

Košice 19. júl 2016

Vážený pán predseda VR FBP

prof. Ing. Ján Tomáš, CSc.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Dekanát
Oddelenie vedecko-výskumné a zahraničných
vzťahov
Trieda Andreja Hlinku 2
949 76 Nitra 1

Vec: Oponentský posudok na habilitačnú prácu Ing. Simony Kunovej, PhD.

Vážený pán predseda VR FBP,

na základe Vašej požiadavky evidovanej pod č. j. 202/2016 z 26. apríla 2016 predkladám oponentský posudok na habilitačnú prácu **Ing. Simony Kunovej, PhD.**

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

Predkladaná habilitačná práca predstavuje ucelený spis pozostávajúci z 153 strán, 25 tabuliek, 25 grafov, 6 obrázkov a 151 literárnych citácií. Téma habilitačnej práce je vysoko aktuálna. Mäso hydiny patrí medzi potraviny živočíšneho pôvodu určené na ľudskú spotrebu, ktoré za určitých podmienok môžu predstavovať mikrobiologické nebezpečenstvá pre zdravie ľudí. So zreteľom na ochranu zdravia ľudí boli pre hydinové mäso prijaté špecifické právne predpisy ustanovujúce kritéria kvality a bezpečnosti. „Čerstvé mäso“ znamená mäso vrátane vákuovo baleného mäsa alebo mäsa baleného v kontrolovanej atmosfére, ktoré nebolo podrobené žiadnemu procesu na predĺženie trvanlivosti okrem chladenia, zmrazenia alebo rýchleho zmrazenia. Trvanlivosť čerstvého hydinového mäsa je z mikrobiologického hľadiska časovo obmedzená. Na zvýšenie mikrobiálnej stability čerstvého hydinového mäsa sa v súčasnosti overuje používanie rôznych látok a spôsobov ich aplikácie. Medzi takéto látky zaradíme aj esenciálne oleje.

Cieľom habilitačnej práce bolo sledovanie antimikrobiálneho účinku vybraných druhov esenciálnych olejov na zastúpenie jednotlivých skupín mikroorganizmov počas skladovania mäsa kurčiat za kontrolovaných podmienok použitím mikrobiologických metód a identifikácia mikroorganizmov metódou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF.

Habilitačná práca je po obsahovej stránke členená do dvanástich kapitol. *Obsah* zahŕňa samotný štruktúrovaný obsah, zoznam ilustrácií, tabuliek, skratiek a značiek, i keď štandardne obsah záverečnej práce začína kapitolou Úvod a končí Zoznamom použitej literatúry prípadne Prílohami.

Kapitola *Súčasný stav riešenej problematiky doma i zahraničí* je venovaná mäsu hydiny, ako potraviny určenej na ľudskú spotrebu, jeho technologickým a senzorickým vlastnostiam, mikrobiológii mäsa, jednotlivým zástupcom mikroorganizmov podieľajúcich sa na kontaminácii hydinového mäsa, vybraným liečivým rastlinám a antimikrobiálnej aktivite ich esenciálnych olejov a hmotnostnej spektrometrii MALDI-TOF s laserovou desorpciou/ionizáciou s využitím matrice a v kombinácii s detektorom doby letu, ktorá sa v súčasnosti používa k druhovej identifikácii mikroorganizmov v potravinách.

Ciele habilitačnej práce sú definované konkrétne v súlade s témou habilitačnej práce. V kapitole *Materiál a metodika* sú popísané metódy odberu a prípravy vzoriek, schémy experimentálnych pokusov, zloženie esenciálnych olejov, mikrobiologické analýzy, druhová identifikácia pomocou MALDI-TOF analýzy a štatistická analýza.

Výsledky práce predstavujú informačný zdroj autorky habilitačnej práce formálne členený do štyroch samostatných podkapitol. Prvé tri podkapitoly prezentujú výsledky mikrobiologickej analýzy mäsa brojlerových kurčiat bez a po aplikácii esenciálnych olejov v kombinácii s EDT-ou a vákuovým balením počas 16-tich dní skladovania a podkapitola č. 4 prezentuje výsledky druhovej identifikácie mikroorganizmov prvočne stanovených mikrobiologickými metódami pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie. Výsledky habilitačnej práce korešpondujú s vytýčenými cieľmi práce a sú prezentované v tabuľkovej a grafickej forme s patričným slovným zhodnotením a hodnotením štatistickej významnosti.

