Sekce: **Biotechnologie I (přednášková)**
Knihovna ústavu, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.
Členové: Dr. Ing. Petra Patáková
Ing. Martin Halecký, Ph.D.
Ing. Lucie Siříšťová, Ph.D.

Studenti: Bc. Lucie Homolová
Bc. Tomáš Humhal
Bc. Jan Kadlec
Bc. Tomáš Kroupa
Bc. Ivana Lisová
Bc. Adéla Petříková
Bc. Michaela Poštulková
Bc. Milada Smetková
Bc. Lucie Švejdová

Sekce : Biotechnologie I

Inaktivace mikroorganismů působením nanočástic železa nulové valence

Autor: Bc. Lucie Homolová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. RNDr. Vladimír Jirků, DrSc.

Tato práce se zabývá problematikou biologického účinku nanočástic železa nulové valence, které jsou v současnosti využívány technologiemi remediace půdy (spodních vod). Velký reakční povrch a reaktivita tohoto agens determinuje (mimo další) jejich potenciální biostatický / biocidní vliv na přítomnou mikroflóru, s příslušnými důsledky na paralelně relizované bioremediační zásahy. V této souvislosti je předložená práce zaměřena na získání primární (orientační) informace o interferenci daného agens s reprodukční aktivitou jednobuněčného organismu prokaryotního a eukaryotního buněčného typu.

Sekce: Biotechnologie I

Vliv obsahu intracelulárního škrobu na reologické vlastnosti řasové suspenze

Autor: Bc. Tomáš Humhal
Ročník: M2
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství
Školitel: doc. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Práce se zaměřuje na řasovou biotechnologii zaměřující se na výrobu biopaliva etanolu, který se získá fermentací zkvasitelných cukrů získaných z řasových polysacharidů (škrobu a celulózy). Produkční mikroorganismus je zelená řasa *Chlorella vulgaris*, kterou lze kultivovat při specifických podmínkách vyvolávajících zvýšení obsahu intracelulárního škrobu (až 60% hm. suché biomasy). Po separaci řasové suspenze se škrob převede na zkvasitelné cukry buď pomocí amylolytických enzymů anebo kyselou hydrolýzou. Pro tyto technologické kroky je viskozita buněčné suspenze parametrem, který výrazně ovlivňuje jejich průběh a to zejména přes jednotkové operace míchání a dopravu pomocí čerpadla. Řasová suspenze vykazuje chování nenewtonské kapaliny, a proto se její viskozita v průběhu míchání mění. Dále se mění viskozita v závislosti na množství škrobu, který ve vodných roztocích bobtná a mazovatí, a v závislosti na teplotě. V přednášce budou presentovány výsledky kultivace řas v poloprovozním fotobioreaktoru, hydrolýzy škrobu a viskozity buněčné suspenze.

Sekce: Biotechnologie I

Separace 1-butanolu z fermentačních medií

Autor: Bc. Jan Kadlec
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. Ing. Mojmír Rychtera, CSc.

Práce je orientována na separaci 1-butanolu z modelových roztoků a medií po aceton - butanol-ethanolové fermentaci bakteriemi rodu *Clostridium.* Butanol je silný inhibitor fermentace a proto by jeho odstraňování z média v průběhu fermentace mohlo zvýšit rychlost biosyntézy. K separaci byla použita destilace za atmosférického tlaku a stripování dusíkem s následnou absorpcí na aktivním uhlí. Stripovací pokusy jsou hodnoceny jednak na základě výtěžnosti, jednak na základě rychlosti stripování (rychlostní konstanty procesu). Na jednom vybraném příkladě vsádkové fermentace je provedena analýza procesu z hlediska možnosti aplikace stripování k modifikaci procesu. Desorpci butanolu se nepodařilo v laboratorních podmínkách zajistit. Dále byla využita metoda kondenzace butanolu (vymrazování) ze stripovacího plynu. Jednotlivé metody jsou bilancovány z hlediska výtěžku 1-butanolu z modelového média a v konečné fázi bylo provedeno orientační ekonomické zhodnocení metody stripování.

Sekce : Biotechnologie I

Vliv antimikrobních látek na vlastnosti buněčného povrchu bakterií

Autor: Bc. Tomáš Kroupa
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Dagmar Pospíšilová

Vlastnosti povrchu bakteriální buňky určují její schopnost adherovat na pevné povrchy. Z fyzikálně-chemických parametrů adhezi nejvíce ovlivňuje hydrofobita buněčného povrchu a jeho náboj. Antimikrobní látky působící na povrchové struktury bakterií mohou hodnoty těchto parametrů měnit, a tím ovlivňovat bakteriální schopnost adheze.
Tato práce se zaměřuje na stanovení ξ-potenciálu a hydrofobity buněčného povrchu bakterií *Pseudomonas fluorescens* a *Rhodococcus erythropolis*, které byly vybrány pro podobnost povrchových struktur s patogenními *P. aeruginosa*, respektive *Mycobacterium tuberculosis*. U vybraných mikroorganizmů byl sledován vliv cefalosporinu C, bacitracinu, polymyxinu B a chlorhexidinu v koncentracích odpovídajících minimálním inhibičním koncentracím (MIC) jednotlivých látek pro daný mikroorganizmus na změnu ξ-potenciálu a hydrofobity buněčné stěny. Hydrofobita buněčného povrchu byla stanovena metodou určení kontaktních úhlů a metodou MATH.

Sekce : Biotechnologie I

Mikroenkapsulace probiotických mikroorganismů

Autor: Bc. Ivana Lisová
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýství
Školitel: doc. Ing. Milada Plocková, CSc., Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Jedním z hlavních kriterií pro výběr probiotických mikroorganismů je jejich odolnost vůči podmínkám trávicího traktu člověka. Na životaschopnost probiotických mikroorganismů negativně působí kyselé pH žaludku, žaludeční šťávy a zvýšená koncentrace žlučových solí. Jednou z možností zvýšení odolnosti probiotických mikroorganismů při průchodu trávicím traktem člověka je emulzní mikroenkapsulace. Hlavním cílem práce bylo připravit mikrokapsle s obsahem buněk komerčních probiotických mikroorganismů *Lactobacillus casei* LAFTI L26 a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, optimalizace postupu emulzní mikroenkapsulace a zjištění základních vlastností připravených mikrokapslí. Výsledky FISH metody i mikroskopické pozorování po barvení potvrdily úspěšnou přípravu mikrokapslí. Velikost mikrokapslí se pohybovala okolo 100 μm. Velikost mikrokapslí s obsahem *Lactobacillus casei* LAFTI L26 byla v průměru o 3 μm větší než u mikrokapslí s obsahem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12. Koncentrace buněk uvnitř mikrokapslí se pohybovala mezi 10^9-10^{10} KTJ·g^{-1}.

Sekce : Biotechnologie I

Stanovení plísňové kontaminace sladovnického ječmene pomocí metody PCR

Autor: Bc. Adéla Petříková
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Sladovnický ječmen je hlavní surovina pro výrobu sladu a následně piva. Jelikož pivo je považováno za potravinu, jsou na něj kladeny vysoké hygienické požadavky. Ty můžeme zajistit použitím neznečištěných surovin. Plísňová kontaminace na sladovnickém ječmeni je obzvláště nebezpečná z hlediska produkce mykotoxinů, které mohou přežívat celý výrobní proces a v konečném výrobku způsobovat vady (např. gushing).
Jednou z možností určení plísní narostlých na ječmeni je metoda PCR. Jedná se o molekulárně biologickou metody, kdy se pracuje s DNA. Pro izolaci DNA byly použity izolační kity od firmy ROCHE a od firmy Elizabeth Pharmacon. DNA byla syntetizována *in vitro* v přístroji LightCycler® 2.0 Instrument (ROCHE). Díky vhodnému teplotnímu režimu a použití správných primerů a prób došlo k nasyntetizování DNA, které se projevilo nárůstem fluorescence. Tak byly na sladovnickém ječmeni identifikovány vybrané druhy plísní.

Sekce : Biotechnologie I

Vliv kvality pivovarských surovin na přepěňování piva

Autor: Bc. Michaela Poštulková
Ročník: M1
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Jednou z charakteristických vlastností piva je tvorba pěny a většina spotřebitelů ji považuje za jeden z hlavních znaků dobrého piva. Pokud však není pivní pěna stabilní a po otevření pivní lahve nebo plechovky „vyřine“ neboli přepění, má to na konzumenty negativní vliv. Takový jev se nazývá gushing nebo-li přepěňování piva a je dělen na primární a sekundární. Primární je způsoben především kvalitou vstupních surovin a sekundární technologickou stránkou výroby piva. Proto je velmi důležité se zabývat kvalitou vstupních surovin, mezi které patří zejména ječmen a z něj vyrobený slad. Obě tyto suroviny mohou do značné míry gushing ovlivňovat, neboť jsou náchylné plísňové kontaminaci, která souvisí s tzv. primárním přepěňováním. Jako gushingové faktory se považují hydrofobiny, které jsou těmito houbami produkované. Ty ovšem nevysvětlují jev sekundárního gushingu, proto i u nekontaminovaného ječmene a sladu může gushing vznikat. V minulých letech jsme se zabývali metodou na stanovení gushingu – tzv. třídenním třepacím testem vyvinutým laboratoří Carlsberg. Přes veškeré snahy je tato metoda stále málo robustní a proto se nyní soustředíme na přesnější metody sahající až na molekulární úroveň popisující tento jev a to především testem ELISA.

Sekce: Biotechnologie I

Ovlivnění tvorby a stability biofilmu stilbeny

Autor: Bc. Milada Smetková
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.

Mikrobiální biofilmy jsou trojrozměrné, heterogenní společenství mikroorganismů, která se irreverzibilně sdružují a vytváří tenkou vrstvu na povrchu těles, což jim umožňuje kolonizovat rozmanitá prostředí.
Stilbeny, mezi které patří resveratrol a jeho analoga, pterostilben a pinosylvin, jsou polyfenolické látky produkované některými druhy rostlin jako reakce na stresové podmínky (tzv. fytoalexiny). V posledních letech jim je věnován obrovský zájem a to především vzhledem k jejich antioxidačním, protizánětlivým a antimikrobiálním účinkům.
Cílem této práce je zjistit do jaké míry jsou stilbeny schopné ovlivnit hydrofobitu buněk bakterie *Pseudomonas fluorescens* v exponenciální a stacionární fázi růstu. Testování hydrofobity buněk slouží ke zjištění schopnosti buněk adherovat na různé typy povrchů a je determinována jejich fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Ke stanovení hydrofobity buněčného povrchu byly použity dvě metody: metoda MATH a měření kontaktních úhlů. Na základě získaných výsledků je provedeno porovnání jednotlivých stavů buněčné hydrofobity dané populace.

Sekce: Biotechnologie I

Vliv oxidu siřičitého na tvorbu senzoricky aktivních karbonylových sloučenin během pivovarské technologie

Autor: Bc. Lucie Švejdová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Karabín Marcel, Ph.D.

Oxid siřičitý (SO_2), mající původ především v metabolických změnách sirných aminokyselin probíhajících během kvašení a dokvašování, plní v pivovarské technologii celou řadu funkcí. Kromě jeho antioxidačních vlastností je nejvýznamnější jeho schopnost vázat nežádoucí karbonylové sloučeniny do formy senzoricky neaktivních aduktů. Tento proces se podílí na zlepšování senzorického profilu čerstvého piva, nicméně v důsledku změn probíhajících během skladování může docházet ke zpětnému uvolňování takto vázaných karbonylových sloučenin a tím k prudkému zhoršování senzorických vlastností produktu.
Obsahem příspěvku je shrnutí nejvýznamnějších teoretických poznatků týkajících se významu karbonylových sloučenin a oxidu siřičitého v pivovarském procesu, návrh použití vhodných analytických metod pro stanovení těchto látek v pivech a meziproduktech výroby a zhodnocení významu jednotlivých faktorů ovlivňujících tvorbu aduktů v průběhu kvašení.

Sekce: **Biotechnologie II (přednášková)**
Posluchárna A11, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.
Členové: Dr. Ing. Leona Paulová
Ing. Marcel Karabín, Ph.D.
Ing. Olga Schreiberová

Studenti: Bc. Jiří Brož
Bc. Tereza Hudcová
Bc. Michaela Husárková
Bc. Pavlína Karlová
Bc. Barbora Kosová
Bc. Blanka Kotlíková
Lucie Jarmila Mlejnková
Bc. Jana Rousová
Bc. Jan Volšička

Sekce : Biotechnologie II

Biodegradace směsí hydrofobních a hydrofilních sloučenin

Autor: Bc. Jiří Brož
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Práce se zabývala procesy a technologií startování a nabíhání biofiltru a biotrickling filtru k odbourávání proudících směsí par hydrofobních a hydrofilnich látek. Biofiltr a biotrickling filtr byly rozbíhány nezávisle na sobě. Přípravné operace zahrnovaly čištění a revizi pracovní aparatury, nastavení a kalibraci měřících zařízení a kultivaci směsné populace mikroorganismů pro použití jako inokulum pro oba reaktory. Biofiltr a biotrickling filtr byly provozovány v downflow uspořádání, tzn. vzduch znečištěný polutantem procházel ložem s imobilizovanými buňkami ze shora dolů. Jako náplňový materiál biofiltru bylo použito expandované sklo Poraver. Náplň biotrickling filtru byla tvořena Pallovými kroužky z polypropylenu. Biotrickling filtr byl opatřen pH elektrodou a kyslíkovou elektrodou, které zaznamenávaly data v předem nastavených časových intervalech. Hodnota pH byla udržována v rozmezí 7 ± 0,05 dávkováním 0,5 M roztoku NaOH peristaltickým čerpadlem řízeným pH regulátorem. Polutanty v tomto experimentu byly styren a aceton, které se dávkovaly do zařízení v určitých vstupních koncentracích a za předem stanovených podmínek. Zařízení se podařilo zprovoznit bez větších komplikací a byla dosažena vysoká účinnost degradace.

Sekce : Biotechnologie II

Kvantifikace biologicky aktivních látek chmele

Autor: Bc. Tereza Hudcová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Chmel je důležitým zdrojem biologicky aktivních sekundárních metabolitů a to nejen v pivovarství, ale i ve zdravotním a farmaceutickém průmyslu. Poslední dobou se pěstitelé chmelových odrůd zaměřují kromě šlechtění vysokoobsažných odrůd rovněž na vývoj odrůd využitelných pro farmaceutické účely. Tyto odrůdy jsou charakteristické vysokým obsahem polyfenolů a prenylovaných flavonoidů (zejména xanthohumol). Hlavním cílem této práce bylo na základě praktického ověření vybrat co nejvhodnější soubor metod pro analýzu těchto biologicky aktivních látek. Velká pozornost byla věnována metodám pro stanovení obsahu celkových polyfenolů (EBC x Folin – Ciocalteau metoda) a flavan-3-olů (vanilinová metoda) a dále pak možnostem stanovování obsahu xanthohumolu a α- a β- hořkých kyselin. Na základě výsledků analýz obdržených aplikací těchto metod, bylo možné vzájemně porovnat sedm českých odrůd, včetně nově registrované odrůdy Vital, z hlediska obsahů vybraných biologicky aktivních látek.

Sekce : Biotechnologie II

Vývoj biotechnologického procesu produkce rozpouštědel

Autor: Bc. Michaela Husárková
Ročník: M2
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Petra Patáková, Ing. Jakub Lipovský

Produkce butanolu pomocí aceton-butanolového kvašení je dvoufázový vsádkový proces a využívají se při něm různé druhy bakterií rodu *Clostridium*. Jednou z možností, jak zefektivnit tento proces a zlepšit výtěžnost biobutanolu produkovaného kvasným způsobem, je dvoustupňový systém. Tento postup se opírá o dva různé druhy mikroorganismů, kdy první z nich, např. *Clostridium tyrobutyricum*, konvertuje v prvním stupni glukosu téměř výhradně na kyselinu máselnou. Zředěné medium s touto kyselinou se po obohacení glukosou použije pro druhý stupeň, kde se pomocí bakterií *Clostridium beijerenckii* či *Clostridium pasterianum* přetváří kyselina máselná na cenný produkt - butanol. Ve své práci jsem u prvního stupně dosáhla nejvyšší výtěžnosti kyseliny máselné (konkrétně 37%) při udržování pH na hodnotě 6,3. Hodnota pH významně ovlivňuje tento proces – při nižších hodnotách pH se mění poměr produkovaných kyselin ve prospěch kyseliny mléčné na úkor kyseliny máselné. Pro druhý stupeň přichází v úvahu zkoumání vlivu různých počátečních koncentrací glukosy a srovnání tohoto procesu jak s jednostupňovým procesem v TYA mediu, tak i s alternativním použitím směsných kultur výše uvedených klostridií.

Sekce : Biotechnologie II

Použití transmisní UV-VIS spektrofotometrie pro monitorování bioreaktorů s aktivovaným kalem

Autor: Bc. Pavlína Karlová
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Spektrofotometrické sondy představují způsob, jak sledovat průběh biodegradace látek v bioreaktorech s aktivovaným kalem v reálném čase bez nutnosti úpravy vzorku. Pomocí transmisní sondy s nastavitelnou optickou délkou byla v UV-VIS oblasti spektra prováděna měření spekter roztoků a suspenzí obsahujících různé koncentrace aktivovaného kalu, azobarviva AR 14 a jeho degradačního produktu, sodné soli kyseliny 4-amino-1-naftalensulfonové. Dále byla měřena spektra směsí biomasy a azobarviva nebo aminu a byl zkoumán vliv rostoucí koncentrace jedné ze složek při konstantní koncentraci druhé složky. Ze spekter těchto vzorků získaných s různou na sondě nastavenou optickou délkou byl vyhodnocován vliv přítomnosti a vlastností biomasy na spektra barviva a aminu a vliv podmínek měření na čistotu signálu. Bylo zjištěno, že interference biomasy se spektry barviva a aminu se zvyšuje s její rostoucí koncentrací a klesající homogenitou. S rostoucí koncentrací biomasy a optickou délkou se také snižovala čistota signálu.

Sekce : Biotechnologie II

Vliv vybraných změn technologie výroby na koloidní stabilitu piva

Autor: Bc. Blanka Kotlíková
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitelé: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D., RNDr. Petr Gabriel, Ph.D.

Koloidní stabilita je posuzována podle trvanlivosti piva. Negativní vliv na ni mají tzv. prekurzory zákalu, především bílkoviny a polyfenoly, které spolu vytvářejí komplexy. Svůj díl viny na tvorbu zákalu však nese i kyslík, teplo či světlo. Aby se dosáhlo dlouhodobé trvanlivosti, musí se z piva odstranit jeden nebo oba z prekurozorů tvorby zákalu. To se dá zajistit použitím různých stabilizačních prostředků, kterých je na trhu k dispozici poměrně velký sortiment. Jsou to proteolytické enzymy, taniny, antioxidační prostředky nebo adsorbenty dusíkatých a polyfenolových látek. V současné době patří mezi nejpoužívanější stabilizační prostředky právě adsorbenty prekurzorů zákalu, protože jejich působení je poměrně selektivní a z piva jsou kompletně odstraněny během filtrace. Na vzorcích piva byl měřen obsah tanoidů a citlivých proteinů několika typy titračních testů. Byl to jednak klasický síranový test, dále test na stanovení tanoidů a test na stanovení citlivých proteinů. Vzorky se od sebe lišily použitou technologií výroby.

Sekce : Biotechnologie II

Vliv zdroje C na mimobuněčnou produkci rhamnolipidu v populaci *Pseudomonas aeruginosa*

Autor: Bc. Barbora Kosová
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. RNDr. Vladimír Jirků, DrSc.

Biosurfaktanty jsou povrchově aktivní látky mikrobiálního původu s významným potenciálem v biotechnologických aplikacích a v různých odvětvích průmyslu. Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou známé jako producenti glykolipidických surfaktantů obsahující rhamnosu a 3-hydroxy mastné kyseliny. Mezi rhamnolipidy patří i jeden z nejúčinnější známých surfaktantů produkovaný organismem *Pseudomonas aeruginosa*. Zdroj uhlíku hraje významnou roli v množství a typu produkovaného rhamnolipidu. A také zdroj dusíku či fosforu může být důležitým klíčem pro regulaci syntézy biosurfaktantů. Proto se tato práce zabývá produkcí rhamnolipidu, která je ovlivněna zdrojem uhlíku, koncentrací a typem použitého dusíku a fosforu.

Sekce : Biotechnologie II

Analýza metabolismu tuků u *Caenorhabditis elegans* po inhibici funkce vybraných jaderných receptorů.

Autor: Lucie Jarmila Mlejnková
Ročník: B3
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.; MUDr. Marta Kostrouchová, CSc., 1.LF UK

Caenorhabditis elegans je modelový organismus, který je využíván pro různé experimenty v biologii, biochemii a genetice. Je to volně žijící nematoda (neboli háďátko) o délce asi 1 mm. *C. elegans* se začal využívat jako modelový organismus od roku 1974 a byl prvním mnohobuněčným organismem, jehož genom byl sekvenován. Výhody pro výzkum spočívají v krátkém životním cyklu, jednoduché a relativně levné manipulaci a samozřejmě znalosti celého genomu. Tato práce je zaměřená na analýzu metabolismu tuků v *C. elegans* pomocí RNA interference. Touto metodou je způsobena inhibice funkce vybraných jaderných receptorů – nhr-68 a nhr-137, která má za následek zvýšené ukládání tuků. Výsledné množství je dále analyzováno fluorescenční mikroskopií za použití barviva Nile Red. Tímto bylo zjištěno, že inhibice jederného receptoru nhr-137 způsobuje značné zvýšení ukládání tuků a u nhr-68 je ukládání tuků středně zvýšené v porovnání s kontrolou N2.

Sekce : Biotechnologie II

Odstranění dichloromethanu z plynné fáze za použití fotokatalytického reaktoru a biotrickling filtru

Autor: Bc. Jana Rousová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné technologie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Dichlormethan je toxická organická sloučenina znečišťující vzduch, běžně používaná jako rozpouštědlo, například při odstraňování nátěrů, úpravě kovů, při výrobě acetátových filmů nebo ve farmaceutickém průmyslu. Fotokatalytický reaktor, který je schopen oxidovat širokou škálu kontaminantů včetně biologicky nedegradovatelných organických látek se používá jako předstupeň k biologickému čištění. Produkty fotooxidace jsou převážně snáze biologicky degradovatelné bývají ale také toxičtější než výchozí látka. Cílem práce bylo zjištění efektu provozních parametrů, jako je vstupní koncentrace nebo průtok vzduchu, a efektu krátkodobé skokové zátěže na výkonnost fotokatalytického reaktoru pro použití s biotrickling filtrem. Během pokusů s operačními parametry bylo zjištěno, že na účinnost má větší efekt průtok vzduchu než vstupní koncentrace, naopak eliminační kapacita je podle předpokladu ovlivněna více vstupní koncentrací. Při krátkodobých skokových zátěží bylo zjištěno, že účinnost je konstantní, ale nikdy ne větší než 75%, a proto spojení s biotrickling filtrem by mohlo vést k 100% účinnosti i při vysokých vstupních koncentracích.

Sekce : Biotechnologie II

Adheze pivovarských kontaminantů na pevné povrchy

Autor: Bc. Jan Volšička
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Lucie Siříšťová, Ph.D.

Nejrizikovější skupinou mikroorganismů, které se vyskytují jako kontaminace v pivovarské výrobě, jsou bakterie. Aktuální problém představují bakterie mléčného kvašení (rody *Lactobacillus* a *Pediococcus*) a anaerobní bakterie z třídy *Clostridia* (především rody *Pectinatus* a *Megasphaera*). Předpokládá se, že tyto bakterie mají schopnost vytvářet biofilmy, které jim umožňují dlouhodobě přežívat v pivovarském prostředí. Počátečním krokem vývoje biofilmu je adheze buněk na pevný povrch. Tato práce se zabývá studiem adheze bakterií na povrchy materiálů přítomných v pivovarech z termodynamického pohledu. Bylo provedeno měření kontaktních úhlů na povrchu různých materiálů a na povrchu buněk vybraných kmenů bakterií (*Lactobacillus* RIBM 2-4 a *Pectinatus frisingensis* DSM 20465), které se řadí mezi pivovarské kontaminanty. Z naměřených dat pak byly pomocí příslušných vztahů vypočteny volné interakční energie. Z výsledků vyplývá, že kmen *Lactobacillus* RIBM 2-4 má schopnost vytvářet biofilmy snadněji než *Pectinatus frisingensis* DSM 20465, a to na všech námi zkoumaných nosičích. Pro oba sledované bakteriální kmeny bylo také zjištěno, že ocelové dopravníkové pásy nejsou příliš vhodným materiálem pro adhezi buněk.

