

Posudek

disertační práce Mgr. Petry Krausové

„Faktory ovlivňující výskyt biologicky účinných polyaminů ve vybraných potravinách“

Předložená disertační práce se zabývá problematikou potenciálního příjmu polyaminů v dietě. Jedná se o téma velice aktuální, polyaminy v potravě jsou v současné době významně diskutovány jak se zaměřením na možné pozitivní fyziologické působení tak hlavně s poukazem na riziko výskytu a rozvoje některých „civilizačních“ chorob, zejména nádorových onemocnění. Zvolené téma i jeho samotné zpracování jsou na velmi vysoké úrovni. Členění disertační práce na jednotlivé části odpovídá požadavkům.

Teoretická část shrnuje dosavadní poznatky o struktuře, chemických vlastnostech a zdrojích polyaminů. Významnou část tvoří pohled na biosyntézu těchto látek v biologických systémech, na jejich stabilitu a významné degradační reakce. Za velmi významné považují pojednání o fyziologickém účinku polyaminů, o jejich vlastnostech, potenciálním vlivu na zdravotní stav člověka a o dosavadních poznatcích udávajících reálný příjem polyaminů. Tato část je zpracována velmi podrobně a přehledně, veškeré údaje jsou citovány v přehledu literatury.

Na podkladě údajů získaných studiem literatury byl velmi pregnantně stanoven cíl, kterého by mělo být při zpracování tématu disertační práce dosaženo.

Kapitola Experimentální část zahrnující materiál a pracovní metodiky je zpracována velmi dobře a přehledně, včetně metodiky matematického zpracování výsledků. Metodika odběru vzorků, jejich zpracování, extrakce a přípravy vzorků pro analýzu je zpracována přesně, včetně výběru a přípravy vzorků pro stanovení opakovatelnosti měření.

Analytické postupy obou použitých metod – elektrokinetické kapilární chromatografie MECC i HPLC jsou popsány přesně. Musím ocenit v obou případech přesně popsanou derivatizaci vzorku včetně reakce ke které při derivatizaci dochází. Toto bývá dosti častá slabina analytických postupů. U obou typů derivatizace jsou uvedena množství činidel pro neutralizaci – mělo by ale asi být uvedeno i pH, při kterém k derivatizaci dochází a které může významně ovlivnit výtěžnost reakce.

U obou metod byla stanovena opakovatelnost metody. Provedení i vyhodnocení měření je správné. Mám pouze dotaz, jestli lze vysvětlit nepříznivě vysokou hodnotu opakovatelnosti u stanovení putrescinu metodou MECC.

Detekční limity byly stanoveny pro jiné typy potravin než jsou sledovány v práci. Asi měly být stanoveny i pro tyto materiály. Není to ale nezbytně nutné, protože lze předpokládat podobné hodnoty a reálné hodnoty u většiny vzorků jsou výrazně vyšší.

Výsledková část je zpracována velmi přehledně a podrobně. Bylo získáno velké množství výsledků, pro jejichž zpracování bylo použito moderních statistických metod. Veškeré získané výsledky jsou přehledně a kvalitně zpracovány a jsou z nich vyvozeny odpovídající závěry. Velmi cenné je zpracování a diskuse metodik, umožňujících stanovení polyaminů v různých typech potravin.

K metodice a výsledkům mám jednu poměrně zásadní připomínku. U hodnocení nově zaváděné metodiky by měla být, kromě detekčních limitů a opakovatelnosti, stanovena i hodnota výtěžnosti (recovery) metody.

Závěry práce podrobně hodnotí získané výsledky. Musím velmi ocenit jejich přehlednost, která umožňuje získat komplexní ucelený obraz o získaných výsledcích.

Práci doplňuje seznam publikačních výstupů k dané problematice, který svým rozsahem odpovídá předpokládanému odbornému přínosu této disertační práce.

Závěrem mohu s potěšením konstatovat, že disertační práce Mgr. Petry Krausové je dostatečným dokladem o přínose autorky k rozvoji vědeckého poznání v dané oblasti a

doporučuji

tuto disertační práci k obhajobě.



V Praze dne 29.11.2006

doc. Ing. Jan Pánek, CSc.

Oponentský posudek

disertační práce Mgr. Petry Krausové
„Faktory ovlivňující výskyt biologicky účinných polyaminů ve vybraných potravinách“

Ve své disertační práci řeší Mgr. Petra Krausová aktuální téma zapadající do obecného trendu sledování produkce zdravotně nezávadných potravin. Biogenní aminy a polyaminy představují samy nejen určitá rizika pro konzumenta, ale jsou i příznakem počínající zkázy potravin. Předložená práce orientovaná především na ověření analytických metod s aplikací na výskyt polyaminů ve vybraných potravinách živočišného původu přispívá k poznání této problematiky, v čemž vidím její hlavní význam.

