

Oponentský posudek na disertační práci

Autor: Mgr. Zbyněk Havelka

Název práce: Využití plazmových technologií ke zlepšení kvality krmiv

Oponent: Ing. Karolína Benešová, Ph. D.

Předložená disertační práce Mgr. Zbyňka Havelky se zabývá využitím plazmových technologií ke zlepšení kvality semen a krmiv kontaminovaných toxickými metabolity fytopatogenních mikroskopických hub. Jde o velmi aktuální téma, neboť kontaminace mykotoxiny je všudypřítomná a nelze ji zcela odstranit ani za dodržování podmínek správné zemědělské praxe. Z těchto důvodů jsou používány různé metody dekontaminace a současný celosvětový výzkum plazmových technologií představuje další důležitou alternativu eliminace mykotoxinové zátěže.

Dizertační práce je členěna do 4 kapitol dle běžných zvyklostí. Celkem je sepsána na 119 stranách tvořených textem, tabulkami a grafy. Po Úvodu do řešené problematiky je sepsána literární rešerše (str. 11 – 37), dále na str. 41 Cíle a hypotézy práce (celkem 5), Materiál a metodika (s. 43 – 57), Výsledky a diskuze realizovaných prací (s. 59-97), kde na str. 91 – 97 je popsán praktický výstup – zařízení pro kontinuální ošetření vzorku plazmovým výbojem na bázi šnekového a pásového dopravníku, včetně ekonomického zhodnocení. Závěr na str. 98 – 99 obsahuje shrnutí a potvrzení či zamítnutí formulovaných hypotéz. Použitá literatura je uvedena na stranách 100 – 114 a zahrnuje více než 190 citací tuzemských a zahraničních zdrojů. Součástí práce je i seznam publikací, konferenčních příspěvků a praktických výstupů, na nichž se autor podílel.

Práce je psána přehlednou a čtivou formou. Kapitola Rešerše literatury shrnuje nejnovější poznatky v oblasti fytopatogenních hub, jejich toxických sekundárních metabolitů – mykotoxinů, jejich vliv na zdraví lidí i zvířat, legislativní limity obsahů nejdůležitějších mykotoxinů v potravinách a v krmivech a možnosti jejich dekontaminace. Další část této kapitoly přehledně popisuje současný výzkum v oblasti nízkoteplotního plazmatu a vybrané aplikace v této oblasti. V kapitole Cíl a hypotézy práce jsou vytyčeny cíle práce a formulovány výzkumné hypotézy, které jsou potom v závěru práce potvrzeny nebo vyvráceny. Kapitola Materiál a metodika popisuje sestavenou plazmovací aparaturu a její parametry, pokusný biologický materiál a analytické metody stanovení výživových parametrů a vybraných mykotoxinů – deoxynivalenolu a jeho metabolitu deoxynivalenol-3-glukosidu.

Získané výsledky jsou přehledně zpracovány a diskutovány v kapitole 4 - Výsledky a diskuse realizovaných prací. Je popsáno stanovení vybraných parametrů sestavené aparatury, vliv plazmatu na výživové parametry, modelovou houbu *Trichoderma virens* a působení na obsah mykotoxinů na laboratorních substrátech, ve vybraných obilovinách a v ječném sladu. V závěru kapitoly je popsán vývoj zařízení pro kontinuální ošetření vzorků. Výsledky jsou vhodně

konfrontovány se závěry jiných autorů. Práce je doplněna seznamem použitých zkratk, tabulek a obrázků.

Autor si vytyčil náročný cíl, a to včetně praktického výstupu – vývoje a konstrukce nového zařízení pro ošetření reálných vzorků. Konstatuji, že tento cíl byl splněn.

Práci bych vytkla pouze drobné stylistické nedostatky v částech týkajících se mykotoxinů a analytické chemie, která je doktorandovi přece jen mírně vzdálená a není s používanou terminologií příliš sžít, (např. strany 18, 20, 21, 39 – uvedení názvu mykotoxinu v jednotném čísle („aflatoxin“, „ochratoxin“, „fumonisin“, když potom autor popisuje celou skupinu mykotoxinů a jejich vlastnosti, str. 39 – „vomitoxin“ je další název pro mykotoxin DON (deoxynivalenol), nikoliv samostatný mykotoxin, dále str. 39 – „vysoko-výkonová kapalinová chromatografie s hmotnostní spektroskopií“ se správně nazývá „vysokoučinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií“ (HPLC/MS – High-performance liquid chromatography with mass spectrometry), str. 39 – mykotoxiny se do piva nesmývají, ale přecházejí, mechanismus přechodu mykotoxinů z ječmene do sladu při sladování viz dotaz č. 2. Jako nevědecké si dovoluji označit použití termínu „laboratorní skličko“ v abstraktu práce, dále v práci je už potom správně uvedeno „Petriho miska“.