Sekce: **Biotechnologie III (přednášková)**
Posluchárna A12, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: prof. Ing. Mojmír Rychtera, CSc.
Členové: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.
Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.
Ing. Jakub Lipovský

Studenti: Bc. Rudolf Cejnar
Bc. Marie Hanková
Bc. Petra Hedbávná
Bc. Tomáš Kinčl
Bc. Radek Luhový
Bc. Petra Podešvová
Bc. Jan Strejc
Bc. Barbora Štěpánková
Bc. Tereza Zelenková

Sekce : Biotechnologie III

Původ křemíku v pivě

Autor: Bc. Rudolf Cejnar
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Křemík je esenciálním prvkem pro organismy, je důležitý pro růst a vývoj kostí a pojivových tkání. Pivo je hlavním zdrojem křemíku v dietě, zvláště v ČR. Důležité je, že forma křemíku obsažená v pivě je vstřebatelná z více než 50%. Piva vyrobená z ječného sladu jsou bohatá na křemík. Většina křemíku sice zůstává v mlátě (74%), ale značná část křemíku je extrahována do mladiny a tyto sloučeniny pak přechází v menší míře i do piva (10%). Pšenice obsahuje méně křemíku než ječmen, protože obalové materiály (pluchy) ječného zrna obsahují více tohoto prvku. Hladiny křemíku v pivech se pohybují v desítkách miligramů na litr, přičemž předpokládaná doporučená denní dávka (DAI) je 20-50 mg. Bylo analyzováno 30 různých piv z českých pivovarů. Hodnoty křemíku se v nich pohybovaly od 16,3 do 69,2 mg/l. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u nealkoholických piv. Ze studie plyne, že obsah křemíku souvisí s původní koncentrací mladiny a závisí na použité technologii. Vzorky byly analyzovány metodou INAA (instrumentální neutronová aktivační analýza) a ICP-MS (hmotová spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu).

Sekce : Biotechnologie III

Kvalitativní stanovení polárních látek z vodných roztoků pomocí GC-MS

Autor: Bc. Marie Hanková
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné technologie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Cílem práce je nalezení vhodných metod pro stanovení metabolitů degradace polutantů z plynné a kapalné fázi. V první fázi práce jde o nalezení vhodných metod pro kvalitativní stanovení těchto látek pomocí GC-MS. Degradací polutantů typu směsi uhlovodíků, lakařských rozpouštědel, směsi acetonu a styrenu a nitroaromatických látek vzniká široké spektrum meziproduktů a za určitých podmínek i koncových produktů v různé fázi transformace. Pro redukované metabolity nitroaromatických látek, amino deriváty, jsou vhodné metody používané pro nitroaromatické látky – extrakce do dichlormethanu nebo hexanu a analýza s využitím metody EPA 8270. Většina ostatních metabolitů jsou však meziprodukty metabolismu v různém stupni oxidace. Doposud používané metody nejsou vhodné, jelikož se jedná o látky polární (v případě organických kyselin často jejich soli). Přímé extrakce těchto látek z vodné fáze do nepolárního rozpouštědla je problematická. Možným řešením může být použití polárního rozpouštědla, derivatizace nebo extrakce pomocí pevného sorbentu. Při přednášce budou diskutovány výsledky z použití metody SPME a esterifikace organických kyselin pomocí BF_3 – butanol.

Sekce : Biotechnologie III

Vliv povrchově aktivních látek na tvorbu biofilmu bakterie *Rhodococcus erythropolis*

Autor: Bc. Petra Hedbávná
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Olga Schreiberová

Životní prostředí je vlivem působení člověka kontaminováno řadou hydrofobních polutantů. Problémem při biodegradaci těchto látek je ale jejich nízká rozpustnost ve vodě, což způsobuje špatnou dostupnost pro mikroorganismy. Možným řešením je aplikace amfipatických povrchově aktivních látek, neboli surfaktantů, které způsobí zvýšení biologické dostupnosti hydrofobních sloučenin. Surfaktanty mohou mít ovšem negativní vliv na adhezi buněk a mikrobní biofilm, který se uplatňuje v řadě bioremediací.
Tato práce se zabývá vlivem průmyslového surfaktantu Spolapon AOS 146 na adhezi bakterie *Rhodococcus erythropolis*, která je schopna využívat fenol jako jediný zdroj uhlíku a energie. Byla sledována počáteční fáze tvorby biofilmu v průtočné cele (BioSurface Technologies, Corp., USA) za přítomnosti surfaktantu o kritické micelární koncentraci i bez něj. Osídlená plocha skleněného nosiče byla vyhodnocována pomocí světelné mikroskopie a analýzy obrazu. Současně byl zjišťován vliv surfaktantu na degradaci fenolu.

Sekce : Biotechnologie III

Studium možností obohacování piva xanthohumolem

Autor: Bc.Tomáš Kinčl
Ročník: M2
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

Xanthohumol je chmelovou látkou na rozhraní polyfenolů a hořkých kyselin, které je v poslední době věnována velká pozornost, zejména díky jejím příznivým účinkům na lidské zdraví. Jediným potenciálním zdrojem xanthohumolu v lidské výživě je pivo, které ho ovšem většinou obsahuje jen velmi malé množství. Největší překážkou, zabraňující přechodu xanthohumolu z chmele do piva je jeho hydrofobicita a chemická nestabilita, spočívající v isomeraci na rozpustnější a stabilnější isoxanthohumol během chmelovaru. Cílem této práce je identifikovat kritické body v procesu výroby piva s ohledem na ztráty xanthohumolu a navrhnout způsoby, kterými by se dala koncentrace této látky v pivě zvýšit. Podrobněji je zde zkoumána míra degradace xanthohumolu v mladině při vyšších teplotách a možnost umělého zvyšování obsahu xanthohumolu v mladinách během hlavního kvašení.

Sekce : Biotechnologie III

Membránové komponenty termofilních bakterií

Autor: Bc. Radek Luhový
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Lucie Siříšťová, Ph.D.

Pro studium vlivu ω-alicyklických mastných kyselin na vlastnosti cytoplazmatické membrány byli vybráni dva zástupci termofilních bakterií *Geobacillus stearothermophilus* CCM 2062 a *Meiothermus ruber* CCM 4212. Ani jeden z kmenů za běžných podmínek ω-alicyklické mastné kyseliny netvoří. Proto do kultivačních médií byla přidávána kyselina cyklopropanová jako prekurzor a to v koncentraci 0,5; 1,5 a 4,5 mmol/l. Kultivace probíhala za aerobních podmínek, při teplotě 55°C, po dobu 24 h. Následně byly z lyofilizované biomasy izolovány mastné kyseliny, které byly po převedení na příslušné methyl estery analyzovány metodou GC-MS. Bylo zjištěno, že oba kmeny jsou schopny inkorporovat cyklopropanovou kyselinu do buněčných lipidů. Při vyšší koncentraci cyklopropanové kyseliny v médiu bylo zaznamenáno vyšší procento inkorporace u kmene CCM 2062. Sledovány byly také změny v zastoupení ostatních mastných kyselin, které nastaly v důsledku přítomnosti cyklické kyseliny v médiu.

Sekce : Biotechnologie III

Produkce 1-butanolu z řepy cukrovky

Autor: Bc. Petra Podešvová
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Petra Patáková, Ing. Michaela Linhová

Na získávání biobutanolu, 1-butanolu, fermentací (acetonbutanolovým kvašením) je nyní upírána pozornost, protože 1-butanol je možné využít jako palivo. Jedním z hlavních faktorů, kterým je důležité se zabývat z důvodu ekonomické rentability biotechnologické produkce biobutanolu, je cena substrátu. Z tohoto důvodu se obrací zájem na využití řepné šťávy z řepy cukrovky jako levného zdroje sacharidů. K produkci 1-butanolu z řepné šťávy byla použita bakterie *Clostridium beijerinckii*, která využívá sacharosu bez nutnosti předchozí inverze. Jedná se o grampozitivní, anaerobní, pohyblivou bakterii tyčinkovitého tvaru s optimální teplotou růstu při 37°C. Při anaerobní vsádkové kultivaci bez regulace pH a s pH regulací byly odebírány vzorky ke stanovení nárůstu biomasy, úbytku sacharosy a produkce kyselin a rozpouštědel. Při kultivaci s regulací pH bylo získáno 11 g/l kyseliny máselné a pouze malé množství butanolu; naproti tomu bez regulace pH se dosáhlo až konečné koncentrace 12 g/l butanolu a výtěžnosti rozpouštědel 35%. Dále byla sledována produkce kyselin a rozpouštědel (acetonu a butanolu) při různých počátečních koncentracích sacharosy jako výhradního zdroje energie a uhlíku a při různém počátečním pH média, které obsahovalo vždy 20g/l sacharosy.

Sekce: Biotechnologie III

Vliv surogace mladiny na flokulaci kvasinek

Autor: Bc. Jan Strejc
Ročník: M1
Ústav: Kvasná chemie a bioinženýrství
Školitel: doc. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Flokulace patří k technologicky významným vlastnostem u pivovarských kvasinek, jelikož působí jako jednoduchý a levný způsob odstraňování přebytečných kvasinek z mladého piva po ukončení hlavního kvašení. Z tohoto důvodu by bylo žádoucí tento děj ovlivňovat, vědomě řídit a předpovídat flokulační schopnosti různých kmenů. Nicméně, možnosti řízení flokulace jsou pouze velmi omezené z důvodu velké komplexnosti tohoto jevu. Práce je zaměřena na zkoumání vlivu surogace mladiny sacharózou na flokulační schopnost vybraných spodně a svrchně kvasících kmenů kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Flokulační schopnost je zkoumána pomocí flokulačních testů a metodou RT-PCR. Metoda RT-PCR je využívána k zjišťování intenzity exprese vybraných FLO genů kódujících povrchové proteiny flokuliny, které se zúčastňují lektin – manosové interakce a zajišťují tak mezibuněčnou adhezi kvasinek.

Sekce : Biotechnologie III

Příprava testu pro stanoveni mikroorganismů utilizujících naftu na pevných médiích

Autor: Bc. Barbora Štěpánková
Ročník: M2
Ústav: Biotechnologie
Školitel: prof. Ing. Alena Čejková, CSc., Ing. Ljuba Zídková

Tato práce si klade za cíl popsat rychlou a robustní metodu stanovení počtu mikroorganismů degradujících ve vodě velmi obtížně rozpustný zdroj uhlíku – naftu. Popsány jsou ty možnosti, které využívají modifikovaných agarových půd, sublimace a sprayování. Experimentální část srovnává pomocí IR spektrofotometrie různé druhy rozpouštědel testovaných pro nasprayování agarové půdy: aceton, etanol a pentan. Pro ověření účinnosti zvolené metody (aplikace nafty rozpuštěné v pentanu) byly využity bakteriální kmeny *Pseudomonas fluorescens* a *Escherichia coli* Kromě těchto kmenů byly k ověřovacím testům použity také směsné kultury ze vzorků reálně kontaminovaných zemin a směsné kultury ze vzorku nekontaminované zeminy (ornice).

Sekce : Biotechnologie III

Mikrobní degradace 17α-ethinylestradiolu

Autor: Bc.Tereza Zelenková
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Miriam Polová

Syntetický estrogen, 17α-ethinylestradiol (EE2), používaný v medicíně jako perorální antikoncepce se akumuluje v životním prostředí, zejména pak ve vodních tocích. Již v nepatrné koncentraci (0,1ng/l) působí toxicky na přítomné organismy. Jednou z možností odstranění tohoto polutantu je využití různých technik bioremediace.
Cílem naší práce bylo zjistit za jakých kultivačních podmínek jsou mikroorganismy schopny degradovat 17α-ethinylestradiol. Pokusy byly provedeny s bakterií *Rhodococcus erythropolis* a kvasinkou *Trichosporon cutaneum*. Použité mikroorganismy byly kultivovány v suspenzi a a ve formě biofilmu na nosičích za přítomnosti kosubstrátu (fenol). Byla testována sorpce EE2 na zvolené materiály (nosiče pro biofilm) – silikon, polyethylen, polypropylen a sklo. Z těchto materiálů byl pro další pokusy vybráno sklo. Při degradaci v kolonách bylo dosaženo 50% úbytku EE2 za 6 dní. Oba zvolené mikroorganismy degradují EE2 pouze společně s utilizací fenolu.

Sekce: **Bioanalytické metody (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Igor Hochel, CSc.
Členové: Ing. Martina Blažková, Ph.D.
Ing. Eva Benešová
Ing. Markéta Častorálová
Ing. Martin Svoboda

Studenti: Bc. Hlaváčková Iva
Bc. Jančíková Markéta
Bc. Jirků Michaela
Bc. Machová Iva
Bc. Mušálková Dita
Oborský Pavel
Bc. Vališová Magdaléna
Bc. Vápeníková Zuzana

Sekce: Bioanalytické metody

Identifikace bílkovin zodpovědných za chladovou odolnost ječmene

Autor: Iva Hlaváčková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Ječmen (*Hordeum vulgare*) je důležitá kulturní plodina, která se v ČR využívá především jako krmivo a pivovarnická surovina. Výnosy ječmene jsou meziročně významně ovlivňovány nepříznivými klimatickými podmínkami. Cílem práce je identifikovat proteiny ovlivňující odolnost různých odrůd ječmene vůči nízkým teplotám a dále je použít jako markery chladové odolnosti pro cílené šlechtitelství i pro komerční sféru.
Rostliny chladově odolné odrůdy ječmene (Luxor) byly vystaveny působení nízkých teplot a pomocí trichloroctové kyseliny a fenolu byly izolovány celkové proteiny z listů a uzlů. Proteiny byly rozděleny dvourozměrnou diferenční gelovou elektroforesou a výsledné proteinové mapy byly vyhodnoceny obrazovou analýzou pomocí programu PDQuest. V listech bylo nalezeno 79 proteinů u nichž se hladina exprese změnila víc jak dvojnásobně a v uzlech bylo nalezeno 74 takovýchto proteinů. Dále byl připraven preparativní gel z něhož byly vyříznuty skvrny s rozdílně exprimovanými proteiny. Tyto proteiny byly identifikovány hmotnostní spektrometrií v uspořádání MALDI-TOF metodou peptidového mapování.

Sekce: Bioanalytické metody

Stanovení délky telomerických restrikčních fragmentů kapilární elektroforesou

Autor: Markéta Jančíková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Telomery jsou koncové struktury eukaryotních chromosomů, hrající důležitou úlohu při ochraně genetické informace. Skládají se z repetitivních sekvencí DNA a asociovaných proteinů. Během stárnutí dochází ke zkracování telomer, jejich délka také souvisí s rakovinným bujením.
Při studiu telomer se obvykle nejdříve netelomerická DNA štěpí restrikčními endonukleasami (nejčastěji *RsaI a HinfI*) na krátké úseky; z neštěpených konců chromosomů tak získáme telomerické restrikční fragmenty (TRF). Existuje celá řada postupů měření délky TRF; nově zaváděná kapilární elektroforesa na DNA chipu je rychlá a citlivá metoda pro přímé stanovení těchto struktur. Pro jedno stanovení vyžaduje pouze 2 μl vzorku a vyhodnocení probíhá automaticky přímo v kapilárách vybroušených uvnitř chipu.
Naším hlavním úkolem je nalezení vhodných podmínek pro přípravu vzorku. Vysoká koncentrace balastních krátkých fragmentů DNA totiž znesnadňuje detekci TRF. Pro zvýšení poměru koncentrací TRF a krátkých fragmentům netelomerické DNA zavádíme filtrační techniku, která již nyní poskytuje nadějné výsledky.

Sekce: Bioanalytické metody

Sestavení a charakterizace imunoanalýzy thiabendazolu

Autor: Michaela Jirků
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Ing. Fukal Ladislav, CSc.

Thiabendazol patří do skupiny benzimidazolových pesticidů, což jsou látky s vysokým fungicidním účinkem. Působí systémově a zajišťují dlouhodobou ochranu porostu proti napadení plísňovými chorobami. Thiabendazol je používán zejména k ošetření citrusových plodů, dále jako potravinářské aditivum nebo jako léčivo proti parazitickým červům.
V předkládané práci je k jeho detekci použito přímé kompetitivní uspořádání LFIA metody. Na proužek porézní membrány, nejčastěji z nitrocelulózy, jsou do aktivní zóny v několika liniích imobilizovány protilátky nebo ekvivalenty analytu. Analyzovaný vzorek se smíchá se značenými protilátkami (např. koloidním uhlíkem) a nechá se proužkem membrány migrovat pomocí kapilárních sil až k zónám záchytu (imobilizované linie), kde dochází k interakci a zvýraznění zóny. Látky, jež nebyly v aktivní zóně zachyceny, vzlínají membránou až na její konec, kde je umístěna absorpční podložka.
V průběhu testů byly vybrány optimální podmínky: vhodné koncentrace jednotlivých imunoreagencií a reakční pufr. Takto vypracovaná metoda byla použita pro sestavení kalibračních křivek, stanovení detekčních limitů a byla určena specifita protilátek pomocí křížových interakcí.

Sekce: Bioanalytické metody

Studium metodik pro sledování hladin protilátek proti lidskému prokathepsinu D

Autor: Iva Machová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Martin Fusek, CSc.

Kathepsin D (CD) - E.C. 3.4.23.5 - je aspartátová endoproteáza degradující proteiny v lysozomech. Zvýšená exprese prekurzoru kathepsinu D - prokathepsinu D (pCD) - byla nalezena v nádorových buňkách prsu, prostaty, plic a dalších typech nádorů. Tato zvýšená exprese je doprovázena sekrecí pCD z buněk. Proto byl pCD zkoumán jako možný nezávislý prognostický rakovinný marker, ale dosavadní výsledky nejsou zcela jednoznačné. Vzhledem k tomu, že pCD obsahuje ve své struktuře aktivační peptid (aminokyselinová sekvence, která je odštěpena z pCD při aktivaci na CD), který je imunitním systémem rozpoznán a tvoří se proti němu autoprotilátky, zkoumáme možnost využití hladin těchto protilátek pro diagnostiku onkologických onemocnění,.
V rámci dosavadních experimentů jsme použili nově syntetizovaný MAP (multiantigenní peptid se strukturou N-koncové části aktivačního peptidu) k imunizaci králíků. Získané antisérum jsme charakterizovali a izolovali frakci IgG. Takto získané protilátky využíváme k vývoji nového kompetitivního ELISA testu.

Sekce: Bioanalytické metody

Návrh metody pro stanovení zešikmení X-inaktivace

Autor: Dita Mušálková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav dědičných metabolických poruch, 1. LF UK a VFN
Školitel: MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Ženy mají v porovnání s muži dvojnásobný počet chromosomů X a tento rozdíl je kompenzován inaktivací jednoho z nich. K tomuto jevu dochází časně v embryonálním stádiu, přičemž výběr inaktivovaného chromosomu je náhodný. Ženy jsou tudíž mosaikou dvou buněčných populací, které exprimují alely buď z jednoho nebo druhého chromosomu X. Nicméně, část žen preferenčně exprimuje geny nesené na jednom z chromosomů X. Zde mluvíme o zešikmení X-inaktivace. Stanovení zešikmení X-inaktivace je důležité, protože u gonozomálně dědičných chorob jsou klinické projevy u heterozygotních žen závislé na míře inaktivace zdravé alely.
Pro stanovení se používá délkového polymorfismu v prvním exonu genu pro androgenní receptor (metoda HUMARA). DNA na inaktivním chromosomu X (Xi) je na rozdíl od aktivního (Xa) methylována. Po štěpení metylačně senzitivní restrikční endonukleázou se pomocí PCR amplifikuje pouze DNA z Xi a ze zastoupení obou alel na Xi se určí zešikmení inaktivace. Nevýhodou této metody je, že asi 10 % žen je neinformativních.
Cílem této práce je navrhnout další metodu pro stanovení zešikmení X-inaktivace, která by byla využitelná u těchto žen a která je založena na stejném principu jako metoda HUMARA.

Sekce: Bioanalytické metody

Predikce zastoupení konformerů glycerolu pomocí metadynamiky

Autor: Pavel Oborský
Ročník: B3
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Standardní počítačové simulace konformačních změn molekul jsou náročné na výkon a čas. Z tohoto důvodu byly vyvinuty nové metody jako například metadynamika. Cílem práce je predikce zastoupení konformerů glycerolu ve vodném prostředí pomocí metadynamiky. Pro šest konformerů bylo zjištěno jejich zastoupení, které se pohybovalo od 1 % ($\beta\beta$) do 38 % ($\alpha\gamma$). Výsledky jsou v souladu s publikovanými studiemi využívajícími simulaci molekulové dynamiky a paralelní temperování i s experimentálními daty NMR. Nároky na čas výpočtu u metadynamiky byly až 100krát kratší než u simulace molekulové dynamiky. Použité metody budou využívány i pro predikce konformačních rovnováh dalších molekul.

Sekce: Bioanalytické metody

Studie antigenů seminální plasmy a spermií pomocí specifických králičích a lidských protilátek

Autor: Bc. Magdaléna Vališová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Moderní doba se potýká stále více s neplodností. Jednou z mnoha příčin může být imunologický faktor, který je předmětem této studie. Cílem práce je porovnat antigeny lidských spermií a seminální plasmy detekované na základě IgG protilátek krevních sér žen s poruchou plodnosti a králíků imunizovaných směsným vzorkem proteinového extraktu spermií a směsnou seminální plasmou. Pro separaci proteinů byla zvolena metoda SDS-PAGE. K imunodetekci proteinového extraktu spermií a seminální plasmy bylo využito 16 krevních sér žen. Výsledky byly porovnány s kontrolní skupinou. IgG protilátky krevních sér žen s poruchou plodnosti i imunizovaných králíků shodně interaguji s antigeny seminální plasmy o molekulové hmotnosti 136 kDa. Tyto antigeny jsou považovány za hlavní, ale zkoumání budou podrobeny i antigeny o velikostech 150,176 a188 kDa, které interagují pouze s krevními séry žen.
Výsledky této práce přispějí k vývoji diagnostického kitu, který bude sloužit pro bližší stanovení imunologických příčin neplodnosti.

Sekce: Bioanalytické metody

Vývoj imunochromatografického multitestu pro detekci N-methylkarbamátových pesticidů

Autor: Zuzana Vápeníková
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Martina Blažková, Ph.D.

Cílem práce bylo vyvinout a optimalizovat imunochromatografický multitest, umožňující rychlou detekci tří nejpoužívanějších N-methylkarbamátových pesticidů najednou (karbofuranu, karbarylu a methiokarbu). Pro sestavení multitestu bylo vybráno nepřímé kompetitivní uspořádání s využitím monoklonálních protilátek.
Samotnému sestavení multitestu předcházela příprava funkčního konjugátu uhlíkatých částic se sekundární protilátkou, umožňujícího detekci výsledků. Dále byly určeny vhodné podmínky pro stanovení všech tří pesticidů. Byly testovány vzájemné interakce imunoreagencií (imobilizačních konjugátů, protilátek a pesticidů). Byly eliminovány nespecifické interakce monoklonálních protilátek a byly vybrány vhodné imobilizační konjugáty. Pokusy byly prováděny pro každý pesticid zvlášť, aby bylo možné pozorovat jednotlivé vlivy.
Dalším krokem bylo sestavení samotného multitestu. Následoval výběr vhodných koncentrací imunoreagencií. Byly sestaveny koncentrační řady pro všechny tři pesticidy.

Sekce: **Molekulární biologie v medicíně (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.
Členové: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.
Ing. Barbora Haňková
Ing. Silvie Rimpelová
Ing. Vojtěch Škop

Studenti: Bc. Mlsová Veronika
Bc. Pečánková Klára
Bc. Procházková Žaneta
Bc. Svoboda Petr
Bc. Šigutová Kamila
Bc. Šógorková Jana
Bc. Zichová Kateřina

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Protinádorové účinky antimikrobiálních peptidů izolovaných z hmyzu

Autor: Veronika Mlsová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: RNDr. Jiřina Slaninová, CSc. (ÚOCHB AVČR); prof. Dr. Ing. Martina Macková

Na ÚOCHB byly izolovány dva nové antimikrobiální α-helikální peptidy makropiny (MAC–1, GFGMALKLLKKVL-NH_2 a MAC-2, GTGLPMSERRKIMLMMR-NH_2) z jedových váčků divoce žijících včel *Macropis fulvipes*. Byly popsány jejich antimikrobiální aktivity a synteticky připravena cela řada strukturních analogů. Cílem této práce bylo zjistit, jak toxické jsou tyto peptidy pro savčí buňky a zda by bylo možno najít mezi nimi peptid, který by byl selektivně toxický pro rakovinné buňky a pro normální buňky netoxický, nebo podstatně méně toxický. Toxicita makropinů (hodnota LC_{50}) byla stanovována MTT testem proti dvěma normálním buněčným liniím (IEC, krysí střevní epiteliální buňky, a HUVEC, lidské endoteliální buňky pupečníkové žíly) a dvěma rakovinným liniím (HeLa-S3, nádorové buňky děložního čípku, a CRC SW 480, buňky karcinomu tlustého střeva). Bylo zjištěno, že MAC-1 a některá jeho strukturní analoga jsou toxické pro HeLa-S3 buňky již při nízkých koncentracích (LC_{50} 5-10 μM). Buňky CRC SW 480 jsou méně citlivé a vůči normálním buňkám jsou makropiny nejméně toxické. Rozdíly v toxicitě vůči normálním a nádorovým buňkám však nejsou příliš vysoké.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Vyhledávání biomarkerů u kardiovaskulárních onemocnění

Autor: Bc. Klára Pečánková
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie (Ústav hematologie a krevní transfuse)
Školitel: Ing. Jiří Suttnar, CSc.