Diskusia je súčasťou výsledkovej časti habilitačnej práce a prezentuje zistenia citovaných autorov v predmetnej problematike. Zaujímavá je však skutočnosť, že výsledková časť habilitačnej práce začína diskusiou, čo nie je pri záverečných prácach obvyklé a výber citovaných prác pre porovnateľnosť výsledkov dosiahnutých autorkou väčšinou nekorešponduje s predmetom skúmania a príslušnými zisteniami.

Návrh na využitie poznatkov je samostatnou kapitolou habilitačnej práce. Autorka odporúča sledovať antimikrobiálnu aktivitu esenciálnych olejov v mäse a masových výrobkoch počas skladovania a zistiť optimálnu koncentráciu esenciálnych olejov na jednotlivé skupiny mikroorganizmov nachádzajúce sa na povrchu mäsa. Vzhľadom na stanovené ciele habilitačnej práce a dosiahnuté výsledky žiadalo by sa, aby návrhy a odporúčania boli konkrétne a potvrdili, resp. vyvrátili vplyv esenciálneho, resp. esenciálnych olejov na zvýšenie mikrobiálnej stability čerstvého hydinového mäsa počas chladiarenského skladovania a ich využitie pre prax.

Záver habilitačnej práce je spracovaný v nadväznosti na vytýčené ciele habilitačnej práce a prezentuje sumarizáciu výsledkov experimentálnej práce autorky.

Zoznam použitej literatúry obsahuje literárne zdroje smerované k téme habilitačnej práce. Literárne zdroje sú citované v súlade s požiadavkami zápisu bibliografických odkazov. Zoznam citovaných prác nie je úplný.

Habilitačná práca po obsahovej a formálnej stránke zodpovedá požiadavkám stanoveným na tento druh kvalifikačných prác. Dovolila by som si však upozorniť na *chyby a nedostatky*, ktoré sa v habilitačnej práci vyskytli a mnohé z nich si vyžadujú vysvetlenie, resp. doplnenie ako *Errata*:

1. V habilitačnej práci bol zistený nesúlad so základnou klasifikáciou mikroorganizmov (napr. rod *Staphylococcus*, *Kocuria* alebo *Aeromonas* ako mezofilné anaeróbne sporujúce mikroorganizmy /MASM/, rod *Salmonella*, *Shigella*, alebo *Yersinia* ako koliformné baktérie), nomenklatúrou mikroorganizmov

(rod *Pseudomonas* "spp.", *Lactbacillus* "spp."), resp. prisudzovaním vlastností, ktoré mikroorganizmy nemajú (koliformné baktérie tvoria spóry).

2. *Abstrakt* habilitačnej práce je síce informatívny, avšak postráda jasnosť a presnosť. Výsledky dosiahnuté v rámci riešenia jednotlivých pokusov nie sú kompletne.
3. V *Zozname ilustrácií* a v *Zozname tabuliek* sú uvedené názvy obrázkov a tabuliek použitých v texte, ktoré sú zhodné i napriek tomu, že prezentujú výsledky v závislosti od aplikácie príslušných esenciálnych olejov a podmienok skladovania. Obrázky 7 – 30 nie sú v skutočnosti obrázky, ale grafy.
4. V *Zozname skratiek*, ani v texte habilitačnej práce nie je uvedené vysvetlenie skratky metódy MALDI-TOF použitej na druhovú identifikáciu mikroorganizmov v mäse brojlerových kurčiat.
5. V kapitole *Súčasný stav riešenej problematiky doma i v zahraničí* sa v jednotlivých častiach tejto kapitoly uvádzajú informácie, ktoré už boli v predchádzajúcich častiach spomenuté.
6. Názov podkapitoly 1.5.1 nekorešponduje s textom príslušnej podkapitoly a pojednáva o zložení esenciálnych olejov, nie o ich antimikrobiálnej aktivite.
7. Citácie o využití antimikrobiálnej aktivity kyseliny etyléndiaminotetraoctovej (EDTA) prezentované v podkapitole 1.6 sú staršieho dáta (2001). Podľa nariadenia (ES) č. 1333/2008 o prídavných látkach je ako konzervačná látka schválená len dvojsodno-vápenatá soľ kyseliny EDTA (CaNa 2 EDTA /E 385/) a to pre mrazené a hlboko zmrazené kôrovce (75 mg.kg⁻¹).
8. V kapitole *Materiál a metodika* sú síce popísané metódy odberu a prípravy vzoriek a ich mikrobiologickej analýzy, avšak absentujú údaje o identifikácii zvierat, pôvode vzoriek (miesto odberu), presnom počte vzoriek použitých na analýzy v rámci jednotlivých experimentov, o príprave roztokov kyseliny EDTA a esenciálnych olejov použitých na ošetrovanie mäsa, ich špecifikácii, výrobcach, spôsobe aplikácie.
Prosím doplniť ako Errata.
9. Pri mikrobiologických analýzach sú uvedené dva rozdielne potupy prípravy základného riedenia 10⁻¹ (str. 49 a str. 53). Ktorý z týchto postupov bol použitý? Fyziologický roztok je 0,9 % vodný roztok NaCl.
10. STN EN ISO 7937 je nesprávne citovaná norma. Postup stanovenia počtu koliformných baktérií uvedený v texte nie je v súlade s STN ISO 4832. **Prosím vysvetliť.**
11. Pri stanovení počtov sledovaných mikroorganizmov nie sú uvedené metódy výpočtu.
Prosím doplniť ako Errata.
12. Pri metóde MALDI-TOF nie sú uvedené údaje o výrobcach použitých látok a reagentoch vrátane názvu prístrojového vybavenia a jeho výrobcu a odkazu na použitú metódu. **Prosím doplniť ako Errata.**
13. Výsledky štatistickej analýzy sú prezentované v Tabuľkách 4 – 15. Pri Tukey teste nie sú uvedené hladiny významnosti pre vyhodnotenie dosiahnutých výsledkov a vysvetlivky použitých skratiek. **Prosím doplniť ako Errata.**
14. Text habilitačnej práce nie je vždy podložený odkazom na použitý literárny zdroj, čo nie je v súlade s etikou citovania (napr. druhý a tretí odstavec Úvodu habilitačnej práce, obrázky liečivých rastlín ...).
15. V habilitačnej práci sa nachádzajú preklepy, resp. nesprávne použité, resp. preložené termíny (kuracích brojlerov, kaziace mikroorganizmy, rezistentné mikroorganizmy sa môžu dostať do mäsa prostredníctvom "maternice" infikovanými fekálnymi baktériami...)

