

**Posudek oponenta disertační práce**

Ing. Martiny Hrabalíkové,  
doktorandky Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně,

s názvem:

***Imobilizace biologicky aktivních látek v matrici vodorozpustného polymeru.***

Doktorandka předložila disertační práci na vysoce aktuální téma. Práce se zabývá jednak využitím syrovátky, jako vedlejšího produktu sýrařské výroby, jehož likvidace představuje ekologickou i ekonomickou zátěž. Zuzitkování syrovátky se zaměřuje na 2 obsažené biologicky aktivní látky BAL: kyselinu mléčnou LA a nisin. Byly zkoušeny různé způsoby inkorporace těchto látek do matrice za účelem výroby obalových materiálů nové generace pro potravinářský resp. farmaceutický průmysl. Pro přípravu obalového materiálu byl testován model využívající jako matrici vodorozpustný polymer polyvinylalkohol PVOH s různým stupněm hydrolýzy. V rámci optimalizace imobilizace zmiňovaných BAL byl testován jejich vliv na fyzikální, mechanické a biologické vlastnosti konečného systému.

Literární přehled v úvodu práce je zpracován, vzhledem k šíři problematiky, poněkud stručněji, ale je možno konstatovat, že je na dostatečné odborné úrovni s využitím nejaktuálnějších literárních údajů.

Cíle práce byly zvoleny vhodně i s ohledem na laboratorní vybavení pracoviště a je možno konstatovat, že naplnění těchto cílů bylo dosaženo. Oceňuji, že cíle z prvního okruhu navazují na další fáze, rovněž jako i celá práce skýtá možnost dalšího navazujícího výzkumu.

Metodika práce je zpracována názorně, někdy až zbytečně podrobným popisným způsobem, jako v případě mikrobiologických testů metodou ředění. Konstatuji, že metodika je na dostatečné vědecké úrovni s využitím pokročilé techniky (FTIR-ATR, SEM, HPLC) a její popis umožňuje reprodukci experimentů.

Výsledky práce jsou doloženy formou grafických, tabulkových i obrazových dokumentů, což zvyšuje vypovídací hodnotu i celkové grafické zpracování disertační práce.

Obsahově se v práci podařilo nalézt vhodnou kombinaci PVOH s určitým stupněm hydrolýzy a konkrétní modifikace kyselinou mléčnou. Kyselina mléčná má antimikrobiální účinky, což potvrdil i experiment, nicméně se i v práci konstatuje zhoršující vliv LA na fyzikální, resp. mechanické vlastnosti konečného materiálového systému, narušením vodíkových můstků mezi řetězci PVOH. Otázkou zůstává, je li použití LA modifikace PVOH výhodnější samostatně anebo v kombinaci s další synergicky antimikrobiálně působící látkou.

V další fázi experimentů bylo dosaženo zesíťování PVOH pomocí kyseliny glutarové za účelem imobilizace nisinu do konečného systému, který byl rovněž testován

z hlediska fyzikálně – mechanických a biologických vlastností. Zde byl již využit poznatek z první fáze experimentů a aplikoval se PVOH se stupněm hydrolyzy 6-98 z důvodu jeho výhodných fyzikálních parametrů.

I zde autorka konstatuje nepříznivý vliv síťování na fyzikálně-mechanické vlastnosti systému, ale také synergický antimikrobiální účinek GA s nisinem. Autorka doporučuje použití zesíťování na úrovni 20 % a stabilizaci nisinu pomocí polyetylenglykolu PEG.

Výsledky strukturní analýzy byly doplněny o zobrazovací techniku - skenovací elektronovou mikroskopii, která ztraktivňuje celkový výsledek.

Ve třetí části experimentů bylo dosaženo imobilizace nisinu do mikrosfér na bázi biorozložitelného polyesteru. I zde byl použit jako matrice PVOH se stupněm hydrolyzy 6 – 98, a to jednak nemodifikovaný a jednak zesíťovaný pomocí 60% GA. Pro zapouzdření byl použit polylaktid PLA. Na přípravu mikrosfér byla vhodně aplikovaná technika odpařování rozpouštědla, výhodná pro termolabilní látky.

Z hlediska testování fyzikálně – mechanických vlastností bylo zjištěno, že nisin nemá vliv na velikost mikrosfér, naproti tomu zesíťování PVOH zvyšuje jejich velikost. Efektivita enkapsulace EE nisinu byla vyhodnocena jako vyšší pro nesíťované systémy (>90%), nicméně i síťované systémy vykazovaly vysokou EE (>50%) ve srovnání s vědeckou literaturou.

V závěru bylo konstatováno perspektivní využití systému PVOH, modifikovaného pomocí kyseliny glutarové a kyseliny mléčné, s imobilizací nisinu ve formě tenkých folií a mikrosfér. I přes získané výsledky autorka navrhuje další nutné analýzy a experimenty, potřebné k finální aplikaci systému v praxi. Práce má i z tohoto důvodu potenciál pro další rozvoj v daném oboru i pro praxi.

K práci mám následující otázky:

1. Pro testování antimikrobiální účinnosti PVOH modifikovaného kyselinou mléčnou, bylo použito také kvantitativní vyšetření pomocí ředění inokula. Byla v této části použita i tzv. slepá kontrola, která obsahovala jenom bakteriální suspenzi bez PVOH resp. modifikovaného PVOH/LA?
2. Co obsahuje Nutrient agar? Je vhodný pro kultivaci *Listeria monocytogenes*?
3. Uveďte příklady aplikací podobných systémů v potravinářské praxi? V čem je vaše řešení výhodnější? Bylo by možné využít v aplikaci přímo syrovátku, bez nutnosti markantního zvyšování výrobních nákladů (nákup čistých BAL), na které je potravinářský průmysl mimořádně citlivý?

Na základě úrovně předložené disertační práce konstatuji, že Ing. Martina Hrabalíková prokázala dostatečnou schopnost vědecké práce, kritického přístupu k výsledkům experimentů, jako i celkovou odbornou zdatnost, podloženou výstupy v recenzovaných vědeckých časopisech a sbornících z konferencí. Z uvedených důvodů doporučuji disertační práci k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení doporučuji udělení vědeckého titulu *philosophiae doctor*.

V Nitře, 1. 4. 2015

.....  
doc. MVDr. Ivan Holko, PhD.