Kardiovaskulární onemocnění se ve vyspělých zemích řadí mezi nejčastější příčiny úmrtí. Cílem práce bylo najít rozdíly v plasmatickém proteomu pacientů s akutním infarktem myokardu (AIM) a stabilní anginou pectoris (SAP). Takto zjištěné rozdíly mohou být využity pro vyhledávání biomarkerů, přesnější diagnostiku nebo nalezení vhodného způsobu léčby. Ve studii bylo porovnáno 22 vzorků z každé skupiny pacientů (AIM, SAP) oproti 23 kontrolním vzorkům. Proteiny depletované plasmy byly analysovány 2D SDS-PAGE, gely obarveny koloidní Coomassie Blue, digitalisovány a statisticky vyhodnoceny programem Progenesis SameSpots. Proteiny signifikantně odlišných spotů byly identifikovány pomocí nanoLC-MS/MS. U skupiny AIM bylo nalezeno 13 lišících se spotů (11 identifikováno) odpovídajících 8 proteinům. U skupiny SAP bylo nalezeno 5 lišících se spotů, všechny byly úspěšně identifikovány a odpovídají 4 proteinům. U obou skupin byly nalezeny statisticky významné rozdíly a bylo úspěšně identifikováno 12 různých proteinů. V souvislosti s kardiovaskulárními onemocněními byla většina identifikovaných proteinů již popsána, některé jsme přesto v této souvislosti identifikovali vůbec poprvé.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Příprava a kultivace primárních potkaních hepatocytů

Autor: Žaneta Procházková
Ročník: M1
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Hepatocyty nebo-li jaterní buňky jsou základem jaterní tkáně, zodpovídají za většinu buněčných pochodů v játrech. Jejich význam pro metabolismus spočívá zejména v syntéze a postranslačních úpravách proteinům, syntéze cholesterolu a žlučových kyselin, syntéze triacylglycerolů, glykogenezi, glykolýze, glukoneogenezi, detoxikaci organismu a v regulaci těchto důležitých pochodů. Primární hepatocyty izolované z jaterních buněk jsou účinné nástroje pro *in vitro* hodnocení metabolismu, lékových interakcí nebo hepatotoxicity. Jejich výhodou ve srovnání se stabilními buňkami jsou nezměněné vlastnosti buněk oproti původnímu organismu a naopak nevýhodami jsou neschopnost buněk nadále se dělit a po určité době ztráta jejich vlastností. Pro přípravu primárních potkaních kultur existuje více postupů. Námi zvolený postup obsahuje nejprve medium pro perfuzi jater bez přítomností iontů Ca^{2+} a posléze se přidají ionty Ca^{2+} a kolagenasa, která způsobí rozpad jater na jednotlivé buňky. Tímto postupem se nám podařilo získat izolované buňky s 75% životaschopností.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Studie vybraných faktorů metabolického syndromu

Autor: Bc. Petr Svoboda
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Visfatin je adipokin objevený v roce 2004. Je exprimován hlavně ve viscerální tukové tkáni. Jeho účinek v lidském těle je velmi podobný insulinu. Má vliv na metabolismus lipidů a sacharidů.
Jelikož je účinek visfatinu velmi podobný insulinu, mohl by být vhodným faktorem při terapii diabetu 2. typu. Vliv visfatinu na expresi ostatních proteinů provádíme utlumením exprese visfatinu metodu RNA interference. K tomu využíváme dvou přístupů, transientní transfekci siRNA a přípravu stabilní transfekované linie 3T3-L1 pomocí shRNA expresního plasmidu. U obou variant transfekce nebyly výsledky jednoznačné. I po změně transfekčního činidla FuGene na SureFact byly výsledky nejasné.
Porovnání proteinových profilů transfekovaných a kontrolních buněk provádíme metodou dvourozměrné elektroforesy buněčných lyzátů 3T3-L1 preadipocytů a adipocytů. Následuje vyhodnocení gelů pomocí speciálního programu ImageMaster 2D. V důsledku neuspokojivých výsledků s RNA interferencí jsme prozatím nemohli uskutečnit 2D elektroforesu transfekovaných buněk. Proto v současnosti hledáme vhodný postup, při kterém by nám opakovaně vycházely stejné výsledky u kontrolních buněk.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Sekrece visfatinu u vybraných buněčných linií

Autor: Bc. Kamila Šigutová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Dnešní doba je typická nárůstem incidence metabolického syndromu. S ním úzce souvisí obezita a inzulinová rezistence. Jedním z jejich společných jmenovatelů je visfatin. Jde o protein tří známých funkcí, kterými jsou faktor podporující zrání pre-B buněk, intracelulární enzym nikotinamidadenosylfosforibosyltransferasa a adipokin účinkující v některých ohledech podobně jako insulin. Extracelulární a intracelulární působení naznačuje regulovanou sekreci, o níž se však prozatím mnoho neví. Známo je pouze, že proces probíhá bez účasti endoplasmatického retikula a Golgiho aparátu.
K objasnění mechanismu sekrece visfatinu se snažíme přispět pomocí transfekce plasmidu, který nese gen pro značený visfatin, do vybraných buněčných linií. Následně zkoumáme sekreci vzniklého produktu. Dále se pokoušíme nalézt místa sekvenční podobnosti s jinými neklasicky sekretovanými cytokiny a vytipovat tak úseky zodpovědné za sekreci. Tyto oblasti máme v plánu v plasmidu pozměnit mutacemi a zjistit tak jejich vliv na uvolňování visfatinu z buňky.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Adheze a proliferace fibroblastů na plazmovaném polyetylénu modifikovaném peptidem pro specifickou vazbu integrinů

Autor: Jana Šógorková
Ročník: M2
Ústav: Kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Z důvodu deficitu vyhovujících průmyslově vyráběných kožních náhrad jsou hledány vhodné povrchy pro kultivaci kožních krytů. K tomuto účelu mohou být použity modifikované plazmované polyetylénové matrice. Plazmováním polyetylénového povrchu pomocí Ar^+ dochází ke změně povrchové drsnosti, kontaktního úhlu a ke zvýšení biokompatibility a reaktivitě povrchu. To umožňuje navázání peptidové sekvence obsahující tripeptid RGD, který se specificky váže na integrinové receptory přítomné na buněčném povrchu. Na takto upraveném povrchu byla testována adheze a proliferace buněk myších fibroblastů (NIH 3T3) neboť fibroblasty jsou hlavním typem buněk tvořících epidermální část kůže. Jejich schopnost produkovat „opravné“ enzymy jako jsou proteázy a kolagenázy, hraje důležitou roli během ozdravného procesu poškozené tkáně. Metodou epifluorescenční mikroskopie byla pozorována morfologie a zjišťován počet buněk v závislosti na použité matrici a době kultivace (1, 2 a 5 dnů). Zároveň byla imunofluorescenčně sledována lokalizace adhezivního proteinu – talinu. Bylo zjištěno, že modifikace polyetylénového povrchu peptidem s obsahem RGD má příznivý vliv na adhezi buněk.

Sekce: Molekulární biologie v medicíně

Sledování polymorfismů v genu fibrinogenu a jejich asociace s koronárními syndromy

Autor: Bc. Kateřina Zichová
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav hematologie a krevní transfuze
Školitel: Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D.; Ing. Jiří Suttnar, CSc.

Koronární syndromy patří do skupiny aterotrombotických onemocnění, jejichž příčnou je ruptura aterosklerotického plátu a vznik trombu, jenž následně uzavírá věnčitou tepnu. Na tvorbě trombu se podílí řada koagulačních faktorů, mezi něž patří i fibrinogen. Molekula krevního glykoproteinu fibrinogenu je tvořena třemi páry polypeptidových řetězců Aα, Bβ a γ, které jsou exprimovány podle genů *FGA*, *FGB* a *FGG*. Ve všech genech je uplatňován četný polymorfismus, jenž zapříčiňuje vysokou variabilitu jeho primární struktury. Pro detekci jednonukleotidových polymorfismů (SNP) *FGB* genu v pozicích RS 1800790 a RS 4220 byla zvolena metoda extense primeru založená na inkorporaci fluorescenčně značeného ddNTP. Po statistickém vyhodnocení dat 235 kardiologických pacientů byla prokázána asociace mezi vybranými rizikovými aterogenními faktory a vznikem kardiovaskulárního onemocnění. Nejvýraznější faktory byly nikotinismus pro vznik akutního infarktu myokardu, arteriální hypertense pro nestabilní anginu pectoris a diabetes mellitus pro stabilní anginu pectoris. Vliv typu formy *FGB* genu na vznik onemocnění se na hladině spolehlivosti 5 % prokázat nepodařilo.

Sekce: **Struktura a funkce proteinů (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Dr. Ing. Radovan Hynek
Členové: Dr. Ing. Zuzana Novotná
Ing. Ilona Chlubnová
Ing. Tomáš Podzimek
Ing. Jan Prchal

Studenti: Bc. Glasová Eliška
Bc. Hradecká Michaela
Bc. Maršálová Lucie
Bc. Maříková Helena
Bc. Píchalová Růžena
Bc. Soor Daniel
Bc. Strnadová Lenka

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Studium interakce retrovirové integrasy s proteinem Ubc9

Autor: Bc. Eliška Glasová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.

Retrovirová integrasa katalyzuje integraci provirové DNA do genomu hostitelské buňky. *In vitro* je integrasa schopna katalyzovat tuto interakci sama, ale *in vivo* je tento proces složitější a integrasa interaguje s dalšími retrovirovými a buněčnými proteiny. V této souvislosti bylo také prokázáno, že různé posttranslační modifikace integrasy regulují její aktivitu *in vivo*.
Analýzou primární struktury integrasy ze dvou evolučně odlišných zástupců retrovirů – viru lidské imunodeficience (HIV-1) a Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV) se nám podařilo nalézt potenciální SUMOylační motivy rozeznávané enzymem Ubc9, který katalyzuje kovalentní připojení proteinu SUMO na substrát.
Podstatou našeho projektu je průkaz interakce enzymu Ubc9 s integrasou HIV-1 a M-PMV a současně určit její biologický význam. Tuto interakci budeme studovat použitím kvasinkového dvouhybridního systému, bioafinitní chromatografie a studiem jejich lokalizace v savčích buňkách. Za tímto účelem byl dosud připraven vektor kódující integrasu M-PMV. Ostatní fáze projektu jsou ve stadiu přípravy.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Studium interakcí matrixového proteinu M-PMV s buněčnými proteiny

Autor: Michaela Hradecká
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Mason – Pfizerův opičí virus (M-PMV) je vhodný model pro studium životního cyklu retrovirů, neboť jednotlivé kroky jeho životního cyklu, čili proces skládání, transport k buněčné membráně a pučení, jsou časově a prostorově odděleny.
Strukturní proteiny virionu jsou translatovány ve formě polyproteinového prekursoru Gag. Na jeho N-konci se nachází matrixový protein (MA). Je známo, že MA je zodpovědný jak za transport prekursoru Gag do místa skládání v perinukleárním prostoru, tak pravděpodobně i za cílení složené nezralé virové partikule k plasmatické membráně. Je zřejmé, že tyto funkce plní MA prostřednictvím interakce s celou řadou buněčných proteinů včetně buněčných motorů.
Cílem práce je zmapovat buněčné proteiny interagující s MA. Pro iniciační screening byl využit dvojhybridní kvasinkový systém (YDH) s vazebnou doménou bakteriálního represorového proteinu LexA a cDNA z buněčné linie HeLa. Zvolený systém umožňuje sledovat též vliv kotranslačních či posttranslačních modifikací MA na jeho interakci s buněčnými proteiny (kvasinový trojhybridní systém). První positivní výsledky jsou dále ověřovány dalšími metodami jako je například GST-pull-down.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Stanovení expresních hladin membránových proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie

Autor: Maršálová Lucie
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Dr. Ing. Radovan Hynek

Integrální membránové proteiny hrají důležitou roli v řadě buněčných procesů. Stanovení jejich expresních hladin proto může pomoci k lepšímu pochopení různých dějů probíhajících jak na buněčné úrovni, tak na úrovni celého organismu. Největším analytickým problémem při jejich studiu je však jejich extrémně hydrofóbní povaha.
Jednou z použitelných metod stanovení expresních hladin proteinů je Western blot, pokud jsou k dispozici vhodné protilátky. V širším měřítku lze použít kvantifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie s využitím iTRAQ značek (Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantification). Pro účely studia byla vybrána H+ATPasa z plazmatické membrány Arabidopsis thaliana, neboť se jedná o silně hydrofóbní protein s 10 transmembránovými doménami. K indukci rozdílných expresních hladin byl použit herbicid isoxaben, protože způsobuje v buňkách zvýšenou expresi právě H+ATPasy.
Hmotnostní spektrometrie s využitím iTRAQ značek byla úspěšně adaptována pro kvantifikaci membránových proteinů. Výsledky byly ověřovány Western blotem.
Projekt je podporován Grantovou agenturou České republiky – Grant číslo 203/09/0036.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Význam exprese transkripčního faktoru HIF-1α u buněčných linií odvozených od neuroblastomu

Autor: Helena Maříková
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Neuroblastomy jsou spolu s nádory mozku nejčastějšími solidními nádory dětského věku. Prakticky ve všech solidních nádorech jsou v důsledku neadekvátní angiogeneze přítomny hypoxické oblasti. Nádorové buňky jsou schopny se na hypoxické podmínky adaptovat, což má řadu významných biologických dopadů.
Hypoxie se podílí na agresivnějším chovaní nádorů a je jednou z příčin snížení apoptózy indukované cytostatiky a zvýšení genetické nestability nádorových buněk. Hlavním faktorem, který adaptaci na hypoxické prostředí ovlivňuje, je tzv. hypoxií indukovaný transkripční faktor (HIF). Je tvořen dvěma podjednotkami, konstitutivně exprimovanou HIF-1β/ARNT a hypoxií indukovanou HIF-1α s homology HIF-2α a HIF-3α. Za snížené tenze kyslíku je HIF-1α stabilizován a tvoří heterodimer s HIF-1β. Ten je následně translokován do jádra, kde aktivuje transkripci více než 100 genů, které jsou nesmírně důležité pro přežití nádorových buněk v hypoxii. U buněčné linie lidského neuroblastomu SK-N-AS byla studována dynamika exprese HIF-1α v průběhu kultivace v hypoxii a v normoxii. Ukázalo se, že za určitých okolností může být HIF-1α exprimován i v normoxii. Dále bylo studováno utlumení exprese HIF-1α pomocí siRNA.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Vliv buněčných faktorů na tvorbu retrovirových částic

Autor: Růžena Píchalová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.

Detailní pochopení životního cyklu retrovirů, včetně jeho klíčového kroku, skládání retrovirových částic, by mohlo přispět k nalezení nových antivirových léčiv. Pro studium tvorby retrovirových částic byl použit deleční mutant strukturního polyproteinu Gag Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV). Tento protein byl produkován v buňkách *E. coli* a isolován dvěma různými postupy pomocí afinitní a ionexové chromatografie. Podle purifikačního postupu byly připraveny proteiny dvojího typu (1 a 2). Bylo zjištěno, že protein typu 1 vytváří vždy pouze sférické částice, zatímco protein typu 2 je schopen za určitých podmínek vytvářet částice tubulární a vícevrstvé. Vzájemným porovnáním obou typů proteinů bylo zjištěno, že roztok proteinu typu 2 obsahuje navíc přibližně 43kDa protein. Tento protein byl hmotnostní spektrometrií určen jako prokaryotní translační elongační faktor EF-Tu. Jelikož bylo publikováno, že eukaryotní translační faktor EF-1α (analog EF-Tu) je schopen vázat nukleokapsidový protein HIV-1, byl studován možný vliv EF-Tu na skládání částic M-PMV. Rekombinantní protein EF-Tu byl isolován z buněk *E. coli* a použit pro studium jeho vlivu na proces tvorby retrovirových částic.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Predikce struktur proteinů jako nástroj pro vývoj terapeutických nukleas

Autor: Bc. Daniel Soor
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství; (Ústav biochemie a mikrobiologie)
Školitel: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Rostlinné nukleasy jsou perspektivní alternativou ve farmakoterapii nádorových onemocnění, jejich přímé použití však naráží na celou řadu problémů v čele s degradací vlastními enzymy organismu, imunitní odpovědí a rychlou eliminací. Kovalentními modifikacemi nukleas polymerními řetězci, například molekulami polyethylenglykolu, lze dosáhnout výrazného zlepšení farmakokinetických vlastností a snížení imunogenicity v neposlední řadě pak i nepřímého cílení farmaka do tumorózní tkáně. Při počítačové predikci prostorového uspořádání tří vybraných rostlinných nukleas bylo využito experimentální struktury nukleasy P1 z *Penicillium citricum*. Z modelů je patrné, že struktury nukleas obsahují řadu residuí lysinu, která jsou pro potenciální modifikace dobře přístupná, a která nezasahují do aktivních míst enzymů. Z toho lze usoudit, že potenciální modifikace nebudou výrazně ovlivňovat enzymovou aktivitu. Na základě získaných dat probíhá v současné době projekt na přípravu modifikované rekombinantní chmelové nukleasy.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Studium SUMOylace strukturních proteinů Mason-Pfizerova opičího viru

Autor: Lenka Strnadová
Ročník: M1
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.

Mason-Pfizerův opičí virus řadíme mezi retroviry třídy D, které skládají své částice v cytoplasmě hostitelské buňky. Jedním ze strukturních proteinů Mason-Pfizerova opičího viru je fosfoprotein (PP), obsahující pozdní domény - krátké aminokyselinové motivy důležité pro uvolňování složených částic z hostitelské buňky. Analýzou primární struktury fosfoproteinu se nám podařilo nalézt dvě potenciální interakční místa s proteinem SUMO. Pro ověření této interakce pomocí dvouhybridního kvasinkového systému byly připraveny nezbytné konstrukty. Tuto interakci se nám podařilo prokázat, ovšem oproti původnímu očekávání byla nutná přítomnost oblasti p12. Pomocí bioafinitní chromatografie se nám podařilo prokázat interakci fúzního proteinu PP-p12 s enzymem Ubc9, což naznačuje možnou SUMOylaci proteinu PP-p12. Potvrzení nebo vyvrácení této hypotézy je předmětem dalších studií.

Sekce: **Enzymologie (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.
Členové: doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.
Ing. Jiří Blažek
Ing. Jiří Šantrůček
Ing. Martina Vermachová

Studenti: Bc. Bímová Alice
Bc. Březinová Dagmar
Bc. Gerstorferová Daniela
Bc. Hamšíková Martina
Bc. Hofmeisterová Jana
Bc. Ježková Lucie
Bc. Kopecká Radka

Sekce: Enzymologie

Studium synergistického účinku proteolytických enzymů a antibiotik

Autor: Alice Bímová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Dr. Ing. Martina Macková

Rychlá adaptace patogenů na pomalý vývoj antibiotik s novými mechanismy účinku stále snižuje možnosti úspěšné léčby četných bakteriálních infekcí. Snahou je zvýšit účinek již používaných antibiotik a snížit jejich minimální inhibiční koncentrace (MIC), aniž by došlo ke zvýšení toxicity. Jednou z účinných možností se jeví synergistický účinek proteolytických enzymů a antibiotik. V naší studii jsme se zabývali vlivem proteas trypsinu a chymotrypsinu na účinek a možné snížení MIC vybraných antibiotik. Zástupci patogenních mikroorganismů byly G^- bakterie *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* a G^+ bakterie *Staphylococcus aureus* a *Listeria innocua*. MIC byly stanoveny turbidimetrickou metodou sledování kinetiky růstu bakteriálních suspenzí pomocí přístroje Bioscreen C. Experimentálně bylo potvrzeno, že proteolytické enzymy trypsin a chymotrypsin, ačkoli samy o sobě antimikrobiální aktivitu nevykazují, jsou schopny potencovat antimikrobiální účinek klasických antibiotik a prokazatelně snižují MIC antibiotik ampicilinu a methicilinu, streptomycinu nebo vankomycinu při působení na vybrané bakterie *in vitro*.

Sekce: Enzymologie

Studium role proteasy SENP6 v proteasomální degradaci

Autor: Dagmar Březinová
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.

Proteiny SUMO patří do rodiny vysoce konzervovaných modifikátorů strukturně příbuzných s ubikvitinem, schopných měnit aktivitu a subcelulární lokalizaci svého substrátu. Kovalentní vazba mezi proteinem SUMO a substrátem může být hydrolyzována činností proteas specifických pro SUMO (SENP), které tímto zajišťují reverzibilitu této modifikace. Naše práce je zaměřena na studium proteasy SENP6 a její potenciální roli v proteasomální degradaci proteinů. V podmínkách *in vivo* jsme prokázali, že nadexprese proteasy SENP6 má negativní vliv na množství vytvořených konjugátů SUMO. Pomocí imunofluorescenční mikroskopie jsme pozorovali změnu subjaderné lokalizace této proteasy v průběhu teplotního stresu. Využitím metody RT-PCR jsme izolovali geny, kódující proteiny S5a a HR23B. Získané sekvence budou vloženy do bakteriálních expresních vektorů, které budou použity pro rekombinantní přípravu těchto proteinů, nutných pro izolaci 26S proteasomu ze savčích buněk. Cílem naší práce je ověřit funkční asociaci SENP6 s 26S proteasomem *in vitro.*

Sekce: Enzymologie

Charakterizace a aplikace fungální α-L-rhamnosidasy

Autor: Daniela Gerstorferová
Ročník: M2
Ústav: Mikrobiologický ústav, AV ČR
Školitel: Ing. Lenka Weignerová, PhD.; Prof. Dr. Ing. Martina Macková

α-L-Rhamnosidasa (EC 3.2.1.40) je biotechnologicky důležitý enzym, užívaný k derhamnosylaci mnoha přírodních látek. Fungální α-L-rhamnosidasa z *Aspergillus terreus* CCF 3059 je používána ke konverzi rutinu na isoquercitrin, farmakologicky významný flavonoid. Díky vhodným podmínkám reakce (pH, teplota) dochází k téměř 100% konverzi rutinu na isoquercitrin. α-L-Rhamnosidasa z *Aspergillus terreus* CCF 3059 má výjimečné biochemické vlastnosti, podobné spíše bakteriálním enzymům (vysoká teplotní odolnost a stabilita, aktivita i při vyšších hodnotách pH). Tento enzym je také zkoumán na molekulárně genetické úrovni, určení a získání genu pro α-L-rhamnosidasu pro přípravu rekombinantního enzymu.

Sekce: Enzymologie

Transfukosylační reakce katalyzované β-D-galaktosidasou z bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus*

Autor: Martina Hamšíková
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Eva Benešová

β-D-Galaktosidasa (EC 3.2.1.23) katalyzuje hydrolytické odštěpování terminálních galaktosylových zbytků v β-D-galaktosidech a díky své široké substrátové specifitě může hydrolyticky štěpit také β-D-glukosidy, β-D-fukosidy nebo α-L-arabinosidy. Za určitých podmínek katalyzuje tento enzym i přenos příslušných cukerných zbytků na různé akceptory. Právě transfukosylační aktivita β-D-galaktosidasy nabízí možnost syntézy nových fukosylovaných molekul jako jsou například alkylfukosidy nebo fukooligosacharidy, které mohou nalézt využití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. V této práci byl expresní plasmid pET16b s vloženým genem β-D-galaktosidasy z *Paenibacillus thiaminolyticus* použit k produkci rekombinantního enzymu v buňkách *E. coli* BL21 (DE3). β-D-Galaktosidasa ve fúzi s histidinovou kotvou (molekulová hmotnost 68,6 kDa) byla purifikována pomocí afinitní chromatografie na koloně s Ni-NTA agarosou a dále charakterisována s využitím substrátu *p*-nitrophenyl-β-D-fukopyranosidu (K_M= (2,10 ± 0,02) mmol/l, optimální pH 6,5 a teplota 65 °C). V současné době byly zahájeny první experimenty týkající se možnosti využití volného i imobilizovaného enzymu při transfukosylacích cukerných akceptorů.

Sekce: Enzymologie

α-L-Fukosidasa bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus*

Autor: Jana Hofmeisterová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Eva Benešová

α-L-Fukosidasy (EC 3.2.1.51) jsou enzymy z třídy hydrolas katalyzující odštěpování fukosylových zbytků z neredukujících konců oligosacharidových řetězců glykokonjugátů. Účastní se metabolismu mnoha biologicky aktivních molekul obsahujících α-L-fukosu. Deficience α-L-fukosidasy způsobuje závažné onemocnění - fukosidosu. Změny ve fukosylacích byly pozorovány např. při nádorových onemocněních.
Během předchozí práce byla u bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus* zjištěna přítomnost dvou izoenzymů α-L-fukosidasy. Gen pro izoenzym 1 byl již sekvenován, enzym exprimován, charakterizován a byla u něj potvrzena schopnost katalyzovat transglykosylační reakce. Úkolem této práce bylo nalézt gen kódující izoenzym 2 a pokusit se o jeho přípravu v rekombinantní podobě. Nejprve byla připravena genomová knihovna bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus* v buňkách *E. coli* DH5α. Kolonie vykazující α-L-fukosidasovou aktivitu byla nalezena s využitím chromogenního substrátu 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-α-L-fukopyranosidu a gen kódující izoenzym 2 byl následně sekvenován. V současné době je připravován expresní plasmid pET16b s vloženou sekvencí genu kódujícího izoenzym 2, který bude následně využit pro přípravu rekombinantní α-L-fukosidasy.

Sekce: Enzymologie

Vliv biotického stresu na genovou expresi izoforem fosfolipázy D u rostlin

Autor: Lucie Ježková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.

