

Oponentní posudek disertační práce Mgr. Anastasie Sedova s názvem

EFFICIENT BIOREMEDIATION OF TOXIC WASTE BY NEW NITRILASES

Posudek vypracoval: prof. RNDr. Pavel Danihelka, CSc.

Předložená disertační práce se zabývá tématem, které je vysoce aktuální, a to možnostmi bioremediace vod kontaminovaných volnými kyanidy za pomoci biotechnologií – enzymy nitrilázami připravenými geneticky modifikovanými mikroorganismy. Aktuální je jak po stránce rozvoje vědní disciplíny, kdy jsou využívány KET – Key Enabling Technologies - tak po stránce potenciálu aplikace výsledků do praxe. Možnost aplikace je však ještě ve svých počátečních fázích, práce je tak do značné míry v oblasti základního výzkumu, nicméně perspektivního.

Primárním cílem této práce byla příprava nových biokatalyzátorů pro a vyhodnocení jejich vhodnosti pro budoucí využití, např. pro biologickou degradaci volného kyanidu. sanace průmyslových odpadních vod nebo kontaminovaného životního prostředí, a to za účelem ochrany obyvatelstva. V této části byla zcela splněna příprava nových biokatalyzátorů, vyhodnocení jejich vhodnosti však zůstalo na částečně spekulativní úrovni, což však nelze disertantce vyčítat, neboť experimentální ověření by si vyžádalo práci v rozsahu minimálně další disertace.

Konkrétní cíle byly naplněny v souladu se zadáním (str. 14)

Práce je přiměřeně rozsáhlá, obsahuje včetně příloh zhruba sto čtyřicet stránek textu, přes 60 obrázků a stejně tak 11 tabulek. Práce je napsána přehledně, srozumitelným jazykem, graficky dobře upravená a po formální stránce jsem neshledal žádné významnější nedostatky. Pozitivně oceňuji kvalitní bibliografii z velké části i zahraniční.

Metody a postupy využité k řešení práce jsou adekvátní, na úrovni současného poznání a vysoce multidisciplinární. To také vedlo k nutnosti spolupráce se specialisty v několika vědních disciplínách, což potvrzuje schopnost disertantky vědecky pracovat v komplexní výzkumné komunitě a transponovat z jedné disciplíny do druhé. Práce je také doprovázena pečlivou bibliografickou rešerší. Práce obsahuje seriózně zpracovaný přehled technologií k dekontaminaci vod s obsahem kyanidů včetně nově se objevujících technologií a kvalitní legislativní rozbor zohledňující mezinárodní regulaci.

Výsledky disertační práce jsou vědecky zajímavé a pravděpodobně i s aplikačním potenciálem. Z mého pohledu je, kromě kvalitních přírodovědeckých výsledků, zajímavý také význam práce pro rozvoj studijního programu Ochrana obyvatelstva po koncepční a myšlenkové stránce, protože otevírá hned dvě zajímavé oblasti: provazbu mezi oborem Ochrana obyvatelstva a ochranou životního prostředí, a

propojení ochrany obyvatelstva, obvykle chápané jako ochrana před rychle probíhajícími událostmi, a environmentálními disciplínami jako je udržitelnost, cirkulární ekonomika a kvalita života.

K disertaci mám následující dotazy a připomínky:

V Tabulce 1 nejsou u koncentrací kyanidů uvedeny jednotky, ve kterých je koncentrace vyjádřena. V mnoha případech je také vyjádřena koncentrace na 4 až 5 platných cifer a mnohdy bez uvedení nejistoty, což je v průmyslových procesech i životním prostředí nereálná přesnost.

V reálných průmyslových procesech odpadní vody jen velmi zřídka obsahují pouze volné kyanidy, ale odpadní vody jsou obvykle komplexní směs, obsahující například různé kovy, fenoly atd. To je v práci reflektováno modelovými odpadními vodami, např. koksárenskými. Není nebezpečí, že další komponenty kontaminace budou komplikovat dekontaminační proces s využitím nitriláz, a to nejen tvorbou kyanidových komplexů, ale i konkurenčními reakcemi? Lze považovat simulované odpadní vody (tabulka 5) za dostatečně reprezentativní nebo se jednalo jen o reprezentativní příklad?

Významný dopad na bezpečnost životního prostředí i obyvatel mají kromě dlouhodobých kontaminací povrchových vod kyanidy také environmentální havárie, při nichž dojde k akutní intoxikaci vysokými koncentracemi. O těchto haváriích se disertantka zmiňuje v části práce zabývající se legislativou. Klasickým příkladem je havárie odkaliště v Baia Mare v Rumunsku v roce 2000, kdy došlo k úniku asi 300 tun kyanidů a otravě mnoha set kilometrů řek. V České republice jsou havárie s kyanidy také popsány, např. Bečva 2020, Draslovka Kolín 2006 a další. Problémem je, že pokusy o chemickou dekontaminaci oxidačními prostředky (chlornanem) situaci ještě zhorší, protože nezreagovaný chlornan je také toxický. Existuje naděje, že by dekontaminace s použitím málo akutně toxických nitriláz mohla být efektivním prostředkem takovéto in situ dekontaminace?

Formamid jako produkt dekontaminace nemá významnou akutní toxicitu, ale je uveden pod indexovým číslem 616-052-00-8 nařízení (ES) č. 1272/2008 v příloze VI části 3 tabulce 3.1 jako toxický pro reprodukci, rep. 1B (H360D: "Může poškodit nenarozené dítě."). I když formamid není relevantní pro identifikaci látky jako vzbuzující zvlášť velké obavy (SVHC) v souladu s čl. 57 písm. c) nařízení (ES) č. 1272/2008 pro posouzení nebezpečnosti pro životní prostředí a PBT, vPvB, stále je otevřená obava z toxicity pro reprodukci. Vyvstává tedy otázka: jak důležitá bude z hlediska bezpečnosti pro obyvatelstvo tato reprodukční toxicita v případě průmyslové remediace kyanidů novými nitrilázami?

Má potenciální technologie využívající principy popsané v disertaci šanci být ekonomicky přijatelná?

V experimentální části jsou popsány jak práce prováděné přímo disertantkou, tak dalšími výzkumníky. Mohla by disertantka upřesnit, co je její vlastní příspěvek?

Při studiu stability NitEg během skladování při 4°C je p 1 dnech pokles specifické aktivity následovaný vzrůstem. Je to způsobeno nejistotou měření nebo skutečně aktivita fluktuuje?

Při celkovém hodnocení práce mohu konstatovat, že přes drobné výhrady celkově pozitiva práce významně převažují, práce prokázala schopnost disertantky zvládnout nesnadné a komplexní téma, zadané cíle byly v dostatečné míře naplněny a tak práce splňuje požadavky dané českým právním řádem na doktorskou disertační práci. Z toho důvodu disertační práci Mgr. Anastasie Sedové s názvem „EFFICIENT BIOREMEDIATION OF TOXIC WASTE BY NEW NITRILASES“ doporučuji k obhajobě.

V Ostravě dne 20. března 2024

prof. RNDr. Pavel Daniheika, CSc.