



OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

„Monitoring mikroorganismů v nutričně vyvážených přesnídávkách a vliv přírodních extraktů na výskyt mikroorganismů“

Bc. Rozálie Peřinové

Diplomová práce Bc. Rozálie Peřinové na téma „Monitoring mikroorganismů v nutričně vyvážených přesnídávkách a vliv přírodních extraktů na výskyt mikroorganismů“ je sepsána ve standardním stylu a odpovídá základním požadavkům na psaní závěrečných prací na Univerzitě Pardubice.

Diplomová práce je sepsána na 92 stranách, včetně literárních zdrojů a příloh. „Teoretická část“ práce je sepsána na 37 stranách, na kterých se autorka věnuje jak alternativním způsobům stravování, tak i důležitým surovinám, které se ve speciálních potravinách využívají. Dále je část textu věnována přírodním antimikrobiálním látkám a bakteriím rodu *Bacillus*, které byly vybrány pro další experimentální práci. Kapitola „Výsledky a diskuse“ shrnuje výsledky experimentů na 13 stranách. Tato stěžejní část celé studie není bohužel sepsána čtivou a výstižnou formou. Po jazykové a stylistické stránce lze v této práci nalézt mnoho neobratných specifikací a formulací (např. v Tabulce 2 – varianta dospělá a varianta dětská), překlepů (např. str. 26 – správně „*Chlorococcum*“) a základních typografických chyb (viz str. 37 – zápis %, °C; zaměňování pomlček a spojovníků; aj.). V seznamu zkratk není vysvětlena CFU/KTJ – navíc jsou místy tyto ekvivalenty používány nejednotně – viz str. 55, 2. odst.; popř. nejsou počty MO správně vyjadřovány – viz str. 53 – $5 \times 10^5/\text{g}$, str. 55 – $10^4/\text{g}$, Tabulka 12 – 300×10^4 CFU/ml → lépe 3×10^6 CFU/ml). Text práce celkově není ve zcela jednotné úpravě – např. nevhodné odsazování odstavců na začátku strany (např. str. 21, 27), v textu se autorka nejednotně odkazuje na tabulku/Tabulku, aj. Citační přehled také není v jednotném formátu (viz např. str. 68), podobně jako není zcela jednotné odkazování na citace v textu (viz např. str. 12 – Kim, J., *et al.*, 2016, aj.), na některých místech dochází i k nevhodně umístěné citaci v dané větě a čtenář nemusí přesně rozpoznat, zda se jedná o výsledek dříve publikovaný, či výsledek dané předložené studie (viz str. 59, citace Tajkarimi *et al.*, 2010).

K diplomové práci mám následující připomínky či dotazy:

- 1) Na str. 34 je uvedeno, že „...*Bacillus cereus* tvoří velké buňky...“. Z takovéto formulace by se mohlo zdát, že u ostatních druhů můžeme pozorovat buňky „malé“. Studentka by mohla lépe vysvětlit, zda a jak se jednotlivé druhy bacilů liší velikostí buněk.
- 2) Na str. 36 (kap. 1.11.1) je uvedena informace o vyvinutí **techniky EUCAST**. Mohla by studentka přesně objasnit význam zkratky EUCAST a vysvětlit, o jakou metodu se jedná?
- 3) Na str. 38 (dále 48, 50, aj.) je použita zkratka metody **MALDI-TOF** (jak je také uvedeno v seznamu zkratk) – doporučoval bych uvádět **MALDI-TOF MS**, jedná se primárně o hmotnostní spektrometrii.
- 4) Na str. 38 je v poslední větě uveden výčet rostlin, ze kterých byly připraveny extrakty. Ovšem např. zelená káva asi není název rostliny.
- 5) Na str. 40 (kap. 2.3) je nejasné vyjádření obsahu telecí mozkové infuse a hovězí srdcové infuse – studenta by mohla vysvětlit (jistě se nejedná o koncentraci 200, resp. 250 g/l).
- 6) V kap. 2.4 je uvedeno, že byly vzorky opakovaně analyzovány, avšak v textu není uvedeno, jak byly vzorky mezi analýzami skladovány?