Fosfolipáza D (PLD) je enzym hydrolyzující fosfolipidy za vzniku kyseliny fosfatidové, která má u rostlin důležitou roli sekundárního posla a je zapojena do regulace mnoha buněčných procesů. U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* bylo identifikováno 12 genů kódujících izoformy PLD a u některých byla prokázána důležitá úloha v rostlinné odpovědi k patogenům a elicitorům. Tato práce je zaměřena na identifikaci izoforem *PLD* v rostlině *Brassica napus* a jejich transkripční regulaci při biotickém stresu. Vzhledem k tomu, že genom této rostliny zatím nebyl osekvenován, vyhledali jsme v databázi EST sekvence homologní ke genům *A. thaliana PLDβ1, PLDβ2, PLDγ* a *PLDδ* a analyzovali jejich expresi po ošetření induktory obranných signálních drah benzothiadiazolem (BTH) a metyljasmonátem (MeJA), bakteriálním elicitorem flg22, po infekci houbovými patogeny *Sclerotinia sclerotiorum* a *Leptosphaeria maculans* a po mechanickém poškození. Analýzy ukázaly, že exprese *BnPLDβ* je indukována mechanickým poškozením, *BnPLDγ* po infekci oběma patogeny, po ošetření BTH a flg22. *BnPLDδ* byla indukována MeJA a po infekci *S. sclerotiorum*. Na základě výsledků jsme dále studovali úlohu izoforem *BnPLDβ* při mechanickém stresu u *A. thaliana.*

Sekce: Enzymologie

Studium hydrolytických vlastností lipas čmeláka *Bombus terrestris* a vliv detergentů na jejich aktivitu

Autor: Radka Kopecká
Ročník: M1
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Marie Zarevúcka, Csc.; Ing. Jana Brabcová; prof. Dr. Ing. Martina Macková

Lipasy čmeláků mají základní úlohu při hydrolýze zásobních lipidů v tukovém tělese a trávení potravy ve střední části střeva. Mohou být také zapojeny i do hydrolýzy různých acylglycerolů, jejichž uvolněné mastné kyseliny slouží jako prekurzory značkovacích feromonů pro velmi specifickou sexuální komunikaci tohoto druhu hmyzu. Pro detekci lipolytické aktivity v různých tkáních čmeláka *Bombus terrestris* byla zavedena metoda s využitím ^{14}C značeného trioleinu (s isotopem přítomným na karboxylovém uhlíku kyseliny olejové vázáné na každý ze tří uhlíků glycerolu). Hrubý extrakt ze střeva vykazoval aktivitu 87 U/mg, z tukového tělesa 79 U/mg a z labiální žlázy 35 U/mg. Dále byl zkoumán vliv detergentů Triton X-100, Tween 20 a Tween 80 na aktivitu těchto lipas. Bylo prokázáno, že nízká koncentrace detergentů jejich aktivitu zvyšuje a naopak vysoká koncentrace detergentů aktivitu lipas snižuje. Pomocí SDS elektroforézy s následnou detekcí lipolytické aktivity testovaných enzymů pomocí fluorescenčního substrátu MUF-butyrátu byly stanoveny molekulové hmotnosti lipas - pro labiální žlázu, tukové těleso 67 kDa a pro střevo 45 kDa.
Poděkování: GA ČR 203/09/1446

Sekce: **Mikrobiologie (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.
Členové: Ing. Petra Lovecká, Ph.D.
Ing. Tereza Neubauerová
Ing. Blanka Vrchotová
Ing. Jana Vrkoslavová

Studenti: Bc. Babulíková Jana
Bc. Fajmonová Jana
Bc. Ferklová Iva
Bc. Jablonská Eva
Bc. Macůrková Anna
Bc. Slavíková Lucie
Bc. Turoňová Hana

Sekce: Mikrobiologie

Vliv antimikrobiálních faktorů na tvorbu biofilmu u *Staphylococcus aureus*

Autor: Jana Babulíková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobioloie
Školitel: doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.; Ing. Sabina Purkrtová

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie schopná produkovat enterotoxiny, které mohou kontaminovat potraviny a vyvolat otravy z jídla. Dalším problémem jsou stafylokokové infekce v nemocnicích způsobené multirezistentními kmeny (MRSA, VRSA). *S. aureus* je schopný tvořit biofilm, společenstvo mikroorganismů přisedlé na pevném povrchu. Buňky biofilmu jsou díky polysacharidovým složkám chráněny nejen před nepříznivými podmínkami, ale také před působením antimikrobiálních látek, jako jsou dezinfekční látky či antibiotika. Prvotním cílem práce bylo zjištění tvorby biofilmu u sbírky 23 kmenů *S. aureus* (poskytnuty Státním zdravotním ústavem v Brně) v různých médiích (BHI, PPV nebo TSB s přídavkem 1 % glukózy a/nebo 1 %, 5 % NaCl, TSB) a při různých teplotách (8 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C) a také zjištění jejich rezistence k vybraným antibiotikům. U vybraných kmenů byla následně zjišťována tvorba biofilmu v závislosti na teplotním šoku (6 °C, 44 °C) a působení dezinfekcí (Savo, benzalkonium chlorid). Tvorba biofilmu u *S. aureus* je regulována mimo jiné *agr* quorum sensing systémem. Pro sledování exprese tohoto systému za různých podmínek byla navržena a optimalizována PCR pro detekci *agr*D, který kóduje prekurzor signálního peptidu.

Sekce: Mikrobiologie

Izolace elicitorů z *Leptosphaeria maculans* indukující rezistenci v *Brassica napus*

Autor: Bc. Jana Fajmonová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.

Řepka ozimná (*Brassica napus*) je významnou hospodářskou plodinou současnosti. Bohužel stejně jako každý jiný živý organismus podléhá chorobám, které zapřičinily v minulosti už mnohokrát nemalé ztráty na úrodách. Nejvýznamnějším patogenem *B. napus* v našich podmínkách je *Leptosphaeria maculans* způsobující tzv. fómovou hnilobu. Elicitory jsou látky pocházející z patogenu, které po rozpoznání rostlinnými receptory vyvolají obrannou odpověď. Chemicky to mohou být látky nejrůznější povahy. Smyslem mé práce je izolovat a identifikovat elicitory z *Leptosthaeria maculans*, jež spouští obranné mechanismy v *B. napus* a mohou vést až k rezistenci rostliny vůči patogenu. Ačkoli je *B. napus* schopna se tomuto patogenu bránit, její imunitní reakce při první konfrontaci s patogenem mnohdy nebývá dostatečně silná ani včasná a tak pro *B. napus* dopadá toto setkání často fatálně. Pokud by byly elicitory izolovány a popsány, daly by se jimi rostliny *B. napus* naočkovat obdobně jako lidé proti lidským chorobám. Imunitní reakce rostliny by byla při reálné a prakticky druhé interakci s *L. maculans* a jejími elicitory mnohem silnější a včasnější. Šance na přežití této zemědělsky i průmyslově důležité rostliny by tak velmi vzrostly a mohli bychom se vyhnout ochraně úrody za použití fungicidů.

Sekce: Mikrobiologie

Nejrychlejší metoda identifikace salmonel – MALDI-TOF

Autor: Iva Ferklová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.

Salmonely jsou jedny z nejčastějších potravinových patogenů, které způsobují vážné onemocnění střevního traktu. Ke komplikacím dochází zejména u dětí, starších osob a osob s oslabeným imunitním systémem. Včasná diagnostika tohoto infekčního onemocnění je velmi důležitá. Zavedené metody v klinické mikrobiologii jsou časově náročné a pracné. Identifikace bakterií pod úrovní druhu pomocí běžných biochemických metod vyžaduje dlouhé inkubační doby a výsledek může být ovlivněn i určitým stupněm subjektivity. V současnosti se pro rychlou identifikaci mikroorganismů využívá celobuněčná hotnostní spektrometrie „matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight“ (MALDI-TOF). Spektra ribozomálních proteinů se porovnají se spektry v databázích a hledá se mikroorganismus s nejvyšší mírou shody. V principu se přenesou buňky z jedné suspektní kolonie na destičku s vybranou matricí a získané spektrum se vyhodnotí. Identifikace organismu touto metodou je otázkou minut. Cílem práce je ověřit schopnost identifikace sbírkových kmenů salmonel touto metodou nejen na úrovni druhu ale i sérotypu.

Sekce: Mikrobiologie

Izolace a charakterizace lipidových tělísek mořské bakterie *Alcanivorax borkumensis*

Autor: Eva Jablonská
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zita Purkrtová, Ph.D.

Lipidová tělíska (oil bodies, OB) hrají důležitou roli u prokaryot i v tělech eukaryot. Mají též četná biotechnologická využití. Jsou tvořena hydrofobním jádrem a monovrstvou polárních lipidů se zakotvenými proteiny. Bakteriální OB a s nimi asociované proteiny jsou dnes předmětem intenzivního výzkumu. Zjišťuje se zejména případná podobnost proteinů bakteriálních a eukaryotních OB. Cílem této práce bylo optimalizovat izolační postup pro bakteriální OB a izolovaná tělíska charakterizovat. Jako modelový organismus byla zvolena nedávno objevená mořská bakterie *Alcanivorax borkumensis*, schopná odbourávat ropu. Ze tří izolačních postupů se dva ukázaly jako vhodné – izolace v glycerolovém a v sacharosovém gradientu. OB byla charakterizována dle obsahu a složení lipidů a mastných kyselin pomocí TLC a GC/MS, bylo stanoveno celkové množství proteinů metodou dle Bradfordové a pomocí SDS PAGE byl zkoumán proteinový profil OB. Bylo vybráno 9 proteinů pravděpodobně asociovaných s OB určených k MS analýze.

Sekce: Mikrobiologie

Testování účinku a charakterizace antimikrobiálních peptidů

Autor: Bc. Anna Macůrková
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Dr. Ing. Martina Macková

Se stále rostoucím počtem mikroorganismů resistentních vůči antibiotikům roste potřeba hledat nové alternativy v boji proti patogenům. Zřejmé jsou dvě možnosti, a to hledání nových látek, které vykazují antimikrobiální účinky, a modifikace látek stávajících. První alternativu představují krátké antimikrobiální peptidy, které byly poprvé izolovány na počátku 80. let. Pro případné farmaceutické využití je třeba látky charakterizovat. Tato práce se zabývá studiem účinku syntetických polymerů dipeptidu β-alanyltyrosinu, přirozeně se vyskytujícím v hemolymfě masařky *Neobellieria bullata*. Jednou z charakteristik je minimální inhibiční koncentrace (MIC), která byla stanovována spektrofotometricky pomocí přístroje Bioscreen®C. Dalšími sledovanými vlastnostmi je případná hemolytická aktivita studovaných peptidů, jejich toxicita vůči savčím buňkám, mechanismus a specifita jejich účinku. Testování je zaměřeno na látky účinné hlavně proti Gram-pozitivním bakteriím (např. *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis*), ale i proti Gram-negativním bakteriím (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*).

Sekce: Mikrobiologie

Faktory virulence u *Campylobacter jejuni*

Autor: Bc. Lucie Slavíková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.; Ing. Sabina Purkrtová

Bakterie rodu *Campylobacter* jsou zakřivené gramnegativní mikroaerofilní bakterie. Termofilní druhy, nejčastěji *C. jejuni,* vyvolávají alimentární onemocnění. Kampylobakterióza je v posledních letech nejčastější lidskou zoonózou projevující se především těžkými průjmy. Nejčastějším zdrojem infekce je drůbeží maso nedostatečně tepelně upravené či z něj pocházející křížová kontaminace. Klinický projev ovlivňuje zdraví, věk a imunita hostitele, značnou měrou ale také přispívají specifické patogenní determinanty kampylobaktera. Chemotaxe, pohyblivost a přítomnost bičíku zajišťují přichycení a kolonizaci na střevním epitelu. Dalšími faktory virulence jsou zvýšený obsah železa v prostředí, tvorba biofilmu, stěnové lipopolysacharidy, produkce enterotoxinu (CDT toxin) a hemolysinu, odpověď na oxidační stres.
Na kmenech získaných z drůbeže dle ČSN ISO 10272 byla optimalizováno PCR detekce klastru šesti genů zodpovědných za *O*-glykosylaci flagellinu. Optimalizovaný protokol byl poté použit k detekci těchto genů u souboru klinických izolátů. U studovaných kmenů byla zjišťována schopnost tvorby biofilmu za různých kultivačních podmínek a schopnost odolávat aerobnímu stresu.

Sekce: Mikrobiologie

Vliv dezinfekčních prostředků na tvorbu biofilmu u *Listeria monocytogenes*

Autor: Hana Turoňová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.; Ing. Sabina Purkrtová

Listeria monocytogenes je podmíněně patogenní bakterie vyvolávající alimentární onemocnění zvané listerióza. Ta ohrožuje hlavně imunodeficientní pacienty a těhotné ženy a vyznačuje se vysokou mírou mortality. Zároveň je *L. monocytogenes* schopná tvořit biofilm, který chrání buňky před působením antimikrobiálních látek a umožňuje přichycování nových bakterií z prostředí, čímž se zvyšuje riziko kontaminace potravin ve výrobě. Ve své práci jsem provedla screening tvorby biofilmu u 41 kmenů *L. monocytogenes* (izoláty z potravin a z provozu) ve třech kultivačních médiích při různých teplotách (pufrovaná peptonová voda s přídavkem 1 % a 0,05 % glukosy při 30 a 25 °C a trypton - sojový bujón se 2 % glukosy a s 0,6 % kvasničného extraktu při 30 a 37 °C). U 14 vybraných kmenů byla následně zjišťována odolnost biofilmu k dezinfekcím (Savo, benzalkonium chlorid) určováním minimální inhibiční koncetrace pro dobu působení 10 minut, dále vliv tepelného šoku na tvorbu biofilmu (8 a 44 °C) a též hydrofobicita buněk vytřepáváním do hexadekanu. Pro měření tvorby biofilmu byla využita kultivace v mikrotitračních destičkách a následné barvení krystalovou violetí.

Sekce: **Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: prof. Ing Tomáš Ruml, CSc.
Členové: Ing. Jan Lipov, Ph.D.
Ing. Darina Hornáková
Ing. Sabina Purkrtová
Ing. Martin Švéda

Studenti: Bc. Boháčková Zuzana
Bc. Hložková Kateřina
Bc. Jeřábek Štěpán
Bc. Martínková Eva
Bc. Richterová Klára
Bc. Rohlová Eva
Bc. Tupá Kateřina

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Genotypová charakterizace výskytu lipopolysacharidů rodu *Cronobacter*

Autor: Zuzana Boháčková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Martina Blažková, Ph.D.

Rod *Cronobacter* je podmíněný patogen, způsobující meningitidu a nekrotisující enterokolitidu s vysokou úmrtností zejména u novorozenců s nízkou porodní váhou. Nejčastějším zdrojem nákazy je sušená kojenecká výživa. Tento nově klasifikovaný bakteriální rod v současné době zahrnuje šest druhů a tři poddruhy. Kvůli závažnosti infekce je třeba u rodu *Cronobacter* charakterizovat různé existující kmeny. Jednou z možných metod je sérotypizace, úspěšně využívaná v epidemiologii některých gram-negativních bakterií. Sérotypizace je založena na odlišnosti O-antigenů (součást lipopolysacharidu) různých bakteriálních kmenů téhož druhu. Fenotypová sérotypizace využívá protilátky, genotypová pak molekulárně-genetické metody. Cílem této práce je určit u bakteriální sbírky již známé sérotypy O:1 a O:2 pomocí metody PCR a dále metodou RFLP odlišit kmeny s jiným sérotypem. Pro sérotypizační PCR byly použity primery převzaté z literatury, navržené podle genů pro glykosyltransferasy v *rfb* lokusu, gen *wehC* pro sérotyp O:1 (341 bp) a gen *wehI* pro sérotyp O:2 (329 bp). U metody RFLP byly použity primery umožňující namnožení celého *rfb* lokusu (12000 bp) a následně byl PCR produkt štěpen restrikční endonukleasou *MboII*.

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Funkční studie trankripčního regulátoru bakterie *Achromobacter xylosoxidans* A8 vedené *in vitro*

Autor: Kateřina Hložková
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.

Sekvenční a funkční analýzy 9kb regionu plasmidu pA81 z půdní gramnegativní bakterie *Achromobacter xylosoxidans* A8 poukázaly na význam obsažených genů *met* pro rezistenci k Cd^{2+}, Zn^{2+} a Pb^{2+}. Součástí regionu je i *metR*, kódující 132-aminokyselinový ortolog transkripčních regulátorů rodiny MerR. Pro studium interakce MetR s operátory mer_{Op} předpovězenými v promotorových oblastech *metA* (funkční transportér rodiny P1-ATPas), *metD* (pravděpodobný transportér rodiny CDF) a *metY* (pravděpodobná desaturasa) byl připraven vektor pro heterologní expresi *merR*. Rekombinantní MerR byl pak získán v dostatečné čistotě z *E. coli*. Vazba MerR na značené sondy o 240 pb a obsahující mer_{Op} a na promotorovou oblast *metT* bez mer_{Op} byla sledována pomocí metody EMSA (*z angl.* Electrophoretic Mobility Shift Assay). V rozmezí molárních poměrů MetR:operátor rovných 40:1 až 2:1 tak byla prokázána specifická asociace MetR s mer_{Op} genů *metA*, *metD* a *metY*. Přebytek Cd^{2+} neměl na vazbu za podmínek *in vitro* vliv. Získané výsledky ukazují, že MetR má potenciál modulovat expresi *metA*, *metD* a *metY* a naznačují, že *metD* a *metY* s doposud neobjasněným fenotypovým projevem mohou také přispívat k rezistenci *A. xylosoxidans* A8 k těžkým kovům.

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Genetická genomika na modelu substitučních myších kmenů

Autor: Bc. Štěpán Jeřábek
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. MUDr. Jiří Forejt, DrSc.

Genetická genomika sjednocuje molekulárně-genetický přístup vazebné analýzy se statistickým hodnocením profilů genové exprese za účelem studia architektury genové regulace. V laboratoři byly připraveny hybridní myši s označením B6.PWD-Ch5/B6 x PWD, jejichž genom je kombinací klasického inbredního kmene C57BL/6J (B6) a geneticky značně odlišného kmene PWD/Ph. U těchto myší je každý chromosomový pár s výjimkou páru pátého sestaven z jednoho chromosomu kmene B6 a druhého chromosomu pocházejího od PWD/Ph. Pátý chromozomový pár sestává z jednoho chromozomu kmene PWD/Ph a jednoho rekombinantního PWD/B6 chromosomu. S využitím MouseRef-8 v2 Expression BeadChips (Illumina) byla porovnána genová exprese v játrech myší B6.PWD-Ch5/B6 x PWD s F1 generací rodičů obou kmenů. Na základě získaných výsledků bylo vybráno devět signifikantně diferenciálně exprimovaných genů a tyto byly validovány pomocí Q-RTPCR. V závěrečné fázi byly vybrány dva geny pro QTL-mapování regulátorů jejich jaterní exprese na panelu rekombinantních jedinců.

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Využití specifických sond pro detekci telomerické DNA

Autor: Eva Martínková
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Konce eukaryotních chromosomů tvoří specifické nukleoproteinové komplexy obsahující nekódující repetitivní DNA sekvence $(TTAGGG)_n$ a asociované proteiny. Souhrnně se tyto struktury nazývají telomery. Hlavní funkcí telomer je stabilizovat a chránit kódující části lineární DNA. Telomerické úseky se s každým buněčným dělením zkracují z důvodu tzv. koncového replikačního problému, což je jeden z procesů způsobujícího stárnutí organismů.
Při měření délek telomer metodou Southern blot nemusí být zajištěna pro nás klíčová kvantitativita. Proto modifikujeme metodu kapilární elektroforesy na čipu (KE). Metoda KE pro detekci DNA fragmentů využívá nespecifické interkalační činidlo. Pro zajištění specificity detekce telomerických fragmentů je hybridizujeme PNA sondami, tedy sondami s peptidovou vazbou v řetězci nukleotidů, která zajišťuje pevnější vazbu sondy na DNA.
Ačkoli u reálných vzorků jsou zatím výsledky nejednoznačné, při práci s modelovou DNA byly zaznamenány prokazatelné výsledky ověřené použitím jiné metody, významně napovídající pro budoucí směřování tohoto výzkumu.

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Isolace a studium vlastností rekombinantního pseudoosmotinu

Autor: Klára Richterová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Dr. Ing. Martina Macková

Novou klinickou třídu antimikrobiálních látek tvoří antimikrobiální peptidy (AMP), které by se do budoucna mohly podílet na řešení problému s neustále narůstající rezistencí bakterií k „tradičním“ antibiotikům. Mezi AMP patří také rostlinný protein osmotin, identifikovaný např. v *Nicotiana tabacum,* u něhož byla prokázána antifungální aktivita. Při klonování genu pro osmotin *OSM*(-N,C) do bakteriálního vektoru pET19-b vznikl díky náhodné bodové mutaci kratší gen pro tzv. pseudoosmotin složený ze 152 aminokyselin (namísto 231 aminokyselin), s odhadovanou molekulovou hmotností 16,75 kDa (namísto 24 kDa). V této práci jsou studovány optimální podmínky pro expresi, izolaci a purifikaci rekombinantního proteinu pseudoosmotinu z buněk *E.coli* a jeho vlastnosti včetně antimikrobiální aktivity. Pseudoosmotin byl izolován z membránové frakce bakterií a purifikován afinitní chromatografií na koloně s Ni-NTA agarosou. U získaného rekombinantního pseudoosmotinu byla potvrzena antifungální aktivita např. proti některým kandidám. Kromě antimikrobiálního účinku byla testována hemolytická aktivita a interakce proteinu s polymery (kys. alginovou, chitosanem, β-glukanem) potenciálně využitelnými pro jeho stabilizaci v praktickém využití.

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Detekce genů ovlivňujících tvorbu biofirmu u *Cronobacter sakazakii*

Autor: Eva Rohlová
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Cronobacter sakazakii je oportunní patogen napadající především novorozence a imunodeficientní jedince, u kterých způsobuje nekrotizující enterokolitidy, meningitidy nebo septikémie s vysokou mírou úmrtnosti (až 80 %). Ve většině případů byla nákaza *C. sakazakii* spojená s konzumací mléčné kojenecké výživy. Tato bakterie je odolná vůči nepříznivým podmínkám, přežívá vysoké teploty i suché prostředí, což usnadňuje její výskyt v potravinách, jakou je právě instantní kojenecká výživa. Bakterie má schopnost tvořit biofilmy na pevném povrchu, což jí umožňuje přežívat proces sanitace. Cílem práce je charakterizace genů *C. sakazakii*, které by mohly ovlivňovat vznik biofilmu. V laboratorních podmínkách byla u vybraných kmenů měřena tvorba biofilmu za různých podmínek metodou mikrotitračních destiček. U kmenů s nejlepší schopností tvorby biofilmů bude v dalším kroku zjišťována přítomnost, a později i míra exprese, genů zodpovědných za tvorbu biofilmu pomocí metod klasické PCR a real-time PCR. S nejvyšší pravděpodobností se jedná o geny *bssS* (ESA_02288), *ybaJ* (ESA_02809) a *ygiD* (ESA_00370) původně identifikované u *E. coli*. Pro genotypovou charakterizaci testovaných kmenů byl optimalizován protokol PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis).

Sekce: Molekulárně-genetické metody a jejich aplikace

Klonování genu *HisCUP* pro zvýšení akumulace těžkých kovů v rostlinách

Autor: Bc. Kateřina Tupá
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Dr. Ing. Martina Macková; Ing. Jan Fišer

Fytoremediace je metoda využívající rostliny k degradaci, zadržení či metabolizaci organických a anorganických polutantů. Vysoké koncentrace těžkých kovů však akumulují jen některé rostliny, tzv. hyperakumulátory, které jsou pro fytoremediaci nevhodné vzhledem k tvorbě velmi malého objemu biomasy. Tento nedostatek může být řešen přípravou transgenních rostlin s vhodnými vazebnými ligandy. Gen *HisCUP* (gen *CUP* ve fúzi s histidinovou kotvou) kóduje protein metalothionein schopný vázat těžké kovy ve zvýšené koncentraci. Tento gen je vnášen do netransgenních rostlin tabáku a zároveň do transgenních linií tabáku obsahujících gen *bphC*. Gen *bphC* kóduje enzym účastnící se bakteriální degradační dráhy PCB, a tudíž rostliny s geny *HisCUP* a *bphC* by se mohly podílet na dekontaminaci půdy znečištěné jak těžkými kovy, tak i PCB. Gen *HisCUP*, společně s genem pro fosfomannosaisomerasu, je do rostlin vnášen pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Rostliny tabáku s genem *HisCUP* či *HisCUP* a *bphC* jsou dále selektovány na médiu s mannosou, kdy k regeneraci dochází pouze u těch klonů, kde došlo k expresi vnesených genů. Úspěšnost transformace bude ověřována na úrovni DNA, RNA i exprimovaného proteinu metodou Western blot.

Sekce: **Molekulární ekologie (plakátová)**
Ústav 320, 9:00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Tomáš Macek, CSc.
Členové: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.
Ing. Martina Nováková, Ph.D.
Ing. Petra Prouzová, Ph.D.
Ing. Vlasta Dudková

Studenti: Bc. Briksí Aleš
Bc. Hoskovcová Eva
Bc. Janda Martin
Bc. Musilová Lucie
Bc. Špácová Miroslava
Bc. Vondráček Jan
Bc. Wolfram Jan
Wald Jiří

Sekce: Molekulární ekologie

O detoxikaci Zn v plodnicích ektomykorhizních akumulátorů *Hebeloma* spp. a *Russula* spp. – různé přístupy pro jeden kov

Autor: Aleš Briksí
Ročník: M1
Ústav: biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.