Autorka zpracovala poměrně rozsáhlý soubor literárních pramenů (z velké části zahraničních), ze kterých vytvořila přehledný kompilát současného stavu vědomostí. Některé drobné (zejména technologické) nepřesnosti uvádím v příloze.

Vlastní experimentální práce sestává ze dvou logických celků, a to jednak ověření a výběr postupu analýzy, jednak o vlastní sledování polyaminů na vybraných vzorcích masa a drobů (jater). Vybrané metody analýzy přizpůsobené využití dostupné instrumentální techniky považuji za správné. Nedílnou součástí práce bylo i ověření některých částí postupu a z výsledků byly vyvozeny závěry pro další postup analýz.

Za správný považuji i výběr materiálů (maso, játra) a způsobů jejich zpracování. Vzhledem k velkému počtu faktorů, které mají nebo mohou mít vliv na výskyt, koncentraci a dynamiku vzniku či odbourávání polyaminů (teplota skladování, mikroklima v okolí, pH, použití aditivních látek, povrchová dekontaminace aj.), je obtížné v rámci jedné disertace obsáhnout všechny možné vlivy. Domnívám se, že výběr zahrnující jak intravitální vlivy, tak některé technologické při zacházení s masem byl vhodně zvolen.

Otázkou (do diskuse) je, proč první odběr masa nastal teprve 24 h p.m. a ne ihned po usmrcení či dokonce ve formě biopsie. Není tudíž známá výchozí koncentrace polyaminů. Jaká je „fyziologická“ hladina sledovaných polyaminů? Je jejich koncentrace u „kontrolních“ vzorků shodná jako v živé tkáni, nebo jde již o důsledek posmrtných změn v prvních 24 hodinách p.m. Rozdíl v obsahu u býků a krav by mohly být dány i rozdílnou dynamikou postmortálních změn u obou pohlaví.

Vzorky byly upraveny různými způsoby. Poněkud mě zarazí neobvyklé balení jater do modifikované atmosféry dusíku a oxidu uhličitého (i když znám výrobce, kteří tak činí.). Co bylo důvodem? V případě čerstvého masa je tato atmosféra vysloveně nevhodná. Může autorka vysvětlit tuto problematiku?

Naměřené výsledky představují rozsáhlý soubor hodnot, jejichž získání vzhledem ke složitosti analýz představuje velký objem laboratorní práce. Výsledky jsou vyjádřeny ve formě přehledných grafů a jsou statisticky vyhodnoceny a komentovány ve výsledkové části. Komentář je však především konstatování faktů o statistické významnosti či nevýznamnosti, poněkud mi chybí hlubší analýza příčin a důsledků, a to v konfrontaci s literaturou. Tak by význam práce ještě více vynikl.

Práce je vyhotovena ve vzorné formální úpravě, bez překlepů a obvyklých formálních nedostatků. K vlastnímu textu práce mám několik drobných připomínek, které uvádím v příloze (a které by měla autorka vzít v úvahu v případně publikace výsledků).

Souhrnně mohu konstatovat, že Mgr. Petra Krausová svojí prací prokázala schopnost samostatné vědecké práce, její disertace přináší nové cenné poznatky z oblasti zdravotní nezávadnosti potravin. Proto doporučuji její práci k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování navrhuji udělení titulu Ph.D.


Prof. Ing. Petr Pipek, CSc.

V Praze 14. listopadu 2006

Příloha:

Konkrétní připomínky k disertační práci Mgr. Petry Krausové „*Faktory ovlivňující výskyt biologicky účinných polyaminů ve vybraných potravinách*“