V kapitole 3. 2. 2 věnované mykoparazitické houbě *Trichoderma virens*, kterou autor používá jako modelovou houbu pro experimenty s plazmovým výbojem, bych uvítala více informací o této houbě a příznivém mechanismu jejího působení v biologické ochraně rostlin. *Trichoderma virens* je polyfágní druh houby, který je schopen aktivně potlačovat původce významných houbových onemocnění, včetně fytopatogenních druhů z rodů *Alternaria*, *Fusarium*, *Pythium*, *Sclerotinia* a *Rhizoctonia* a má i další pozitivní vlivy na vývoj pěstované rostliny. Využívá se po celém světě.

Zdůrazňuji však, že výše uvedené drobné výtky naprosto nesnižují jinak velmi dobrou celkovou úroveň posuzované práce.

Závěr:

Předložená dizertační práce Mgr. Zbyňka Havelky splňuje po stránce obsahové i formální požadavky stanovené příslušnými vyhláškami pro získání vědecko-akademické hodnosti. Úroveň práce hodnotím jako velmi dobrou. S přihlédnutím k výše uvedenému navrhuji, aby Mgr. Zbyňku Havelkovi byl po úspěšné obhajobě udělen akademický titul Ph. D.

K práci mám následující dotazy:

1) Na str. 20 autor popisuje mykotoxin T-2 toxin, který se v obilovinách běžně vyskytuje se svým metabolitem HT-2 toxinem, a na str. 22 uvádí v tabulce maximální přípustné limity (MAL) dané nařízením Evropské unie pro vybrané mykotoxiny. MAL pro Σ T-2, HT-2 toxinů dosud nebyl stanoven, ale dne 27. 3. 2013 EU vydala na základě podkladů EFSA (European Food Safety Authority – Evropský

úřad pro bezpečnost potravin), nikoliv nařízení, ale doporučení, kde uvádí pro Σ T-2 a HT-2 toxinů doporučený limit v některých obilovinách, jejich produktech a krmivech, při jehož překročení či opakovaném výskytu by měla být provedena šetření faktorů, které jsou příčinou přítomnosti T-2 a HT-2 toxinů. Prosím o uvedení tohoto limitu pro sladovnický ječmen, včetně zdroje.

2) Na str. 39 autor cituje výzkum K. Lancové z r. 2010, který se zabýval přechodem mykotoxinů z ječmene do sladu, a uvádí, že koncentrace mykotoxinů byla v hotovém sladu vyšší než v nesladovaném ječmeni. Věděl by autor, proč to může nastat? Některé další citované výzkumy uvádějí naopak nižší koncentraci mykotoxinů v hotovém sladu.

3) Na str. 88 autor uvádí v tabulce výsledky pokusu ošetření gushingového sladu plazmovým výbojem. Tento pokus byl proveden na stejném vzorku s odstupem dvou let. Jak si autor vysvětluje nárůst koncentrace u D3G po ošetření po dobu 4 minut v roce 2014 a vyšší koncentraci obou sledovaných mykotoxinů po ošetření plazmatem po dobu 1 minuty než v původním vzorku (2016)?

V Brně 17. 6. 2019



Ing. Karolína Benešová, Ph. D.

OPONENTSKÝ POSUDOK

na dizertačnú prácu

Mgr. Zbyňka Havelky

Doktoranda Katedry zemědělské, dopravní a manipulační techniky

Študijný odbor: Obecná zootechnika
Študijný program: Zootechnika
Školiteľ: doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D.
Školiace pracovisko: Katedry zemědělské, dopravní a manipulační techniky
Zemědělská fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Oponent dizertačnej práce: doc. RNDr. Monika Božíková, PhD.
Pracovisko opONENTA: Katedra fyziky
Technická fakulta
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Téma práce :

VYUŽITÍ PLAZMOVÝCH TECHNOLOGIÍ KE ZLEPŠENÍ KVALITY KRMIV

Vyjadrenie k aktuálnosti témy

Predkladaná dizertačná práca Mgr. Zbyňka Havelky je venovaná v súčasnosti veľmi aktuálnej problematike využitia fyzikálnych metód, konkrétne plazmových technológií na zlepšenie kvality krmív pre hospodárske zvieratá. Z pohľadu praxe je nevyhnutné zamedziť resp. znížiť mieru kontaminácie krmív, potravín a poľnohospodárskych materiálov hubovými patogénmi a mikotoxínmi.