Ačkoli je schopnost vyšších hub akumulovat těžké kovy popisována takřka půl století, poměrně malá pozornost byla věnována mechanismům detoxikace akumulovaných kovů. Cílem práce je získání poznatků o intracelulárních ligandech schopných vázat ionty Zn^{2+} v plodnicích identifikovaných akumulátorů rodů *Hebeloma* a *Russula*. S využitím gelové permeační chromatografie, vysokoúčinné kapalinové chromatografie a polyakrylamidové elektroforézy s fluorescenční detekcí byly jako hlavní intracelulární ligandy Zn^{2+} identifikovány peptidy bohaté na sulfhydrylové skupiny. V plodnicích akumulátorů *Russula* spp. jsou majoritními ligandy Zn^{2+} peptidy charakteru metalothioneinů (MT, bohaté na zbytky cysteinylu). Pro posouzení významu MT pro akumulační fenotyp je v současné době analyzována speciace Zn^{2+} i u neakumulujících zástupců rodu *Russula* s různým stupněm fylogenetické příbuznosti. V případě *Hebeloma* spp. se téměř veškerý intracelulární Zn^{2+} vyskytuje v komplexu s glutathionem. Peptidy charakteru MT byly zjištěny u *H. mesophaemum* jako ligandy detoxikující intracelulární Ag^{+}. Tato práce poukázala na rozdílnost hlavních mechanismů detoxikace Zn^{2+} u akumulátorů sledovaných ektomykorhizních rodů a přinesla poznatky o způsobu detoxikace Ag^{+} u *H. mesophaemum*.

Sekce: Molekulární ekologie

Studium vlivu rostlin na změny mikrobiální diversity v kontaminované zemině

Autor: Eva Hoskovcová
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Dr. Ing. Martina Macková; Ing. Petra Prouzová, Ph.D.

Polychlorované bifenyly (PCB) patří mezi chlorované aromatické sloučeniny. Jedněmi z alternativních metod, které mohou být použity pro odstraňování těchto toxických xenobiotik, jsou fytoremediace a rhizoremediace. Tyto metody nejsou ekonomicky náročné a jsou šetrné k životnímu prostředí. Práce je zaměřena na studium vlivu rostlin a látek obsažených v rostlinných exudátech a na diversitu a aktivitu bakterií schopných degradovat PCB. Dále se zabývá studiem vzájemných interakcí rostlin, autochtonních a alochtonních degradujících bakterií použitých pro augmentaci kontaminované zeminy. V pokusu byly použity křen selský a tabák viržinský. Vegetovaná rhizosféra rostlin byla na počátku experimentu inokulována směsí dvou degradujících bakterií – *Pseudomonas putida* a *Achromobacter xylosoxidans*. Po ukončení experimentu byly v rhizosféře stanoveny celkové počty mikroorganismů. Kultivovatelné bakterie schopné využívat bifenyl jako jediný zdroj uhlíku byly dále podrobeny identifikaci metodou MS MALDI - TOF s cílem objevit nové degradéry PCB a ověřit, zda v přítomnosti autochtonní mikroflory přežily i dodané bakterie. Byl vyhodnocen i degradační potenciál jednotlivých kombinací látek rostlinného původu a bakterií.

Sekce: Molekulární ekologie

Rostliny z boje neutíkají aneb signální dráhy kyseliny salicylové a jasmonové v *Arabidopsis thaliana*

Autor: Martin Janda
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: Dr. Ing. Zuzana Novotná

Rostliny z boje neutíkají, a proto jsou u nich velice důležité obranné mechanismy, které si rostliny v průběhu věků vyvinuly. Jejich součástí jsou i signální dráhy kyseliny salicylové (SA) a jasmonové (JA), účastnící se obranných reakcí rostlin, vyvolaných biotickým stresem. Zabýváme se otázkou, zda součástí těchto drah jsou i isoformy fosfolipasy D (PLD). A pokud ano, jakou by v nich mohly hrát roli. Produktem katalýzy PLD je kyselina fosfatidová (PA) o níž se předpokládá, že by mohla být v signalizaci sekundárním poslem. Její hladiny byly sledovány v listech *Arabidopsis thaliana* po exogenním ošetření rostlin chemickým induktorem (sodnou solí kyseliny salicylové). Dále byly sledovány exprese markerových genů signálních drah SA a JA v divokém typu a v T-DNA mutantních liniích rostlin *Arabidopsis thaliana* s nefunkčními isoformami PLD po ošetření chemickými induktory metodou RT-qPCR. Předběžné výsledky naznačují, že fosfolipasa D a kyselina fosfatidová by mohly hrát úlohu v obranných reakcích rostlin na biotický stres.

Sekce: Molekulární ekologie

Vliv přírodních látek na mikrobiální diverzitu v kontaminované zemině

Autor: Lucie Musilová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Tomáš Macek, CSc.; Ing. Ondřej Uhlík, Ph.D.

Kontaminace životního prostředí představuje závažný problém, zejména pokud je způsobena perzistentními látkami, mezi které patří i polychlorované bifenyly (PCB). Alternativou k fyzikálně-chemickým postupům jejich odstraňování je využití metabolického potenciálu rostlin a rhizosférních mikroorganismů. V předchozích experimentech se podařilo prokázat, že augmentace zeminy přírodními látkami rostlinného původu vede ke změnám bakteriální diverzity. V navazujících experimentech byly čisté přírodní látky nahrazeny přírodními surovinami obsahujícími jejich vysoké koncentrace – kůrou citronu (limonen), grepu (naringin) a hruškami (kys. kávová). Změny bakteriální diversity byly sledovány kultivačně i molekulárními metodami. Taxonomická identifikace bakteriálních izolátů schopných degradovat bifenyl (strukturní analog PCB) byla provedena metodou MS MALDI-TOF, pro srovnání i sekvenací genů pro 16S rRNA. Pro identifikaci bakterií aktivně degradujících bifenyl přímo v zemině bylo využito isotopové značení DNA Získané výsledky napomůžou lepšímu pochopení ekologicky významných procesů probíhajících v kontaminovaném prostředí a mohou být využity pro vylepšení bioremediačních strategií.

Sekce: Molekulární ekologie

Biotrof nebo nekrotrof? To rostliny zjevně neřeší…

Autor: Miroslava Špácová
Ročník: M2
Ústav: Biochemie a mikrobiologie
Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.; prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.

Patogeni rostlin se tradičně rozdělují na nekrotrofy a biotrofy podle způsobu infekce. Nekrotrofní patogen parazituje na buňkách hostitele, které záměrně usmrtil. Naproti tomu biotrof do poslední chvíle čerpá živiny z živých buněk rostliny. Modelová rostlina *Arabidopsis thaliana* se oběma skupinám patogenů brání odlišnými mechanismy. Zatímco po rozpoznání biotrofa dojde k aktivaci mechanismů řízených signální dráhou kyseliny salicylové (SA), obranné reakce proti nekrotrofům řídí kyselina jasmonová (JA) a etylén (ET). Avšak jen malá část patogenů splňuje striktní rozdělení nekrotrof-biotrof. Navíc není jasné, zda obdobný systém funguje i v jiných rostlinách. Rozhodli jsme se proto studovat tyto děje na řepce olejce (*Brassica napus*) při napadení dvěma zcela odlišnými patogeny. *Sclerotinia sclerotiorum* je houba ryze nekrotrofní, naopak bakterie *Pseudomonas syringae pv.tomato* parazituje v mezibuněčných prostorech a její infekce se po delší dobu projevuje bez příznaků. Nejedná se však o typického biotrofa. Aktivaci signálních drah SA, JA a ET jsme sledovali v průběhu několika dnů od počátku infekce pomocí analýzy exprese markerových genů. Překvapivě došlo u obou patogenů k aktivaci všech tří signálních drah. Zdá se, že výsledky získané studiem modelových organismů nemusí mít vždy obecnou platnost.

Sekce: Molekulární ekologie

Vliv organochlorovaných pesticidů na bakteriální diverzitu

Autor: Bc. Jan Vondráček
Ročník: M2
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Organochlorované pesticidy byly používány desítky let za účelem minimalizace ztrát při pěstování zemědělských plodin. Během této doby došlo ke kontaminaci obrovských ploch. Jedná se o lipofilní sloučeniny, které se akumulují v tukové tkáni. Ve vyšších koncentracích mají na člověka celou řadu negativních účinků. Proto je nutné najít šetrný postup, jak tyto oblasti dekontaminovat. Mikrobiální degradace je jednou z cest. Zkoumané mikroorganismy jsou izolovány přímo z kontaminované zeminy, tzn. z prostředí, kde žijí a kde se přirozeně vypořádávají s tímto ekologickým zatížením a jsou tedy vybaveny příslušným enzymatickým aparátem. Cílem práce bylo sledování změny bakteriální diverzity pod selekčním tlakem organochlorovaných pesticidů (DDT, HCH, HCB) prostřednictvím molekulárně biologických metod (TTGE, DDGE, T-RFLP, MS MALDI-TOF, SIP). Profily získané metodami TTGE, DDGE a T-RFLP naznačují, že dochází k selekci bakteriálních kmenů schopných efektivně degradovat tyto toxikanty. S konzorciem bakteriálních kmenů získaným selekčním tlakem byl proveden degradační pokus a sledován na GC/MS úbytek jednotlivých pesticidů v tekutém médiu. Metodou MS MALDI-TOF byly identifikovány kultivovatelné bakteriální kmeny.

Sekce: Molekulární ekologie

Sledování mikrobiální diverzity v kontaminovaných kalech

Autor: Bc. Jan Wolfram
Ročník: M1
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Cílem práce bylo izolovat bakteriální DNA z kontaminovaných kalů a porovnat bakteriální diverzitu metodami TTGE a T-RFLP s ohledem na obsah bromovaných retardátorů hoření a kultivačně izolovat a identifikovat bakterie, které tyto látky degradují.
S použitím komerčních kitů byla izolována DNA z kalů ČOV v Modřicích a v Hradci Králové. Ze získané DNA byl pomocí PCR amplifikován gen kódující 16S rRNA a pomocí nested PCR i vnitřní úsek tohoto genu. Z konsorcia mikroorganismů byly izolovány druhy schopné růst na minerálním médiu v přítomnosti PentaBDE jako jediného zdroje uhlíku a energie. Izolované kmeny byly podrobeny hmotnostní spektrometrii MALDI-TOF.
Z výsledků je zřejmé, že některé rody bakterií se vyskytují v obou lokalitách, většina z nich je však rozdílná. Významná závislost mikrobiální diverzity na obsahu polybromovaných retardátorů hoření nebyla v této práci pozorována. Mezi izoláty degradujícími PentaBDE byl jednoznačné identifikován pouze rod *Brevibacillus sp.*

Sekce: Molekulární ekologie

Studium bakteriálního metabolismu aromátů v kontaminované zemině

Autor: Jiří Wald
Ročník: B3
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Ondřej Uhlík, Ph.D., prof. Dr. Ing. Martina Macková

Xenobiotika, tedy cizorodé sloučeniny, jsou častým polutantem životního prostředí. Jejich odbourávání se účastní široké spektrum půdních bakterií, čehož se využívá i v procesu řízené bioremediace. Limitujícím faktorem při studiu odbourávání xenobiotik je možnost kultivace pouze určitých bakteriálních druhů v laboratorních podmínkách, což znemožňuje identifikaci bakteriálních populací účastnících se bioremediačního procesu přímo v prostředí. Metoda isotopového značení DNA umožňuje obejít standardní kultivační obtíže a najít vztah mezi metabolickým dějem probíhajícím v prostředí a identitou jeho aktivních mikrobiálních původců. Principem metody je inkubace vzorku s ^{13}C značeným substrátem, který část bakterií využije jako zdroj uhlíku, čímž dojde k inkorporaci těžkého isotopu do DNA, která je následně izolována a analyzována. Cílem této práce je pomocí metody isotopového značení a metagenomické analýzy ^{13}C-DNA studovat fylogenetickou a metabolickou diversitu bakteriálních populací účastnících se degradace aromatických uhlovodíků (bifenyl, naftalen, benzoát) v kontaminované zemině.

Poděkování: Práce byla sponzorována granty 6046137305, GAČR 525/09/1058

Sekce: **Chemie a technologie sacharidů (plakátová)**
Ústav 321, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.
Členové: doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.
Ing. Evžen Šárka, CSc.
Mgr. Andriy Synytsya, Ph.D.
Ing. Vladimír Pour, CSc.

Studenti: Bc. Pavla Bartošková
Bc. Taťána Hofmanová
Bc. Iva Honců
Bc. Jan Karas
Bc. Dana Prokopová
Bc. Petra Slavíčková
Bc. Dominika Valeriánová
Bc. Nikoleta Velebná

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Aplikace NIR a FT-IR spektroskopie v analýze nečokoládových cukrovinek

Autor: Bc. Pavla Bartošková
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Je důležité, aby potraviny a potravinářské výrobky byly zdravotně nezávadné a aby jejich složení odpovídalo složení, které je uvedeno na obalu daného výrobku a nedocházelo tak ke klamání spotřebitele. K ověření autenticity potravin a potravinářských produktů se dnes využívá mnoho standardních analytických metod, které vyžadují složitou úpravu vzorku a jsou většinou velmi časově i finančně náročné. Hledají se proto stále nové, rychlejší a levnější alternativní metody. Velký pokrok v posledních letech zaznamenaly především metody infračervené spektroskopie. A to zejména proto, že vyhovují všem předchozím požadavkům. Dále poskytují možnost zpracovat velké množství vzorků s téměř okamžitými výsledky. Hlavními výhodami těchto metod je tedy především jejich jednoduchost, přesnost, rychlost a nízké provozní náklady. Předkládaná práce navazuje na předchozí zkušenosti na Ústavu chemie a technologie sacharidů s využitím NIR spektroskopie při základní analýze nečokoládových cukrovinek a zabývá se především možností využití blízké infračervené spektroskopie (NIR) a blízké infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-NIR) ke stanovení a identifikaci přírodních a syntetických barviv ve vzorcích nečokoládových cukrovinek, zejména kandytů.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Charakteristiky směsí vybraných druhů tuzemských obilovin

Autor: Bc. Taťána Hofmanová
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Cílem práce bylo hodnocení reologických a technologických znaků pšeničné mouky a těsta obohaceného dalšími plodinami (kukuřice, ječmen a oves) v množství 10, 20, 30, 40 a 50 %. Měření bylo provedeno na šesti reologických přístrojích podle normovaných a interních postupů. Charakteristiky pečiva byly získány na základě pokusného pečení a následného hodnocení objektivními a senzorickými postupy (9-bodový model hodnocení). Vlastnosti moučných směsí a standardně připraveného těsta byly popsány pomocí 24 ukazatelů. Vliv fortifikace použitými plodinami byl zjištěn pro znaky nefermentovaného i fermentovaného těsta a to pro většinu sledovaných koncentrací spíše ve smyslu negativní změny proti receptuře se základní pšeničnou moukou. Zejména v případech vyšších přídavků ovesné mouky (40 a 50 %) bylo sledováno průkazné snížení stability těsta při hnětení a zhoršení zpracovatelnosti. Pekařské výrobky vykazovaly snížení spotřebitelské kvality především při vyšší fortifikaci sledovanými obilovinami. Výrobky s přídavkem kukuřice v množství 40 a 50 % měly prokazatelně menší objem a negativně byly hodnoceny i z hlediska senzorického. Použití ječných a ovesných mouk lze doporučit v koncentracích do 20 %.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Charakteristiky ječných mouk a jejich směsí

Autor: Bc. Iva Honců
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: doc. Ing. Josef Příhoda, CSc.

Cílem práce bylo vyhodnotit vlastnosti ječných mouk a jejich směsí s moukou pšeničnou případně žitnou pro účely přípravy pekařských výrobků s ječnou moukou. Jako kontrolní vzorek byla použita hladká pšeničná mouka T530. Do směsí pšenice:ječmen bylo přidáno 20, 30, 40, 50 a 60 % hladké ječné mouky. Dále byly vytvořeny tři směsi pšenice:žito:ječmen s konstantním podílem ječmene 60 %. Poměr pšenice:žito se měnil. U souboru mouk a směsí byly stanoveny základní i doplňkové jakostní parametry: obsah N – látek (ČSN 46 1011-18), Zeleny test (ČSN ISO 5529), obsah mokrého lepku (ČSN 56 0512-10), číslo poklesu (ČSN ISO 3093), Solvent Retention Capacity (AACC 56-11), obsah □-glukanů (AACC 32 - 23) a na závěr byl proveden a vyhodnocen pekařský pokus. Na základě výsledků byla vytvořena kolekce slaných i sladkých pekařských výrobků ve spolupráci s firmou Zeelandia. U těchto výrobků nás zajímal hlavně obsah □-glukanů, a to ze zdravotních důvodů. Nejvyšší podíl ječmene a tím i β-glukanů byl v ječném chlebu. Konzumací cca 300 g chleba naplníme DDD příjmu β-glukanů, která činí 3 g.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Jakostní profil komerční potravinářské pšenice

Autor: Bc. Jan Karas
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Cílem práce bylo sledovat jakostní znaky souboru vzorků komerční pšenice dodávané do průmyslového mlýna ze dvou lokalit pěstování ročníku 2008, čtyř lokalit ročníku 2009 a 2010. Dále byla provedena korelační analýza mezi analytickými znaky dvaceti pasážních mouk a retenční kapacitou. Závěrem byl porovnán vliv lokality pěstování a ročníku na sledované jakostní znaky komerční potravinářské pšenice. Pro všechny vzorky komerčních pšenic byla stanovena HTZ, OH, tvrdost metodou PSI, výtěžnost na laboratorním mlýnku FQC 109 a retenční kapacita čtyř systémů (RK vody, RK 50% sacharosy, RK 5% Na2CO3 a RK 5% kyseliny mléčné) podle platných norem. Hodnoty tvrdosti PSI sledovaného souboru komerčních pšenic za sklizně 2008 se pohybovaly v rozmezí 14,2 – 28,5 % a patří do kategorií tvrdá - středně tvrdá – středně měkká – měkká. Pro pasážní mouky byla korelační analýzou nalezena významná korelace mezi RK kyseliny mléčné a mokrým lepkem a RK kyseliny mléčné a Zelenyho sedimentační hodnotou. Z výsledků je patrný vliv ročníku i lokality pěstovaní na hodnoty jednotlivých jakostních znaků komerční potravinářské pšenice.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Velikost částic nativních a modifikovaných škrobů sledovaná metodou obrazové analýzy a laserové difrakce

Autor: Bc. Dana Prokopová
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Evžen Šárka, CSc.

V dnešní době je snaha nahradit nerozložitelné plasty novými materiály z biopolymerů požadovaných vlastností, které by byly snadno rozložitelné v přírodě. Jako vhodný materiál pro výrobu biodegradabilních plastů se jeví škrob, který se vyskytuje v přírodě ve velkém množství, je relativně levný, obnovitelný a biodegradabilní. Plasty obsahující nativní škrob jsou špatně odolné vůči vodě, proto se hledají pozměněné struktury škrobů s vyhovujícími vlastnostmi. Acetylované škroby vznikají chemickou modifikací, kdy je část hydroxylových skupin α-D-Glc*p* jednotek přeměněna esterifikací na *O*-acetylové skupiny. Ve škrobárnách vzniká jako vedlejší produkt B-škrob, který je dále využit pro acetylaci. Pšeničný B-škrob byl v nativní nebo zmazovatělé formě acetylován v různých reakčních časech při teplotách 115-128°C. Principem práce je měření velikosti částic acetylovaného pšeničného nativního B škrobu (vzorky B) a škrobu ve zmazovatělé formě (vzorky F). Měření velikosti částic se provádí pomocí metod obrazové analýzy a laserové difrakce. Velikost částic hraje důležitou roli v použití škrobu do plastů. Hledá se optimální velikost částic, která by byla vhodná pro výrobu polymerů. Menší částice se rozptylují lépe, plast je více porézní a mikroorganismy mohou snadno pronikat dovnitř. Dochází tak k rychlejšímu rozkladu polymeru.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

β-Glukany v potravinových doplňcích

Autor: Bc. Petra Slavíčková
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Miroslav Novák, CSc.

Ke zdrojům β-glukanů patří především houby, kvasinky a obiloviny. β-Glukany v houbách jsou pokládány za významné zdraví prospěšné látky. Základní struktura β-glukanového řetězce u hub a kvasinek je tvořena lineárním řetězcem glukosových jednotek obsahujícím (1→3)-β-D-glykosidové vazby, a molekula je větvena (1→6)-β-D-glykosidovými vazbami. Existuje mnoho komerčně dostupných izolátů a potravinových doplňků, které β-glukany obsahují. β-Glukan je brán jako bezpečný a účinný doplněk stravy, který zlepšuje stav imunitního systému těla a tím umožňuje lepší prevenci onemocnění. Soubor izolátů a potravinových doplňků byl hodnocen na základě obsahu β-glukanů, který byl stanovován pomocí enzymové metody s využitím enzymové soupravy Megazyme K-YBGL a spektrofotometrických metod. Výsledky ukázaly, že se obsah β-glukanů v různých komerčních přípravcích značně liší.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Možnosti kapalinové chromatografie při stanovení sacharidů v moukách – optimalizace přípravy vzorků

Autor: Bc. Dominika Valeriánová
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Andrea Hinková, CSc.

Cílem této práce byla optimalizace přípravy vzorků pro stanovení na aniontové chromatografii s pulzní amperometrickou detekcí. Příprava bude sloužit ke stanovení profilu jednoduchých sacharidů a oligosacharidů ve vzorcích pšeničných mouk, s účelem porovnat složení mouk z pšenice obecné a pšenice tvrdé a případně nalézt marker sacharidů k odhalení falšování semolinových mouk. Amperometrický detektor vykazuje velkou selektivitu i citlivost (10^{-8}-10^{-10} mol/l), a proto měřené vzorky musí být velmi čisté. Vzorky se extrahovaly v 80% ethanolu a zkoumal se vliv celé řady parametrů jako je doba extrakce (30 a 60 minut) a způsob filtrace (papírové filtry, mebránové filtry, centrifugace) na účinnost extrakce sacharidů. Jako nejvhodnější postup se jeví purifikace kombinací papírového filtru (červený 388, FILTRAK, průměr 15 cm) a odstředivky při 1500 otáčkách za minutu.

Sekce : Chemie a technologie sacharidů

Sledování vlastností obilných bílkovin

Autor: Bc. Nikoleta Velebná
Ročník: M2
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Pro výživu člověka jsou nejvýznamnějším zdrojem bílkoviny obilovin, zejména pšenice, ječmen a žito. Základními bílkovinami všech obilovin jsou albuminy, globuliny, gliadiny a gluteliny lišící se složením aminokyselin. Rozhodující část bílkovin je uložena v endospermu a v aleuronové vrstvě obilného zrna. Zralá zrna obsahují podle druhů a odrůd nejčastěji 9-13 % bílkovin v sušině. Nejlépe prozkoumány jsou bílkoviny pšenice, které mají také největší technologický význam. Obsah a kvalita bílkovin obilného zrna určují mlynářské a pekařské vlastnosti mouky. K posouzení kvality mouk slouží řada analytických stanovení, např. stanovení celkového obsahu dusíkatých látek, stanovení kvality lepku, bobtnavost apod. Ke zjištění kvality složek obilného zrna (bílkovin, škrobu a pentosanů) je možné použít techniku SRC (Solvent Retention Capacity). K charakterizaci bílkovin lze využít spektrální metody a různé separační techniky. V předkládané práci budou proměřeny vzorky pšeničných, ječných, žitných mouk a jejich směsí, bude zjištěna kvalita jednotlivých složek mouk a proměřena a vyhodnocena infračervená spektra různých typů mouk s ohledem na bílkoviny.

Sekce: **Chemie a analýza potravin A (přednášková)**
posluchárna B06, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.
Členové: Ing. Ondřej Lacina
Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.
doc. Dr. Ing. Kateřina Riddellová

Studenti: Bc. Veronika Bachanová
Bc. Beata Fišerová
Bc. Ondřej Grulich
Bc. Veronika Havelková
Bc. Radka Křížová
Bc. Sandra Ličková
Bc. Šárka Nováková
Bc. Michal Stupák

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Stanovení pesticidů v nálevu čaje pomocí GC-MS

Autor: Bc. Veronika Bachanová
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc. (Ing. Adam Vavrouš, Ing. Petr Dohnal)

Čaje jsou jedním z nejvíce konzumovaných nápojů na světě. Přestože v této matrici není prováděn pravidelný monitoring výskytu reziduí pesticidů, analýzy provedené v roce 2009 na našem pracovišti prokázaly rozsáhlou kontaminaci řady analyzovaných vzorků. Otázkou však zůstává, jaké z této skutečnosti plyne riziko pro konzumenta. Čaj je konzumován ve formě nálevu, a jak naznačují publikované studie, většina pesticidů přechází do nálevu jen v omezeném množství.
Tato práce se zabývá vývojem a validací metody pro analýzu reziduí pesticidů v nálevu čaje. Během vývoje metody byla testována extrakční metoda QuEChERS, která však pro analýzu nálevu nebyla vhodná z důvodů vysokého podílu izolovaných koextraktů. Z toho důvodu bylo provedeno následné přečištění QuEChERS extraktů extrakcí kapalina-kapalina pomocí nepolárního rozpouštědla (hexan), čímž došlo k podstatnému snížení obsahu koextraktů. Jako analytická koncovka byla použita technika plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií s analyzátorem doby letu (GC-HRTOFMS). Přestup pesticidů do nálevu byl zkoumán u vzorků z komerční sítě, ve kterých byla v předchozí analýze zjištěna kontaminace jejich rezidui.

