

Oponentský posudek doktorské práce Mgr. Zuzany Blažkové „Využití bakterií *Thiobacillus denitrificans* k odstranění dusičnanů z odpadních vod“

Předložená disertační práce se věnovala zajímavému tématu autotrofní denitrifikace vod s využitím síry coby zdroje elektronů pro bakteriální respiraci. Denitrifikační procesy jsou celosvětově v různých modifikacích zkoumány i aplikovány, a tak považuji zaměření práce za vhodně zvolené. Dalším kladem práce je značné množství provedených experimentů a také velmi hodnotím příjemný styl textu i absenci překlepů či pravopisných chyb. Nelze též opominout, že ve finální fázi práce dospěla k požadovanému odstranění dusičnanových iontů a funkční denitrifikační koloně.

Na druhou stranu práce nenabízí nějaké nové myšlenky nebo náměty, ani nepřináší originální řešení určitého problému; jde o klasickou práci typu „byl zkoumán vliv toho na to“, takže mně v ní trochu chybí určitá novost a tím i výraznější vědecký přínos. Z celkového pohledu mám také dojem, že v předložené práci nejsou uvedeny všechny výsledky, které byly získány. Jednak některé metodiky, uvedené v experimentální části, nejsou vůbec doprovázeny konkrétními daty v části výsledkové (např. počty CFU na agarových půdách, koncentrace fosforečnanových iontů), a jednak u některých dalších měření autorka uvádí výsledky jen pro určité fáze testů. Např. by bylo velmi žádoucí znát koncentrace kyslíku v těch fázích vsádkových testů i kolonového experimentu, kdy docházelo k produkci dusitanů - pro posouzení, zda je skutečně tvorba jejich významnějších koncentrací spojena s určitými koncentracemi kyslíku (jak naznačeno v Teoretické části). I z tohoto důvodu je pak diskuse výsledků omezena víceméně na konstatování nalezených hodnot, aniž by se práce pokusila odpovědět na nějakou otázku typu „Proč ...?“

Tyto skutečnosti tak práci zařazují spíše do průměru.

Některé další konkrétní připomínky a otázky uvádím níže:

Teoretická část:

- Při uvádění informací z jiných prací velmi doporučuji uvádět, zda publikovaná data byla získána s čistými kulturami bakterií (a jakými) nebo s technickými smíšenými (čistírenskými) kulturami
- Na str. 30 ve větě „V genomu bylo identifikováno celkem 2 827 genů“ chybí slovo „strukturních“ nebo dovětek „... genů pro proteiny“

Experimentální část:

- U média S6 mně překvapivě chybí zdroj uhlíku a prosím potvrdit, zda je správně navážka u KH_2PO_4
- Kultivační doba heterotrofních bakterií na R2A agaru (3 dny) je poměrně málo, řada heterotrofů, zejména vodních, roste na této živné půdě pomalu a vyžaduje delší inkubaci
- Lze uvést přibližnou hustotu bakterií *T. denitrificans* v inokulu, dávkovaném do kolony?
- Bylo ověřováno, jaké látky se vylouží z použité síry a vápence?
- Byla ověřována koncentrace P v kontrolních vsádkových testech, kde nebyly přidány fosforečnany (vnos inokulem)?
- Není zřejmé, jak byly saturovány potřeby stopových prvků pro *T. denitrificans* (s výjimkou pokusů s pitnou vodou). Jak tedy? Možná jsem něco přehlédl...
- Jakými způsoby by bylo možné výrazně zkrátit náběhovou fázi u vsádkových testů a dobu omezené denitrifikace u bakteriální kolony?
- Lze na základě získaných dat potvrdit či vyvrátit, že je tvorba dusitanů spojena s určitými koncentracemi kyslíku v prostředí?

Z hlediska celkového hodnocení mohu tedy zopakovat, že práce dospěla k požadovaným výsledkům odstranění dusičnanů autotrofní bakteriální denitrifikací jak ve vsádkových testech, tak v dlouhodobém provozu bakteriální kolony. Práce je sepsána vhodným stylem, a ačkoliv její výsledky víceméně jen doplňují již existující vědecké poznatky o tomto bakteriálním procesu, má svou hodnotu a bude moci být na ni navazováno, pokud bude zapotřebí proces ještě intenzifikovat. Po zodpovězení otázek, uvedených výše v posudku (k Experimentální části), a po zhodnocení publikační činnosti studentky ve vztahu ke kritériím, požadovaným na Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice, doporučuji práci přijmout k obhajobě.

