

Posudek oponenta diplomové práce

Příjmení a jméno studenta:	Málková Veronika
Studijní program:	N2808 / Chemie a technologie materiálů
Studijní obor:	Inženýrství ochrany životního prostředí
Zaměření (pokud se obor dále dělí):	
Ústav:	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Vedoucí diplomové práce:	Mgr. Petra Jančová, Ph.D.
Oponent diplomové práce:	doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.
Akademický rok:	2015/2016

Název diplomové práce:

Identifikace a kvantifikace genů zodpovědných za produkci biogenních aminů u vybraných bakterií

Hodnocení diplomové práce s využitím klasifikační stupnice ECTS:

Kritérium hodnocení	Hodnocení dle ECTS
1. Splnění zadání diplomové práce	C - dobře
2. Formální úroveň práce, včetně jazykového zpracování	E - dostatečně
3. Množství, aktuálnost a relevance použitých literárních zdrojů	C - dobře
4. Popis experimentů a metod řešení	D - uspokojivě
5. Kvalita zpracování výsledků	E - dostatečně
6. Interpretace získaných výsledků a jejich diskuze	E - dostatečně
7. Formulace závěrů práce	C - dobře

Předloženou práci **doporučuji** k obhajobě a navrhuji hodnocení

D - uspokojivě

Komentáře k diplomové práci:

Předložená diplomová práce Bc. Veroniky Málkové se zabývá optimalizací metody real-time PCR pro hodnocení exprese genu kódujícího arginindekarboxylázu (genu *adiA*) u gramnegativní bakterie *Escherichia coli*.

Práce je vypracována podle stanovených zásad. Teoretická část popisuje problematiku, kterou se diplomantka zabývala v experimentální části práce. Metodická část je místy nepřehledná, mnohé postupy nejsou popsány tak, aby podle nich mohl být experiment nezávisle opakován. Výsledky experimentů jsou prezentovány převážně formou obrázků a tabulek, u nichž postrádám rozsáhlejší komentář. Podobně i diskuze je velmi stručná, mnohdy bylo třeba vynaložit značné úsilí k vyhledání pasáží, které lze za diskuzi považovat. Závěr práce vystihuje výsledky, ke kterým uchazečka dospěla, nicméně dle mého názoru jsou jednotlivé body formulovány příliš obecně.

Po formální stránce je práce napsána s velkým množstvím pravopisných a typografických chyb, poměrně často se také vyskytují formální a formulační nedostatky, z nichž namátkou vybírám:

- v práci postrádám číslování stran, orientace v textu je z tohoto důvodu velmi obtížná,
- obsah není aktualizovaný, mnohé kapitoly uvedené v obsahu se v textu práce vůbec nenacházejí,
- pravopisné chyby se vyskytují téměř na každé straně textu práce, zpravidla není dodržováno pravidlo shody podmětu a přísudku, nejsou správně skloňována zájmena a přídavná jména, apod.,
- pravděpodobně z důvodu nepřesného překladu z cizojazyčné literatury se v textu na mnohých místech nacházejí věty, které nedávají smysl (např. v kapitole 2.2. "Přítomnost EDTA nebo jiných chelatačních činidel může ovlivnit optimum hořečnatých iontů." nebo v kapitole 2.7.7. "HPLC je analýza nezbytná pro stanovení přesné koncentrace tyraminu ve vzorcích, zatímco PCR je snadná a rychlá metoda detekce bakterií, díky níž lze otestovat velké množství vzorků." nebo v téže kapitole "... metodou RAPD-PCR bylo zjištěno, že konkrétně jeden druh *Lactobacillus brevis* produkuje GABA, dále bylo prokázáno, že dominantním druhem byly bakterie *Pediococcus pentosaceus* a *Lactobacillus paracasei*." atd.),
- občas je popis obrázku uveden na jiné straně než samotný obrázek (např. kap. 5.2),
- v kap. 4.1. u některých přístrojů zaměněn výrobce s dodavatelem,
- uchazečka chaoticky a často i nesprávně používá termíny bakterie, kmen, kultura (např. kap. 4.2.3), vzorek,
- kapitola 5.3. (pod tab.9) - uchazečka určitě z bakterií neizolovala cDNA,
- z obr. 18 "Křivka tání" - křivka tání čeho?,
- na první straně kapitoly 5.1. si čtenář může jen domýšlet, co diplomantka považuje za jednotlivé vzorky, které byly nanášeny na gel,
- atd. ...

Závěrem je možné říci, že předložená diplomová práce Veroniky Málkové působí rozporuplným dojmem. Uchazečka musela vynaložit určité úsilí, aby v laboratoři molekulární biologie zvládla poměrně náročné metody analýzy nukleových kyselin, na druhou stranu úroveň práce výrazně snižují výše uvedené formální nedostatky, včetně jazykového zpracování. Nepřesnosti v terminologii potravinářské lze u studentky oboru Inženýrství ochrany životního prostředí pochopit, avšak další nedostatky na mě mnohdy působily tak, že uchazečka dostatečně nepronikla do problematiky, která byla předmětem její diplomové práce.

Vzhledem k tomu, že práce splňuje všechny požadavky kladené na diplomovou práci, doporučuji její obhajobu a hodnotím stupněm D-uspokojivě.

Otázky oponenta diplomové práce:

1. Vysvětlete své tvrzení, které uvádíte v kapitole Úvod: "V potravinách jsou některé mikroorganismy s dekarboxylační aktivitou používané jako startovací kultury."
2. Jaké jsou legislativní limity pro výskyt biogenních aminů v potravinách v rámci Evropské unie? V jakém předpisu tyto limity najdete?
3. Vysvětlete své tvrzení, které uvádíte v kapitole 1.8.1: "TLC umožňuje detekci analytů v nepřítomnosti mobilní fáze, proto může být citlivější metodou."
4. V kapitole 4.10. popisujete kultivaci bakterie E. coli v mléce a v mléce s přídavkem aminokyselin, v kapitole 4.9. však pouze kultivaci v masopeptonovém bujónu (bez přídavku aminokyselin). Lze to chápat tak, že do MPB nebyly přidány aminokyseliny? Z jakého důvodu?
5. Na základě výsledků uvedených v tabulce 7 mně není jasné, jak byl zjišťován počet kolonií (vyjádřený jako KTJ/ml). Na základě popisu postupu v metodické části navíc ani počty neodpovídají, pokud bylo na plotny očkováno 100 ul bakteriální suspenze (dle uchazečky 100 ml - viz. kap. 4.9). Objasněte prosím výpočet KTJ/ml. Jak je možné, že se získané počty vyjádřené v KTJ/ml lišily u jednotlivých ředění? Jak si vysvětlujete maximální nárůst bakterií po 12 hodinách kultivace? Vysvětlení v textu je hodně vágní a nepřesné.

V e Zlíně dne 30. 5. 2016

Podpis oponenta diplomové práce