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Nové možnosti stanovenia perfluórovaných zlúčenín v potravinách živočíšneho pôvodu

Autor: Bc. Beata Fischerová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D. (Ing. Ondřej Lacina; Ing. Darina Lanková)

Monitoring expozície ľudskej populácie perfluórovanými látkami PFC (*Perfluorinated compounds*) je v súčasnej dobe veľmi aktuálnou témou. Problematikou PFC sa zaoberá Európsky úrad pre bezpečnosť potravín EFSA (*European Food Safety Authority*), na základe ktorého vyjadrení vydala Európska komisia dňa 17. marca 2010 odporúčanie, aby členské šáty EÚ monitorovali kontamináciu potravín PFC v rokoch 2010 a 2011. Odporúčajú sa sledovať hlavne PFOS, PFOA, ich soli a prekurzory. Cieľom práce bolo zoptimalizovať extrakčnú techniku pre stanovenie jednotlivých PFC tak, aby sa dosiahlo čo najnižších kvantifikačných limitov (LOQ) v rádoch ng/kg matrice. Vhodným extrakčným postupom pre izoláciu analytov z potravín živočíšneho pôvodu sa ukázala modifikácia extrakčnej techniky QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) používanej primárne v analýze pesticídov. Okrem extrakcie bolo pre dosiahnutie zmienených LOQ nutné optimalizovať aj purifikačný krok, ktorý spočíva v disperznej extrakcii tuhou fázou. Identifikácia a kvantifikácia bola prevedená za pomoci ultra účinnej kvapalinovej chromatografie s tandemovou hmotnostnou spektrometiou (UHPLC-MS/MS). Novo vyvinutá metóda je v súčasnosti aplikovaná na analýzu širokého spektra poravín v rámci európskeho projektu PERFOOD (*PERFluorinated Organics in Our Diet*).

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Metabolomické profilování plodů jádrovin pomocí hmotnostní spektrometrie v otevřené atmosféře

Autor: Bc. Ondřej Grulich
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová CSc. (Ing. Lukáš Václavík, Ing. Jana Zikmundová)

Biopotravinám, tj. potravinám vyprodukovaných bez použití průmyslových hnojiv, pesticidů za legislativou definovaných podmínek, je v poslední době věnována zvýšená pozornost. Vedle chemické a mikrobiologické bezpečnosti je významným kvalitativním parametrem také jejich autenticita. V rámci této práce byly provedeny metabolomické analýzy vzorků jablek reprezentující několik odrůd (Melrose, Topaz a Rubinola) pěstovaných v režimu integrovaného a ekologického zemědělství. Extrakty získané pouhým opláchnutím povrchu plodů rozpouštědlem byly dále analyzovány pomocí hmotnostní spektrometrie v otevřeném prostoru, s použitím ionizační techniky DART (direct analysis in real time) a vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie. Takto získané metabolomické profily v podobě charakteristických hmotnostních spekter byly zpracovány s použitím metod multivariační statistické analýzy s cílem najít rozdíly mezi (i) vzorky pěstovanými v různých režimech zemědělství a (ii) jednotlivými odrůdami. Informace o přesné hmotě sledovaných signálů byla použita pro odhad pravděpodobných elementárních složení a jejich předběžnou identifikaci. Tato práce je součástí projektu NAZV 92179.

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Využití hmotnostní spektrometrie s desorpční ionizací k metabolomickému profilování semen máku setého (*Papaver somniferum* L.)

Autor: Bc. Veronika Havelková
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová CSc. (Ing. Jana Zikmundová)

Česká republika patří mezi nejvýznamnější producenty máku setého pro potravinářské účely. Pěstované odrůdy se liší nejen barvou semen (různé odstíny modré, bílá a okrová), ale i senzorickými vlastnostmi po zahřátí – bílé odrůdy máku po něm získávají typickou vůni připomínající oříšky způsobenou deriváty pyrazinu.
Metoda desorpční ionizace v otevřené atmosféře typu DART (přímá analýza v reálném čase) s hmotnostně spektrometrickou detekcí představuje rychlý a jednoduchý nástroj ke studiu celého spektra metabolitů. Použitý hmotnostní analyzátor TOF (analyzátor doby letu) s vysokým rozlišením navíc umožňuje i odhad složení obsažených látek z jejich přesné hmoty. V rámci této práce byly analyzovány vzorky máků různých barevných variant ze sklizní v roce 2006 a 2009. Část semen byla zahřáta, přičemž byl sledován i vliv případného předchozího pomletí. Tyto zahřáté vzorky pak byly porovnány s nezahřátou variantou. Pomletá semena byla extrahována vodou a 80% methanolem. Výsledné metabolomické profily vzorků, tj. hmotnostní spektra, byly porovnány statistickými metodami PCA (analýza hlavních komponent) a LDA (lineární diskriminační analýza).

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Stanovení herbicidů s karboxylovou funkční skupinou technikou LC-MS/MS

Autor: Bc. Radka Křížová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CsC. (Ing. Jana Urbanová)

Skupina herbicidů s karboxylovou funkční skupinou („kyselé herbicidy“) tvoří skupinu analytů se specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Analýzu v rámci multireziduálních metod komplikuje skutečnost, že velká část těchto kyselin tvoří pevné vazby na složky matrice, přičemž i tyto vázané formy mohou být zahrnuty do definice rezidua.
Tato práce se zabývá dvěma úkoly: (i) optimalizace stanovení analytů pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem (LC-MS/MS) a (ii) modifikace extrakční metody QuEChERS tak, aby poskytla spolehlivou kontrolu legislativních limitů. Vzhledem k tomu, že analyty ionizují v pozitivním i negativním módu elektrospreje, byla LC-MS/MS analýza rozdělena na dvě samostatná měření, čímž bylo dosaženo lepší citlivosti, zejména díky odlišným mobilním fázím. Pro extrakci byly zkoušeny čtyři varianty QuEChERS metody: originální, originální po snížení pH vzorku, s octanovým a citrátovým pufrem. Výtěžnosti u originální metody bez úpravy pH byly nízké (<60 %), zatímco při pufrovaných variantách se výrazně zvýšily, nejlepších výsledků ale bylo dosaženo po

okyselení vzorku a následné extrakci originální variantou QuEChERS Před extrakci byla následně zavedena alkalická hydrolýza k uvolnění vázaných forem kyselin z vazeb s matricí.

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Simultánní stanovení jasmonové a salicylové kyseliny v rostlinných materiálech

Autor: Sandra Ličková
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: doc. Dr. Ing. Marek Doležal

Cílem projektu byl vývoj a optimalizace metody pro rutinní analýzu simultánního stanovení jasmonové kyseliny (JA) a salicylové kyseliny (SA) v malých množstvích rostlinných vzorků řepky. JA a SA jsou rostlinné hormony zapojené do bazální rezistence proti patogenům a do indukované rezistence rostlin. Vývoj a optimalizace byla zaměřena na proces extrakce obou analytů ze vzorků řepky a zejména na zvolení spolehlivého způsobu derivatizace těchto analytů tak, aby nedocházelo k jejich ztrátám od přípravy do nástřiku vzorku. Pro jejich úspěšné simultánní stanovení v rostlinách byla zavedena metoda GC/MS, jejíž parametry musely být zvoleny a rovněž optimalizovány. Metoda umožňuje kvantifikaci těchto signálních molekul v malých množstvích rostlinných vzorků. Použitím vnitřních standardů se dají dobře kontrolovat ztráty během přípravy vzorků. To vše zajišťuje úspěšné simultánní stanovení jak JA, tak SA.

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Využití vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie k analýze mykotoxinů v silážích a krmivech

Autor: Bc. Šárka Nováková
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Milena Zachariášová, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Přítomnost mykotoxinů v silážích a krmivech má negativní vliv na zdraví a kvalitu života hospodářských zvířat, a vzhledem k tomu, že existují důkazy o přechodu mykotoxinů a jejich metabolitů do tkání, vajec a mléka zvířat, mohou tyto kontaminanty ohrožovat také lidské zdraví. Ve srovnání s dosavadními znalostmi o obsahu mykotoxinů v cereálních potravinách představují siláže a krmiva z hlediska obsahu mykotoxinů podstatně méně prozkoumanou oblast. Jedním z důvodů je i obtížnost analytického stanovení, která souvisí především s velkou chemickou komplexností těchto matric; velké množství přítomných koextraktů potlačuje ionizaci a snižuje detektabilitu cílových analytů.
Náplní prezentované práce bylo vyvinout a validovat citlivou, rychlou a spolehlivou metodu pro analýzu 37 mykotoxinů ze skupiny trichothecenů, zearalenonů, alternariových mykotoxinů, aflatoxinů, aspergillových mykotoxinů, penicillových mykotoxinů, námelových alkaloidů a fumonisinů v silážích a krmivech. Jelikož se jedná o analyty s velmi různorodými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, nebylo v rámci přípravy vzorku možné využít obvyklých postupů, jako je například s využití extrakce na tuhou fázi (SPE) nebo imunoafinitní chromatografie (IAC). Po posouzení několika pilotních extrakčních postupů byla jako optimální varianta zvolena extrakčně-purifikační metoda QuEChERS (Quick, Easy, Cheap,

Effective, Rugged and Safe). Separace analytů byla provedena prostřednictvím vysokotlaké kapalinové chromatografie U-HPLC (ultra high performance liquid chromatography), detekce byla zprostředkována pomocí vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie typu orbitální iontová past (orbitrapMS).

Sekce : Chemie a analýza potravin A

Optimalizace metody pro stanovení organochlorových pesticidů a polycyklických aromatických uhlovodíků v rybách a mořských plodech

Autor: Bc. Michal Stupák
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Lucie Drábová
Konzultant: Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

V důsledku havárie ropné plošiny v Mexickém zálivu na jaře roku 2010 došlo k úniku velkého množství ropy a tím k velké kontaminaci vodního ekosystému a mořských živočichů polycyklickými aromatickými uhlovodíky (PAU) zvláště pak PAU o menší molekulové hmotnosti (methyl-PAU, naftalen atd.). Dalšími častými polutanty vodního ekosystému jsou organochlorové pesticidy (OCP). Tyto environmentální kontaminanty vykazují karcinogenní, mutagenní a estrogenní účinky a jsou proto v životním prostředí i v potravinách monitorovány a regulovány. Pro rychlé vyšetření vzorků potřebné právě v takovýchto případech je nutné mít rychlé a spolehlivé analytické metody pro stanovení těchto látek jak v prostředí, tak v potravinách.
Cílem prezentované práce bylo: (i) validovat metodu pro stanovení PAU, včetně jejich methylovaných derivátů v rybách a mořských plodech a (ii) optimalizovat metodu, tak aby umožnila současné stanovení PAU a OCP ve vzorcích ryb a mořských plodů. Pro extrakci byla použita metoda rychlé extrakce ethylacetátem. Testováno bylo přečištění pomocí gelové permeační chromatografie, SPE na silikagelových kolonkách a dispersní SPE se sorbentem C18. Pro kvantifikaci/konfirmaci bylo využita plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrických detektorem a analyzátorem doby letu (GC TOF-MS).

Sekce: **Chemie a analýza potravin B (přednášková)**
posluchárna B03, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Dr. Ing. Jan Poustka
Členové: doc. Ing. Tomáš Čajka, Ph.D.
Ing. Jana Kohoutková, Ph.D.
Ing. Lukáš Václavík

Studenti: Bc. Hana Daňhelová
Bc. Iveta Devátá
Bc. Renata Jarošová
Bc. Michaela Kočkovská
Bc. Marek Papež
Bc. Kateřina Pecháčková
Bc. Barbora Šťovíčková
Bc. Eva Tilgová

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Metabolomické profilování tkání ryb pomocí hmotnostní spektrometrie v otevřeném prostoru

Autor: Hana Daňhelová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: doc. Ing. Tomáš Čajka, Ph.D.

V souladu s rostoucím zájmem konzumentů o ryby jako zdroj kvalitních bílkovin a lipidů ve stravě, stoupají i požadavky na jejich kvalitu, která může být zásadně ovlivněna životními podmínkami, respektive stresovými faktory. Těmi mohou být vnější a vnitřní podněty vyvolávající u organismu bolest, úzkost, nepohodu nebo jinou nepříznivou odezvu, která zpravidla ústí ve fyziologickou nerovnováhu. Ačkoliv se pro tyto účely aplikuje řada různých analytických metod, žádná z nich neposkytuje úplný obraz metabolomu (profil nízkomolekulárních metabolitů), který by mohl celkově welfare organismu výstižně dokumentovat. Mezi různými bioindikátory mají v metabolomu zvláštní význam lipidy, jejichž koncentrace, složení a relativní zastoupení je závislé jak na stresových faktorech, tak na složení a formě krmiva.
Předkládaná práce se zabývá možností sledování změn profilů metabolomu sladkovodních ryb (všežravého kapra obecného *Cyprinus cardo* L. a rostlinožravého amura bílého *Ctenopharyngodon idella*) v závislosti na typu použitého krmiva. Pro izolaci nízkomolekulární látek svaloviny ryb byla použita rychlá extrakční metoda umožňující izolaci polární a nepolární frakce (extrakce pomocí směsi voda/cyklohexan). Získané extrakty byly analyzovány pomocí hmotnostní spektrometrie v otevřeném prostoru s využitém iontového zdroje pro přímou analýzu (DART) ve spojení s vysokorozlišovacím průletovým hmotnostním spektrometrem (TOFMS). Zaznamenané metabolomické fingerprinty byly následně vyhodnoceny pomocí diskriminační analýzy částečných nejmenších čtverců, PLS-DA (redukce dimenze dat) a lineární diskriminační analýzy, LDA (tvorba klasifikačního modelu).

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Analýza semen odrůd máku setého pěstovaných v ČR

Autor: Bc. Iveta Devátá
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Pudil František, CSc.

Gelovou elektroforézou (SDS-PAGE) byly analyzovány bílkovinné frakce v semenech osmi odrůd máku setého (*Papaver somniferum*, L.) vypěstovaného v České republice v roce 2009. Pro separaci bílkovin podle molekulových hmotností byly využívány vlastní nalévané gely a komerčně dodávané gradientové gely. Stejnými metodami byly sledovány změny ve složení bílkovin při zahřívání původního a odtučněného materiálu na 150, 180 a 200 oC po dobu 30min. K vizualizaci bílkovinných frakcí byly vyzkoušeny tři způsoby barvení – barvení roztokem Coomassie Brilliant Blue, amidočerně a barvení stříbrem. Elektroforetické gely byly vyhodnocovány pomocí obrazového analyzátoru NIS Elements (LIM s.r.o.,ČR). Jsou diskutovány rozdíly ve složení bílkovinných frakcí mezi odrůdami máku a jejich změny vlivem zahřívání.

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Analýza metabolomických profilů čajů

Autor: Bc. Renata Jarošová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Metabolomika je nový vědecký obor, který se zabývá analýzou souboru malých molekul (metabolomu) v biologických matricích. Metabolomických profilů může být využíváno pro hodnocení autenticity potravin a detekci jejich falšování. Zhodnocení autenticity pak lze provést porovnáním metabolomických profilů s využitím pokročilých chemometrických metod. Cílem práce bylo zhodnotit potenciál dvou instrumentálních technik pro účel prokazování autenticity, resp. odlišování jednotlivých skupin vzorků na základě jejich metabolomu. Pro tento účel byla provedena analýza vzorků čajů za použití dvou analytických technik: (i) kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC–MS) a (ii) hmotnostní spektrometrie s využitím nové ionizační techniky direct analysis in real time (DART–MS). Pro zpracování získaných dat byly použity metody multivariační statistické analýzy (PCA, LDA). Analýzou čajů bylo možné rozlišit, zda se jedná o fermentovaný či nefermentovaný čaj. Z dat získaných LC–MS i DART–MS bylo možné určit, o jaký druh fermentovaného čaje se jedná. LC–MS profily navíc umožnily odlišení jednotlivých druhů nefermentovaných čajů.

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) v různých typech čajů

Autor: Bc. Michala Kočkovská
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Lucie Drábová (Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Čaj je spolu s vodou nejvíce konzumovaným nápojem na světě. Řada studií popisuje jeho příznivé účinky na lidské zdraví, nicméně čajové lístky mohou obsahovat také řadu kontaminantů – kromě těžkých kovů nebo pesticidů také polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU). Vzhledem k již publikovaným vysokým nálezům PAU bylo Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) doporučeno sledovat jejich hladiny také v těchto produktech. Z hlediska konzumenta je však mnohem důležitější informace o obsahu těchto kontaminantů v čajovém nálevu.
Prezentovaná práce se věnuje zhodnocení kontaminace 16 EU PAU v různých druzích čaje (čaje černé, zelené, bílé, Maté, ovocné a bylinné) dostupných v obchodní síti a nálevech z vybraných druhů čajů. Dále byl zjišťován vliv doby louhování a teploty vody na přechod PAU z čajových lístků do nálevu. Naměřené hodnoty pro sumy všech 16 sledovaných PAU v čajích se pohybovaly od 8,2 do 1345 µg/kg. V navazujících experimentech bylo zjištěno, že do nálevu přechází od 2 do 5% benzo[a]pyrenu v závislosti na druhu čaje.

Sekce : Chemie a analýza potravin B

„Nové“ organohalogenované kontaminanty ve vodním ekosystému ČR

Autor: Bc. Marek Papež
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Ondřej Lacina (Ing. Darina Lanková, Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Bromované retardátory hoření (BFR) a perfluorované sloučeniny (PFC) patří mezi perzistentní halogenované kontaminanty, které jsou v současnosti hojně sledovány jak v životním prostředí, tak v potravinách. Tyto látky vznikající antropogenní činností se vyznačují vysokou stabilitou a bioakumulačním potenciálem, kde BFR jsou látky vysoce lipofilní kumulující se v tucích, a naopak PFC se díky vyšší polaritě váží zejména na proteiny a kumulují především v krevní plasmě a v játrech.
Cílem prezentované práce bylo sledování hladin vybraných BFR a PFC a ve vzorcích ryb z různých řek ČR s cílem zjistit kontaminaci vodního ekosystému. ČR těmito látkami. Pro izolaci analytů byla použita metoda vyvinutá a optimalizovaná na ústavu Chemie a analýzy potravin. Extrakce zahrnuje několik kroků spočívajících v izolaci analytů acetonitrilem, jejich vysolení do organické fáze, přečištění extraktu pomocí disperzní SPE a zakoncentrování. Přednosti metody jsou rychlost, nízké náklady na přípravu vzorku a především současné stanovení obou skupin analytů s detekčními limity na hladině jednotek až desítek pg g^{-1}. K dosažení takto nízkých detekčních limitů je rovněž nutná nejmodernější instrumentace zahrnující ultra účinnou kapalinovou chromatografii (UHPLC) ve spojení s novou generací hmotnostních spektrometrů na principu trojitý kvadrupól (MS/MS).

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Hodnocení autenticity mléka na základě hmotnostně spektrometrického profilu

Autor: Bc. Kateřina Pecháčková
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Lukáš Václavík

Mléko a mléčné výrobky jsou základní složkou výživy celé populace včetně malých dětí. Falšování těchto produktů tedy vykazuje nejen významný ekonomický, ale i zdravotní aspekt. Často dochází k náhradě dražšího kozího a ovčího mléka levnější variantou, kterou představuje mléko kravské. Vzhledem k možné alergii na kravské mléko představuje tento způsob falšování velké riziko. Nevýhodou doposud používaných metod k hodnocení autenticity mléka je sledování pouze jednoho vybraného markeru, který může v průběhu technologického zpracování degradovat, a proto je tyto metody možno použít pouze pro určitou skupinu výrobků. Cílem práce bylo zavést novou, rychlou metodu pro spolehlivé hodnocení kvality a autenticity mléka založené na metabolomických profilech získaných technikou DART–MS. Hmotnostní spektrometrie v otevřené atmosféře umožňuje rychlé a přímé vyšetření vzorku v jeho nativním stavu za okolních podmínek s minimálními nároky na jeho přípravu a bez předchozí chromatografické separace. V rámci práce byly analyzovány vzorky autentického mléka různých živočišných druhů (kráva, koza, ovce) a falšovaného mléka připraveného v laboratoři. K odlišení jednotlivých skupin vzorků byly použity metody multivariační statistické analýzy.

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Monitoring hladin akrylamidu v potravinách na českém trhu v letech 2006-2010

Autor: Bc. Barbora Šťovíčková
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Veronika Bartáčková

V roce 2002 bylo ve Švédsku zjištěno, že v tepelně ošetřených potravinách (smažených, pečených či pražených) bohatých na redukující sacharidy a aminokyseliny dochází k tvorbě značného množství akrylamidu. Tato látka, která má široké průmyslové využití, vzniká v potravinách nejčastěji reakcí mezi karboxylovou skupinou glukosy či fruktosy a aminoskupinou asparaginu. Vysoké koncentrace akrylamidu byly naměřeny například v hranolkách, bramborových lupíncích, snídaňových cereáliích, sušenkách či kávě. Při toxikologických studiích chronické expozice akrylamidu na hlodavcích byla prokázána jeho karcinogenita, na lidi má tato látka akutní neurotoxické účinky. Na základě těchto znalostí ho Mezinárodní agentura IARC již v roce 1994 klasifikovala jako potenciální lidský karcinogen a byl zařazen do 2A skupiny. V rámci členských států Evropské unie a Norska se akrylamid od roku 2007 monitoruje podle Doporučení Evropské komise (2007/331/EC; o monitorování hladin akrylamidu v potravinách), které bude v lednu 2011 nahrazeno novější verzí pro roky 2011-2013.
Cílem naší práce byla analýza akrylamidu v rizikových potravinových komoditách na českém trhu. Naměřená data byla porovnána z hlediska průměrných koncentrací akrylamidu v jednotlivých typech potravin a hladiny akrylamidu ve výrobcích byly komplexně zhodnoceny za posledních pět let (2006-2010).

Sekce : Chemie a analýza potravin B

Perfluorované sloučeniny v potravinových matricích

Autor: Bc. Eva Tilgová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: doc. Dr. Ing. Jan Poustka (Ing. Petra Hrádková)

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) ohlásil v roce 2008 potřebu sledovat perfluorované sloučeniny, zejména PFOS a PFOA, v potravinách. Poslední výzvu ke studiu PFC, zejména v potravinách živočišného původu, vydala Evropská komise v březnu 2010 pro lepší zhodnocení expozice člověka.
Výskyt 25 perfluorovaných sloučenin byl sledován v rybích konzervách, rybách z farem a potravinách v rámci projektů EMERCON a PERFOOD. K extrakci byly použity dvě různé metody – (i) metoda založena na použití aktivního uhlí k přečištění hrubého extraktu byla aplikována na vzorky rybích produktů a ryb (játra, gonády, svalovina), (ii) extrakce odvozena od QUECHERS metody byla použita pro extrakci potravinových vzorků. Cílové analyty byly separovány použitím UPLC Acquity (Waters, USA) a detekovány pomocí hmotnostního spektrometru Qtrap 5500 (AB SCIEX, USA). Suma obsahů PFC v rybích produktech se pohybovala v rozmezí < LOQ – 19,64 µg/kg, u ryb < LOQ – 1,40 µg/kg pro svalovinu, < LOQ – 1,91 µg/kg pro gonády a < LOQ – 1,83 µg/kg vzorku pro játra. Dominantní nálezy PFC byly detekovány v játrech kapra. Ve vzorcích potravin (vedle vzorků mořských plodů a ryb) byly PFC také nalezeny ve vzorcích vepřových jater, vepřovém mase, vejcích od LOQ do 5 µg/kg vzorku.

Sekce: **Chemie a analýza potravin C (přednášková)**
posluchárna B32, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Dr. Ing. Marek Doležal
Členové: Dr. Ing. Karel Cejpek
Ing. Zuzana Réblová, Ph.D.
doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Studenti: Bc. Eva Baňacká
Bc. Beverly Bělková
Martina Bouzová
Bc. Jakub Fišnar
Bc. Jana Kavalírová
Bc. Michaela Šubrtová
Bc. Martina Šustrová

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Srovnání metod pro stanovení antioxidační aktivity v nerozpustných částech pšeničných otrub

Autor: Bc. Eva Baňacká
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Karel Cejpek

Cílem práce bylo porovnat stanovení antioxidační kapacity (AOC) ve vodě nerozpustných a rozpustných frakcích pšeničných otrub, a to třemi metodami založenými na spektrofotometrickém sledování zhášení radikálu ABTS•. Metoda SAPE zahrnuje reakci ABTS• s antioxidanty nerozpustného podílu převedenými do roztoku po alkalické hydrolýze, zatímco další dvě metody jsou založeny na reakci činidla s antioxidanty vázanými na povrchu malých částic nerozpustné frakce (<0,125 mm) v suspenzi. Metoda QUENCHER představuje simultánní stanovení rozpustných i nerozpustných forem antioxidantů v jednom kroku. Metoda DIDEE stanovuje AOC v nerozpustném podílu po předchozí násobné extrakci vodou a MeOH. Metoda DIDEE dává významně vyšší hodnoty celkové AOC než metoda QUENCHER a poskytuje tak výsledky bližší správné hodnotě. Výsledky získané metodou SAPE jsou zřejmě nadhodnoceny, neboť se při stanovení mohou uplatnit i ty aktivní funkční skupiny, které jsou ve vzorku součástí kovalentních vazeb. Celková AOA získaná metodou QUENCHER je zhruba 3krát nižší než metodou SAPE, což je v rozporu s publikovaným obecným závěrem, že pro různé komodity poskytují metody SAPE a QUENCHER srovnatelné hodnoty celkové AOC.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Dynamika tvorby akrylamidu v bramborových hranolcích

Autor: Bc. Beverly Bělková
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Veronika Bartáčková

Cílem této práce bylo postihnout doporučení výrobců pro přípravu mražených polotovarů hranolek a zjistit, jaké množství akrylamidu (pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A) vzniká při minimálních a maximálních podmínkách doporučených konzumentům pro tepelné zpracování těchto výrobků. Z tohoto důvodu byly sledovány v rámci experimentální práce následující parametry: čas smažení resp. pečení, typ smažícího média (řepkový olej a palmový tuk), způsob zpracování (trouba, fritéza), hmotnost zpracovávaného vzorku (100 až 400 gramů) a vliv blanšírování (čas, teplota).
Z výsledků stanovení hladin akrylamidu ve smažených bramborových hranolcích je zřetelné, že významný vliv na jeho přítomnost má délka a způsob provedení technologické úpravy, hmotnost vzorku při pečení či smažení (poměr olej/vzorek je nižší) a typ smažícího média. Dalším nezbytným faktorem je samotné složení hranolků. Záleží na množství přítomných redukujících cukrů a aminokyseliny asparaginu v bramborách, které jsou hlavními prekurzory vzniku akrylamidu. Vliv na vznik akrylamidu má i způsob, jakým výrobce hranolky předpřipravil předsmažením, ale ten není v rámci našich experimentů proměnnou. Dále byl prokázán i vliv blanšírování hranolek, kdy hladina akrylamidu klesala s delší dobou blanšírování. Závěrem lze říci, že v našich podmínkách je nejvhodnější smažit přibližně 200 g hranolek po dobu 5 minut, tak získáme výrobek - hranolky vhodné ke konzumaci. Tedy dostatečně propečené a zároveň jen dozlatova.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Stanovení obsahu rezistentního škrobu v mlýnských obilných výrobcích

Autor: Bc. Martina Bouzová
Ročník: B3
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Dobromila Leitnerová, prof. Ing. Jana Dostálová, CSc.

