

Oponentský posudek disertační práce Mgr. **Petra Gabriela**  
*“Optické metody kontroly fermentačních procesů a hodnocení kvality jejich produktů”*

Předložená disertační práce se zabývá výzkumem koloidní stability a trvanlivosti piva a fermentačních vlastností pivovarských kvasinek optickými metodami. Hlavní důraz práce je kladen na vývoj techniky a metodiky optických měření v pivovarské praxi. Ačkoliv je v současné době k dispozici celá řada přístupů k hodnocení kvality a trvanlivosti piva, stejně jako vitality kvasinek (schopnost fermentovat substrát) používaných v pivovarství, je stále zapotřebí vyvíjet dokonalejší zařízení a postupy zajišťující maximální přesnost a reprodukovatelnost výsledků.

Samotná práce, obsahující 115 stran textu, se skládá ze 3 hlavních částí. V teoretické části jsou velmi přehledně a srozumitelně rozebrány jak základy elastického rozptylu světla, tak současné znalosti týkající se procesu produkce piva s důrazem na problémy při zajišťování jeho koloidní trvanlivosti. Rovněž je v této kapitole věnována patřičná pozornost kvasinkám, jejichž vitalita (schopnost kvasinek fermentovat substrát) je velmi důležitým faktorem při výrobě piva.

Druhá kapitola je věnována (1) popisu původní měřicí aparatury DATTS 2000, která umožňuje provádět měření a vyhodnocování celé řady metod v různých režimech měření a na jejímž vývoji, konstrukci a realizaci se autor podílel. (2) rozboru různých měřicích módů implementovaných do původního softwarového programu MZN CONTROL pro řízení DATTS 2000, který byl vyvinut autorem předkládané práce a (3) přehledu analytických metod použitých v práci včetně popisu přípravy vzorků, pracovního postupu i způsobů vyhodnocení jednotlivých měření. Součástí metody testu acidifikační síly (AP) pro měření vitality kvasinek uvedené v závěru kapitoly je i popis aparatury YATA, která je modifikací aparatury DATTS a která byla vyvinuta speciálně pro měření AP testů. Na konstrukci této aparatury se autor rovněž podílel.

Výsledky práce jsou uvedeny v kapitole 5 (Experimentální část). Tato kapitola je složena z několika částí. První část se zabývá možností využití dvouúhlového měření rozptylu světla pro rozlišení velikosti a typů zakalotvorných částic. Hlavním a pro praxi velmi důležitým výsledkem této studie je, že tento způsob měření umožňuje odlišit v pivu čistě koloidní zákal od zákalu způsobeného křemelinou a mikroorganismy.

Ve druhé části se doktorand zabýval optimalizací nefelometrických titračních testů koloidní stability piva. Tato kapitola představuje velmi rozsáhlý soubor experimentální práce, zabývající se vlivem celé řady vnějších faktorů na tvorbu protein-polyfenolových komplexů s cílem definovat experimentální podmínky pro dosažení maximální reprodukovatelnosti měření. Mezi nejvýznamnější výsledky této komplexní studie se bezesporu řadí (1) modifikace nefelometrického titračního testu na obsah tanoidů, která umožnila testování hluboce stabilizovaných piv s nízkým obsahem zakalotvorných polyfenolů a (2) úprava způsobu dávkování titrantu a vyhodnocení testu na obsah citlivých proteinů, díky které se výrazným způsobem zvýšila reprodukovatelnost testu a celý průběh testu se tím podstatně přiblížil skutečným podmínkám během stárnutí vzorku.

Ve dvou následujících kapitolách se autor věnuje optimalizaci metod, které jsou důležité při výběru kvasinek pro jejich další využití v pivovarství. Jak střední velikost pivovarských kvasinek, tak jejich vitalita jsou důležitými faktory, které souvisejí s fyziologickým stavem buněk a mohou výrazně ovlivnit rychlost fermentačních procesů. Výrazným přínosem autora k

měření rychlosti sedimentace kvasnic byla aplikace této metody na aparaturu DATTS 2000 a zavedení kalibrační procedury pomocí kulových částic silikagelu. V současné době je možné metodu použít v podmínkách pivovarských provozů.

Poslední kapitola disertační práce se zabývá optimalizací metody měření vitality kvasinek pomocí acidifikačního testu. Zejména v této části doktorand předvedl precizní experimentální práci. Podařilo se mu zavést acidifikační test vitality kvasinek na aparaturu YATA a optimalizovat jej na vzorcích kvasinek pivovarského kmene 95. Pro zvýšení citlivosti testu byl dále navržen a otestován tzv. titrační acidifikační test. V rámci optimalizace AP testu byl studován vliv celé řady faktorů (teploty, doby a způsobu skladování, přípravy vzorků, hladování buněk za aerobních podmínek, koncentrace buněk a glukosy, atd.), které jsou často opomíjeny a přitom mohou výrazně ovlivnit výsledky. Cílem této studie bylo dosáhnout maximální hodnoty AP s maximální reprodukovatelností. V rámci práce byla rovněž navržena a otestována metoda bezkontaktní optické detekce AP testu pomocí barevného indikátoru pH, citlivého ke změnám pH v širokém rozmezí. Problémy spojené s deformací naměřených absorpčních spekter indikátoru v důsledku vícenásobného rozptylu při vyšších koncentracích kvasinek se doktorand pokusil řešit pomocí imobilizace indikátoru ve vrstvě polymeru. Dosavadní výsledky ukázaly, že tento způsob detekce změn pH je sice použitelný pro bezkontaktní měření, ale rychlost jeho odezvy je velmi pomalá.

Závěrem je možno konstatovat, že práce významným způsobem přispěla k vývoji metodiky a techniky pro výzkum koloidní stability a trvanlivosti pív a fermentačních vlastností pivovarských kvasinek

Práce je napsána v českém jazyce, má dobrou grafickou úpravu. Globálně lze konstatovat, že použité přístupy jsou adekvátní řešenému problému a z dosažených původních výsledků jsou vyvozovány věrohodné závěry.

K práci mám dva dotazy:

- Při studiu interakce indikátoru pH (bromkresolové zeleně) s kvasinkami se ukázalo, že pokud kvasinky neacidifikují, nedochází k poklesu koncentrace indikátoru ve vnějším prostředí. Pokud je však přidána glukosa a buňky začnou acidifikovat, dojde k výraznému snížení extracelulární koncentrace indikátoru v důsledku vstupu do buněk. Ráda bych se zeptala, jak si vysvětlujete tento efekt.
- Kromě imobilizace indikátoru pH ve vrstvě polymeru, která vede k posunu absorpčních maxim oproti volné formě, zabývali jste se i jiným způsobem separace kvasinek, který by umožnil odstranit vliv vícenásobného rozptylu při vyšších koncentracích kvasinek na absorpční spektra indikátoru pH?

Předkládaná práce má celkově velmi dobrou úroveň, která zcela jistě vyhovuje požadavkům kladeným na disertační práci. Autor jasně prokázal, že je schopen samostatné tvůrčí práce. Proto doporučuji tuto práci k obhajobě a po jejím provedení udělit autorovi vědecko-akademický titul Ph.D.

V Praze, dne 15. května 2009



Doc. RNDr. Dana Gaskova, CSc.  
Fyzikální ústav Univerzity Karlovy v Praze