Vyjadrenie k splneniu cieľ'a dizertačnej práce

Nosný cieľ dizertačnej práce rozpracovať problematiku využitia nízkoteplotnej plazmy k eliminácii hubových patogénov z povrchu krmív používaných pre hospodárske zvieratá a otestovať možnosti využitia plazmy k znižovaniu mikotoxínovej záťaže je formulovaný jasne, jednoznačne a zrozumiteľne. Vhodne je doplnený o päť čiastkových cieľov resp. tematických celkov, ktoré poskytujú komplexný pohľad na koncepciu dizertačnej práce. Jednotlivé čiastkové ciele, ktorými bolo stanovenie parametrov plazmového výboja a ich závislosti od fyzikálno-technických parametrov systému, vývoj technického riešenia pre ošetrovanie krmív nízkoteplotnou plazmou, skúmanie vplyvu plazmy na vybrané nutričné parametre ošetrovaných krmív, zistenie vplyvu plazmy na hubové patogény a mykotoxíny boli vytýčené logicky. Všetky uvedené ciele sa doktorandovi v rámci riešenia dizertačnej práce podarilo splniť v plnom rozsahu.

Vyjadrenie k primeranosti metodiky práce a zvoleným metódam

Vzhľadom k vytýčeným cieľom doktorand veľmi vhodne a primerane zvolil metodiku práce, ktorú detailne rozpracoval v kapitole 3. a navrhol konkrétne metódy skúmania. V rámci metodiky charakterizoval jednotlivé prístroje a zariadenia ako aj použitý materiál, pozornosť venoval najmä plazmovej aparatúre. V metodike práce je veľmi vhodne zaradená aj charakteristika použitých pracovných postupov používaných pri stanovení vybraných výživových parametrov a stanovení koncentrácie DON a DON-3-Glc metódou HPLC-MS/MS.

Vyjadrenie k výsledkom dizertačnej práce

Prezentované výsledky práce korešpondujú s prezentovanou metodikou práce. V prvej časti je pozornosť venovaná stanoveniu vybraných parametrov plazmovej aparatúry, konkrétne bol stanovený prikon napájacieho zdroja, výkon plazmovej trysky, pracovné režimy plazmového výboja a boli merané jeho spektrálne charakteristiky. V druhej časti sa autor zameril na posúdenie vplyvu ošetrovania plazmou na výživové parametre. Tretia časť výsledkov prezentuje výsledky analýzy vplyvu plazmy na modelovú hubu *T. virens*, konkrétne bol zisťovaný vplyv vzdialenosti plazmovej hlavice od myceliálneho disku, vplyv UV žiarenia na klíčivosť spor a vplyv plazmy na huby na povrchu laboratórne infikovaných semien. Štvrtá časť výsledkov poskytuje pohľad na výsledky dizertačnej práce týkajúce sa vplyvu plazmy na obsah mikotoxínov, konkrétne koncentráciu DON a D3G, ďalej bola zisťovaná tepelná stabilita mykotoxínu DON a vplyv plazmového výboja na obsah mikotoxínov v jačmeni, pšenici a slade. V piatej podkapitole výsledkov autor predstavuje systém pre kontinuálne ošetrovanie vzoriek, pričom pozornosť venuje aj ekonomickému zhodnoteniu systému s pásovým dopravníkom.