Česká republika je na předních místech ve výskytu rakoviny tlustého střeva a konečníku a předpokládá se spojitost výskytu tohoto druhu rakoviny se špatnými stravovacími návyky. Jako prevence tohoto onemocnění se jeví konzumace vlákniny, která se stále v České republice pohybuje pod doporučenými hodnotami. Tento nedostatečný příjem by bylo možné zvýšit příjmem rezistentního škrobu. Za rezistentní škroby jsou považovány frakce, štěpné produkty a modifikace přirozených škrobů, které nejsou tráveny v tenkém střevě člověka a přecházejí do tlustého střeva, kde jsou částečně fermentovány zde přítomnou mikroflórou Tato práce se zabývala stanovením množství rezistentního škrobu v mlýnských obilných výrobcích pomocí enzymového setu firmy Megazyme International Ltd. Mlýnskými obilnými výrobky se rozumí podle vyhlášky č. 333/1997 Sb. ve znění pozdějších předpisů výrobky získané zpracováním obilí, pohanky a rýže vícestupňovým mlýnským postupem. Mlýnské obilné výrobky obsahovaly až na výjimky relativně nízké obsahy rezistentního škrobu. Tyto nízké hodnoty jsou však kompenzovány vysokou spotřebou, například obsah rezistentního škrobu v pšeničné mouce byl 0,35 % a roční spotřeba na osobu v roce 2008 činila 90,2 kg.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Degradace α-tokoferolu během zahřívání slunečnicového oleje

Autor: Bc. Jakub Fišnar
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Zuzana Réblová, Ph.D.

V této práci byla sledována degradace α-tokoferolu během zahřívání slunečnicového oleje na topné desce o teplotě 120, 150, 180, 210 a 240 °C, a to zejména ve vztahu ke zniku polymerních triacylglycerolů (TAG), jakožto hlavního parametru charakterizujícího změny tuků a olejů během smažení a zahřívání na teploty vyšší než 100 °C a určujícího životnost takto namáhaných olejů. Rychlost vzniku polymerních TAG rostla s teplotou, přičemž doba, během níž vzrostl jejich obsah na 6 % (tj. polovinu akceptovatelného maximálního obsahu), se snižovala v rozmezí 29,6 až 1,1 hodiny. Životnost α-tokoferolu (vyjádřená jako doba, za kterou poklesl obsah tohoto tokoferolu na 50 % původního obsahu) pak byla 18,6; 2,7; 1,0; 1,5 a 2,0 hodiny pro teploty 120, 150, 180, 210 a 240 °C. V důsledku tohoto nejednoznačného vztahu mezi rychlostí degradace α-tokoferolu (respektive obecně tokoferolů) a teplotou byl α-tokoferol při teplotách 120, 150 a 180 °C zcela degradován dříve, než obsah polymerních TAG dosáhl 12 % (tj. maximálního tolerovatelného obsahu), zatímco během zahřívání na teploty 210 a 240 °C bylo dříve dosaženo maximálního obsahu polymerních TAG.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Hořké látky v nálevu pražené kávy

Autor: Bc. Jana Kavalírová
Ročník: M1
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Karel Cejpek

Předmětem práce je aplikace senzoricky řízené frakcionace kávového nálevu (100% arabica) prostřednictvím extrakce rozpouštědly a RP-HPLC s detekcí fotodiodového pole za účelem zjištění hlavních látek nebo frakcí látek zodpovědných za hořkou chuť. Pro senzorické hodnocení byla použita trojúhelníková metoda, když se jednotlivé frakce postupně ředily v poměru 1:1 metodou zřeďovací analýzy chuti (taste dilution analysis; TDA) za zjištění tzv. TD faktorů. Byly popsány chuťové profily kávového výluhu a jeho ethylacetátového extraktu, a poté i jednotlivých frakcí těchto směsí získaných po separaci na semipreparativní RP koloně. Většina hořkých látek je součástí ethylacetátového extraktu kávového nálevu. Byla určena průměrná prahová hodnota pro hořkou chuť kofeinu ve vodě (0,099 g/l). Bylo zjištěno, že se kofein podílí na celkové hořké chuti méně než 5 % (při respektování aditivního principu). Významným nositelem hořké chuti je kromě různě esterifikovaných laktonů chinové kyseliny řada dosud neznámých sloučenin.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Reakce antioxidantů s meziprodukty Maillardovy reakce

Autor: Michaela Šubrtová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Karel Cejpek

Reduktony jsou vysoce reaktivní meziprodukty rané fáze Maillardovy reakce, které společně se sloučeninami s kyselou methylenovou skupinou zodpovídají za redukční vlastnosti reakčních směsí sacharidů. Norfuraneol, látka strukturně podobná reduktonům, patří mezi nejvýznamnější produkty rozkladu pentos i hexos. Při reakcích s meziprodukty Maillardovy reakce obsahujícími karbonylovou skupinu poskytuje sloučeniny, které částečně zachovávají redukční aktivitu norfuraneolu. Jejich vznik probíhá obzvlášť intenzivně, jestliže se reakce účastní cyklické sloučeniny s reaktivní formylovou skupinou (např. furan-2-karbaldehyd) nebo některý z α-hydroxykarbonylových produktů fragmentace sacharidů (např. glyceraldehyd, glykolaldehyd). Norfuraneol reaguje za obdobných reakčních podmínek také s některými zástupci fenolových kyselin (kávová, ferulová, sinapová, *p*-kumarová, chlorogenová kyselina). Během těchto reakcí v binárních systémech dochází ke vzniku různých množství elektrochemicky aktivních produktů, z nichž některé vznikají i při tepelném rozkladu samotných kyselin.

Sekce : Chemie a analýza potravin C

Vliv technologického a kulinárního zpracování potravin na tvorbu 3-chlorporpan-1,2-diolu a jeho esterů

Autor: Martina Šustrová
Ročník: M2
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Zuzana Zelinková, Ph.D.

3-Chlorpropan-1,2-diol (tzv. volný 3-MCPD) se řadí do skupiny potravinových kontaminantů známých jako chlorpropanoly. Nejvýznamnějším zdrojem 3-MCPD byly kyselé hydrolyzáty bílkovin, které se využívají v potravinářském průmyslu především jako složky kořenících přípravků a sojových omáček. V posledních letech byla jeho přítomnost zjištěna v řádu desítek µg·kg-1 i v jiných typech potravin jako je slad, káva, sušenky, cereálie, pekařské výrobky, sýry, masné výrobky, polévky, rybí produkty a další. Další studie poukázaly na zvýšené hodnoty 3-MCPD po některých kulinářských úpravách zahrnujících opékání (toastování), pražení, mikrovlnný ohřev a grilování. Ke zvýšení hodnot 3-MCPD v potravinách může vést vyšší obsah tuku v potravině, chlorid sodný, nízká aktivita vody a vystavení potraviny působení vyšších teplot. 3-MCPD bylo označeno koncem 90. let za potenciální genotoxický karcinogen. V posledních letech však byly publikovány výsledky ukazující, že estery chlorpropanolů, především monoestery a diestery 3-MCPD (tzv. vázaný 3-MCPD) jsou v potravinách významnějšími kontaminanty než neesterifikované chlorpropanoly. V práci byl sledován obsah volného a vázaného 3- MCPD v produktech z brambor v závislosti na kulinární úpravě. Analýzy byly prováděny pomocí plynového chromatografu s kvadrupólovým hmotnostním detektorem.

Sekce: **Technologie zpracování potravin A (přednášková)**
Knihovna ústavu 324, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.
Členové: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.
Dr. Ing. Lenka Votavová
Dr. Ing. Miroslav Čeřovský

Studenti: Bc. Bařina Štěpán
Bc. Bérová Pavla
Bc. Běláková Markéta
Bc. Jodasová Aneta
Bc. Karásková Petra
Bc. Mátlová Veronika
Bc. Tér Tomáš
Vejlupková Marta

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Posuzování autenticity mléčných výrobků na základě profilu triacylglycerolů

Autor: Štěpán Bařina
Ročník: M2
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Tato práce se zabývá ověřením a využitím metody plynové chromatografie jako referenční metody podle NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2771/1999 (kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 1255/1999, pokud jde o intervenční opatření na trhu s máslem a smetanou) pro stanovení čistoty mléčného tuku, při posuzování autenticity potravin. Metoda se používá zejména na tuk extrahovaný z mléčných výrobků, jež mají obsahovat čistý mléčný tuk s nezměněným složením, např. z másla, smetany, mléka a sušeného mléka. Prvním cílem práce byla optimalizace extrakce lipidů z mléčných výrobků, pro daný úkol se osvědčila izolace tuku studenou extrakcí. Tento vyextrahovaný tuk byl podroben vysokoteplotní plynové chromatografii s plamenově ionizačním detektorem, kde byly sledovány jednotlivé triacylglyceroly s různými počty uhlíků v bočních řetězcích. Po vyhodnocení triacylgylcerolů se hodnoty z vysokoteplotní plynové chromatografie využily k výpočtu obsahu mléčného tuku. Vypočtené hmotnostní zlomky každého triacylglycerolu a cholesterolu a se aplikují na konkrétní vzorce uvedené v nařízení, z kterých se vypočítá autenticita mléčných výrobků.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Rychlé metody posuzování autenticity potravin

Autor: Pavla Bérová
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Falšování potravin je celosvětovým problémem a postihuje všechny komodity potravin. Nejčastěji falšovanými jsou ty, které jsou vyráběny ve velkých množstvích (např.tuky a oleje, maso a masné výrobky, mléko a mléčné výrobky, ovocné šťávy apod.), ale také potraviny drahé (např.víno, lihoviny a koření). Aby byly případy falšování eliminovány a důsledně kontrolovány jsou požadavky na složení výrobků formulovány v legislativě, a to v rámci České republiky i Evropské unie. Detekce falšování potravin je prováděna různými metodami. Ty mohou být často zdlouhavé, instrumentálně náročné a běžným spotřebitelům samozřejmě nedostupné. Některé z testů si může informovaný spotřebitel provést při podezření na falšování konkrétní potraviny v domácnosti sám při použití běžně dostupného vybavení (váhy, odměrka, lupa). Cílem práce bylo laboratorní odzkoušení, ověření a určení principu těchto rychlých a jednoduchých metod. Příkladem je senzorické hodnocení ovocných šťáv zaměřené na identifikaci nejčastějších způsobů falšování naředěním vodou, přídavkem cukru a organických kyselin, mikroskopická analýza využitá k posouzení autenticity a kvality mletého koření a identifikaci běžných náhražek jako např. škrobu, mouky, jiných částí rostlin apod, a test posouzení autenticity medu založený na rozdílné rozpustnosti medu a směsi medu a cukerného sirupu ve studené vodě apod.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Vliv teploty emulgace na emulgační vlastnosti syrovátkových bílkovin

Autor: Bc. Markéta Běláková
Ročník: M2
Ústav: Technologie mléka a tuků
Školitel: Ing. Renáta Kováčová

Syrovátku, jako vedlejší produkt výroby sýrů, lze uplatnit v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. V ní obsažené syrovátkové bílkoviny vykazují zajímavé nutriční, ale i funkční vlastnosti (např. emulgační). Při přípravě emulzí má vyšší teplota emulgace pozitivní vliv na účinnost emulgace. Maximální teplota je však limitována nízkou tepelnou stabilitou syrovátkových bílkovin. Cílem této práce bylo porovnat vliv teploty emulgace na emulgační vlastnosti syrovátkových bílkovin. Byly připravovány modelové emulze typu o/v z obnovené syrovátky a rostlinného oleje v rozmezí teplot 25 – 55 °C pomocí emulgačního míchadla typu rotor-stator a ultrazvukovou homogenizací. Připravené emulze byly hodnoceny metodou laserové difrakce (velikost tukových kapének) a dále se stanovoval obsah volného (nezaemulgovaného) oleje a stabilita emulzí. Nejvyšší účinnost emulgace při použití emulgačního míchadla byla dosažena při teplotě 40 °C, ale srovnatelnou velikost tukových kapének lze dosáhnout v celém intervalu teplot od 40 do 50 °C, včetně. Mimo toto rozmezí byl pozorován nárůst průměru tukových kapének. Při přípravě emulze pomocí ultrazvuku mělo zvýšení teploty pozitivní vliv na velikost tukových kapének až po 55 °C, ale s vyšší teplotou výrazně vzrůstal obsah volného oleje.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Vybrané markery pro detekci autenticity švestkových povidel

Autor: Bc. Aneta Jodasová
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Švestky, plody švestky domácí (*Prunus domestica* L.), která je v České republice nejvýznamnější slivoňovou odrůdou, jsou technologicky významným ovocným druhem. Chemické složení plodů švestek je velmi variabilní a závisí na mnoha faktorech (odrůdě, stupni zralosti, podnebí, atd.). Nejznámější výrobky ze švestek jsou povidla, která patří v České republice mezi tradiční ovocné výrobky. K nejčastějším způsobům falšování povidel patří nedodržení deklarovaného obsahu švestek a přídavky dalších ovocných druhů (jablka, renklódy, mirabelky, apod.). Cílem práce bylo zvolit na základě literární rešerše vhodné markery pro posouzení autenticity povidel. Jako markery pro určení obsahu švestek v povidlech byly zvoleny antokyany a fenolické látky. Pro detekci těchto látek byla zvolena metoda HPLC. U omezeného souboru vzorků (švestky, švestková povidla) byla ověřena využitelnost zvolených markerů pro detekci autenticity povidel.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Hodnocení použití impedanční spektroskopie v analýze potravin

Autor: Petra Karásková
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Helena Čížková, Ph.D.

Impedanční spektroskopie je novou, rozvíjející se metodou pro analýzu potravin. Jejími hlavními výhodami je rychlost, levnost a nedestruktivnost vzorku. Impedance se skládá z resistence a reaktance a je spojena s kvalitativními parametry surovin a potravin. Měřené impedanční spektrum je závislostí impedance na frekvenci a je ovlivňováno strukturou a chemickým složením potravin, přičemž největší vliv má obsah vody, minerálů, kyselin a stupeň jejich disociace. Jedno z nejdůležitějších kritérií pro správné měření je volba elektrody. Impedanční spektroskopie uzených ryb (treska, losos) byla provedena pro zhodnocení závislosti impedance na jednotlivých fyzikálně-chemických (obsah vody, tuku, soli, pH a aktivita vody) a mikrobiologických (mesofilní flora a *Enterobacteriaceae*) parametrech. Pro stanovení významnosti rozdílů sledovaných parametrů mezi šaržemi a jednotlivými baleními vzorků byla provedena analýza variace (jednocestná ANOVA). Pro stanovení a předurčení studovaných parametrů v závislosti na impedanci byla provedena metoda nejmenších čtverců (PLS). Ze získaných výsledků je zřejmé, že závislost mezi fyzikálně-chemickými parametry a impedancí existuje, stanovené modely však neposkytují dostatečně dobré výsledky pro přesnou předpověď těchto parametrů v uzených rybách.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Příprava galaktooligosacharidů v zahuštěné syrovátce

Autor: Veronika Mátlová
Ročník: M1
Ústav: Technologie mléka a tuků
Školitel: Ing. Klára Pocedičová

Galaktooligosacharidy (GOS) jsou nestravitelné oligosacharidy, jež stimulují růst příznivé mikroflóry v tenkém střevě. Nacházejí využití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu při strukturních a funkčních modifikacích potravinářských surovin, léků a jiných biologicky aktivních látek. Tyto oligosacharidy jsou syntetizovány pomocí enzymu β-galaktosidasa, jež hydrolyticky štěpí laktosu, a zároveň katalyzuje přenos odštěpeného galaktosylu na jiný sacharid přítomný v prostředí. Tuto reakci ovlivňuje řada faktorů, např. zdroj a koncentrace enzymu, teplota během reakce, pH apod. V této práci byl zkoumán jak vliv zdroje β-galaktosidasy, tak i její koncentrace. Příprava probíhala v zahuštěné syrovátce ($c_{laktosy}$ = 200 $g.L^{-1}$). Byly použity dva komerční preparáty enzymu: Maxilact LX 5000 (DSM Food Specialities, Holandsko) (c_{enzymu}= 1,5; 3 a 6 $U{\cdot}mL^{-1}$) a Validase (Valley Research, USA) (c_{enzymu}= 0,5; 1,5; 3 a 6 $U{\cdot}mL^{-1}$). Experiment byl proveden vsádkově a vzniklé sacharidy byly stanoveny pomocí HPLC/ELSD. Z hlediska vlivu zdroje enzymu na syntézu GOS se ukázalo, že vyšších výtěžků bylo dosaženo při použití enzymu Validase, kdy konverze dosahovala hodnoty 0,20 ± 0,00 $g.g^{-1}$. Z hlediska použité koncentrace enzymu se jako nejvhodnější jevily koncetrace 3 $U.mL^{-1}$ a 6 $U.mL^{-1}$ pro Validase resp. Maxilact LX 5000.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Využití nanotechnologií v analýze potravin

Autor: Tomáš Tér
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: doc. Ing. František Kvasnička, CSc.

Nanotechnologie jsou v poslední době velmi intenzivně se rozvíjející obor. Zahrnují studium, manipulaci, tvorbu a použití materiálů, zařízení a systémů s rozměry od 1 nm do 100 nm. Rozvoj probíhá v řadě oblastí jako: výzkum nanomateriálů, nanochemie, nanoelektronika, nanooptika, nanovýroba atd. Aplikace nanotechnologií v zemědělském a v potravinářském průmyslu je relativně nedávná ve srovnání s jejich použitím v jiných oborech. Mnoho materiálů vykazuje po převedení na nanovelikosti jedinečné fyzikální a chemické vlastnosti. Některá zařízení jsou vytvářena s cílem napodobit nanočástice nalezené v přírodě, jakou jsou proteiny, DNA a další biomolekuly. Ve své práci se zabývám využitím nanotechnologií v analýze potravin, mezi které patří např. nanosenzory nebo speciální materiály, které mohou detekovat patogenní mikroorganismy v potravinách.

Sekce : Technologie zpracování potravin A

Vliv přídavku hydrolyzátu syrovátkových bílkovin na texturu a reologii tavených sýrů

Autor: Marta Vejlupková
Ročník: B3
Ústav: Technologie mléka a tuků
Školitel: Ing. Miroslava Mihulová

Cílem práce bylo charakterizovat vliv náhrady pitné vody v receptuře taveného sýra syrovátkou a bílkovinným hydrolyzátem syrovátky na jeho texturní a reologické vlastnosti. Tavené sýry byly připraveny ze sýru Eidamská cihla, nízkotučného tvarohu a vodné fáze (pitná voda, obnovená syrovátka, neodhořčený a odhořčený hydrolyzát syrovátkových bílkovin). Textura produktů byla charakterizována texturní profilovou analýzou pomocí metody vtlačování válcové sondy (∅ 20 mm) a reologické vlastnosti dynamickou oscilační reometrií v systému profilovaných paralelních desek (∅ 20 mm, mezera 1 mm). Byly hodnoceny texturní parametry tvrdost, přilnavost, pružnost, soudržnost a žvýkatelnost, reologické parametry mez toku, komplexní modul pružnosti ve smyku a fázový posun. Bylo zjištěno, že tavené sýry obsahující syrovátku či její hydrolyzát byly měkčí, přilnavější a lépe žvýkatelné a dosahovaly nižších hodnot komplexního modulu pružnosti a meze toku, než sýry obsahující pitnou vodu. Hydrolýzou syrovátky pak vznikaly produkty měkčí, méně přilnavé a lépe žvýkatelné, s nižší hodnotou komplexního modulu pružnosti a meze toku, než výrobky ze syrovátky nehydrolyzované. Tavené sýry z neodhořčeného a odhořčeného hydrolyzátu syrovátkových bílkovin byly texturně i reologicky srovnatelné.

Sekce: **Technologie zpracování potravin B (přednášková)**
Posluchárna B33, 9.00 hod.

Komise:
Předseda: doc. Ing. František Kvasnička, CSc.
Členové: Ing. Helena Čížková, Ph.D.
Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.
Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Studenti: Bc. Bulantová Ivana – nesoutěžní příspěvek
Bc. Hedrlínová Jitka
Bc. Múdrý Radek
Bc. Odstrčilíková Lucie
Bc. Pohunek Václav
Bc. Markéta Soušková
Bc. Šimoniová Anna
Bc. Švíková Barbora
Bc. Jana Vítková

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Optimalizace postupů prevence kontaminace fyzikálními nečistotami během výrobního procesu

Autor: Bc. Ivana Bulantová
Ročník: M1
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Doc. Ing. Michal Voldřich, CSc.

Fyzikální nečistoty přestavují zásadní bezpečnostní a kvalitativní problém ve výrobě potravin. Postupy prevence jsou založeny na výběru dodavatelů, vstupní kontrole surovin, eliminaci zdrojů kontaminace během zpracování, separaci mechanických nečistot v jednotlivých fázích výroby a v detekci přítomnosti detekovatelných mechanických nečistot v produktu detektory kovů a rentgeny. Jednotlivá opatření jsou uplatňována komplementárně a podle charakteru zpracovávaných surovina a potravin.
V práci jsou shrnuty relevantní výsledky indikující efektivnost preventivních postupů v podmínkách zpracování sóji v podniku Altis Kolín s.r.o.. Byly vyhodnoceny záchyty na sítech, magnetech, zhodnoceny průběžné výstupy vstupní kontroly surovin, vyhodnoceny reklamace zákazníků, sumarizovány zdroje kontaminace ve výrobě a zhodnoceny postupy prevence. Výstupy byly statisticky zhodnoceny a jsou vyvozovány závěry k hodnocení efektivnosti systému kontroly kontaminace výrobků mechanickými nečistotami a návrhy opatření k optimalizaci současných postupů.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Sledování příčin vzniku 1,3 pentadienu v nápojích

Autor: Jitka Hedrlínová
Ročník: M1
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Některé mikroorganismy z řad plísní např. *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium roqueforti*, z kvasinek např. *Zygosaccharomyces rouxii* dekarboxylují kyselinu sorbovou, která se používá jako konzervační látka při výrobě nápojů na 1,3 - pentadien. 1,3 - pentadien řadíme mezi organické těkavé látky a jeho přítomnost v potravinách a nápojích má svůj charakteristický zápach. Jedná se o tzv. „ropný, petrolejový, plastický“ zápach, který je snadno detekovatelný pouhým příčichnutím. Produkce 1,3 - pentadienu zde zmíněnými a dalšími kmeny popřípadě i rody plísní a kvasinek byla zjištěna v pekárenských výrobcích, tavených sýrech, marcipánových výrobních a dalších. Nejčastější skupinu však zastupují různé nealkoholické nápoje. Cílem této práce je ověřit produkci 1,3 – pentadienu v nápojích plísněmi, které byly izolovány z kazících se nápojů v závislosti na koncentraci přítomné kyseliny sorbové a sledování jejího úbytku v průběhu kultivace plísně.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Identifikace obalových materiálů

Autor: Radek Múdrý
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.

