



Katedra kvality a bezpečnosti potravin
Jaroslav Havlík
Docent zemědělské chemie

tel: +420 777 558 468
email: havlik@af.czu.cz

25. března 2024

Oponentní posudek doktorské disertační práce

Anastasiie Sedová

Efficient Bioremediation of Toxic Waste by New Nitrilases

Doktorská práce Anastasiie Sedové na Českém vysokém učení technickém v Praze na Fakultě biomedicínského inženýrství se zaměřuje na efektivní bioremediaci toxického odpadu zkoumáním nových nitriláz, konkrétně cílených na remediaci prostředí kontaminovaných kyanidem. Kyanidy, zejména kyanovodík (HCN) a jednoduché kyanidy (NaCN, KCN), jsou vysoce toxické sloučeniny, které představují environmentální a zdravotní rizika kvůli své přítomnosti v různých průmyslových odpadních vodách, včetně těžby, farmaceutického průmyslu a zemědělství.

Díčí výsledky práce byly dříve publikovány v 4 vědeckých článcích a mnoha konferenčních sděleních. Zahrnuje identifikaci, exprese a charakterizaci specifických nitriláz a kyanid hydratů z hub, hodnocení jejich katalytických vlastností a posouzení jejich potenciálu v médiích kontaminovaných kyanidem. Zjištění zdůrazňují biotechnologický význam těchto enzymů, obzvláště poukazují na vysokou aktivitu a stabilitu kyanid hydratasy z *Exidia glandulosa* (NitEg), která vykazuje slibné vlastnosti pro bioremediaci kyanidu v různých environmentálních podmínkách, včetně alkalického pH a přítomnosti průmyslových znečišťujících látek.

Práce je bez na první pohled zjevných chyb, jen např. na straně 18 je chyba ve světové produkci koksu, dále by bylo vhodné důsledně dodržovat styl formátování některých znaků, např. rozdělovníku mezi čísla, který se píše jako symbol n-dash bez mezer. Práce je vhodně strukturována, s dostatečným rozsahem, čerpá z relativně nové literatury. Oceňuji tabulky 3 a 4, které demonstrují předmět a detaily analytů stanovovaných v biologických testech. Oceňuji, že je uvedeno, kdo předmětné analýzy např. na LC-MS prováděl nebo kdo byl zodpovědný za expresi proteinů. Do jaké míry se na těchto specifických analýzách projevovala i autorka? U grafů s aktivitami nejsou definovány vertikální úsečky, bylo by dobré také zmínit v každém popisku n. Proč jsou některé chybové úsečky tak malé nebo chybějící? Byl počet replikátů konstantní a o jaké replikáty se jedná (technické/biologické)? Je pH 8 při kterém testy probíhaly dostatečné pro skutečné situace u uvažovaných průmyslových vod?

Porovnání zjištění Sedové s aktuální literaturou ukazuje na významný přínos pro oblast bioremediace. Ačkoliv enzymatická bioremediace kyanidů není zcela novinkou, Basidiomycota jsou pro tento účel relativně neprozkoumaným taxonem a jejich detailní charakterizace přispívá k vývoji nových efektivnějších a cenově dostupnějších zdrojů a řešení v této oblasti. Výzkum Sedové přispívá k tomuto se rozvíjejícímu příběhu nejen identifikací a charakterizací nových enzymů, ale také demonstrací jejich praktické aplikace v simulovaných průmyslových odpadních vodách.

Mám k práci následující otázky:

S ohledem na variabilitu složení průmyslových odpadních vod, jak si enzymy identifikované v této práci vedou v přítomnosti širšího spektra kontaminantů, které nebyly testovány (např. těžké kovy, organická rozpouštědla)? Nauvažovali jste o jejich využití v testech podobně jako tak činili jiní autoři?

Vzhledem k tomu, že enzymy musejí mít toleranci k zásaditému pH, a u řady hub je právě známa tato tolerance zřejmě geneticky kódována, bylo by vhodné tento aspekt zahrnout při hledání vhodných genů/enzymů v Genebank?

Přes mírné připomínky je práce Anastasie Sedové představuje významný krok vpřed v bioremediaci odpadů s kyanidy. Práce nejen rozšiřuje míru porozumění enzymatické bioremediace, ale také otevírá cesty pro budoucí výzkum a aplikace v oblasti ochrany životního prostředí a managementu průmyslových odpadů. Práci vřele doporučuji k obhajobě a navrhuji udělení titulu Ph.D.

Jaroslav Havlík