na 23 stranách obsaženo stručné a výstižné uvedení do současného stavu problematiky biogenních aminů v potravinách, jejich tvorby, mechanismů degradace a strategií na snížení obsahu a inhibici tvorby. Těžištěm práce je experimentální část zahrnující kromě metodické kapitoly výsledky a diskusi na 38 stranách textu. Závěr shrnuje hlavní výsledky práce. Zdařilá kapitola Přínos pro vědu a praxi stručně shrnuje význam a poselství práce.

Práce je doplněna 110 literárními odkazy, z nichž převážná většina odkazuje na aktuální separátní literaturu a dokládá široký přehled autorky v problematice. Citace jsou seřazeny dle abecedy a uváděny v textu podle jména prvního autora v souladu s platnou normou.

K práci byl dodán i autoreferát v rozsahu 40 stran, který obsahuje kompletní profesní životopis a přehled veškerých odborných a publikačních aktivit autorky. Výsledky autorky byly publikovány v celkem 3 vědeckých publikacích a dva rukopisy jsou v recenzním řízení. Studentka je první autorkou jedné publikované práce v časopise s IF (Q1) a jedné práce v recenzním řízení. Dále byly výsledky prezentovány i formou 2 konferenčních příspěvků. Autorka řešila práci v rámci čtyř interních grantů UTB ve Zlíně. Absolvovala rovněž dvoutměsíční odbornou zahraniční stáž v Portugalsku.

Publikace přiložené k disertační práci prošly náročným recenzním řízením a kvalita výsledků byla posouzena nezávislými zahraničními odborníky, takže značnou část výsledků není třeba podrobně diskutovat. Je škoda, že disertační práce je v podstatě postavena na jedné publikaci

v zahraničním časopise s vysokým IF (Q1) a navíc se část výsledků opakuje v textu i v Příloze PIII. Bylo by potřeba doplnit, v jakém stavu jsou momentálně publikace zaslané do recenzního řízení. Všechny publikace přiložené k disertaci mají několikačlenný autorský kolektiv, bylo by proto potřeba, aby autorka s ohledem na koncepci disertační práce upřesnila svůj vlastní podíl na řešení práce, provádění metodiky, hodnocení výsledků i samotné zpracování přiložených publikací.

Nicméně lze konstatovat, že studentka splnila veškeré zákonné i univerzitní požadavky kladené na studenty doktorského studia dříve, než přistoupí k obhajobě disertační práce. Následující poznámky a dotazy mají sloužit spíše jako podněty do diskuse a nijak nesnižují vysokou kvalitu předložené práce.

K práci mám následující poznámky a dílčí dotazy:

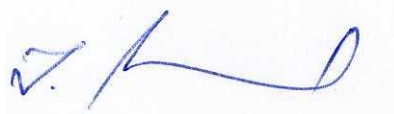
- 1) str. 20 – nepřesná formulace – enzymové metody neslouží k detekci bakterií, ale histaminu
- 2) str. 31 – můžete vysvětlit termín „pyruvoyl-závislá HDK“?
- 3) str. 76 – byla nějak prováděna kalibrace hodnot OD při 550 nm na množství buněk *L. casei* nebo jiný kvantitativní parametr biomasy? U *B. subtilis* je uvedena v analogickém experimentu hodnota CFU.
- 4) str. 44 - odkud pocházela databáze pro MALDI-TOF-MS identifikaci bakterií, kdo je jejím autorem a kolik různých spekter (druhů/kmenů) obsahuje?
- 5) v práci je opakovaně použita nepřesná formulace ohledně produkce biogenních aminů - jsou uváděny jako bakteriální metabolity (viz např. abstrakt, 5. řádek)

Otázky do diskuse:

- 1) Byly nějak charakterizovány i příslušné enzymy degradující biogenní aminy a odpovídající cílovým genům? Byla stanovena jejich aktivita?
- 2) Upřesněte prosím termíny „biogenní aminy“ a „polyaminy“ – jedná se o synonyma?
- 3) Na základě jakých kritérií byly vybrány kmeny bakterií mléčného kvašení pro screening degradačních vlastností?
- 3) Jsou aminooxidázy produkovány extracelulárně? Pokud ano, jak lze indukovat jejich produkci?
- 4) Jaké jsou metabolické role lakázy u hub?
- 5) Obsahuje UHT mléko biogenní aminy? Dochází v takto upraveném mléku dekarboxylaci aminokyselin?

Závěrem lze konstatovat, že kandidátka Ing. Hana Pištěková prokázala předloženou kvalitní disertační práci schopnost samostatné odborné práce a vyhovuje tak požadavkům platné legislativy.

Na základě uvedených skutečností doporučuji disertační práci k obhajobě a po úspěšném obhájení udělení titulu PhD.



V Brně 31.8.2020

Prof. RNDr. I. Márová, CSc.
Fakulta chemická VUT v Brně
Ústav chemie potravin a biotechnologií