Balené potraviny zaujímají v současnosti značný podíl na trhu. Obal poskytuje potravině ochranu před nežádoucími změnami kvality a společně s dalšími zákroky se podílí na prodloužení skladovatelnosti balené potraviny.
Specifikace požadavků na obal se provádí nejčastěji podle povahy potraviny, která má být v obalu zabalena. Z tohoto důvodu lze předpokládat použití podobných typů obalových materiálů (z hlediska jejich vlastností) pro potraviny patřící do stejné skupiny. V rozporu s tímto předpokladem se ale v praxi setkáváme s případy, kdy jednotliví výrobci používají pro potraviny, patřící do stejné skupiny, obalové materiály se značně odlišnými vlastnostmi.
Cílem této práce bylo ověřit tyto rozdíly u vybrané skupiny výrobků balených v modifikované atmosféře společně s identifikací použitého obalového materiálu.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Ověření korelace mezi zeta – potenciálem a fyziologickými vlastnostmi bakteriálních buněk

Autor: Bc. Lucie Odstrčilíková
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Bakterie rodu Asaia a Gluconoacetobacter se podílí na znehodnocení nealkoholických nápojů díky své schopnosti vytvářet biofilm ve výrobním zařízení, a tak následně kontaminovat meziprodukty popřípadě přímo konečný produkt. Biofilm je velmi odolný vůči běžnému sanitačnímu ošetření, pro zabránění tvorby těchto biofilmů je tedy důležité vědět, které bakterie jsou schopné tvorby biofilmu. Aby se dalo tvorbě biofirmu účinně zabránit, vyvíjejí se metody pro zjištění schopnosti bakterií biofilm vytvářet. Cílem práce je ověření možnosti využít instrumentální metody pro zhodnocení schopnosti bakterií tvořit biofilm, schopnosti rozlišit živé a mrtvé buňky a možnost nahrazení kultivačních metod metodami instrumentálními při měření termoinaktivačních charakteristik u bakteriálních izolátů. Využitím přístroje ZETA-SIZER lze změřit tzv. zeta potenciál, pomocí kterého lze určit, zda daná bakterie má předpoklady ke shlukování a tvorbě biofilmu. Výhodou tohoto zařízení je, že můžeme změřit velikost jednotlivých buněk a současně velikost bakteriálních agregátů.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Kvalita a zdravotní benefit ochucených octů

Autor: Václav Pohůnek
Ročník: M1
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Ocet jako takový je pochutina a zároveň konzervační činidlo. Samotná konzumace octa (např. „lžíce“ denně) nemá vliv na zdraví, ale ve spojení s potravinami má ocet prospěšný účinek jak pro zdraví, tak pro údržnost potravin. Ocet může lidskému tělu sloužit také jako vhodný kosmetický a zklidňující prostředek (otoky kloubů, změkčování ztvrdlé kůže – mozoly). Podle povahy substrátu, ze kterého je ocet vyroben lze odhadnout jeho vlastnosti (barva, chuť, vůně, látky tělu prospěšné). Nejčastěji se lze v běžné obchodní síti setkat s octy: kvasný lihový (ochucený), vinný kvasný (bílý nebo červený), kvasný jablečný, balzamikový z Modeny, kvasný rýžový a další (např. ze švestek umeboshi). Doba minimální trvanlivosti u většiny není stanovena. Pouze u octů ochucených rostlinnými částmi (kopr, chilli, česnek) může po určité době dojít k rozpadu těchto surovin a následné tvorby zákalů. U japonských rýžových octů se doporučuje jejich skladování v lednici, aby nedocházelo ke snížení chuťového a aromatického profilu.
Cílem práce byl průzkum českého trhu z pohledu zastoupení výrobků ochucených octů (druhy, trvanlivost, doporučené skladovací podmínky). Posoudit jejich senzorické vlastnosti a případný nutriční a zdravotní přínos (např. antioxidační vlastnosti). A s ohledem na chemické složení (cukry, organické kyseliny, těkavé látky, fenolické sloučeniny) diskutovat vliv ochucovadla a dalších faktorů na celkovou kvalitu a stabilitu a případný vznik defektů.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Srovnání výstupů vlastní kontroly výrobků s výstupy z RASFF

Autor: Bc. Markéta Soušková
Ročník: M2
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Jan Pivoňka

Vlastní kontrola výrobků na straně prodejců je klíčovým faktorem nejen pro ověření bezpečnosti potravin, ale i pro posouzení spolehlivosti dodavatelů. Pro provádění efektivní kontroly je třeba, aby byly analyzovány a kontrolovány parametry, které jsou považovány z pohledu určité komodity za rizikové. Míra rizika je dána zejména frekvencí výskytu, závažností následků v případě požití a popřípadě snadností detekce spotřebitelem. V této práci jsem se zaměřila na vyhodnocení frekvence výskytu pozitivních výsledků v případě vlastní kontroly maloobchodními řetězci a jejich porovnání s výstupy ze systému RASFF. Při hodnocení jsem se zaměřila na hodnocení pozitivních nálezů patogenních mikroorganismů, nedeklarovaného glutenu, mléčných složek a syntetických barviv. Zprávy z RASFF byly zpracovány prostřednictvím portálu RASFF a byla vyhodnocena četnost výskytu pozitivních vzorků v jednotlivých komoditách. Tyto výsledky byly porovnány s četností nevyhovujících vzorků při provádění vlastní kontroly maloobchodními řetězci. Bylo zjištěno, že výstupy z kontroly se významně liší zejména v oblasti pozitivních nálezů nedeklarovaných mléčných složek, které v podstatě nebyly řetězci vůbec kontrolovány. Zjištěná data mohou být využita při plánování kontroly v dalších letech.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Sledování čerstvosti a změn složení masa v důsledku zmražení a rozmražení

Autor: Anna Šimoniová
Ročník: M2
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Prof. Ing. Petr Pipek, CSc.

Zmrazováním masa se tvoří ledové krystaly, které narušují buněčné struktury a dochází k uvolnění některých enzymů do sarkoplasmy. Na základě aktivity těchto enzymů v exsudátu je možné rozlišit maso zmražené od nezmraženého. Cílem této práce bylo měření katalytické aktivity citratsynthasy, mitochondriálního enzymu účastnícího se reakcí v citrátovém cyklu, v závislosti na době a způsobu skladování a to u masa hovězího a kuřecího. Bylo zjištěno, že aktivita citrátsynthasy zůstává díky její termostabilitě, na rozdíl od jiných enzymů, během chladírenského skladování téměř na konstantní, avšak nenulové hodnotě, která je na počátku skladování zřejmě způsobena mechanickou destrukcí buněk během úprav nebo manipulací s masem, později se zde již může uplatnit přítomnost kazící mikroflóry. S délkou mrazírenského skladování tato aktivita výrazně roste. Aktivita citrátsynthasy je závislá na rozsahu poškození buněčných organel vytvořenými krystaly ledu. Po určitou dobu chladírenského skladování je tedy možné touto enzymovou metodou odlišit maso čerstvé od zmraženého.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Optimalizace a verifikace postupu stanovení kyseliny D-isocitrónové

Autor: Barbora Švíková
Ročník: M1
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Jitka Šnebergrová, Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Ovocné šťávy a další výrobky z ovoce se stávají předmětem falšování. Příkladem tohoto falšování je použití nižšího ovocného podílu oproti předepsanému v komoditní vyhlášce, u šťáv snížení ovocného podílu jejím naředěním vodou, přislazením a přídavkem kyselin, náhrada dražšího druhu ovoce levnějším.
Při identifikaci falšování a odhadu ovocného podílu se provádí analýza vybraných chemických markerů, jejichž hodnoty se porovnávají s existujícími databázemi autentických výrobků nebo modelovými vzorky. Obsah kyseliny D-isocitrónové je jedním z nejdůležitějších markerů pro důkaz falšování. Vedle obsahu se také sleduje poměr kyseliny citrónové ke kyselině D-isocitrónové, čímž se dá odhalit přídavek syntetické kyseliny citrónové.
Enzymové stanovení kyseliny D-isocitronové je jednou z možností relativně rychlého a jednoduchého prokázání ovocného podílu ve výrobcích. Předností této metody je dobrá opakovatelnost, specificita a nenáročnost přístrojového vybavení. Cílem práce byla optimalizace a verifikace postupu enzymového stanovení kyseliny D-isocitrónové, určení pracovních charakteristik metody (linearita, opakovatelnost, výtěžnost) a analýza souboru vzorků z tržní sítě – citrusových šťáv, džemů.

Sekce : Technologie zpracování potravin B

Porovnání antimikrobiálních přípravků pro potravinářské výrobky

Autor: Jana Vítková
Ročník: M2
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Prokázaný výskyt bakterie *Listeria monocytogenes* v potravinářských výrobcích patří k nejčastějším důvodům zákazu nebo omezení výroby ze strany dozorových orgánů. Týká se to především lahůdkářské produkce, ale i výroby sýrů, cukrářských a masných produktů. Listerióza, vážné onemocnění způsobené požitím potravy kontaminované bakterií *Listeria monocogenes*, je stále vážným zdravotním problémem veřejnosti na celém světě. Nemoc postihuje především těhotné ženy, novorozence a dospělé osoby s oslabeným imunitním systémem. Inaktivace *Listeria monocytogenes* je obtížná, protože proti nim nepůsobí dostatečně účinně chladírenské skladování ani vysoký obsah soli. Tepelné ošetření, jako je pasterace, je sice účinná, ale nebezpečná je především rekontaminace produktů z prostředí. Toho všeho využívají firmy nabízející různé potravinářské prostředky, u nichž deklarují vliv na zpomalení růstu *Listeria monocytogenes* a dalších mikroorganismů. V práci byly ověřovány 4 komerční přípravky s deklarovanými antimikrobiálními účinky. Pro ověřování jejich účinnosti byly použity 3 druhy potravinářských výrobků (masný výrobek, lahůdkářský salát a zrající sýr).

Sekce: Chemie přírodních látek (plakátová)
posluchárna B12, 9.00 hod.
Komise:
Předseda: Doc. Ing. Karel Kefurt, CSc.
Členové: RNDr. Miroslav Ledvina, CSc.
Ing. Jiří Prokop

Studenti: Bc. Radka Břízová
Bc. Martin Janák
Bc. Michal Jurášek
Bc. Sandra Káčerová
Bc. Eva Kubíčková
Bc. Vít Novák
Bc. Aleš Petrík
Bc. Šárka Salajková
Bc. Jana Šusteková
Bc. Andrea Třeštiková
Bc. Lenka Vávrová
Bc. Iva Zajacová
Bc. Ondřej Kostov

Sekce : Chemie přírodních látek

Volatilní látky produkované Anastrepha fraterculus

Autor: Radka Břízová
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Oldřich Lapčík, Dr., RNDr. Blanka Kalinová, CSc.

Vrtule jihoamerická (*Anastrepha fraterculus*) je jedním z nevýznamnější zemědělských škůdců oblasti tropů a subtropů jižní Ameriky. Samci A. fraterculus obvykle předvádějí velmi složité předkopulační chování, kde významnou roli hrají vizuální, chemické a zvukové stimuly. Samci se shromažďují v rojích na hostitelských rostlinách a lákají samičky svým vícesložkovým feromonem. Naším současným cílem je identifikovat a kvantifikovat anteneálně aktivní složky feromonu nejen z pohledu chemického. Pro všechny pokusy jsou používáni dospělí jedinci poskytovaní entomologickou laboratoří FOA/IAEA, Seilsberdoff, Rakousko. Volatilní látky jsou zachycovány pomocí filtrů zhotovených ze skleněných trubiček naplněných 30 mg sorbentu SuperQ a následně eluovány hexanem. Eluáty s interním standardem jsou analyzovány za použití dvoudimenzionální plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrickou detekcí (GC×GC-MS) a plynové chromatografie ve spojení s biologickou detekcí, tzv. elektroantenografický detektor (GC-FID-EAD). Zatím bylo identifikováno šest oblastí s anteneální aktivitou, na které reagují tykadla obou pohlaví.

Sekce : Chemie přírodních látek

Syntéza vicinálních β-amino-α-hydroxy derivátů kyselin

Autor: Martin Janák
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Oldřich Lapčík, Dr.

Deriváty β-amino-α-hydroxykyselin se nacházejí v biologicky aktivních přírodních látkách a mají vlastnosti využitelné v medicíně a farmacii. Zabývám se vývojem metod syntézy biologicky aktivních derivátů vicinálních aminohydroxykyselin, spočívajících v tandemové konjugované adici lithných amidů/α-oxygenaci. Tento přístup vede k derivátům β-amino-α-hydroxykyselin. Pro konjugovanou adici jsou používány α,β-nenasycené estery karboxylových kyselin a sekundární aminy. Dalším krokem je SET oxidace ferrocenium hexafluorofosfátem, následovaná radikálovou oxygenací (používaným činidlem je 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy radikál, TEMPO). V budoucnosti se chystám rozšířit škálu substrátů, optimalizovat syntézu, zvýšit diastereoselektivitu a výtěžky. Bude provedena syntéza konformačně rigidních derivátů pro stanovení relativní konfigurace (*syn/anti*).

Sekce : Chemie přírodních látek

Steroidní „Click tripody“, syntéza a vlastnosti

Autor: Michal Jurášek
Ročník: M1
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. Dr. Pavel Drašar, DSc.

Huisgenova [3+2] cykloadice - „click reakce“ terminálních alkynů a azidů je v současném vědeckém výzkumu a vývoji často využívaným nástrojem. Experimentální jednoduchost a tolerance k většině funkčních skupin jsou hlavními výhodami této reakce. Byla využita ve vývoji nových léčiv, chemii polymerů, materiálů, biologii či při studiu biokonjugací. Cholová kyselina je steroidní přírodní látka, jejíž skelet se vyznačuje rigiditou, robustností, chiralitou a hlavně unikátní amfifilitou. Tyto vlastnosti ji dělají vhodným stavebním materiálem pro práci v oblasti supramolekulární chemie a studium samoskladebných vlastností. Hormonální steroid estron má A jádro steroidního skeletu plně aromatizované, čehož využíváme při úvahách o π-π stackingu. V této práci se zabýváme syntézou steroidních tripodů. Jako centrální lešení byl připraven 1,3,5-tri(azidomethyl)-2,4,6-trimethylbenzen. Kyselina cholová byla převedena na propargyl amid a estron na 3-O-propargyl derivát. Po optimalizaci finální „click reakce“ bylo dosaženo vysokých výtěžků v obou výše zmíněmých případech.

Sekce : Chemie přírodních látek

Konformační analýza substituovaných alkyl-6-(2,5--dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoátů: výpočetní studie

Autor: Sandra Káčerová
Ročník: M2
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

Klíčovým bodem této práce byly geometrické optimalizace pro řadu substituovaných alkyl-6--(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoátů. Vzhledem k velmi dlouhým alkylovým řetězcům nepřicházelo v úvahu systematické mapování konformačního prostoru a nízkoenergetické konformace musely být hledány jiným způsobem. Použito bylo konformační prohledávání s následnou geometrickou optimalizací na MM úrovni. Využita byla i metoda simulovaného žíhání. Nalezené energeticky nejvýhodnější konformace s relativní energií do 8 kJ/mol byly dále optimalizovány na ab initio úrovni HF/4-31G nejprve ve vakuu a pak v implicitně zahrnuté vodě. Konformační flexibilita všech látek byla též studována pomocí molekulové dynamiky s explicitně reprezentovanou rozpouštědlovou směsí propylen¬glykol-voda 1:1. Optimalizované geometrie byly použity k výpočtům IČ a |NMR spekter a dále k predikcím LogP hodnot. Vypočtené a predikované hodnoty byly porovnány s dostupnými experimentálními údaji z literatury.

Sekce : Chemie přírodních látek

Příprava ethyl-1-thio-β-D-galaktopyranosidu snadno a rychle

Autor: Eva Kubíčková
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.

Thioglykosidy jsou vděčnou a oblíbenou výchozí látkou pro cukerné syntézy zejména proto, že se snadno a ve vysokém výtěžku připravují i selektivně a za mírných podmínek odstraňují, za vzniku volné anomerní hydroxylové skupiny.
Pro přípravu 6-deoxy-6-fluor-α- a –β-D-galaktopyranosylfosfonátů jsme jako výchozí látku chtěli použít ethyl-1-thio-β-D-galaktopyranosid, který měl být podle údajů v literatuře velmi lehce dostupný z D-galaktosy. Realita byla ovšem jiná a nakonec se ukázalo, že jednoduchou úpravou teploty lze získat požadovaný ethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-galaktopyranosid ve vysokém výtěžku.
Velkou pozornost jsme věnovali identifikaci vedlejších produktů, a to jednak spektrálními metodami, jednak převedením na jednoznačně definované deriváty.

Sekce : Chemie přírodních látek

Predikce spektrálních vlastností sacharidů s využitím hybridních QM/MM výpočtů

Autor: Vít Novák
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

Je známo, že rozpouštědlo ovlivňuje prostorové uspořádání rozpuštěných látek a ovlivňuje i spektrální vlastnosti. Ověřili jsme v dřívějších výpočetních studiích, že jeho reprezentace ve výpočtech podstatným způsobem rozhoduje o kvalitě dat.
Výpočetní studie používá hybridní QM/MM model ONIOM v Gaussianu 09W k zahrnutí explicitních molekul rozpouštědla do geometrických optimalizací a výpočtů IČ a NMR spektrálních vlastností studovaných sacharidů. Byly testovány různé kombinace ONIOM vrstev a různé teoretické úrovně v nich.
Výchozí počet molekul rozpouštědla a jejich přesné pozice jsou zjišťovány pomocí molekulové dynamiky. Byla vypracována metodika pro konstrukci rozpouštědlových boxů plněných prakticky libovolným rozpouštědlem včetně jejich směsí v libovolném složení a jejich následnou ekvilibraci i vnoření studované molekuly.
Vypočtené vlnočty i vibrační frekvence v IČ spektrech a chemické posuny a spin-spinové interakce v NMR spektrech jsou kvalitativně a kvantitativně porovnávány jak s experimentálními daty, tak s dřívějšími výsledky s vylepšeným CPCM solvatačním modelem v Gaussianu 09W.

Sekce : Chemie přírodních látek

Studium mechanismu vzniku thioglykosidů

Autor: Aleš Petrík
Ročník: M1
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.

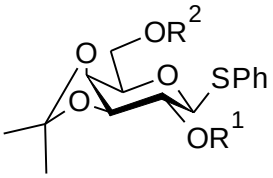
Thioglykosidy jsou díky své stabilitě a relativně snadné přípravě výhodnými meziprodukty při syntézách organických látek. Reakce galaktosy s ethanthiolem a acetanhydridem, katalyzovaná $BF_3.OEt_2$ poskytla mnoho vedlejších produktů, proto byla ověřena její reprodukovatelnost za dané teploty a všechny produkty byly důkladně analyzovány pomocí ^1H a ^{13}C NMR a GC/MS. Byly vypracovány podmínky pro sledování kinetiky reakce a při předběžném pokusu vyhodnocovaném TLC nevznikal žádný dithioacetal, což souviselo s lehce odlišnou teplotou během pokusu. Teplota je nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím průběh reakce. Pozornost byla věnována také stabilitě vznikajícího thioglykosidu za reakčních podmínek. Ten se vždy zcela rozložil na peracetát, bez ohledu na přítomnost ethanthiolu v reakční směsi. Byla rozpracována syntéza 4-deoxy-D-galaktosy, která bude použita pro studium mechanismu reakce.

Sekce : Chemie přírodních látek

Příprava ortogonálně chráněného thiogalaktopyranosidu

Autor: Šárka Salajková
Ročník: B3
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. Ing. Jitka Moravcová,CSc.

Pro synthesu potenciálních inhibitorů galaktosyltransferas obsahujících v cukerné části atom fluoru se jako vhodné výchozí látky jeví thioglykosidy.
Cílem mojí práce bylo připravení ortogonálně chráněného thiogalaktosidu, který po odstranění chránicí skupiny v poloze 6 by byl vhodný pro následnou fluoraci. Vyzkoušela jsem dva alternativní postupy.



R^1 = TBDPS

= Bn

Sekce : Chemie přírodních látek

Fytosteroly: jednotky pre syntézu supramolekúl

Autor: Jana Šusteková
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Vo svojej práci som sa zaoberala syntézou konjugátov fytosterolou s látkami, ktoré obsahujú skupinu nesúcu dusík v molekulách. Fyzikálno-chemické vlastnosti pripravených konjugátov boli následne študované. Ako zástupca fytosterolov bol vybraný stigmasterol pre svoju komerčnú dostupnosť. Na prípravú medziproduktov, poloesterov stigmasterolu boli zvolené anhydridy vybraných krátkych dikarboxylových kyselín. Reakcie boli prevádzané v pyridíne a boli katalyzované DMAP (získané výťažky produktov do 93%). Pripravené poloestery reagovali s príslušnými enantiomericky čistými formami metylesteru fenylalanínu v dichlórmetáne s katalyzátormi DCC a DMAP. Vznikli konjugáty spojené amidovou väzbou vo výťažkoch výšších ako 90%. Fyzikálno-chemické vlastnosti pripravených konjugátov stigmasterolu a metylesterov vybraných aminokyselín boli študované meraním spektra UV acetonitril / voda alebo etanol / voda. Koncentrácia oboch rozpúšťadiel sa pohybovala od 100% do 100% acetonitril / voda a etanol od 100% do 100% vody. Niektoré z pripravených zlúčenín prokázali svoj potenciál pre tvorbu gélov.

Sekce : Chemie přírodních látek

Výpočty a predikce farmakologicky zajímavých vlastností substituovaných (fenylamino)alkylhydroxybenzamidů

Autor: Andrea Třeštiková
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

Pro řadu substituovaných (fenylamino)alkylhydroxybenzamidů lišících se počtem a pozicí Cl atomů na aromatickém kruhu byly s použitím predikčních programů a ab initio výpočtů předpovídány farmakologicky zajímavé fyzikálně chemické vlastnosti, především log P, pKa a parciální náboje, které rozhodujícím způsobem ovlivňují tzv. ADME/Tox chování studovaných látek. Pro vybrané látky byla dále spočtena jejich IČ, Ramanova a NMR spektra.
Časově nejnáročnější byly geometrické optimalizace studovaných látek, které byly prováděny s využitím systematického mapování konformačního prostoru ve vakuu i v solvatovaném stavu. Rozpouštědlo bylo pro solvatovaný stav simulováno pomocí implicitního solvatačního modelu CPCM. Nalezená minima odpovídající zastoupeným konformerům byla verifikována pomocí frekvenčních výpočtů a dále použita pro výpočty spektrálních údajů. Zastoupení jednotlivých konformerů bylo vypočteno s využitím Boltzmannova vztahu. Vypočtené a predikované hodnoty byly porovnány s dostupnými experimentálními údaji z literatury.

Sekce : Chemie přírodních látek

Příprava fenylgalaktopyranosylsulfoxidu pro nukleofilní substituce

Autor: Lenka Vávrová
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.

Při přípravě potenciálních inhibitorů galaktosyltransferas obsahujících v molekule atom fluoru je v některých případech obtížné vytvořit C-P vazbu v deoxyfluorfosfonátu. Jedno z možných řešení je nalezení optimálního postupu nukleofilní substituce na anomerním uhlíku fenylthiogalaktopyranosidu, kdy by odstupující skupinou byl fenylthiolát. Další možností je oxidovat atom síry fenylthiogalaktopyranosidu na sulfoxid a tím vytvořit z fenylthioskupiny lépe odstupující skupinu. Oxidace fenylthiogalaktopyranosidu na jeho sulfoxid byla prováděna pomocí KF/m chlorperoxobenzoová kyselina v prostředí CH_3CN H_2O s dobrým výtěžkem. Následná nukleofilní substituce by mohla probíhat za použití anhydridu trifluormethansulfonové kyseliny a 2,6 di *terc* butyl 4 methylpyridinu.

Sekce : Chemie přírodních látek

Příprava a využití 3,3-di-1H-pyrrol-2-ylsteroidů

Autor: Iva Zajacová
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

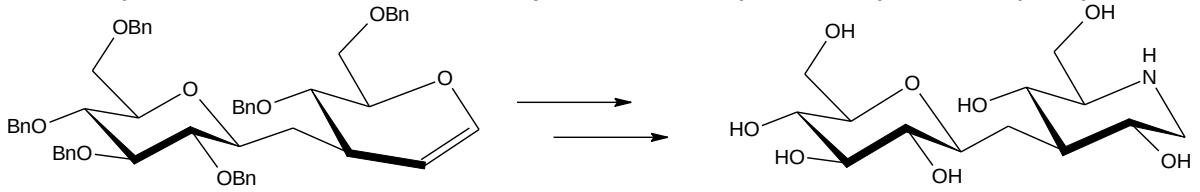
V této práci je popsána syntéza 3,3-di-1*H*-pyrrol-2-ylcholesterolu. Ten je prekurzorem pro přípravu supramolekulárních struktur, např. calix[4]pyrrolů, které jsou spojeny s chirální molekulou cholesterolu přes uhlík C-3.
Výchozí látkou byl přečištěný cholesterol, jehož hydroxylová skupina byla oxidována pyridinium-dichromátem na karbonyl za vzniku cholest 5-en-3-onu. Při oxidaci však také docházelo k přesmyku dvojné vazby z polohy C-5 do C-4, kde je dvojná vazba konjugována s karbonylovou skupinou. Byla zaznamenána i následná oxidace v poloze C-6, allylové poloze, za vzniku cholest-4-en-3,6-dionu. Tato směs byla úspěšně rozdělena sloupcovou chromatografií na silikagelu. Na cholest-5-en-3-on byl v další reakci za kyselé katalýzy adován pyrrol, za vzniku cílového 3,3-di-1*H*-pyrrol-2-ylcholesterolu.

Sekce : Chemie přírodních látek

Syntéza 3-deoxy-3-(β-D-glukopyranosylmethyl)- D-1--deoxynojrimycinu

Autor: Ondřej Kostov
Ročník: M2
Ústav: Chemie přírodních látek
Školitel: Doc. Ing. Ladislav Kniežo, CSc

V naší laboratoři se zabýváme přípravou C-1→3-Disacharidů, vycházející z variabilní monosacharidové jednotky, na které je streoselektivně budována další sacharidová jednotka připojená methylenovým můstkem. Podařilo se nám vypracovat universální postup pro přípravu C-1→3-Disacharidových glukalů **I** obecného typu, kdy je možné vycházet z monosacharidových jednotek různé konfigurace (např. gluko-, galakto-, manno-,…).
Cílem mé práce je syntéza 1-deoxynojrimycinu **II** ze zmíněného glukalu **I**. Snaha o tuto látku vychází ze zjištění, že 1-Deoxynojirimycin je silným, ale nespecifickým inhibitorem glukosidas. Předpokládáme, že selektivita by se mohla zvýšit připojením další monosacharidové jednotky nehydrolyzovatelnou C-glykosidovou vazbou, která také zaručuje stabilitu výsledného disacharidu, protože je odolná vůči kyselé i enzymatické hydrolýze.



I **II**