- str. 12 - někdy užívané dělení na červené a bílé maso je účelové a v podstatě nesmyslné. Má rozdílný obsah hemových barviv vliv na sledované skutečnosti?
- str. 13 – ančovičky jsou tepelně neupravené a patří mezi polokonzervy?
- str. 13 - „čerstvé syrové“ maso je pleonasmus a nejednoznačný výraz. Platná legislativa zná pouze „čerstvé maso“. Kde je pak hranice mezi čerstvým a skladovaným?
- str. 14, 5. ř. sh. – má být „startovací“
- str. 14 aj. – výraz „uzeniny“ je spíše hokynářský, v odborné či vědecké práci by se mělo důsledně používat „masné výrobky“.
- str. 16, 15-14.ř.zd. – „množství“ je extenzivní veličina, má být „obsah“ nebo „koncentrace“
- str. 20 – jak bylo zajištěno vychlazení jater po odběru na jatkách – chladicí taška tento účel sotva splnila. Totéž se týká krve.
- str. 21 – podle jakých kritérií se býci třídili do skupin podle užítkovosti?
 - Správný název pro zádový sval je *musculus longissimus thoracis et lumborum*, zde asi *pars lumborum*. Totéž platí i dále.
 - Prasníčka není vepř! Může autorka vysvětlit anatomický a terminologický rozdíl?
 - *Musculus psoas major* je velký bedrovec, tedy svičková, v případě vepřového masa „panenská“.
- str. 25 - atmosféra oxidu uhličitého s dusíkem je pro skladování čerstvého masa nevhodná
- str. 26 – platná zkratka hodiny je „h“
- str. 26 – jakým způsobem se dosáhlo teploty vodní lázně 101 °C při nadmořské výšce Českých Budějovic 381 m n.m.
- str. 27 – jakým způsobem byla měřena teplota masa zataveného v plastu
- str. 28 – má autorka vysvětlení pro podivný průběh teplot, jak je uvedeno na obrázku?
- str. 30 – Postup izolace je popsán nejasně. Etherová vrstva se oddělila v odstředivce nebo v děličce? Proč se nepoužila vakuová odparka k odpaření diethyletheru?
- str. 39 obr. 12 – je neprůkaznost nárůstu PUT dána skutečnou fyzikálně-chemickou podstatou, nebo se jen statistika „deformovala“ vysokou směrodatnou odchylkou. Neměla by být uvedená skutečnost ověřena na větším počtu vzorků?
- kap. 5.1.2 – autorka konstatuje rozdíly mezi oběma metodami – postrádám hlubší vysvětlení rozdílů a závěry z toho plynoucí
- str. 46 – byly rozdíly mezi býky a kravami dány pohlavím nebo jde o rozdíl věku. Nehraje zde rozdíl i průběh: postmortálních změn (vzorky byly odebírány až 24 h p.m.). Jaký byl věk krav? Je možné vyvozovat závěry pouze z 8 jedinců neurčité užítkovosti?

Oponentský posudek

**na disertační práci
Mgr. Petry Krausové**

**doktorského studijního programu P 1407 Chemie
studijního oboru 4106 V 017 Zemědělská chemie**

„Faktory ovlivňující výskyt biologicky účinných polyaminů ve vybraných potravinách“

Školitel: Prof. Ing. Pavel Kalač, CSc.

Oponent:

Prof. Ing. Ladislav Kolář, DrSc.

Katedra kvality produktů

ZF JU v Českých Budějovicích

V úvodu své doktorské disertační práce autorka Mgr. Petra Krausová velmi koncentrovaně uvádí souhrn svých výsledků a klíčová slova. Už z tohoto stručného souhrnu je zřejmé, že se dovede velmi dobře a zhuštěně vyjadřovat při zachování naprosté srozumitelnosti textu. Upozorňuji na to proto, že začínající vědečtí pracovníci mají většinou sklon k rozvláčnosti a k mentorskému vysvětlování obecně známých pojmů. Klíčová slova jsou přesně stanovena. Ve vlastním úvodu naprosto jasně a opět chvályhodně stručně vysvětluje význam tématu své práce.

Teoretická část práce, opět příkladně stručná, podává nejen zcela vyčerpávající přehled vědeckých poznatků o dané problematice z posledních let, ale je psána krásným jazykem, má velmi logickou stavbu a členění a hlavně literární prameny zde nejsou jen navrženy, jak často při oponenturách disertačních prací mladých absolventů doktorského studia shledávám, ale jsou opravdu zpracovány. Je tedy studium této kapitoly pro oponenta odpočinkem a je zřejmé, že mladá autorka zde podala výkon velmi zkušeného výzkumného pracovníka. Proto už ani nepřekvapuje čtenáře této disertační práce skutečnost, že cíl práce je vyjádřen promyšleně, stručně, zcela zřetelně a přesně.