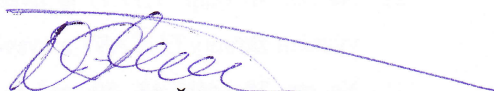
- 7) Na str. 47 (kap. 2.6.3) je uvedeno „... byla provedena homogenizace dle postupu v odstavci 2.5 s následným ředěním (10^{-1} , 10^{-2})“. Předpokládám však, že I. ředění bylo dosaženo již během homogenizace vzorku.
- 8) Na str. 48 je uvedeno, že byla použita injekční stříkačka s filtrem, ovšem není v práci uvedeno, o jaký filtr (materiál, pórovitost, aj.) se jedná. Stejně jako diplomantka neuvádí důležitou specifikaci „blank disků“ používaných pro diskovou difúzní metodu (výrobce, průměr!), není uvedeno ani u výsledků v Tabulkách 9-11.
- 9) V kap. 2.9.2 je uvedeno, že pro ověření skutečné buněčné density bylo prováděno vyočkování ze suspenze $1,5 \times 10^4$ CFU/ml. Mohla by studentka vysvětlit, proč zvolila tuto buněčnou densitu (na Petriho miskách by při vyočkování 100 μ l byly očekávány stále tisíce kolonií, což nelze na Petriho miskách objektivně ohodnotit).
- 10) Dodatečné zjištění a tvrzení, že výsledky byly ovlivněny možnou kontaminací fyziologického roztoku, považuji za nevhodné. Studentka by si měla být jista materiálem, který pro experimenty využívá, popř. experimenty zopakovat tak, aby se vše ověřilo a vyjasnilo (také by ovšem bylo možné uvažovat o reálném průběhu počtů CPM, což již nyní nelze).
- 11) Při smíchání 2 ml BHI, 2 ml extraktu a přídavku 100 μ l buněčné suspenze (pravděpodobně $1,5 \times 10^6$ CFU/ml?) pravděpodobně nebude finální buněčná koncentrace $7,1 \times 10^3$ CFU/ml (kap. 2.9.2, str. 51; kap. 3.6.2, str. 62).
- 12) Kapitola 3.6 je sepsána velmi nepřehledně, čtenář se jen těžko může zorientovat v tom, proč byl testován vícekrát extrakt ze stejné matrice (stejného dodavatele) a rozdíly ve výsledcích jsou vysvětlovány nadbytečným skladováním v chladničce. Rozhodně by bylo vhodné v práci uvést jasný přehled vzorků s podrobnou specifikací (výrobce/distributor, šarže, aj.) i s uvedením různých variant připraveného extraktu a v čem byl rozdíl (doba skladování – stabilita antimikrobiálních látek, aj.). Rovněž Tabulky 9-11 jsou nepřehledné a v důsledku výše uvedeného obtížně interpretovatelné. Studentka by také v rámci diplomové práce měla být schopná překonat úvodní nesnáze při experimentálním stavení MIC testovaných extraktů. V této podobě jsou výsledky naprosto nehodnotitelné (nejistota buněčné suspenze, správnost provedení, hodnocení pouze na základě vytvořeného „zákalu“, aj.). Navíc se neztotožňuji s tvrzením, že koncentrace 25 mg/ml vedla k inhibici *B. cereus*. Z uvedených výsledků to není patrné a minimální pokles počtu vykultivovaných buněk např. mezi koncentracemi 3,125 mg/ml a 25 mg/ml je v podstatě zanedbatelný.
- 13) Kapitola 3.6.3 by měla být vrcholem celého bádání, nicméně studentka nedošla v této části k žádným relevantním zjištěním. Opět se zde naráží na metodické chyby v provedených experimentech.

Celkově lze konstatovat, že cíle diplomové práce byly v zásadě splněny, avšak práce nepůsobí jako ucelená a propracovaná studie. Některé závěry studie jsou jen obtížně využitelné.

Vzhledem ke všem uvedeným skutečnostem doporučuji diplomovou práci Bc. Rozálie Peřinové k obhajobě a vzhledem k výše uvedeným poznámkám a komentářům ji hodnotím klasifikačním stupněm

D.

V Pardubicích 24. 05. 2018


Ing. David Šilha, Ph.D.
oponent diplomové práce
Katedra biologických a biochemických věd