Veľmi pozitívne hodnotím, že autor realizoval veľké množstvo experimentov, ktoré boli náročné z pohľadu realizácie, zvládnutia metodiky merania, ale aj technického zabezpečenia. Získané výsledky adekvátne vyhodnotil a jednotlivé výsledky konfrontoval s výsledkami iných autorov v rámci diskusie k jednotlivým častiam. Výsledky práce sú prezentované vo forme prehľadných tabuliek a relatívne prehľadných grafických závislostí, chýba však konkrétnejšie štatistické vyhodnotenie numerických výsledkov s využitím aspoň základných štatistických charakteristík (aspoň tam, kde je to možné), ale pozitívom je, že v kapitole 4.3 autor uviedol v tabuľkách aj chyby merania, ktoré sú zobrazené aj vo vybraných grafických závislostiach, ale možno by bolo vhodné uviesť k nim aj slovný komentár. V prípade 2D grafických závislostí vzhľadom na ich charakter by bolo možno vhodné vo vybraných prípadoch uviesť aj regresné rovnice a v prípade 3D závislosti na obr. 4.7 by bolo možno vhodné použiť príslušnú aproximáciu a uviesť jednotlivé koeficienty determinácie. Z pohľadu využitia výsledkov v praxi veľmi pozitívne hodnotím návrh a realizáciu systému pre kontinuálne ošetrovanie vzoriek.

Prínosy pre ďalší rozvoj vedy a techniky

Výsledky prezentované v dizertačnej práci sú významným prínosom pre ďalší rozvoj vedy a techniky v oblasti využívania nízкотеплотného kĺzavého plazmového výboja generovaného pri atmosférickom tlaku na elimináciu hubových patogénov obsiahnutých v krmivách a ako dokumentujú výsledky dizertačnej práce ošetrovanie plazmou vedie k zníženiu mykotoxínovej záťaže krmiva.

Pripomienky oponenta k dizertačnej práci:

- Práca je pomerne rozsiahla, ale diskusia k jednotlivým výsledkom dizertačnej práce je pomerne stručná, ale výstižná.
- V rámci výsledkov práce najmä v kapitole 4.3 sú prezentované konkrétne postupy realizácie, bolo by možno vhodnejšie ich zaradenie do metodiky práce.
- V práci je pomerne veľa voľného miesta najmä tam, kde sú uvedené tabuľky resp. obrázky. Vhodné by bolo efektívnejšie využitie voľných oblastí na umiestnenie popisného textu, čím by sa značne zmenšil aj celkový počet strán dizertačnej práce.
- Str. 35 ad 2) Uvádzate pretlak od 5 do 6 atm, vhodnejšie by bolo použiť zákonnú meráciu jednotku Pa.
- Str. 43 jednotku Nm^3/h by bolo vhodné uviesť v mocninnom tvare.

Otázky oponenta k dizertačnej práci:

1. V kapitole 4.1.4 sú prezentované rôzne režimy plazmového výboja, ktorý z prezentovaných režimov je optimálny z pohľadu ošetrovania biologického materiálu – krmiva?
2. Na obr. 4.14 pre vzdialenosť 3 cm chýba v závislosti klíčivosti spor huby *T. virens* od doby ošetrovania nanosený priebeh chýb merania, v tabuľke ho však uvádzate.
3. str. 64 na obr. 4.5 a obr. 4.6 sa jedná o lineárnu závislosť, alebo exponenciálnu závislosť teploty od prietoku pracovného plynu?
4. V kapitole 4.5.3 uvádzate ekonomické zhodnotenie systému s pásovým dopravníkom, vedeli by ste uviesť, o koľko % by vzrástla cena jednotkového množstva vybranej krmnej komodity po ošetrovaní plazmovou technológiou? (Uveďte príklad).

Záver

Záverom konštatujem, že doktorand splnil nosný cieľ i čiastkové ciele dizertačnej práce v stanovenom rozsahu a svojimi výsledkami prispel k rozvoju vedy a techniky, zároveň treba uviesť, že výsledky jeho dizertačnej práce sú vhodným príspevkom k zlepšeniu kvality krmív z pohľadu využitia moderných fyzikálnych metód ich ošetrovania. Svoju odbornú i vedeckú spôsobilosť doktorand dokumentoval aj rozsiahlou a veľmi kvalitnou publikačnou činnosťou (3 články v impaktovaných časopisoch, 20 článkov v recenzovaných časopisoch a 10 článkov v zborníkoch z konferencií) ako aj spoluautorstvom na patente a úžitkovom vzore. Z vyššie uvedených dôvodov

odporúčam

dizertačnú prácu Mgr. Zbyňka Havelky k obhajobe pred komisiou v študijnom odbore Obecná zootechnika a po úspešnej obhajobe **navrhujem udeliť doktorandovi akademický titul**

philosophiae doctor

Nitra, 10.6.2019


doc. RNDr. Monika Božíková, PhD.

