

Oponentský posudek habilitační práce

„Mikrobiologická stabilita mäsa kurčiat počas chladiarenského skladovania po aplikácii esenciálnych olejov“

PŘEDKLADATELKA: Ing. Simona Kunová, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

OBOR: Spracovanie poľnohospodárskych produktov

STANOVISKO: Doporučuji k obhajobě

Předkládaná habilitační práce je sepsána ve formě monografie zabývající se problematikou možnosti zlepšení mikrobiální jakosti kuřecího masa. Spotřeba kuřecího masa neustále roste a jsou s ní spojena i specifická opatření při zabezpečení zdravotní nezávadnosti této suroviny. Proto je zvolené téma habilitační práce možné považovat aktuální. Práce je napsána v rozsahu 153 stran včetně příloh a je do jednotlivých kapitol členěna obvyklým způsobem.

Kapitola „Současný stav řešené problematiky doma i v zahraničí“ obsahuje výsledky studia odborné literatury se zaměřením na drůbeží maso a jeho mikrobiální jakost, včetně mikroorganismů, které tuto surovinu nejčastěji kontaminují. Jsou rovněž charakterizovány rostliny, jejichž esenciální oleje byly použity v praktické části práce, včetně antimikrobních účinků vybraných esenciálních olejů. Na závěr této kapitoly je popsán princip metody MALDI-TOF MS a její využití při identifikaci mikroorganismů. Některé informace v této části se v práci opakují na více místech. Dle mého názoru by problematice mechanismu antimikrobiálního působení jednotlivých esenciálních olejů mohla být věnována větší pozornost.

Cíle práce jsou formulovány jasně a srozumitelně. Experimentální část obsahuje popis metod odběru vzorků a zejména mikrobiologické analýzy kuřecí svaloviny po aplikaci esenciálních olejů. Dále je uveden postup identifikace mikroorganismů metodou MALDI-TOF MS a metody statistického vyhodnocení výsledků.

Kapitola „Výsledky práce a diskuze“ popisuje dosažené výsledky, které jsou zpracovány ve formě grafů znázorňujících výskyt jednotlivých indikátorových mikroorganismů na kuřecí prsní a stehenní svalovině po aplikaci vybraných esenciálních olejů během 16 denního chladiarenského skladování. Statistické vyhodnocení výsledků je prezentováno ve formě tabulek. U těchto tabulek však postrádám vysvětlení vyjádření výsledků Tukey testu a zejména to, na jaké hladině významnosti byla data vyhodnocena (toto není uvedeno ani v metodické části). Za prezentací výsledků následuje vždy diskuze, ve které se uchazečka zaměřila především na srovnání dosažených výsledků aplikace testovaných esenciálních olejů na drůbež s jinými autory, kteří rovněž aplikovali esenciální oleje na maso nebo nežádoucí mikroorganismy. Mnohdy však předkladatelka diskutuje svá zjištění s výsledky prací, které přímo nesouvisí se zde prezentovanými výsledky (zejména aplikace esenciálních olejů na jiné mikroorganismy /např. str. 86 a 89/ nebo se inhibičním působením esenciálních olejů či podobných látek vůbec nezabývají – např. str. 79). Dle mého názoru mohly být lépe diskutovány zjištěné trendy výsledků uchazečky (např. kolísání počtu indikátorových mikroorganismů na kuřecí svalovině během 16 denního chladiarenského skladování) nebo rozdíly mezi výsledky kandidátky a ostatními pracemi a také jejich příčiny a mechanismy působení esenciálních olejů na grampozitivní a

gramnegativní bakterie. V závěru této kapitoly se uchazečka zabývá identifikací mikroorganismů, které byly izolovány z kuřecí svaloviny.

Kapitola „Návrh využití poznatků“ naznačuje především praktický význam výsledků této práce a doporučení, jak lze prostřednictvím dalších experimentů navázat na tuto práci. Závěr obsahuje shrnutí výsledků práce.

Seznam použité literatury zahrnuje relevantní literární zdroje, které byly použity při sepisování této práce. Seznam literatury je v souladu s obsahovou náplní práce a poukazuje na schopnost uchazečky pracovat s odbornými texty. Tady mám připomínky k citaci norem, podle kterých byla provedena mikrobiologická analýza kuřecího masa. Použité normy nejsou citovány správně dle platných citačních norem, což platí zejména pro normu STN EN ISO 7937. Tato norma je uchazečkou v práci citována jako „STN EN ISO 7937. 2011. Mikrobiológia. Mezofilné sporulujúce mikroorganizmy“. Její správná citace však má být „STN EN ISO 7937. 2005. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu *Clostridium perfringens*. Metóda počítania kolónií“ (tato norma navíc byla dle Úřadu pro normalizaci, metrologii a zkušebnictví Slovenské republiky vydána ve slovenské verzi již v roce 2005, nikoliv v roce 2011, jak uvádí kandidátka). Některé práce použité v textu nejsou uvedeny v seznamu použité literatury (např. Haščík et al. 2004 na str. 17).

Po formální stránce je dizertační práce napsána s častějšími překlepy (včetně názvů mikroorganismů), formálními a formulačními nedostatky. Na str. 32 je např. uveden odkaz na obr. 1, na kterém mají být znázorněny bakterie rodu *Listeria*, na obr. 1 na str. 35 je však znázorněna rostlina kmínu setého. V práci se vyskytují nesprávně zařazené bakterie, např.:

- na str. 22 zařazení bakterií *Serratia liquefacines* a *Brochothrix thermosphacta* mezi bakterie mléčného kvašení,
- na str. 28 zařazení bakterií rodů *Salmonella* a *Shigella* mezi koliformní bakterie a tvrzení, že koliformní bakterie tvoří spory,
- ve výsledkové části zařazení stafylokoků mezi mezofilní anaerobní sporulující bakterie.