Ve Zlíně dne 29. července 2020

doc. Jan Růžička, Ph.D.
FT UTB ve Zlíně



Posudek oponenta doktorské disertační práce

Studentka:	Mgr. Zuzana Blažková
Školitel: prof.	doc. Ing. Jiří Cakl, CSc.
Název práce:	Využití bakterií <i>Thiobacillus denitrificans</i> k odstranění dusičnanů z odpadních vod
Studijní obor:	Environmentální inženýrství

Předložená doktorská disertační práce je sepsána ve formě standardní výzkumné zprávy a obsahuje kapitoly *Úvod, Teoretická část, Cíle disertační práce, Experimentální část, Výsledky a diskuse, Závěr, Literární zdroje a Přílohy*. Denitrifikace dusičnanů byla prováděna autotrofně pomocí bakterie *Thiobacillus denitrificans* DSM No. 12475 na substrátu, kterým byla elementární síra, a to jak ve vsádkovém, tak i průtočném uspořádání. Na několika typech vod chudých na organické látky s obsahem dusičnanů pod 100 mg.l^{-1} byly sledovány vlivy teploty, velikosti použité frakce síry ve směsi s vápencem (úprava pH), míchání a přídavek fosforu a Fe^{3+} v různých koncentracích do reakční směsi. Poznatky získané ve vsádkovém uspořádání pak byly aplikovány při studiu průtočného uspořádání v náplňové denitrifikační autotrofní koloně. Výše uvedenou metodou se podařilo dosáhnout při autotrofní denitrifikaci uspokojivého snížení koncentrace dusičnanů téměř k nulovým hodnotám, aniž by docházelo k uvolňování toxických dusitanů nebo nadměrné tvorbě síranů. Uvedená metoda za využití autotrofní bakterie *T. denitrificans* je sice pomalejší, ale využití síry jako anorganického substrátu je levnější alternativou organického substrátu, který vyžadují heterotrofní organismy.

Vlastní disertační práce zahrnuje velké množství prvotních laboratorních experimentů, které jsou logicky uspořádány od vsádkových pokusů v laboratorních lahvích, až po průtočné systémy v koloně za různých experimentálních podmínek.

Naměřené výsledky jsou odpovídajícím způsobem diskutovány a jsou experimentálně výborně podloženy.

Studentka výsledky své bohaté práce publikovala v 5 mezinárodních odborných publikacích a prezentovala je rovněž formou ústních prezentací a posterů na řadě mezinárodních a národních konferencí. Dosažené výsledky jsou zahrnuty také v patentu.

Vlastní práce je koncipována jasně a stručně, má celkem 99 stran, obsahuje 31 obrázků a grafů a 22 tabulek. Citací odborné literatury je celkem 115. Celá práce je psána dobrou češtinou bez zjevných překlepů, je čtivá a dosažené výsledky jsou jasně formulovány. Autorka prokázala velmi dobrou orientaci v zadané problematice.


K práci mám následující připomínky a dotazy:

- V kapitole 2.3 je popisována bakterie *Thiobacillus denitrificans*. Domnívám se, že není jasně vymezen rozdíl mezi bakteriálním druhem a termínem „kmen bakterií“.
- Při kultivaci kontaminujících bakterií bylo použito Živného agaru No. 2 a kultivační půdy R2-A, jejíž složení v práci postrádám.
- Byl při měření zákalu bakteriální suspenze pomocí denzitometru DEN-1B tento přístroj kalibrován na plastové zkumavky?
- Identifikace bakterií *T. denitrificans* byla provedena na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. V kapitole není dostatečně popsána metodika, eventuálně uveden literární odkaz na původní práci, ve výsledcích je bez jakékoliv dokumentace pouze konstatováno, že byla několikrát pomocí molekulárně biologických metod ověřena přítomnost tohoto mikroorganismu v náplni.

Závěrem mohu konstatovat, že i přes uvedené připomínky předložená doktorská disertační práce splňuje všechny náležitosti kladené na doktorské práce ve smyslu aktuálního zákona o vysokých školách.

Práci proto doporučuji přijmout k obhajobě a po úspěšném obhájení udělit Mgr. Zuzaně Blažkové titul Ph.D.

V Pardubicích dne 10. 8. 2020


doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd
Fakulta chemicko-technologická
Univerzita Pardubice
Studentská 573, 532 10 Pardubice