Experimentální část je rovněž zpracována velmi dobře, obsahuje všechny důležité údaje, které jsou třeba. Množství odebraných vzorků je značné a z popisu je zřejmé, jak velký objem přípravných prací autorka práce vykonala, než mohla přistoupit k vlastní analytice. Zaslouhuje to uznání, zvláště že nešlo o práci právě příjemné. Analytické postupy dle mého názoru plně vyhovují, oceňuji aplikaci obou základních metod (MECC a HPLC) i praktický aspekt této vědecké práce, neboť různé způsoby kuchyňské úpravy suroviny a jejich vliv na ztráty sledovaných látek mají praktický význam nesporný a tak tato práce dobře splňuje ideální požadavek na vědecké práce obecně – aby nové vědecké poznání také naznačilo možné cesty praktického uplatnění. Tento zdánlivě logický požadavek je např. u německých prací typický, je běžný u prací odborníků v disciplínách chemických a býval běžný i u prací zemědělských. Přejít z zemědělského studia do směrů univerzitních byl z tohoto hlediska ke škodě věci a pozoruji i u prací tohoto typu křečovitou snahu po „čisté“ vědě, šířící se zřejmě z kruhů akademických.

Kapitola „Výsledky a diskuse“ je pilířovou částí každé vědecké práce a na ní lze dobře poznat celkovou úroveň autora. Tato kapitola od Mgr. Petry Krausové je přehledná, logická, dobře zpracovaná, zkrátka vzorná. Její značný rozsah při velmi úsporném vyjadřování dává zcela zřetelně najevo, jak velkou práci autorka vykonala, na jaké podrobnosti ve vzájemných souvislostech nezapomněla i to, co se ve vědecké výchově naučila.

Pak už následuje závěr, ve kterém autorka své cenné výsledky shrnula. Na oponenta působí příjemně i konečný odstavec závěru, z kterého je zřejmé, že autorka i přes značné množství vykonané práce nevidí problém jako konečně vyřešený a podává nástin potřebného dalšího výzkumu.

Závěrem svého posudku bych chtěl zdůraznit, že předložená disertační práce je vzorná a že bych ji nemohl klasifikovat jinak, než klasifikačním stupněm „výborně“. Doktorandce Mgr. Petře Krausové lze k tomuto dílu jen gratulovat. Zároveň však nemalý podíl na jejím úspěchu má perfektní vedení školitelem, Prof. Ing. Pavlem Kalačem, CSc., který jí jistě předal své bohaté a cenné zkušenosti. Velmi oceňuji také kvalitní vědecké publikace autorky, ke kterým jistě přispělo také nekompromisní vedení komise Prof. Ing. Martinem Křížkem, CSc., který nepřipustil v publikační činnosti Mgr. Krausové obvyklé přijetí publikací z tzv. „mezinárodních“ konferencí, konaných v ČR, které mají většinou obskurní úroveň a „mezinárodní“ charakter jim dává jen účast jednoho či několika kolegů ze Slovenska, resp. Rakouska. Proto tato práce včetně své publikační části je ta nejlepší, kterou jsem za poměrně dlouhou dobu vědecké přípravy na mateřském pracovišti měl možnost shlédnout.

Ve vědecké diskusi při obhajobě této práce prosím Mgr. Krausovou, aby zodpověděla tyto mé dotazy:

- 1) Překvapil mne v publikaci Kalač, Krausová 2005 a v práci na str. 15 uváděný extrémně vysoký obsah putrescinu u tvrdých zrajících sýrů z nepasterizovaného mléka a skutečnost, že glukono-delta-lakton silně potlačil tvorbu PUT při výrobě fermentovaných masných výrobků (str. 14). Použití GDL při výrobě mléčné sýřeniny je významné hlavně při nejednotné surovině, tedy v mlékárenských malotechnologiích, které v LFA oblastech by mohly zachránit alespoň zbytky zemědělských výrob, pokud by výrobky byly regionální a kvalitativně výjimečné. Dal by se inhibiční vliv GDL na tvorbu PUT očekávat také při výrobě zrajících sýrů, které by zde byly asi jediným perspektivním sortimentem?
- 2) V roce 1973 vzbudila obavy zpráva Fazia a spolupracovníků, kteří našli N-nitrosopyrrolidin ve vařeném bakanu, zatímco v syrovém nalezen nebyl. Velíšek (Chemie potravin, 3, str. 213) uvádí, že N-nitrosopyrrolidin může vzniknout z prolinu přes pyrrolidin a analogicky z putrescinu přes aminobutan či ze spermidinu. Není zde nebezpečí při tepelné úpravě zrajících sýrů, která se dnes uplatňuje jako kulinářská specialita?

Doporučuji komisi pro obhajobu disertační práce Mgr. Petry Krausové studijního programu Chemie v oboru Zemědělská chemie její vynikající práci přijmout k obhajobě a po úspěšném ukončení obhajoby udělit autorce vědecký titul „doktor“ (Ph.D.).

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long, sweeping tail that extends towards the top right of the page.

V Českých Budějovicích, 11. 11. 2006