Oponentní posudek na doktorskou disertační práci

Autor: Mgr. Zbyněk Havelka

Název: Využití plazmových technologií ke zlepšení kvality krmiv

Školitel: doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D. JUZF v Českých Budějovicích

Školitel specialista: RNDr. Pavel Kříž, Ph.D. JUPF v Českých Budějovicích

Školitel specialista: Ing. Andrea Bohatá, Ph.D. JUZF v Českých Budějovicích

Oponent: doc. Ing. František Lád, CSc. JU ZF v Českých Budějovicích

Předložená disertační práce se zabývá problematikou využití plazmových technologií v zemědělském sektoru za účelem zlepšení kvality krmiv v oblasti eliminace houbových patogenů z povrchu krmných surovin a ověřením možnosti využití plazmatu ke snižování jejich mykotoxinové zátěže. K eliminaci mykotoxinů v krmivech se v praktických podmínkách využívá celá řada metod. Hledání dalších postupů dekontaminace mykotoxinů je velmi přínosné. Vlastní práce má celkem 99 stran, rozdělení kapitol odpovídá tomuto typu spisu. Z četby habilitační práce je patrné, že se autor podrobně a v plné šíři seznámil s řešenou problematikou. Literární přehled je komplexní velmi hodnotnou kompilací. Je zpracován na 30 stránkách a zahrnuje věcné údaje, které korespondují s vlastními experimenty. Konkrétně se jedná o houbové organismy, vliv mykotoxinů na užitkové parametry hospodářských zvířat a jejich možná eliminace, včetně možnosti inaktivace hub a rozkladu mykotoxinů pomocí plazmatu. Zpracovaná literární studie řeší v odpovídajícím rozsahu i problematiku nízkoteplotního plazmatu a jeho vybrané aplikace v potravinářském průmyslu a krmivářství. Cíle disertační práce jsou výstižně definovány a konkretizovány v pěti hypotézách.

Kapitola „Materiál a metodika“ charakterizuje plazmovou aparaturu, použitý biologický materiál, uvádí podrobné metodiky stanovení vybraných výživových parametrů a metodiku stanovení koncentrace DON a konjugátu D3G. Metodika je samostatně vedena pro jednotlivé dílčí experimenty. Kapitola „Výsledky a diskuze“ vhodně navazuje na uvedený metodický postup. Je rozdělena na stanovení vybraných parametrů plazmové aparatury, vliv plazmatu na vybrané výživové parametry, vliv plazmatu na modelovou houbu *Trichoderma virans* a na vliv plazmatu na mykotoxiny. Členění obou předešlých kapitol je velmi přehledné. Výsledky experimentů nejsou podpořeny statistickou analýzou. Pro vyhodnocení experimentu (4.2.) je četnost měření malá.

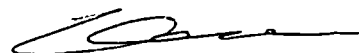
Závěr výstižně shrnuje poznatky z jednotlivých experimentů a potvrzuje splnění vytyčených cílů.

Připomínka a dotazy:

- Chybí statistické metody zpracování výsledků
- BNLV jsou stanoveny výpočtem – na základě jakého obsahu živin byla vypočtena hodnota BNLV na str. 70
- Vysvětlíte uvedený obsah živin (koncentraci živinových složek) – obrázek 4.13, nenašel jsem v textu tabulku obsahu živin
- Obrázek 4.13 nemá samostatnou odpovídající vypovídací schopnost, není uvedeno o jaké krmivo (surovinu) se jedná
- Cituji: „Hodnota průtoku pracovního plynu (30 SCFH) byla zvolena s ohledem na skutečnost, že při tomto průtoku je teplota pracovního plynu nejvyšší a lze tak očekávat největší vliv na výživové parametry krmiva“ – jaká konkrétní hodnota teploty je dle Vašeho názoru optimální ve vztahu k živinovým parametrům
- Jaké směry dalšího výzkumu doporučujete na základě zjištěných výsledků

Na základě výše uvedeného doporučuji práci přijmout a po její obhajobě udělit Mgr. Zbyňku Havelkovi titul Ph.D.

V Českých Budějovicích 6.6.2019



doc. Ing. František Lád, CSc.