K autorke habilitačnej práce mám nasledovné otázky:

1. V časti 1.2 Mikrobiológia hydínového mäsa uvádzate, že na kontaminácii hydiny sa podieľajú psychrotrofné mikroorganizmy rodov *Pseudomonas* a *Lactobacillus* a kvasinky, ktoré sa nachádzajú na povrchu tiel živej jatočnej hydiny. Je toto tvrdenie správne?
2. Rovnako v tejto časti habilitačnej práce uvádzate, že mnoho kaziacich baktérií je schopných rásť v rozmedzí pH od 5,5 do 7,0. Je toto rozmedzie správne, keď na str. 21 uvádzate, že pri optimálnych podmienkach zrenia mäsa dochádza k poklesu hodnoty pH na požadovanú hodnotu pH 5,5, vďaka čomu mäso získava antimikrobiálne vlastnosti?
3. V návrhu na využitie poznatkov uvádzate, že aj keď u mnohých esenciálnych olejov boli pozorované dobré účinky proti vybraným skupinám mikroorganizmov kontaminujúcich mäso a mäsové výrobky, niektoré zložky mäsa, a to najmä tuky, sacharidy, bielkoviny a soli môžu do určitej miery inhibovať antimikrobiálny účinok niektorých esenciálnych olejov? Je to Váš názor, alebo je tento názor podložený citáciou?
4. Potraviny by nemali obsahovať mikroorganizmy ani ich toxíny či metabolity v množstvách, ktoré predstavujú neprijateľné riziko pre ľudské zdravie. Aký je Váš názor na bezpečnosť mäsa brojlerových kurčiat vzhľadom na počty mikroorganizmov stanovené počas realizácie experimentov? Majú Vami sledované mikroorganizmy stanovené mikrobiologické kritériá pre hydínové mäso? Ktorý zo spôsobov ošetrovania sa Vám zdal najúčinnější z pohľadu mikrobiologickej bezpečnosti čerstvého hydínového mäsa?
5. Prosím autorku habilitačnej práce na základe dosiahnutých výsledkov o prednesenie konkrétnych záverov a odporúčaní pre možnú realizáciu výsledkov v spoločenskej praxi.

Celkové hodnotenie:

Predkladanú habilitačnú prácu *Ing. Simony Kunovej, PhD. „Mikrobiologická stabilita mäsa kurčiat počas chladiarenského skladovania po aplikácii esenciálnych olejov“* **doporučujem prijať k obhajobe a po úspešnej obhajobe udeliť Ing. Simone Kunovej, PhD. titul „docent“ v študijnom odbore 6.1.13 Spracovanie poľnohospodárskych produktov.**

doc. MVDr. Ivona Kožárová, PhD.