Bakterie rodu *Salmonella* jsou zpravidla v textu práce nesprávně uváděny. Rod *Salmonella* v současné době zahrnuje pouze 2 druhy (*S. bongori* a *S. enterica*), ostatní nižší taxony, v současnosti řazené zpravidla mezi sérovary (dříve druhy či poddruhy), jsou většinou zástupci poddruhu *S. enterica* subsp. *enterica*. V taxonomii salmonel je tak možné používat plné názvy taxonů, kdy se sérovar (nejnižší taxon, tj. poslední část taxonomického názvu) píše bez kurzívy s velkým počátečním písmenem, např. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium, nebo je rovněž povoleno používat zkrácené názvy taxonů uvádějící rodové jméno a sérovar, např. *Salmonella* Typhimurium.

Na některých místech práce jsou v textu nesprávně používány jednotlivé taxony. Takto chybně jsou uvedeny např. nadpisy kapitol „Rod *Lactobacillus* spp.“ nebo „Rod *Pseudomonas* spp.“, kdy správně mělo být uvedeno „Rod *Lactobacillus*“ nebo „*Lactobacillus* spp.“. Pokud je uvedeno „rod *Lactobacillus*“, znamená to, že jsou brány v úvahu všechny druhy (z latiny zkratka spp.), které zahrnuje, a tudíž uvedení zkratky „spp.“ je v tomto případě nesprávné. Druhou možností je uvedení rodu (bez slova „rod“) se zkratkou spp., což má stejný význam a používá se v cizojazyčné literatuře více. V textu práce jsou rovněž nejednotně zkracovány poddruhy (ssp. nebo subsp.).

Na autorku práce mám následující dotazy:

1. V tabulce 1 na str. 24 uvádíte, že mezi mikroorganismy způsobující kažení masa a patogenní mikroorganismy vyskytující se na mase se řadí *Escherichia coli* O157:H7 a dále také enterohemoragické *E. coli* (EHEC). V textu dále (str. 29) uvádíte, že *E. coli* O157:H7

- způsobuje hemoragická onemocnění. Vysvětlete prosím vztah *E. coli* O157:H7 ke kmenům EHEC a také VTEC (verotoxinogenní *E. coli*), o kterých se rovněž zmiňujete na téže straně.
2. V metodické části není dostatečně popsáno, jak byly stanovovány mezofilní anaerobní sporulující mikroorganismy (MASM). Můžete toto prosím objasnit? Jak byly v rámci stanovení odlišeny sporulující bakterie od bakterií, které tuto vlastnost nemají?
 3. Jak si vysvětlujete postupný nárůst počtu bakterií rodu *Pseudomonas* v průběhu chladírenského skladování kuřecího masa, které bylo vakuově baleno (např. obr. 9, 10 nebo 25)? Na str. 27 totiž píšete, že bakterie rodu *Pseudomonas* jsou obligátně aerobní.
 4. Výsledky mnohých experimentů poukazují na kolísavý růst sledovaných mikroorganismů během chladírenského skladování kuřecího masa (např. obr. 8, 16, 17, 18, 22, 23, 30). Jaké máte vysvětlení pro kolísavý růst mikroorganismů během chladírenského skladování kuřecí svaloviny?
 5. U některých experimentů bylo zjištěno, že tytéž esenciální oleje vykazují rozdílné účinky na vybranou skupinu mikroorganismů, jejichž počty byly sledovány na prsní a stehenní svalovině kuřat (např. odlišné účinky skořicového a hřebíčkového oleje na laktobacily na stehenní a prsní svalovině, obr. 23 a 24). Objasněte prosím, čím mohou být tyto rozdíly zapříčiněny.
 6. Při identifikaci mikroorganismů jste ve všech experimentech dospěla k výsledkům, že mezi mezofilními anaerobními sporulujícími mikroorganismy byla zjištěna přítomnost bakterií rodů *Staphylococcus*. Jak si toto vysvětlujete, když tyto mikroorganismy jsou fakultativně anaerobní, preferující spíše prostředí aerobní? Navíc tyto grampozitivní koky nevytvářejí spory.
 7. Ve výsledkových tabulkách jsou mezi identifikovanými koliformními bakteriemi zařazeny i takové, které mezi koliformní nepatří (např. zástupci rodů *Serratia*, *Yersinia*, *Hafnia*, *Buttiauxella*, *Rahnella*, *Kluyvera*). Bylo zamýšleno stanovení pouze koliformních bakterií nebo širší skupiny bakterií zahrnující skupinu koliformních bakterií?

Celkově lze předloženou habilitační práci Ing. Simony Kunové, PhD. hodnotit jako ucelený vědecký spis obsahující výsledky aplikace vybraných esenciálních olejů na prsní a stehenní kuřecí svalovinu a jejich vliv na mikroflóru během chladírenského skladování. Vzhledem k závažnosti problematiky mikrobiální údržnosti drůbežního masa mohou výsledky této práce přispět ke zpomalení růstu nežádoucích mikroorganismů u kuřecího masa.

Předložená habilitační práce splňuje kritéria, která jsou požadována pro habilitační práci a prokazuje teoretickou a odbornou úroveň uchazečky. Proto ji v souladu s platnými předpisy doporučuji k obhajobě a po úspěšném obhájení doporučuji udělit Ing. Simoně Kunové, PhD. vědecko-pedagogický titul „docent“ (doc.) v oboru „Spracovanie poľnohospodárskych produktov“.

Ve Zlíně 17. 6. 2016

doc. RNDr. Leona Buňkova, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně