

Seznam sekcí a složení komisí

- Sekce: Biotechnologie I (přednášková)**
knihovna ústavu 319, 9:00 hod.
- Sponzor: Lonza Biotec, s. r. o
- Komise:
- Předseda: Prof. Ing. Mojmír Rychtera CSc.
- Členové: Ing. Barbora Branská, Ph.D.
Dr. Ing. Leona Paulová
Dr. Ing. Petra Patáková
- Sekce: Biotechnologie II (přednášková)**
posluchárna A11, 9:00 hod.
- Sponzor: Lonza Biotec, s. r. o
- Komise:
- Předseda: Doc. Ing. Pavel Dostálek CSc.
- Členové: Ing. Tomáš Brányik PhD
Ing. Irena Kolouchová Ph.D.
- Sekce: Biotechnologie III (přednášková)**
posluchárna A12, 9:00 hod.
- Sponzor: Lonza Biotec, s. r. o
- Komise:
- Předseda: Doc. Ing. Jan Masák, CSc.
- Členové: Doc. Ing. Alena Čejková, CSc.
Ing. Tomáš Halecký, PhD
Ing. Tereza Krulíková
- Sekce: Biochemie člověka a biomedicina (přednášková)**
místnost B34, 9:00 hod.
- Sponzor: Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii
- Komise:
- Předseda: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.
- Členové: Ing. Ivana Melenová, Ph.D.
Ing. Kateřina Kontrová
Ing. Martina Nováková
Ing. Martina Blažková
- Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů (přednášková)**
místnost B245, 9:00 hod.
- Sponzor: Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii
- Komise:
- Předseda: Prof. Dr. Ing. Martina Macková
- Členové: Prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.
Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.
Ing. Petra Lovecká, Ph.D.
Ing. Eva Benešová
- Sekce: Biochemie člověka – bioanalytické metody (plakátová)**
místnost B21, 9:00 hod.
- Sponzor: Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii
- Komise:
- Předseda: Prof. Ing. Ladislav Fukal, CSc.

- Členové: Ing. Igor Hochel, CSc.
Ing. Jan Lipov, Ph.D.
Ing. Tomáš Podzimek
Ing. Jiří Šantrůček
- Sekce: **Molekulární ekologie (plakátová)**
místnost B21, 9:00 hod.
- Sponzor: Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii
- Komise:
- Předseda: Doc. Ing. Tomáš Macek, CSc.
- Členové: Doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.
Dr. Ing. Zuzana Novotná
Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.
Ing. Zdeňka Kohoutová
- Sekce: **Struktura a funkce proteinů (plakátová)**
místnost B21, 9:00 hod.
- Sponzor: Česká společnost pro biochemii a molekulární biologii
- Komise:
- Předseda: Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.
- Členové: RNDr. Zuzana Šmídová, Ph.D.
Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.
Ing. Šárka Haubová
Ing. Jan Prchal
- Sekce: **Cereální chemie a technologie (přednášková)**
knihovna ústavu 321 (B 40), 9:00 hod.
- Komise:
- Předseda: Doc. Ing. Josef Příhoda, CSc.
- Členové: Doc. Ing. Marie Hrušková
Ing. Ivan Švec
Ing. Vladimír Pour, CSc.
- Sekce: **Technologie sacharidů (přednášková)**
místnost B 07, 9:00 hod.
- Komise:
- Předseda: Doc. Ing. Jana Čopíková, CSc.
- Členové: Mgr. Andriy Synytsya, PhD.
Ing. Evžen Šárka, CSc.
Ing. Svatopluk Henke
- Sekce: **Chemie a analýza potravin I (přednášková)**
posluchárna B 32, 9:00 hod.
- Komise:
- Předseda: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.
- Členové: Doc. Dr. Ing. Jan Poustka
Dr. Ing. Kateřina Riddellová
Ing. Tomáš Čajka
Ing. Marie Suchanová
- Sekce: **Chemie a analýza potravin II (přednášková)**
posluchárna B 33, 9:00 hod.
- Komise:

Předseda: Doc. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.

Členové: Doc. Dr. Ing. Richard Koplík

Dr. Ing. Věra Schulzová

Ing. Jana Pulkrabová

Ing. Jakub Schůrek

Sekce: **Technologie zpracování potravin I (přednášková)
posluchárna B 31, 9:00 hod.**

Komise:

Předseda: Doc. Ing. Miroslav Marek, CSc.

Členové: Ing. Kamila Klaudisová Ph.D.

Ing. Jan Pivoňka

Ing. Bc. Bo-Anne Bělková

Sekce: **Technologie zpracování potravin II (přednášková)
místnost B 09, 9:00 hod.**

Komise:

Předseda: Doc. Ing. František Kvasnička, CSc.

Členové: Ing. Helena Čížková Ph.D.

Ing. Aleš Rajchl

Ing. Iveta Fabíková, Ph.D.

Sekce: **Technologie zpracování potravin III (plakátová)
místnost B 268, 9:00 hod.**

Komise:

Předseda: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.

Členové: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský

Dr. Ing. Lenka Votavová

Ing. Iveta Fabíková Ph.D.

Ing. Pavlína Kršková

Sekce: **Chemie přírodních látek (plakátová)
posluchárna B 02, 9:00 hod.**

Sponzoři: Interpharma Praha, a.s., a SciTech, spol. s r.o.

Komise:

Předseda: Doc. Ing. Karel Kefurt, CSc.

Členové: Ing. Jiří Prokop, CSc. (Interpharma Praha, a.s.)

RNDr. Miroslav Ledvina, CSc. (ÚOCHB AV ČR)

Sekce: Biotechnologie I

Aerobní termofilní degradace laktózy čistou a směsnou kulturou

Autor: Václav Černý
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Prof. Ing. Mojmír Rychtera, CSc.

Aerobní termofilní stabilizace kalů je procesem, který probíhá v autotermním reaktoru. Funkci reaktoru zajišťují termofilní aerobní bakterie, které se vyznačují velmi malým nárůstem biomasy a vysokou degradační účinností. Tímto lze dosáhnout dostatečné produkce tepelné energie, která je schopna ohřát objem reaktoru.

Práce se zabývá sledováním degradačních rychlostí laktózy jako zdroji uhlíku a energie a úbytku organického znečištění vyjadřovaného pomocí CHSK. Kultivace byly prováděny při teplotě 55 °C a pH 6,5 v bioreaktoru BIOSTAT A, B. Braun Biotech International. Průběh kultivací byl monitorován „on-line“ (koncentrace rozpuštěného kyslíku, pH a teplota) a „off-line“ (CHSK, koncentrace laktózy a koncentrace sušiny biomasy). Byly provedeny dva pokusy s čistou monokulturou bakterie *Thermus aquaticus* CCM 3488 a se směsnou termofilní aerobní bakteriální populací získanou z čistírny odpadních vod v Bystřici pod Hostýnem. Výsledky byly porovnány s předešlými měřeními, na které moje práce navazuje.

Sekce: Biotechnologie I

Zymomonas mobilis jako producent bioethanolu

Autor: Petr Fribert
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jakub Kočan, doc. Ing. Karel Melzoch, CSc.

Zymomonas mobilis je gramnegativní bakterie, která se vyznačuje vysokým teoretickým výtěžkem etanolu během fermentace a toleruje koncentraci ethanolu ve směsi až 120 g/l. Vysoká výtěžnost a produktivita ethanolu pozorovaná u *Zymomonas mobilis* jsou důsledkem její unikátní fyziologie. *Zymomonas mobilis* k produkci ethanolu nepoužívá enzymy glykolýzy, ale Entner-Doudoroffovy dráhy.

Ačkoli je *Zymomonas mobilis* výborným producentem ethanolu, není vhodná pro konverzi biomasy, protože zkvašuje pouze glukosu, fruktosu a sacharosu. V práci jsem se zaměřil na kvasné zkoušky se sbírkovými kmeny *Zymomonas mobilis* *sups. mobilis* (CCM 2770 a CCM 3881). Jako substráty jsem použil glukosu, sacharosu a maltosu o koncentracích 100, 150, 200 a 250 g/l. Z mých měření vyplývá, že *Zymomonas mobilis* nejlépe fermentuje glukosu, a to při koncentraci 200 g/l. Při této koncentraci bylo dosaženo 82 % teoretické výtěžnosti a koncentrace ethanolu 70 g/l. Naopak maltosu testované kmeny *Zymomonas mobilis* nefermentovaly. V další práci se zaměřím na kvasné testy na obilných záparách, které se budou připravovat různými způsoby.

Sekce: Biotechnologie I

Faktory ovlivňující cytometrické stanovení buněčné viability u kvasinky *Pichia pastoris*

Autor: Michaela Linhová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Barbora Branská PhD

Zastoupení viabilních neboli životaschopných buněk v populaci je jedním z významných faktorů hodnocení fyziologického stavu kultury. Velmi rychlou a přesnou analýzu viability umožňuje průtoková cytometrie ve spojení s fluorescenčním značením, které je založeno na specifické interakci sondy s buňkou. Předmětem této práce bylo sledování změn počtu značených mikroorganismů v závislosti na rozdílných postupech značení a operacích s buňkami v různých růstových stádiích. Jednotlivé závislosti byly proměřeny pro fluorescenční sondy: propidium jodid, fluorescein diacetát, karboxyfluorescein diacetát, bis-oxonol a karbokyanin jodid u populací kvasinky *Pichia pastoris*, o kterou v posledních letech vzrůstá zájem, zejména jakožto o potencionálního producenta rekombinantních proteinů.

Sekce: Biotechnologie I

Využití různých substrátů při expresi proteinů kvasinkou *Pichia pastoris*

Autor: Jan Marek
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Leona Paulová

Tato práce se zabývá sledováním kinetických a stechiometrických parametrů růstu rekombinantní kvasinky *Pichia pastoris* na různých substrátech. V práci byl použit kmen *Pichia pastoris* (*pPICZαA-pTryp#3*), do kterého byl pod kontrolu AOX promotoru vložen gen pro produkci vepřového trypsinogenu. V ustáleném stavu kontinuálních kultivací při zředovací rychlosti $0,1 \text{ h}^{-1}$ byl sledován růst tohoto kmene na glukose, methanolu a glycerolu a byly určeny růstové charakteristiky tohoto kmene (výťažnost, maximální specifická růstová rychlost). V tranzientním stavu kultivací byla sledována tvorba produktu – jestli se tvoří, porovnání substrátů – represe, dereprese, indukce. Cílem práce bylo určit nejvhodnější substrát pro dosažení maximální produktivity systému.

Sekce: Biotechnologie I

Sledování růstu jednobuněčných řas pomocí průtokové cytometrie

Autor: Zlata Palkovičová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Petra Patáková, Ing. Barbora Branská Ph.D.

Jednobuněčné řasy, jinak také zvané mikrořasy, jsou velmi heterogenní skupinou. Vzhledem k jejich přirozeným autofluorescenčním vlastnostem se průtoková cytometrie jeví jako vhodná metoda pro snadné sledování jejich růstu. Výhodou průtokové cytometrie je, že umožňuje simultánní měření a analýzu fyzikálních, chemických a biologických vlastností souboru buněk v populaci. Cílem této práce bylo ověřit možnost využití průtokového cytometru Beckman Coulter pro sledování růstu jednobuněčných řas. Ke kultivaci bylo vybráno šest kmenů řas rodů *Chlorella* a *Desmodesmus*, které byly kultivovány vsádkově fotoautotrofně. Fluorescenční vlastnosti vzorků pro měření na průtokovém cytometru byly sledovány také pod fluorescenčním mikroskopem. Pro ověření možných optických změn v důsledku fixace teplem bylo u fixované i nefixované kultury provedené proměření absorpčního spektra.

Sekce: Biotechnologie I

Stanovení plyn produkujících druhů rodu *Clostridium* v mléce a mléčných výrobcích

Autor: Bc. Miroslava Schmidtová
Ročník: 1. navazující magisterské
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků
Školitel: Doc. Ing. Milada Plocková, CSc.

Byly studovány plyn produkující druhy rodu *Clostridium*, zvláště pak *Clostridium tyrobutyricum*. Tyto bakterie při svém metabolismu rozkládají sacharidy a laktát za vzniku plynu, což způsobuje defekty v tvrdých a polotvrdých sýrech. Práce byla zaměřena na charakterizaci druhů rodu *Clostridium*, popis metod, pomocí kterých se stanovují spory klostridií, a na stanovení plyn produkujících druhů rodu *Clostridium*. Tyto bakterie byly stanovovány ve vzorcích syrového mléka a krmné směsi z farmy Filoun a v šesti vzorcích sýrů z distribuční sítě za použití metody MPN na mléčné půdě a plotnovou metodou na půdách RCMč a DRCM. Jako nejvhodnější byla prokázána metoda MPN metoda, pomocí které byl prokázán výskyt plyn produkujících klostridií v syrovém mléce v rozmezí řádu jednotek v 1 ml, v krmné směsi v řádu $10^2 - 10^3$ v 1 g a ve většině sýrů v řádu 10^1 v 1 g. Pomocí selektivní půdy pro *Clostridium tyrobutyricum* byla prokázána přítomnost tohoto druhu ve vzorku krmné směsi a jednoho testovaného sýra.

Sekce: Biotechnologie I

Metabolity kmenů *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* a *C. acetobutylicum*

Autor: Jiří Teplý
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Dr. Ing. Petra Patáková

Práce se zabývá mikrobiální tvorbou rozpouštědel, zejména butanolu a acetonu. Cílem této práce bylo získat první poznatky o chování bakteriálních kmenů *Clostridium acetobutylicum* a *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*. Tyto oba kmeny byly sledovány při kultivaci ve zkumavkách po dobu jednoho týdne v RCM médiu a následně v TYA médiu. Média byla inokulována sporovou kulturou, která byla následně pomocí tepelných šoků donucena ke klíčení. Během kultivace, která probíhala při teplotě 37°C, bylo sledováno pH média, mikroskopický stav nativní populace, Gram-labilita populace a množství vytvořené biomasy. Následně byly pomocí kapalinové chromatografie (HPLC) v jednotlivých médiích sledovány obsahy substrátů a zájmových metabolických produktů, zejména průmyslově využitelných látek, jako jsou organická rozpouštědla.

Sekce: Biotechnologie I

Srovnání paralelního štěpení škrobu a fermentace s klasickým způsobem výroby bioethanolu

Autor: Martin Valeš
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Prof. Ing. Mojmír Rychtera CSc.

Jelikož cena ropy nezadržitelně stoupá a její zásoby nejsou nekonečné, rozvíjí se v současné době technologické a inženýrské postupy získávání biolihu z levných surovin nebo odpadů, obsahujících přímo zkvasitelné substráty, nebo substráty, které lze na zkvasitelné převést chemickými nebo biochemickými procesy. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) je metoda založená na spojení dvou po sobě následujících kroků, používaných v průběhu výroby bioethanolu – štěpení polysacharidu (v tomto případě škrobu) a fermentace jednoduchých cukrů příslušnými mikroorganismy. V případě klasické fermentační metody následuje kvašení až po úplném zcukření výchozího polysacharidu, probíhající za optimálních podmínek pro činnost enzymů. Naproti tomu při metodě SSF probíhají oba procesy současně. Nevýhodou paralelního štěpení škrobu a fermentace je volba teploty, při které proces probíhá, protože ta nemůže být pro činnost enzymů optimální. Metoda SSF však podle výsledků získaných paralelním stanovením obou metod poskytuje větší výtěžnost ethanolu z původní suroviny, ovšem za cenu větší časové náročnosti průběhu procesu.

Sekce: Biotechnologie II

Fyziologické a morfologické projevy stárnutí kvasinek

Autor: Martin Baszczyński
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tomáš Brányik PhD.

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* má omezenou dobu života. Každá buňka je schopná pouze určitého počtu dělení, obvykle něco mezi 10 až 30. Podle počtu jizev se proto dá usuzovat na stáří buňky. Studium stárnutí různých kmenů pivovarských kvasinek má také praktický význam. Při opakované fermentaci mohou být vyselektovány nežádoucí zestárlé subpopulace. Zestárlé kvasinky vykazují odlišné flokulační charakteristiky a schopnost fermentace.

Cílem práce je vyvinout metodu rychlého stanovení založené na barvení jizev u vyselektovaných buněk a následné měření intenzity fluorescence průtokovou cytometrií. Pro selekci buněk různého stáří byla vybrána metoda magnetické separace, která je založena na navázání paramagnetických částic na povrch cílových buněk. Tato metoda je zvláště důležitá pro kontinuální fermentační systémy se zvýšeným rizikem stárnutí imobilizovaných buněk.

Sekce: Biotechnologie II

Obsah a složení polyfenolických látek v bílých vínech

Autor: Marie Cíhová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Polyfenoly jsou hojně zastoupeny v zelenině, čaji i v hroznovém víně a je jim přisuzován pozitivní vliv na lidský organismus. Obsah a složení polyfenolických látek ve vínech může být ovlivněn mnoha vnějšími i vnitřními faktory jako např. odrůdou vína, pěstitelskou oblastí, klimatickými podmínkami dané oblasti, kvalitou vína a v neposlední řadě i technologickými postupy použitými při výrobě vína.

Cílem práce je stanovení obsahu jednotlivých polyfenolů. Obsah polyfenolů ve víně se mění přidáváním taninů a zároveň je ovlivněn přítomností korkových a syntetických zátek. Pro účely studie bylo použito víno z odrůdy Muller-Thurgau, 2003, podoblast Mikulovská, vyrobené společností Víno Mikulov.

V současné době je metoda stanovení obsahu jednotlivých polyfenolů optimalizována za použití HPLC. Přečištění a zakoncentrování vzorků je prováděno různými metodami SPE, aby chromatogramy byly spolehlivě identifikovány a kvantifikovány.

Sekce: Biotechnologie II

Sledování vzniku aduktů karbonylových sloučenin s oxidem siřičitým v modelovém systému

Autor: Tereza Ehlová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Oxid siřičitý je významným činitelem, který ovlivňuje sensorické vlastnosti a stabilitu piva. Naprostá většina oxidu siřičitého, který je přítomen v pivu, je produktem metabolických drah pivovarských kvasnic. Oxid siřičitý plní v pivu tři důležité funkce. Uplatňuje se jako antioxidant, maskuje starou chuť piva a v neposlední řadě působí antimikrobiálně.

Akumulace siřičitanů v pivu během fermentace je žádoucí, dokud se tvoří jejich adukty s karbonylovými sloučeninami. Tyto adukty jsou netěkavé a zlepšují sensorický profil čerstvého piva. Tvorba aduktu je však vratný děj, adukty se po určité době rozpadají a vznikající volné karbonyly se významně podílí na zhoršování sensorických vlastností piva během skladování.

Obsahem příspěvku je sledování vzniku aduktů v modelovém systému pomocí chronopotenciometrie. V modelovém roztoku byla sledována závislost tvorby aduktu na čase a na množství přidaného aldehydu a optimalizovány podmínky zajišťující maximalní konverzi.

Sekce: Biotechnologie II

Stripování těkavých látek piva a stabilita mláta v gaslift reaktoru

Autor: Pavel Novák
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tomáš Brányik Ph.D.

Přesné a reprodukovatelné provedení dlouhodobé kontinuální fermentace vyžaduje znalost provozních charakteristik použitého zařízení a pracovního postupu. Během kvašení nealkoholického piva je jedním z cílů procesu dosáhnout redukce aldehydů mladiny, které dodávají nealkoholickému pivu tzv. mladinovou příchuť. Aby se správně odhadla účinnost redukce aldehydů v reaktoru, je nutné znát proměny těchto látek v průběhu tepelného ošetření (sterilace) média a jejich ztráty procesem stripování hnacím plynem v gaslift reaktoru. Proces stripování byl hodnocen rovněž z hlediska jeho vlivu na výtěžnost těkavých látek (vybrané vyšší alkoholy a estery) v procesu fermentace.

Dalším faktorem ovlivňujícím proces kontinuální fermentace je stabilita použitého nosiče. Jako nosiče biomasy bylo v této práci použito upravené pivovarské mláto. Kvůli neustálému pohybu nosiče v reaktoru (pneumaticky míchaný gaslift reaktor) dochází k četným kolizím částic nosiče a k jeho následné desintegraci (rozlamování a drolení) a tudíž ke zvětšování měrné plochy nosiče vhodné pro imobilizaci buněk. Negativní stránkou tohoto procesu je vyplavování a ztráta nejmenších částic z reaktoru. Stabilita nosiče byla sledována pomocí obrazové analýzy.

Sekce: Biotechnologie II

Fyziologická stabilita kvasničných buněk v pivovarské praxi

Autor: Zdeněk Prokop
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Během pivovarského procesu dochází při manipulaci s kvasinkami ke změnám fyziologického stavu kvasničných buněk, které mohou vést ke zhoršení produktivity procesu a kvality výsledného produktu.

Kolísání vitality buněk se odráží na obsahu látek v intracelulárním prostoru (trehalosa, glykogen) nebo v membránách buňky (steroly). Měřením množství těchto látek v kvasničných buňkách lze odhadnout fyziologickou svěžest kultury. Vhodnou metodou je fluorescenčně-optické stanovení pomocí průtokové cytometrie, které v kombinaci s fluorescenční mikroskopií poskytuje dostatečně účinný nástroj pro sledování vitality kvasničných buněk.

V průběhu měření byly sledovány obsahy trehalosy, glykogenu a sterolů ve vzorcích, které byly odebrány v různých místech procesu ošetřování kvasnic. Bylo zjištěno, že podmínky manipulace mají dopad na množství sledovaných látek v buňkách, a tedy i jejich fyziologickou stabilitu.

Sekce: Biotechnologie II

Plísňová kontaminace sladu a jejich kontrola pomocí ATP bioluminiscence

Autor: Michal Rouč
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D.

Plísně napadající obilí, produkují mykotoxiny, jejich přítomnost zhoršuje kvalitu sladu a následně bezpečnost hotového výrobku. Obsah mykotoxinů může mít i negativní účinky na sensorickou jakost např. u piva přepěňování (tzv. gushing). Spory plísní mohou být přítomny i ve sladu. Významným producentem mykotoxinů přítomných ve sladu jsou např. zástupci rodů *Fusarium* a *Aspergillus*.

Práce je zaměřena na určení kultivační metody pro zjištění kontaminace sladu plísněmi různých druhů a jejich identifikaci a optimalizaci metody pro zjištění kontaminace *fusarii* podle EBC. Je využívána především kultivace na Czapek Dox agaru a jeho modifikaci CZID (selektivní medium pro kultivaci *fusarii*). Výsledky jsou porovnávány s obsahem různých mykotoxinů ve sladu. Další částí práce je porovnání kultivačních metod s výsledky z měření ATP bioluminiscence.

Sekce: Biotechnologie II

Stanovení obsahu iso-hořkých látek v pivu

Autor: Alena Rýparová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Marcel Karabín, PhD.

Jednou ze základních organoleptických vlastností piva je jeho hořká chuť, která je způsobena iso- α -hořkými kyselinami vznikajícími během chmelovaru. V současnosti se pro chmelení piva stále více používají chmelové výrobky obsahující také redukované formy iso- α -kyselin. Redukované iso- α -kyseliny se vyznačují vyšší senzoryckou hořkostí, fotostabilitou a mají stejně jako iso- α -kyseliny pozitivní vliv na stabilitu pивní pěny.

Tato skutečnost si vyžádala vyvinutí nových analytických metod, schopných v jedné analýze poskytnout co nejširší spektrum informací týkajících se obsahu přírodních i chemicky modifikovaných iso- α -hořkých kyselin. Obsahem příspěvku je aplikace metody, založené na stanovení pomocí HPLC po předchozím zakoncentrování pomocí SPE, pro sledování obsahů redukovaných hořkých kyselin ve vzorcích českých a zahraničních piv.

Bylo zjištěno, že 5 z 12 sledovaných domácích pivovarů používá pro výrobu piv polosyntetických preparátů obsahujících redukované iso-hořké kyseliny, obvykle v množství nepřesahující 10% z celkové dávky hořkých látek. Na druhou stranu zahraniční výrobci se přiklánějí k používání redukovaných iso-hořkých kyselin v mnohem větší míře, jejich podíl na celkové chmelící dávce se pohybuje v rozmezí 15-100%.

Sekce: Biotechnologie II

Imobilizace alkoholoxidas a sledování její tepelné stability

Autor: Eliška Václavíková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tomáš Brányik, Ph.D., Ing. Gabriela Kuncová CSc.

Alkoholoxidasa (AOX) získaná z *Hansenula* sp. je enzym, který v roztoku ztrácí v průběhu času svoji aktivitu. Pro imobilizaci byly užity dvě metody imobilizace (dle Matea a dle Lopéz-Gallegy) lišící se v jednotlivých koncentracích roztoků a v reakčních časech jednotlivých komponent.

Velký význam měl i druh použitého nosiče. Na nosiče, na kterých byly navázány pouze epoxidové skupiny, se AOX navazovala „neochotně“ a nezůstala navázána až do konce procesu imobilizace. Částice obsahující aminoskupiny vázaly AOX lépe a získané částice s imobilizovaným enzymem mohly být užity k sledování tepelné stability.

Tepelná stabilita se lišila u částic podle užití metody. Nejlepší teplotní stability dosáhl enzym navázaný metodou Lopéz-Gallegy, kdy degradace AOX probíhala mnohem pozvolněji.

Sekce: Biotechnologie II

Stanovení polyfenolů v krevní plazmě

Autor: Josef Zvoník
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Doc. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Obecně je znám kladný vliv piva a vína na snižování rizika onemocnění srdce a cév. Tato jejich vlastnost není způsobena pouze obsahem alkoholu, ale pravděpodobně úzce souvisí i s obsahem polyfenolů. Proto jsme u dvanácti osob zkoumali vliv vypití 0,5 l piva, nealkoholického piva a umělého nápoje (4,4% obj. etanolu, 5% hm.glukózy) na obsah vybraných fenolových kyselin v krevní plazmě. Hodnoty byly stanoveny před napitím a půl hodiny, hodinu, dvě, tři a čtyři hodiny po napití. Měření bylo součástí širšího výzkumu, který obsahoval i stanovení změny antioxidační kapacity krevní plazmy u stejných vzorků. Prokazatelná množství fenolových kyselin byla nalezena v krevní plazmě pouze u kyselin ferulové, vanilové, syringové a 4-hydroxybenzoové, přičemž nejvyšších hodnot dosahovala posledně jmenovaná (až 120 $\mu\text{g/l}$). Ze stanovených hodnot vyplývá, že půl hodiny po vypití 0,5 l piva se koncentrace fenolových kyselin prudce zvýší a v dalších časech pozvolna klesá. U nealkoholického piva je trend stejný, ale obsah fenolových kyselin nedosahuje stejně vysokých hodnot. Po vypití uměle připraveného nápoje je změna obsahu fenolových kyselin neprůkazná.

Sekce: Biotechnologie III

Studium fyziologického stavu mikrobiálních populací rostoucích v biofilmu

Autor: Kristýna Klímová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: doc. Ing. Jan Masák, CSc.

Biofilm může být definován jako strukturované společenstvo mikroorganismů vázané na pevném povrchu, obalené matricí extracelulárních polymerů, které jsou danými mikroorganismy sekretovány.

Tato práce byla zaměřena na studium tvorby biofilmu gram pozitivní bakterie *Rhodococcus erythropolis*. Bakterie byla kultivována v několika typech kultivačních zařízení (CDC reaktor, různé modifikace Ribinsonova zařízení, Petrino misky,) na minerálním médiu s fenolem jako jediným zdrojem uhlíku a energie (koncentrace 0,3g/l). V průběhu kultivací byly sledovány tyto parametry: celkový počet buněk tvořících biofilm, počet živých a mrtvých buněk a plocha osídlení daného pevného materiálu biofilmem (program LUCIE, Laboratory Imaging, s.r.o., Česká republika). Další část naší práce byla zaměřena na nalezení metody izolace a stanovení extracelulárních polymerních látek (EPS) v biofilmu: byly nalezeny různé metody extrakce EPS z biofilmu (a následné stanovení obsahu polysacharidů a proteinů) a metody využívající konfokální mikroskopie (barvení EPS, barvení buněk).

Sekce: Biotechnologie III

Celulolytické mikroorganismy

Autor práce: Jana Látalová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Jitka Hrdinová

Celulolytické mikroorganismy hrají důležitou roli při rozkladu celulosy - nejrozšířenějšího polysacharidu tvořeném rostlinami. Úplná hydrolyza celulosy na glukosové jednotky, které mohou být dále fermentovány na ethanol či butanol, je stále ekonomicky nerentabilní. Proto také z tohoto důvodu je důležité zjistit optimální podmínky pro utilizaci celulosových materiálů nejvýznamnějšími celulolytickými mikroorganismy.

Cílem práce bylo nalézt optimální podmínky utilizace karboxymethylcelulosy populacemi *Cellulosimicrobium cellulans* a *Pseudomonas fluorescens* za daných podmínek. U těchto populací byl studován vliv změny kultivačních a fyziologických podmínek na růst populace, schopnost degradace karboxymethylcelulosy, enzymová aktivita a produkce celulolytických enzymů. Byly měněny následující kultivační a fyziologické podmínky - pH (v rozmezí hodnot pH 4-10), teplota (6-28°C) a složení média (koncentrace N-zdroje 0,35-7,1 g/l, P-zdroje 0,15-3g/l, C-zdroje 1-100 g/l). Nárůst biomasy byl stanovován jako změna optické denzity při 400 nm, aktivita celulolytických enzymů měřena pomocí dinitrosalicylové metody a množství proteinů Lowryho metodou.

Sekce: Biotechnologie III

Studium adheze mikrobiální populace na pevný nosič

Autor: Radek Luhový
Ročník: 3.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tereza Krulíková

Pro studium adheze mikrobiální populace na polymerní nosič byla vybrána gram-pozitivní bakterie *Rhodococcus erythropolis*. Kultivace byly prováděny v skleněném reaktoru, (speciálně navrženém a vyrobeném pro tento účel) v minerálním médiu s fenolem jako jediným zdrojem uhlíku (koncentrace 0,3 g/l). Byla sledována tvorba biofilmu na polymerních nosičích s různou hydrofobitou, která byla stanovena pomocí systému SEE (Surface Energy Evaluation System, Přírodovědecká fakulta, Masarykova universita, Brno). Míra adheze bakteriálních buněk na polymerní povrch byla stanovena dvěma metodami: barvením krystalovou violetí a obrazovou analýzou (fluorescenční a konfokální mikroskopie). V průběhu experimentů byla ověřena schopnost adsorpce fenolu na jednotlivé polymerní materiály (spektrofotometrie, HPLC). Na konci kultivace byly testovány metody odstranění biofilmu z povrchu nosiče (ultrazvuk, vortex, SDS a jejich kombinace).

Sekce: Biotechnologie III

Biodegradace aromatickým polutantů bakterií *Rhodococcus erythropolis*

Autor: Hana Pavlíčková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Olga Schreiberová

V této studii byla sledována degradace různých polutantů aromatického charakteru pomocí dvou kmenů bakterie *Rhodococcus*: adaptovaný *Rhodococcus erythropolis* a modifikovaný kmen *Rhodococcus erythropolis* CCM 2595 pSRK 21phe, s posílenou aktivitou enzymů metabolické dráhy využívající fenol. Degradace polutantů byla sledována pomocí HPLC nebo spektrofotometrickými metodami. V průběhu experimentů byla nalezena maximální koncentrace vybraných zdrojů uhlíku, které dovedou dané mikroorganismy ještě zcela odstranit za definovaný čas, a dále koncentrace, při které dochází k maximálnímu nárůstu daných kmenů. Nárůst biomasy v suspenzi populaci byl stanoven jako O.D.₄₀₀ a sušina (105°C).

Rovněž byla sledována utilizace těchto látek pomocí mikrobiální populace vázané na pevný nosič (biofilm) a bylo provedeno srovnání se suspenzně rostoucí populací.

Jelikož hydrofobita buněčného povrchu ovlivňuje adhezivní vlastnosti buněk k nosiči, byla dalším sledovaným parametrem hydrofobita buněčných obalů a její změny v průběhu kultivačního procesu.

Sekce: Biotechnologie III

Biodegradace fenolu bakterií *Rhodococcus erythropolis* rostoucí v biofilmu a v suspenzní populaci

Autor: Bc. Dagmar Pospíšilová
Ročník: 1.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tereza Krulíková

Rhodococcus erythropolis patří mezi grampozitivní, nepohyblivé, nokardioformní aktinomycetní bakterie, které je možné izolovat z velkého množství zdrojů (půda, skály, rostliny, živočichové). Schopnost degradovat substituované uhlovodíky a jiné chemikálie znamená, že *Rhodococcus e.* může hrát podstatnou roli v přirozené degradaci těchto sloučenin i v bioremediačních procesech. V pokusu bylo provedeno srovnání schopnosti degradovat fenol při kultivaci za laboratorní teploty v trubkovém reaktoru, kde buňky tvoří na nosiči biofilm a v suspenzní populaci v baňce na třepačce. Během pokusu byl sledován nárůst biomasy, v reaktoru obrazovou analýzou, na konci pokusu také mikroskopii nosiče, v suspenzi určením sušiny (105°C) a celkového počtu buněk (stanoveno jako CFU). Degradace fenolu byla obou případech stanovena kapalinovou chromatografií (HPLC) a spektrofotometricky.

Sekce: Biotechnologie III

Ověření růstových charakteristik kvasinkových kmenů *Saccharomyces cerevisiae*

Autor: Martina Rejlová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Olga Schreiberová

Sledovanými mikroorganismy z hlediska růstových charakteristik byly tři kmeny kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* W303. Mateřský kmen, jenž byl využit jako kontrolní a dva rekombinantní kmeny, u nichž byly pozměněny vlastnosti buněčné stěny. Modifikace spočívala v povrchové expozici vazebných domén pro těžké kovy. Kultivace jednotlivých kmenů probíhala v třepaných baňkách za identických vnějších podmínek. Minimální růstové médium obsahovalo yeast nitrogen base, neesenciální aminokyseliny a alternativní zdroj uhlíku (glukózu, mannózu, fruktózu) testovaný v následujících experimentech znázorňujících růstové charakteristiky. Dynamika růstu a množení kvasinek byla popsána růstovou křivkou sestavenou na základě stanovení optické denzity (OD_{400}) buněčné suspenze a celkovým počtem buněk. Vliv růstových podmínek na složení obalových vrstev kvasinkových kmenů byl vyjádřen hydrofobitou jako procentuální podíl buněčné suspenze přecházející do organické fáze. Zastoupení monosacharidů buněčné stěny kvasinkových kmenů v závislosti na použitém zdroji uhlíku bylo zjištěno pomocí kapalinové chromatografie. Vlastnímu stanovení předcházela izolace a hydrolýza buněčné stěny kyselou nebo enzymatickou hydrolýzou.

Sekce: Biotechnologie III

Biofiltrace styrenu v biotrickling filtru

Autor: Kateřina Sedmíková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Vratislav Novák, Prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Zkoumalo se biologické odstraňování styrenu ze znečištěného vzduchu ve zkrápěném bioreaktoru. Tento biotrickling filtr sestával z dvoučlenného skleněného válce o vnitřním průměru 150 mm naplněného Pallovými kroužky z polypropylenu o průměru 25 mm. Výška lože byla 1 m. Experimenty byly prováděny při laboratorní teplotě 22° C, teplota vody ve filtru byla mírně nižší (okolo 18° C). Hlavním cílem práce bylo sledování vlivu doby zdržení (EBRT) na výkon bioreaktoru při konstantní koncentraci polutantu po delší časovou periodu. Bioreaktor byl inokulován směsnou mikrobiální kulturou izolovanou ze styren-degradujícího biofiltru, který byl v provozu předchozí dva roky. Po třítydenní aklimatizaci byl bioreaktor zatížen styrenem o koncentraci 100 mg.m⁻³, EBRT se pohybovalo v rozmezí 53 - 13 s. Maximální eliminační kapacita 11,3 g.c.m⁻³.h⁻¹ byla dosažena při organické zátěži 18,6 g.c.m⁻³.h⁻¹.

Sekce: Biotechnologie III

Vliv vstupních parametrů na degradaci benzínových par v biofiltru

Autor: Hana Šimová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Benzín patří mezi běžně používané pohonné hmoty. Jeho páry se mohou dostávat do vzduchu například během jeho distribuce či při různých haváriích. Jednou z možností odstraňování benzínových par ze vzduchu je i biofiltrace.

V práci byl použit dvoustupňový biofiltr o vnitřním průměru 50 mm, výška lože v prvním stupni byla 24 cm a v druhém stupni 116 cm. Celková výška lože biofiltru tedy byla 140 cm. Jako náplň byl použit pro první stupeň poraver a pro druhý stupeň expandovaný perlit. Sledovala se degradační účinnost podél výšky lože, celková degradační účinnost a eliminační kapacita při různých vstupních koncentracích a průtocích vzduchu. Výsledky ukázaly, že aromatické uhlovodíky byly v první třetině lože zdegradovány z více než 90 %, zatímco alifatické benzínové uhlovodíky byly zdegradovány pouze z 10 – 15 % v závislosti na podmínkách měření. Aromatické benzínové uhlovodíky byly degradovány velmi dobře, celkově téměř ze 100 %. Alifatické benzínové uhlovodíky byly degradovány s nízkou účinností, maximálně z 50 %. Příčinou je vysoký obsah iso-alkanů a cyklických alkanů, které jsou obtížně degradovatelné.

Sekce: Biotechnologie III

Biologická degradace nitrovaných sloučenin

Autor: Martin Vojtíšek
Ročník: 5.
Ústav: Ústav kvasné chemie a bioinženýrství
Školitel: Ing. Tereza Hudcová, Prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Nitroglycerin (GTN) a ethylenglykoldinitrát (EGDN) se používají jako součást výbušnin a střelého prachu a v medicíně jako vasodilatancium. Vyskytují se jako kontaminanty v průmyslových závodech nebo vojenských objektech. V této práci byla testována schopnost směsných mikrobiálních kultur využívat GTN a EGDN jako jediný zdroj dusíku, uhlíku a energie. Testovány byly celkem dvě směsné populace. První byla izolovaná z Pohránovského potoka, druhá z kontaminované půdy areálu podniku Explosia Pardubice a.s. vytřepáním na vortexu, nebo kombinací vytřepání na vortexu a ultrazvuku. Degradční vlastnosti takto získaných kultur byly následně porovnány v experimentech, které probíhaly vsádkově v submersním uspořádání. Bylo zjištěno, že GTN jsou schopny degradovat všechny populace. U žádné z nich ovšem nebyla prokázána degradace EGDN v přítomnosti nadbytku GTN. Degradace GTN byla v přítomnosti EGDN zpomalena.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Nukleasa z pylu borovice černé a její protinádorový účinek

Autor: Alena Bílahorková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

V dnešní době je studováno velké množství nukleas kvůli jejich vlivu na růst nádorových buněk. Známý je protinádorový efekt živočišných nukleas, příkladem je onkonasa izolovaná z vajíček žáby *Rana pipiens*, která je ve III. fázi klinických studií léčby tumorových onemocnění, nicméně na rostlinné nukleasy se zaměřuje pozornost v posledních letech. Nukleasa z borovice černé (*Pinus nigra*) je extracelulární enzym izolovaný z pylu borovice černé patřící do rodiny nukleas typu I (nukleasy nespecifické k cukru). Byla získána extrakcí 10% roztokem sacharosy a vlastní purifikace zahrnovala ultrafiltraci s následnou ionexovou, afinitní a gelovou chromatografií. Nukleasu jsme přečistili do zdánlivé homogenity. V další fázi se pokusíme najít gen pro tento enzym. Kromě protinádorového účinku *in vitro* se testuje také účinek *in vivo* a vliv na spermatogenesi, vývoj embryí a na imunitní systém.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Nukleosidová analoga na basi pyrimidin-2-onu a jejich galaktosylace pomocí chladově aktivní β -galaktosidasy izolované z *Arthrobactera* sp. C 2-2

Autor: Jiří Blažek
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zita Purkrtová

Struktura pyrimidin-2-onu je velmi podobná přirozeným pyrimidinovým basím. Nukleosidová analoga pyrimidin-2-onu proto mohou interagovat jako syntetické substráty s enzymy, které jsou zodpovědné za metabolismus pyrimidinových basí, a tak ovlivňovat nebo zcela inhibovat buněčné hospodaření s nukleosidy. Problémem při medicinském užití těchto analog jako virostatik je jejich distribuce v organismu, cílení k vhodné tkáni a jejich rozpustnost. Tyto obtíže však mohou být alespoň částečně řešeny pomocí glykosylace. Cílem této práce je syntéza vybraných nukleosidových analog, odvozených od pyrimidin-2-onu a jejich galaktosylace pomocí β -galaktosidasy, izolované z *Arthrobacter* sp. C 2-2. Takto získané nové látky mají posléze sloužit k dalšímu výzkumu v oblasti jejich možného využití jako léčiv. Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Imunodetekce thiabendazolu

Autor: Ondrej Cehlár
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Zuzana Šmídová, Ph.D.

Thiabendazol patří mezi pesticidy, které se nejčastěji vyskytují v potravinách. Používá se jako fungicid pro ošetření citrusových plodů, banánů, jablek nebo hrušek po sběru. Chemicky patří mezi benzimidazolové deriváty. Dále má thiabendazol antihelmintické účinky, používá se v humánní medicíně, ale v České republice není registrován. Pro jeho rychlou a jednoduchou detekci jsou vyvíjeny imunochemické techniky. Lateral flow immunoassay (LFIA) je semikvantitativní analytická metoda, založená na principu papírové imunochromatografie. Na nitrocelulózovou membránu se nanese dvě linie, testovací obsahuje konjugát haptenu s proteinem, a kontrolní sekundární protilátku. Ke vzorku se přidá primární protilátka a uhlíkaté částice s navázanou sekundární protilátkou a nechá se vzlínat membránou. Pesticid ze vzorku soutěží s imobilizovaným haptenu o omezený počet vazebních míst protilátky. Pozitivním výsledkem testu je nezčernání testovací linie. Výhodou této metody je její rychlost, nízká cena a snadné použití bez laboratorního vybavení. Cílem práce je sestavení metody LFIA pro thiabendazol s použitím monoklonálních protilátek.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Vliv nízkomolekulárních thiolů a jejich nitrosylových derivátů na agregaci lidských krevních destiček

Autor: Andrea Kestlerová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav hematologie a krevní transfuze
Školitel: Ing. Jiří Suttner, CSc.

Oxid dusnatý hraje důležitou roli v hemostáze, především v adhezi a agregaci krevních destiček. Během aktivace krevních destiček dochází kromě jiného ke zvýšené produkci superoxidu a hydroxylových radikálů. NO vytváří se superoxidem nitrosační činidlo peroxynitrit reagující s volnými thiolovými skupinami bílkovin či nízkomolekulárních substrátů (glutathion, cystein) za vzniku S-nitroso derivátů. Nitrosylované nízkomolekulární thiole transnitrosylují volné SH skupiny cílových bílkovin a tím mění jejich vlastnosti. Cílem práce bylo připravit S-nitrosoglutathion a zjistit jeho vliv na agregaci a statickou adhezi lidských krevních destiček (ve srovnání s glutathionem při stejných koncentracích). Stálý S-nitrosoglutathion (SNOG) byl připraven reakcí dusitanu sodného a glutathionu v kyselém prostředí. Pro agregační studie vlivu SNOGu na agregaci byly jako agonisté použity kolagen a trombin, při statické adhezi byl jako cílový povrch použit nativní fibrinogen (Fbg) a Fbg, na který 1h působil SNOG ve finální 1 mM koncentraci. Předběžně bylo zjištěno, že SNOG inhibuje v závislosti na použité koncentraci agregaci destiček oběma agonisty a že statická adheze destiček na fibrinogen na nějž působil SNOG byla zvýšena.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Vliv oxidačního stresu na strukturu a funkci fibrinogenu

Autor: Tereza Kopincová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav hematologie a krevní transfuze
Školitel: Prof. Ing. Jan E. Dyr, DrSc.

Oxidační stres způsobuje řadu onemocnění. Volné radikály mimo jiné působí na proteiny a mění jejich strukturu a funkční vlastnosti. Z bílkovin krevní plazmy je k modifikacím nejnáchylnější fibrinogen. Fibrinogen je glykoprotein, který hraje důležitou roli v hemostáze. Jeho molekula je tvořena dvěma identickými podjednotkami, každá z nich se skládá ze tří různých polypeptidových řetězců α , β , a γ . Katalytickým působením trombinu se z řetězců α a β odštěpí fibrinopeptidy A a B a vznikají tak fibrinové monomery, jejichž polymerací se tvoří fibrinová síť. Fibrinogen je také mediátorem agregace krevních destiček. V této práci zjišťujeme povahu a rozsah změn ve struktuře a funkci modifikovaného fibrinogenu. Podmínky oxidačního stresu jsme simulovali působením modifikačního systému na nativní fibrinogen. Sledovali jsme změny postranních řetězců aminokyselin v molekule fibrinogenu metodou stanovení počtu vzniklých karbonylových skupin v závislosti na době modifikace. Rozdíly ve schopnosti fibrinogenu vytvářet fibrinovou síť byly zjišťovány měřením turbidimetrických křivek. Interakce s izolovanými krevními destičkami byly pozorovány pomocí statické adheze na povrchově vázaný fibrinogen. Modifikovaný fibrinogen obsahoval více karbonylů než kontrolní, změnila se i jeho schopnost tvořit fibrinovou síť.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Izolace a charakterizace vybraných antigenů lidských spermií

Autor: Terezie Sedláčková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Neplodnost se stává celosvětovým problémem. Existuje mnoho důkazů o tom, že některé protilátky, které se tvoří proti antigenům na povrchu spermií, mohou být příčinou neplodnosti u lidí. Tyto protilátky jsou zajímavé ze dvou důvodů: jednak pro detekci a následné monitorování úspěšnosti léčby neplodnosti, jednak proto, že by v budoucnu mohly být využity pro účely kontracepce. Dosud se ale pátrá po antigenech, které tvorbu protilátek vyvolávají. Cílem práce bylo připravit lyzát ze spermií obsahující membránovou frakci. Proteiny z této frakce byly rozděleny pomocí SDS-PAGE. Jednotlivé antigeny byly detekovány pomocí imunoblotu s krevními séry neplodných mužů a žen, obsahujících protilátky proti spermiím, a porovnány se skupinou zdravých dárců. Byly vybrány potencionální alergeny, které jsou nyní dále charakterizovány pomocí isoelektrické fokusace a dvourozměrné elektroforesy. Práce byla podpořena projektem VZ MŠMT 0021620812 a VZ MŠMT 6046137305.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Stanovení volných lehkých řetězců kappa v biologických tekutinách u neurologických pacientů

Autor: David Zeman
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Nemocnice Hořovice
Školitel: Prof. Ing. Ladislav Fukal, CSc.

U zánětlivých onemocnění centrálního nervového systému (CNS) dochází často k lokální (intrathékální) produkci imunoglobulinů i volných lehkých řetězců (fLC). Volné lehké řetězce typu kappa (fKLC) byly opakovaně detekovány, popř. kvantifikovány, v mozkomíšním moku (CSF) pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) a neuroinfekcemi. Byla popsána i korelace mezi koncentrací fKLC v moči (U-fKLC) a aktivitou RS. Vzhledem k metodickým problémům však není vyšetření fKLC v CSF téměř nikde rutinně prováděno. Cílem práce bylo sestavení ekonomicky únosné a dostatečně citlivé ELISA metody pro stanovení fKLC v CSF, séru (S) a moči (U), odhad referenčních mezí a posouzení diagnostického významu testu u neurologických pacientů. fKLC byly stanoveny nepřímou kompetitivní ELISA metodou ve 118 vzorcích CSF a S a ve 111 vzorcích U. Byly vypočteny hodnoty kvocientu ($Q\text{-fKLC} = \text{CSF-fKLC}/\text{S-fKLC}$) a indexu fKLC ($\text{index fKLC} = Q\text{-fKLC}/Q\text{-Albumin}$). Detekční limit se pohyboval mezi 0,02 a 0,04 mg/l, variační koeficient mezi 14 a 16 % a zpětný výtěžek mezi 99 a 117 %. Referenční meze (v mg/l) pro CSF 0,03-0,09, pro S 2,16-9,46 a pro U 0,11-5,96. Analýza ROC křivek potvrdila význam CSF-fKLC (AUC 0,906), Q-fKLC (AUC 0,959) a indexu fKLC (AUC 0,924), ale nikoliv U-fKLC (AUC 0,567) pro diagnostiku RS. Pro zlepšení analytických parametrů a usnadnění použití testu v rutinních biochemických laboratořích by mohlo být slibnou alternativou stanovení fLC na automatizovaném imunoanalytickém systému s chemiluminiscenční nebo fluorescenční detekcí.

Sekce: Biochemie člověka a biomedicína

Návrh DNA čipu pro detekci patogenů přenášených potravinami

Autor: Michal Řehák
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Melenová Ivana, Ph.D.

Tato práce je zaměřena na návrh oligonukleotidového DNA čipu pro detekci potravinových patogenů *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. a *Listeria monocytogenes*. Hlavní výhodou DNA čipů, oproti klasickým mikrobiologickým metodám stanovení těchto patogenů, je rychlost s jakou lze provést analýzu. Nevýhodou jsou vyšší nároky na vybavení laboratoře. Námi připravovaná detekce patogenů pomocí DNA čipu se skládá z izolace DNA ze vzorku, amplifikace cílových sekvencí pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) a jejich fluorescenčního značení, hybridizace PCR produktů s DNA čipem, detekce fluorescenčního signálu a analýzy získaných dat. Z literatury byly pro druhové rozlišení patogenů vybrány geny pro patogenní faktory jednotlivých bakteriálních rodů. Mezidruhová variabilita těchto genů umožňuje rozlišit patogeny na úrovni druhů. Z důvodu použití většího množství primerů je nutné nalézt vhodné parametry PCR, aby se mohly všechny vybrané geny amplifikovat v jedné reakci. Dalším krokem této práce bude zjednodušení amplifikace provedením multiplex PCR.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Mucinolytické enzymy u bifidobakterií - jejich aktivita, buněčná lokalizace a typ štěpení

Autor: Kateřina Dlouhá
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, ÚŽFG AVČR, Praha-Krč
Školitel: Prof. MVDr. Vladimír Benda, DrSc.

Muciny jsou glykoproteiny produkované sekrečními buňkami mukózy gastrointestinálního, respiračního a reprodukčního traktu. Kromě lubrikace epitelu, umožňující snazší průchod tráveniny, má gastrointestinální mucin řadu dalších funkcí: zajišťuje ochranu proti působení negativních mechanických a chemických faktorů, působí jako stabilizátor asociace některých enterických bakterií s mukózou a naopak jako bariéra proti vazbě s jinými. Slouží také jako zdroj energie pro indigenní intestinální mikroflóru. Muciny mají velice komplexní strukturu a na kompletní degradaci se podílí soubor mnoha různých mikrobiálních enzymů. V této práci jsme se zaměřili na glykosidasy mucinolytických bifidobakterií, o kterých není v odborné literatuře mnoho informací. Ze stolice kojenců bylo izolováno několik kmenů *Bifidobacterium bifidum* s mucinolytickou aktivitou. Za účelem určení lokalizace enzymů byly bakteriální buňky rozrušeny sonikací, přičemž enzymová aktivita byla stanovována odděleně ve 3 frakcích; a to v intracelulární tekutině, buněčné stěně a kultivačním médiu po odstředění buněk. K danému účelu jsme použili spektrofotometrické metody. Nejvyšší aktivitu mucinolytických enzymů vykazovaly vzorky buněčných stěn, což by mohlo představovat selekční výhodu. Způsob štěpení oligosacharidových řetězců prostřednictvím mucinolytických enzymů (exo-, endo-) odhadujeme pomocí gelové chromatografie.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Výpočet struktury mutantu Y28F/Y67F matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru pomocí NMR spektroskopie

Autor: Michal Doležal
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, ÚOCHB; Laboratoř NMR VŠCHT Praha
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Matrixový protein (MA) hraje důležitou roli během životního cyklu Masonova-Pfizerova opičího viru (M-PMV). Jako N-terminální doména polyproteinového prekursoru Gag je MA kotranslačně myristoylován. Myristoyl je následně zanořen v hydrofobní dutině uvnitř MA. Při interakci nezralé částice s cytoplasmatickou membránou (CM) dochází k vysunutí myristoylu a jeho ukotvení do CM. Tento proces pravděpodobně aktivuje mechanismus, který vede k pučení viru ven z buňky. Bylo zjištěno, že nezralé částice M-PMV obsahující mutant MA Y28F/Y67F nejsou schopny pučet z hostitelské buňky a zůstávají akumulovány pod CM. Záměna tyrosinů za fenylalaniny zvýší hydrofobicitu dutiny, ve které je uložen myristoyl, a tím zabrání jeho uvolnění z MA a následnému zakotvení do CM. Výpočet struktury mutantu Y28F/Y67F a její porovnání se známou strukturou divokého typu umožní ověření uvedené hypotézy. Bylo připraveno 57 mg nemyristoylovaného MA proteinu, 100% značeného ^{13}C , ^{15}N a byla změřena sada NMR experimentů. V první fázi byly přiřazeny chemické posuny jednotlivým atomům. V další fázi byly pomocí přiřazení NOESY spekter odhadnuty meziatomové vzdálenosti, které byly následně použity pro výpočet struktury proteinu.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Proteasa Sapp3p *Candida parapsilosis*

Autor: Jana Havlíková
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, UOCHB AV ČR
Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Candida parapsilosis je kvasinka patřící mezi oportunní patogeny a je častou součástí lidské mikrobioty. Avšak u hostitele, jehož imunitní systém je poškozen (HIV pozitivní pacienti, pacienti po transplantaci nebo chemoterapii), může vyvolat vážné mykózy. Jedním z faktorů zodpovědných za virulenci je sekrece aspartátových proteas. Tyto enzymy zajišťují buňce přísun živin štěpením exogenních bílkovin. Zároveň však usnadňují adhezi na povrch hostitele a proniknutí do jeho tkání. U *C. parapsilosis* byly dosud nalezeny tři geny kódující sekretované aspartátové proteasy: *SAPP1*, *SAPP2* a *SAPP3*. Produkty dvou z nich byly již částečně charakterizovány. O produktu genu *SAPP3* není prozatím nic známo. Cílem této práce je rekombinantní příprava a purifikace dosud neprobádané proteasy Sapp3p. Získání alespoň základní informace o tomto proteinu by mohlo přispět k dalšímu výzkumu role sekretovaných aspartátových proteas ve virulenci *C. parapsilosis*. Je známou skutečností, že pro správné sbalení sekretovaných aspartátových proteas je nezbytná přítomnost propeptidu. Proto byly navrženy dva páry primerů, pomocí kterých byly ampifikovány dva různé dlouhé úseky DNA kódující prekurzory Sapp3p, které byly následně ligovány do bakteriálního vektoru. Oba proenzymy byly exprimovány v buňkách *E. coli*, v nichž byly akumulovány do inkluzních tělísek. Inkluze byly z buněk izolovány a oba proteiny byly částečně purifikovány.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Modifikované substráty glykosidas

Autor: Jan Kadlček
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, MBÚ AVČR
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

β -N-Acetylhexosaminidasa je glykosidasa (EC 3.2.1.52), která za fyziologických podmínek odštěpuje 2-acetamido-2-deoxy- β -D-hexopyranosu z neredukujícího konce oligo- či polysacharidů. Úpravou podmínek in vitro lze tuto glykosidickou vazbu i syntetizovat. Mezi důležité vlastnosti enzymů patří jejich substrátová specifita, která je u glykosidas obzvláště široká. Tato práce se zabývá testováním afinity β -N-acetylhexosaminidas z 25 fungálních zdrojů (zejména zástupců rodů *Aspergillus*, *Talaromyces* a *Penicillium*) k substrátům s různými aglykony (kyselina p-hydroxybenzoová, p-aminofenol, p-hydroxykyanbenzen). Metodou kapalinové chromatografie s vysokým rozlišením (HPLC) byla po 24 hodin sledována reakce štěpení substrátů za katalytického působení jednotlivých β -N-acetylhexosaminidas. Dle průběhu reakce byly enzymy zařazeny do tří skupin v závislosti na jejich schopnosti modifikované substráty štěpit. Testované substráty budou dále použity jako donory či akceptory pro přípravu glykosidů obsahujících v molekule funkční skupiny (COO-, NH₃⁺, CN) použitelné pro další modifikace.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Interakce mezi NAD(P)H:chinon oxidoreduktasou Lot6p ze *Saccharomyces cerevisiae* a 20S proteasomem

Autor: Lucie Lorková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Institut biochemie, Technická univerzita
Graz
Školitel: Prof. RNDr. Olga Valentová, CSc., Univ. Prof. Dr. Rer. Nat. Peter Macheroux

Proteasom hraje důležitou roli při degradaci intracelulárních proteinů v eukaryotických buňkách, skládá se ze 7 α a 7 β podjednotek, které tvoří čtyři heptamerické kruhy. Lidský proteasom interaguje s NQO1, flavin-depedentní chinon reduktasou. Vazba rakovinných supresorů p53 a p73 na komplex NQO1 - 20S proteasom brání jejich proteasomální degradaci. Tento proces je regulován NQO1 dosud nepopsaným mechanismem. První objevená chinon reduktasa v jednobuněčném organismu *Saccharomyces cerevisiae* je cytosolický enzym nazývaný Lot6p. Je to kvasinkový homolog lidské NQO1 existující jako homodimer a obsahující jednu molekulu FMN na podjednotku. Zjistili jsme, že monomer Lot6p vykazuje enzymovou aktivitu, našli jsme Lot6p vázající se na 20S proteasom a dokázali jsme, že redukovaný Lot6p se také váže na 20S proteasom. Tento malý objev je důležitým krokem k dalšímu výzkumu směřujícímu k pochopení regulace komplexu p53-NQO1-20S proteasom v eukaryotických buňkách.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Interakce rostlinné fosfolipasy D s aktinovým cytoskeletem

Autor: Roman Pleskot
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. RNDr. Olga Valentová, CSc.

Fosfolipasa D (E.C. 3.1.4.4, PLD) hraje významnou roli v mnoha dějích rostlinné buňky, ať již se jedná o vezikulární transport, remodelování a degradaci membrán, buněčnou proliferaci, či o přenos signálů. Mechanismy regulace PLD na molekulární úrovni nejsou zcela pochopeny. Z publikovaných prací vyplývá, že důležitými regulačními faktory PLD jsou vápenaté ionty, fosfoinositidy, heterotrimerické G-proteiny a lokální změny ve fyzikálním stavu membrány. Při pokusech *in vitro* s rekombinantní PLD bylo zjištěno, že dalším regulačním mechanismem je interakce enzymu s aktinovým cytoskeletem. Monomerní G-aktin snižuje aktivitu PLD a naopak jeho polymerní forma aktivitu výrazně zvyšuje. V naší práci jsme studovali význam vápenatých iontů pro interakci aktinu s fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát(PIP₂)-dependentní PLD z tabáku (*Nicotiana tabacum*) a možný způsob, jakým k této interakci dochází. Zjistili jsme, že interakce aktinu s PLD je výrazně zesílena v přítomnosti Ca²⁺ iontů a také, že membránově-vázaná PIP₂-dependentní PLD váže aktin pomocí aktin-vázající oblasti (ABR), která je konzervovaná v eukaryotních PLD. Na základě srovnávací analýzy sekvencí eukaryotních ABR usuzujeme na to, že tato interakce je uskutečněna jen několika aminokyselinovými zbytky, nikoliv konformační změnou celé oblasti. Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy ČR LC 06034.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Průnik a šíření virové infekce vegetativními částmi různých kultivarů lilku hlíznatého *Solanum tuberosum* L.

Autor: Radovan Pospíšilík
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav experimentální botaniky
Školitel: RNDr. Ivan Babůrek, CSc.

Brambory jsou jednou z nejrozšířenějších plodin pěstovaných na světě, jsou ekonomicky velmi významné pro své využití v lidské výživě, krmivářství, škrobárenství a lihovarnictví. Pro tuto jejich velkou ekonomickou významnost je velmi důležitá ochrana porostů i skladovaných hlíz a hledání rezistence proti chorobám působeným bakteriemi, plísněmi a viry. V práci je sledován hospodářsky významný virus PVYNTN, a jeho působení v různých kultivarech. Testovaný virus snižuje výnosy hlíz a zkracuje jejich skladovatelnost. K detekci viru v prezentované práci je využíváno metod ELISA a RT-PCR. Cílem práce je vyzkoušení a ověření funkčnosti metod detekce viru, stanovení časového průběhu infekce, zmapování prostorového šíření viru v rostlině a vyhodnocení možných rozdílů v citlivosti jednotlivých kultivarů.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Studium systémů odpovědných za degradaci methyl-tert-butyl etheru (MTBE)

Autor: Tomáš Wald
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Doc. RNDr. Pazlarová Jarmila, CSc.

Methyl-*tert*-butyl ether (MTBE) je jedním z největších organických polutantů životního prostředí. Uplatňuje se především v automobilovém průmyslu. Jako antidetonační činidlo a stabilizátor benzínu v osmdesátých letech nahradil vysoce toxické olovo. Cílem naší skupiny je izolace mikroorganismů se schopností metabolizovat MTBE a převádět jej na méně škodlivé metabolity. V první fázi jsme izolovali bakteriální konsorcia z půdy. Námi vybrané konsorcium Nem bylo 8 měsíců kultivováno v bioreaktoru a byl sledován úbytek MTBE. Konsorcium je složeno výhradně z aerobních MO, z 10 - 15 % je zastoupen kmen *Pseudomonas sp.* U tohoto kmene se podařilo prokázat přítomnost cytochromu P450, který je prvním enzymem při rozkladu MTBE. V další části práce optimalizujeme metodu pro změření enzymové aktivity daného cytochromu P450. Částečný úspěch jsme zaznamenali při hledání genů *MpdB* a *MpdC*, genů kódujících enzymy, které jsou aktivní při degradaci metabolitů MTBE. Důkaz těchto genů provádíme pomocí metody PCR a restrikčních enzymů.

Sekce: Biochemie rostlin a mikroorganismů

Interakce rostlin a mikroorganismů v prostředí kontaminovaném PCB

Autor: Petr Štursa
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

Polychlorované bifenylly (PCB) patří do skupiny chlorovaných aromatických látek, které byly v minulosti hojně využívány v průmyslu. Pro jejich vysokou toxicitu byla jejich produkce v 80. letech, přesto se stále nacházejí kontaminované lokality. Fyzikálně-chemické metody jejich likvidace jsou finančně nákladné. Bioremediace je mnohem levnější, dostupnější a také šetrnější. Cílem této práce je studium interakcí rostlin a půdních bakterií v kontaminované zemině s cílem najít systém, který by pomohl účinně degradovat PCB. Rostliny *Nicotiana tabacum* a *Solanum nigrum* byly vysazeny do reálné kontaminované zeminy skládky firmy Envirotech ve Lhenici. K některým paralelám byla přidána suspenze bakterií *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JAB1 a v dalších paralelách kromě přídavku bakterií byly rostliny ošetřeny brassinosteroidy, které slouží jako antistresové hormony. Hodnoceny byly změny obsahu PCB v půdě a rostlinách změny mikrobiálních populací. Pomocí PCR a následné elektroforézy byla zjišťována přítomnost genu *bphA*, kodujícího biphenyldioxygenasu, první enzym bakteriálního bifenylového operonu pro degradaci PCB.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Studium konformační stability lidského hemoglobinu prostřednictvím proteolytického štěpení

Autor: Vojtěch Jurga
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Konformační stabilita lidského hemoglobinu byla studována metodou pulzní proteolýzy, spočívající ve štěpení zkoumaného proteinu v závislosti na různé koncentraci močoviny, přičemž podmínky jsou voleny tak, aby se štěpily pouze denaturované molekuly. Vzorek je následně podroben SDS-PAGE a optická denzita jednotlivých zón kvantifikována. Výsledky ukázaly, že tato metoda je schopna porovnat konformační stabilitu proteinů. Lidský globin touto metodou studovat nelze, neboť je proteolyticky štěpen již v "nativním" stavu bez přítomnosti močoviny. Peptidové řetězce globinu byly podrobeny limitované proteolýze trypsinem, během které byly v pravidelných intervalech odebírány alikvotní podíly. Tyto podíly byly po přidání vnitřního standardu analyzovány prostřednictvím MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie; získaná semikvantitativní data poskytla představu o štěpitelnosti jednotlivých vazeb a stabilitě štěpných produktů. Takto byly identifikovány oblasti prvního štěpení a stejně tak nejstabilnější fragmenty α - a β -globinu. Přes značnou sekvenční a strukturní podobnost α - a β -globinu se jejich nejstabilnější úseky neshodují. Potvrdilo se, že hemoglobin je vůči proteolýze daleko odolnější než globin; za použitých podmínek u něj nebyly identifikovány charakteristické proteolytické štěpy. Studie potvrdila výhodnost paralelního použití obou metod pro srovnávací studie strukturně analogických proteinů.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Metoda stanovení délky telomer založená na fluorescenčním značení

Autor: Ludmila Tajbrová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Doc. Ing. Jirí Sajdok, CSc.

Telomery jsou specifické koncové struktury eukaryotických chromozomů, které zabraňují jejich fúzi, rekombinaci a degradaci. Lidské telomery jsou charakterizovány opakující se sekvencí TTAGGG. Délka telomer se mění v závislosti na stáří buňky, nádorovém bujení a opravných mechanismech. Zkracování telomer bylo prokázáno v různých tkáních *in vivo*. Ačkoliv je tento proces relativně dobře znám, vzájemný vztah mezi délkou telomer a věkem v různých tkáních konkrétního jedince nebyl příliš studován. V naší laboratoři vyvíjíme metodu pro stanovení délky telomer v mikrotitrační destičce. Tato metoda je založena na hybridizaci dvou fluorescenčně značených sond s DNA imobilizovanou na CovaLink NH destičkách. V současné době provádíme výběr vhodných podmínek pro jednotlivé kroky. Délka telomer bude vyjádřena jako poměr telomerické/Alu sekvencí. Metoda přináší výrazné zrychlení určení délky telomer v porovnání se standardní metodou Southern blot.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Charakterizace cystein synthasy u *Caenorhabditis elegans*

Autor: Roman Vozdek
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Ústav dědičných metabolických poruch
Školitel: Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Deficit cystathionin- β -synthasy (CBS) je nejčastější příčinou homocystinurie. Patogeneze tohoto onemocnění, pro jejíž studium se využívá doposud dvou modelových organismů - myši a kvasinek - je stále neznámá. Protože použití myši je spojeno s etickými problémy a kvasinky jsou evolučně vzdálené, je cílem této práce zjistit, zda lze jako dalšího modelu homocystinurie využít nematoda *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Genom *C. elegans* je plně osekvenován a je známa většina exprimovaných genů. *In silico* analýzou jsme našli 3 geny vysoce homologní k lidské CBS: F54A3.4 a ZC373.1 (oba CBS) a C17G1.7 (cystein synthasa); o jejich funkci v metabolismu sirných aminokyselin však není nic známo. Geny ZC373.1 a C17G1.7 jsme úspěšně amplifikovali z cDNA knihovny, zatímco u genu F54A3.4 se amplifikace nepodařila v důsledku velmi nízké exprese tohoto genu v *C. elegans*. Gen C17G1.7 jsme následně úspěšně zaklonovali do expresního vektoru pGEX, u kterého se využívá GST kotvy při purifikaci. V současné době optimalizujeme podmínky exprese fúzní cystein synthasy v prokaryotním systému a purifikace pomocí glutathion sepharosy. Následujícími kroky bude zjištění strukturních a enzymologických vlastností nematodové cystein synthasy a určení její úlohy v metabolismu sirných aminokyselin u *C. elegans*.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Identifikace kmenů *Enterobacter sakazakii* metodou PCR

Autor: Michaela Šimčíková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.

Onemocnění způsobená bakterií *Enterobacter sakazakii*, která se vyznačuje neobvykle vysokou úmrtností především u předčasně narozených a imuno-deficientních novorozenců, jsou často spojována s konzumací kontaminované kojenecké výživy. V posledních letech je proto vyvíjen značný tlak na vývoj rychlých a účinných metod pro specifickou detekci této patogenní bakterie v potravinových vzorcích. V naší laboratoři byla optimalizována PCR metoda s interní amplifikační kontrolou podle Nair and Venkitanarayanan (2006). Cílem této práce bylo potvrdit touto metodou 47 kmenů *Enterobacter sakazakii* izolovaných z různých zdrojů a 13 kmenů fylogeneticky velmi blízkých *E. sakazakii*. Tyto kmeny byly ověřeny biochemickým kitem ID32E pro identifikaci *Enterobacter sakazakii*. U 58 kmenů se výsledky obou metod shodovaly, avšak u dvou kmenů ze skupiny *Enterobacter sakazakii* se výsledek nepotvrdil. Pro zavedení této metody do praxe je nadále potřeba potvrdit, zda jsou použité primery aplikovatelné na všechny čtyři genetické skupiny *Enterobacter sakazakii*. Tato práce vznikla díky grantu NPVII 2B0648.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Enzymová aktivita visfatinu a její ovlivnění pomocí RNA interference

Autor: Vojtěch Škop
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: RNDr. Jarmila Zídková, CSc.

Visfatin byl identifikován jako adipocytokin, produkovaný přednostně v útrobní tukové tkáni a v menší míře v podkožním tuku. Jeho zvýšená hladina v krevním séru podporuje transport glukosy do buněk. Dále působí jako proliferační faktor, sekretovaný lymfocyty, podporující zrání B-buněčných prekurzorů a dalších buněk imunitního systému. Visfatin byl také popsán jako nikotinamidfosforibosyltransferasa, enzym, který se účastní syntézy NAD z nikotinamidu. Cílem práce je vytvoření metody pro měření enzymové aktivity visfatinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Aktivita je stanovována v buněčných lyzátech z tkáňových kultur myších diferencovaných adipocytů (3T3-L1) a potkaních hepatocytů (Fao). Je sledována změna enzymové aktivity v lyzátech buněk transfekovaných plasmidem pSilencer-CMV (Ambion) nesoucím interferenční siRNA sekvenci k utlumení genové exprese visfatinu ve sledovaných buněčných kulturách.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Charakterizace protilátek pro imunochemickou detekci *Yersinia enterocolitica*

Autor: Hana Šulcová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Hochel Igor, CSc.

Byla vyvinuta nepřímá kompetitivní a sendvičová ELISA patogenních kmenů *Yersinia enterocolitica*. Pro tyto účely byly připraveny králičí a slepičí imunoglobuliny proti celým buňkám *Y. enterocolitica* O:3, O:5,27, O:8, O:9 a proti komplexnímu antigenu (sérotypy O:3 - O:9). Pro oba typy imunochemického stanovení byly určeny pracovní koncentrace jednotlivých imunoreagencií. Dále byla stanovena optimální doba inkubace. Detekční limity kompetitivní ELISA se pohybovaly v rozmezí $1,8 - 12,4 \cdot 10^6$ cfu.ml⁻¹, detekční limity sendvičové ELISA pak v rozmezí $0,3 - 1,8 \cdot 10^6$ cfu.ml⁻¹. Testované protilátky byly charakterizovány z hlediska jejich specifity. Byly kvantifikovány křížové interakce s 9 kmeny *Y. enterocolitica*, 10 dalšími druhy yersinií a s 24 druhy gramnegativních i grampozitivních bakterií. Králičí imunoglobuliny proti *Y. enterocolitica* O:3 byly nejvíce specifické; křížová interakce se projevila jen s buňkami sérotypově neurčeného kmene *Y. enterocolitica* (CNCTC Y 2/68) a *Y. kristensenii*. Rovněž byly pozorovány slabé nespecifické interakce této protilátky s celými buňkami *Y. enterocolitica* sérotyp O:8 a to při koncentraci antigenu vyšší než 10^9 cfu.ml⁻¹.

Sekce: Biochemie člověka - bioanalytické metody

Studium funkce proteinu UBL5 v buňce

Autor: Martin Švéda
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, Laboratoř V05, VŠCHT Praha
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.

Protein UBL5, strukturální analog ubikvitinu, je tvořen 73 aminokyselinovými zbytky, a s ubikvitinem sdílí 23% sekvenční homologii. Na rozdíl od ubikvitinu neobsahuje protein UBL5 na C-konci di-glycinový, ale di-tyrosinový motiv - ⁷¹YYQ^{COOH}. Doposud publikované studie popisují vliv proteinu HUB1 (kvasinkový homolog UBL5) na splicing pre-mRNA v *S. cerevisiae*, a také na lokalizaci proteinu SNU66, který je součástí komplexu proteinů podílejících se na tvorbě spliceosomu. Tato studie je zaměřena na studium funkce proteinu UBL5 v savčích buňkách. Pomocí rekombinantního proteinu UBL5^{YYQ} a jeho delečních variant (UBL5^{YY}, UBL5^{ΔYY}) byl prokázán vliv C-koncového di-tyrosinového motivu na jadernou lokalizaci proteinu UBL5. S využitím proteinu DsRed-Mito byla prokázána kolokalizace delečního mutantu proteinu UBL5^{ΔYY} s mitochondriemi. Navíc byly identifikovány dva proteiny: 2-oxoglutarátdekarboxylasa (EC 1.2.4.2) a dihydrolipoamidsukcinyltransferasa (EC 2.3.1.61) kopurifikující s rekombinantním UBL5. Interakce těchto podjednotek 2-oxoglutarátdehydrogenásového komplexu s proteinem UBL5 byla testována ve dvojhybridním kvasinkovém systému, ovšem s negativním výsledkem. Dále se nám podařilo prokázat kolokalizaci coilinu s proteinem UBL5, která potvrzuje naši hypotézu spojení mezi proteinem UBL5 a Cajaliho tělísky. Naše data indikují, že by mohlo docházet k interakci resp. vazbě DNA nebo RNA s proteinem UBL5. Tato hypotéza bude testována *in vitro* pomocí rekombinantního UBL5.

Sekce: Molekulární ekologie

Působení juvenogenů na diferenciaci kast termitů

Autor: Jana Dolejšová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, ÚOCHB AV ČR
Školitel: Prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Aplikace juvenilních hormonů na skupinu termitů způsobuje posun jedinců z kasty dělníků k vojákům. Je důležité zjistit jednak biologickou aktivitu působící látky, jednak dopad její aplikace na životní prostředí. Serie sloučenin s juvenilizační aktivitou (juvenogeny) byla syntetizována v ÚOCHB AVČR. Tato studie sleduje biologickou aktivitu radioizotopově značeného juvenogenu ethyl /cis-/N/-(2-{4-[[2-(butanoyl) oxycyclohexyl] methyl}phenoxy]ethyl} karbamátu (tritiem značený na benzenovém kruhu, 305 GBq/mmol) na skupinu termitů *Reticulitermes santonensis*. Dále je sledován jeho toxický účinek v podpovrchovém prostředí při použití dvou půdních bakteriálních izolátů. Byly vybrány dva kmeny s největší degradační aktivitou k testovanému juvenogenu. Měření průběhu biodegradace testovaného juvenogenu bylo provedeno pomocí radio-HPLC po inkubaci vybraných izolátů s radioaktivním juvenogenem. Bylo prokázáno, že relativně nízká toxicita juvenogenu je dokonce vyšší než součet jeho biodegradačních produktů. Ze získaných výsledků vyplývá, že testovaný juvenogen s vysokou biologickou aktivitou a nízkým impaktem na podpovrchové prostředí může být vhodným prostředkem k ochraně proti termitům.

Sekce: Molekulární ekologie

Optimalizace transformace rostlin transgenem pro zvýšení akumulace těžkých kovů

Autor: Jan Fišer
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

S rozvojem genového inženýrství došlo i k rozšíření pole působnosti geneticky modifikovaných rostlin. Ty již nenacházejí uplatnění jen v zemědělství, ale mohou být využity i k odstraňování organických a anorganických polutantů ze životního prostředí. Nejběžnější metodou přípravy transgenních rostlin je transformace pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Tato bakterie je přirozeným patogenem rostlin a vnáší část své plasmidové DNA do rostlinného genomu. Této vlastnosti jsme využili pro přípravu geneticky modifikovaných rostlin vnesením genu *CUP* pro protein metalothionein, který je schopen ve zvýšené míře akumulovat těžké kovy. Gen byl vnášen ve fuzi s histidinovou kotvou jako *HisCUP*. Exprese genu v rostlinách byla nejprve ověřována v rostlině *Nicotiana tabacum* metodou transienční (dočasné) exprese. Následně byl gen vnášen do rostliny *Linum usitatissimum* (len setý). Trvalou transformací rostliny *Linum usitatissimum* jsme provedli agrobakteriální infekcí. Z hypokotylů jsme získali regenerující rostliny kultivací na médiu s vhodnou koncentrací rostlinných hormonů BAP (benzylaminopurinu) a NAA (kyseliny α -naftyloctové). Nejlépe regenerovaly hypokotylы na médiu s 0,2 mg/l BAP a 3,7 mg/l NAA.

Sekce: Molekulární ekologie

Transientní exprese toluendioxygenasy v rostlinách *Nicotiana tabacum*

Autor: Jitka Prokešová
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Toluendioxygenasa je bakteriální multienzymový komplex se širokou substrátovou specifitou vůči substrátům jako toluen, bifenyl, trichlorethylen aj. Celý komplex obsahuje ferredoxinreduktasu, ferredoxin a terminální dioxygenasu ISP_{TOL} , která se skládá ze dvou podjednotek. Příprava geneticky modifikovaných rostlin, které by obsahovaly geny pro finální dioxygenasu - ISP_{TOL} , by umožnila jejich potenciální využití při fytořemediaci řady polutantů ze životního prostředí. V laboratoři byl již dříve připraven rostlinný vektor obsahující geny *todC1* s histidinovou kotvou a *todC2*, které kódují obě podjednotky enzymu ISP_{TOL} , geny pro rezistenci ke kanamycinu v bakteriích i v rostlinách. Zjištěná mutace v genu *todC1* byla opravena a byl připraven nový plasmid s bezchybnou sekvencí obou podjednotek ISP_{TOL} . Tento plasmid byl přenesen do bakterie *Agrobacterium tumefaciens* C58-C1, ve které byl prokázán metodou PCR. Ke studiu exprese bakteriálního genu v rostlinném organismu byla provedena dočasná exprese v tabáku viržinském (*Nicotiana tabacum*). Následovala izolace potencionálně exprimovaného enzymu afinitní chromatografií na koloně s Ni-NTA agarosou a stanovení enzymové aktivity jímáných frakcí. Poté byla provedena horizontální SDS-PAGE elektroforéza a stanovení enzymu ISP_{TOL} imunochemickou metodou pomocí Western blotu za použití protilátky proti histidinové kotvě.

Sekce: Molekulární ekologie

Studium genů typických pro *Solanum tuberosum*

Autor: Anette Tizolová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Ivana Melenová, Ph.D.

Vzhledem k rychle stoupajícímu počtu obyvatel na planetě rostou nároky na výživové parametry zemědělských plodin a odolnost vůči škůdcům. Pomocí genetických modifikací lze zvýšit užitnou hodnotu s mnohem vyšší účinností než postupy tradičního šlechtitelství. Nejznámější GM plodinou je RoundUp Ready sójaTM s rezistencí ke glyfosátu. Mezi další významné plodiny patří řepka, bavlník, len a kukuřice. Tato práce se zabývá detekcí geneticky modifikovaných brambor (*Solanum tuberosum*) a zároveň hledáním genu společného všem odrůdám brambor. Z celkem deseti náhodně vybraných odrůd byla izolována DNA metodou CTAB a její amplifikovatelnost byla ověřena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) s primery specifickými k chloroplastové DNA Plant 1, 2 a primery specifickými k patatinovému genu PAP 1, 3. U všech odrůd byla potvrzena přítomnost patatinového genu a možnost amplifikovat izolovanou DNA. Dále byla pomocí Real Time PCR testována sonda navržená komplementárně ke genu stonkového/listového proteinu (StLS) a bylo potvrzeno, že sonda správně funguje pro všech deset odrůd a je velmi pravděpodobné, že funguje nezávisle na odrůdě.

Sekce: Molekulární ekologie

Intracelulární ligandy stříbra v plodnicích muchomůrky šiškovitě (*Amanita strobiliformis*)

Autor: Václav Urban
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Pavel Kotrba, Ph.D.

Dvě ektomykorrhizní houby, *Amanita strobiliformis* a *Amanita solitaria*, akumulují Ag v koncentracích dosahujících 200 až 1250 mg Ag v kg sušiny plodnic odebraných v neznečištěných oblastech s obsahem Ag v půdě 0,07 až 1,01 mg/kg. Tyto houby jsou prvními eukaryotickými organismy, u nichž byla schopnost hyperakumulovat Ag zaznamenána. Cílem prezentované studie je získat poznatky o mechanismu intracelulární detoxikace akumulovaného Ag. Buněčné extrakty připravené z plodnic *A. strobiliformis* byly děleny srážením v přítomnosti síranu amonného a gelovou permeační chromatografií. Vyšší obsah Ag byl nalezen ve frakcích, které odpovídaly molekulovým hmotnostem 6 a 3 kDa. Ve vybraných frakcích byly identifikovány specifickým značením sulfhydrylových skupin 4-fluoro-7-sulfobenzofurazanem molekuly, patrně peptidy, s vyšším zastoupením sulfhydrylových skupin o zdánlivé molekulové hmotnosti ≤ 3 kDa. Izolované peptidy jsou v současnosti sekvenovány technikou MALDI-TOF/TOF a charakterizovány pomocí HPLC. Výsledky naznačují, že Ag je vázáno v komplexu obsahujícím peptidy podobné rostlinným metalothioneinům.

Sekce: Molekulární ekologie

Antimikrobiální účinky oxidu titaničitěho

Autor: Petra Záhorová
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

Fotokatalytická antimikrobiální aktivita TiO_2 byla popsána vůči mnoha bakteriím (*Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* a dalším), ale i kvasinkám a plísním. Své uplatnění nachází především ve zdravotnictví, kde jsou používány antimikrobiální dlaždice na operačních sálech, uvažuje se např. i o využití v procesu čištění odpadních vod. Principem antimikrobiálního působení je destrukce membrán hydroxylovými a superoxidovými radikály, které vznikají při ozáření TiO_2 UV světlem. Cílem této práce bylo ověřit rozsah a účinnost antibakteriálního působení oxidu titaničitěho, aktivovaného ultrafialovým zářením, na-pathogenní gramnegativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* a grampozitivní patogen *Staphylococcus aureus*. Byly testovány vlivy dávky ozáření (tzn. doba ozařování) a koncentrace bakteriální suspenze při použití dvou různých koncentrací TiO_2 ve vzorku. Dle získaných výsledků byla grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* (DBM 3002) odolnější vůči fotokatalytické účinnosti TiO_2 než gramnegativní bakterie. Rozdílná citlivost byla patrná i při srovnání účinku na jednotlivé gramnegativní bakterie, kdy *Escherichia coli* (DBM 3125) byla odolnější vůči působení TiO_2 fotokatalýzy než *Pseudomonas aeruginosa* (DBM 3081).

Sekce: Molekulární ekologie

Antimikrobiální peptidy izolované z rostlin

Autor: Klára Šohajová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. Dr. Ing. Martina Macková

Antimikrobiální peptidy jsou důležitou složkou přirozené nespecifické obrany většiny žijících organismů. Rostliny syntetizují malé peptidy (menší než 50 kDa), s různou sekvencí, terciární strukturou a širokým antimikrobiálním účinkem proti bakteriím, houbám i virům. Existuje možnost jejich potenciálního využití jako antimikrobiálních látek s širokým rozmezím účinku proti infekcím, a to jak v medicíně, tak i jako ochrana proti infekcím kulturních rostlin. Ze špenátu (*Spinacia*) byl izolován extrakt a podroben testování antimikrobiálního účinku. V malé míře byl prokázán antibakteriální účinek. Proto byl extrakt dále purifikován a dělen střednětlakou kapalinovou chromatografií (FPLC) s afinitní kolonou vázající peptidy na imobilizovaný ligand. Eluce byla provedena změnou iontové síly. Po optimalizaci metody byly získány frakce, které byly zahuštěny a identifikovány tricínovou SDS elektroforesou. Antimikrobiální aktivita byla testována na G^+ i G^- bakteriích metodou obdobnou jako je diskový difuzní test. Tři frakce prokázaly antimikrobiální působení na *E. coli*, *Bacillus megaterium* a *Staphylococcus aureus*. Poděkování grantu 203/05/0832.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Studium mechanismu konjugace proteinu SUMO-4

Autor: Marie Chaloupková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Zdeněk Knejzlík, Ph.D.

Protein SUMO-4 je nově objevený strukturní analog ubikvitinu o délce 95 aminokyselin. Podobně jako ubikvitin může být SUMO-4 kovalentně konjugován k buněčným proteinům. V současnosti se zkoumá zejména vliv polymorfismů v genu *sumo4* a jeho mutantů na produkci insulinu u pacientů s Diabetes mellitus I. Cílem naší práce je studium mechanismu konjugace proteinu SUMO-4 k cílovým proteinům *in vitro* a *in vivo*. Dále také studium tvorby kovalentních řetězců, které jsou prokázány u proteinů SUMO-2/3. Nyní je celá práce ve stádiu příprav konstruktů a pilotních experimentů.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Identifikace proteinových komponent v historických maltách pomocí hmotnostní spektrometrie

Autor: Michaela Crhová
Ročník: 4.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Již ve Starověkém Egyptě přidávali stavitelé do malt různá proteinová pojiva (např. vajíčka, tvaroh, syrovátku, klijy, atd.), která výrazně ovlivňovala mechanické vlastnosti vyráběné malty. Ačkoliv identifikace proteinových aditiv může posloužit jako důležitý zdroj informací při restaurátorských pracích a také k odhalení důvodů zkrácení malty, byla dlouhá léta opomíjena a v současné době se neprovádí, protože dosud nebyl znám způsob, který by tento obtížný úkol zvládl. V nedávné době jsme se pokusili o identifikaci proteinových aditiv v historických maltách pomocí enzymového rozkladu trypsinem a následnou detekcí peptidových štěpů hmotnostní spektrometrií na principu MALDI-TOF. Získaná hmotnostní spektra reálných vzorků malt jsou pak následně porovnávána s naší knihovnou referenčních vzorků proteinových pojiv. Metodika analýzy malt byla vypracována za přispění námi vyrobených modelových vzorků historických malt s přísádkou proteinových pojiv. Metoda byla úspěšně aplikována nejen na modelové vzorky malt, ale i reálné vzorky pocházející z několika různých hradů a zámků v České republice a také z hradu Bauska v Lotyšsku. Práce vznikla za podpory GA ČR projektu č. 203/07/P360 a MŠMT projektu č. 6046137305.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Funkční studie mutantů Hsp90 pro následnou analýzu rentgenovou krystalografií

Autor: Lenka Hašlerová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie, King's College, London
Školitel: Ing. Pavel Kotrba, Ph.D., Dr. Barry Panaretou

Hsp90 ovlivňuje konformaci mnoha proteinů účastnících se přenosu signálu jako jsou např. src kinasa, cyklin dependentní kinasa a také nádorových supresorů p53 a Rb, což jej činí nadějným cílem léků proti rakovině. Protein se skládá ze tří domén - C-koncové, střední spojovací a nukleotidy vážící N-koncové domény. V současné době není známa struktura celého proteinu, neboť flexibilita střední domény znemožňuje tvorbu krystalů vhodných pro analýzu rentgenovou krystalografií. Proto byly připraveny dva mutanty Hsp90²¹⁴⁻²⁶¹ a Hsp90²¹⁰⁻²⁶⁵ postrádající sekvenci asi 50 aminokyselin právě ve střední doméně proteinu, čímž se snížila jeho celková flexibilita. Tato práce měla za cíl určit, zda takováto mutace ovlivní funkčnost Hsp90 v buňkách *Saccharomyces cerevisiae*. Sekvence kódující mutantní proteiny byla zaklonována do buněk zbavených schopnosti syntetizovat Hsp90 a kultivací na mediu obsahujícím 5-fluoroortovou kyselinu byla zjištěna aktivita mutantní formy Hsp90²¹⁴⁻²⁶¹. Tento protein bude předmětem dalších experimentů s cílem získání přesné struktury komplexu chaperon-sbalovaný protein, která by mohla napomoci objasnit mechanismus jeho působení.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Vliv modifikací na katalytické vlastnosti chladově aktivní beta-D- galaktosidasy

Autor: Tereza Luňáčková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Enzym β -D-galaktosidasa patří do třídy hydrolas. Štěpí β -1,4-glykosidovou vazbu disacharidu laktosy a jejích analogů, např. o-nitrofenyl- β -D-galaktopyranosidu. Dokáže také v omezené míře katalyzovat transgalaktosylační reakce, kde jako akceptory vystupují různé sacharidové i nesacharidové látky. Porovnáním struktury chladově-aktivních enzymů a enzymů stejné funkce z mesofilních organismů by bylo možno najít vysvětlení vlivu struktury na aktivitu. Zatím ale není známo mnoho krystalových struktur takto adaptovaných enzymů. Struktura chladově-aktivní β -D-galaktosidasy z psychrotrofní bakterie *Arthrobacter* sp. C2-2 je zatím jediná známá homohexamerní struktura u β -D-galaktosidas. Tato práce se soustředí na přípravu β -D-galaktosynthasy. Jedná se o specificky modifikovanou β -D-galaktosidasu, u níž aminokyselina, která má v aktivním centru enzymu funkci nukleofilu, je nahrazena jinou nenukleofilní aminokyselinou (serin, alanin, glycin). Tímto přístupem lze zvýšit výtěžek transgalaktosylačních reakcí, protože je omezena hydrolyzační aktivita enzymu. Pro námi zvolený enzym byly navrženy 2 mutanty - E521A a E521G. Zatím se jedná o první glykosynthasy připravované z chladově-aktivních enzymů.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Tvorba retrovirových částic *in vitro* a v bakteriálních buňkách

Autor: Silvie Rimpelová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D.

V naší laboratoři se zabýváme studiem tvorby virům podobných částic odvozených od Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV) a viru lidské imunodeficiency typu 1 (HIV-1). U obou virů jsem pro svou studii využila jejich fúzní kapsidový a nukleokapsidový protein s N-terminální prolinovou delecí (Δ ProCA-NC). Tento protein je minimalizovanou doménou strukturního polyproteinu Gag, který je sám o sobě schopen skládat částice *in vitro*. Má práce se skládá ze tří částí: 1.) Jelikož je možné, že při tvorbě částic může mít významnou úlohu tvorba disulfidových můstků, studovala jsem vliv redukčních podmínek na skládání částic M-PMV a HIV-1. Částice vytvořené během dialýzy proti vhodnému pufru byly rozděleny během rovnovážné centrifugace v sacharosovém gradientu a analyzovány následnou elektroforetickou separací. Velikost a tvar částic byly studovány transmisí elektronovou mikroskopií (TEM). 2.) Bylo zjištěno, že na rozdíl od systému *in vitro* se z Δ ProCA-NC M-PMV proteinu tvoří v bakteriální buňce dva typy částic (sférické a tubulární). V současné době pracuji na separaci těchto dvou typů částic, jejich následné charakterizaci a zjištění rozdílů mezi nimi. Částice různých tvarů byly separovány rychlostní ultracentrifugací v Optiprep® gradientu. Kvalitativní analýza byla opět provedena metodou TEM. 3.) Dále jsem se zabývala studiem struktury a molekulárního uspořádání částic.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Interakce matrixového proteinu M-PMV se složkou dyneinového motoru Tctex-1

Autor: Vendula Rusňáková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Tctex-1 patří mezi složky dyneinového komplexu, který je zodpovědný za transport k minus konci mikrotubulů. V komplexu dyneinu se Tctex-1 vyskytuje ve formě dimeru, jehož struktura byla již vyřešena. Nedávno bylo prokázáno, že Tctex-1 může interagovat s retrovirovými proteiny. Tato interakce by se mohla podílet na specifickém cílení strukturních proteinů retrovirů v infikované buňce. Cílem práce je detailní zmapování interakce Tctex-1 s matrixovým proteinem (MA) Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV). Při práci se využije nedávno vyřešené struktury MA. Pomocí reverzní transkripce byl z kultury lidských nádorových buněk linie 239T získán gen pro Tctex-1. Tento gen byl vložen do komerčního vektoru pET15b. Rekombinantní protein byl produkován v bakteriálním kmenu *E. coli* BL21 a izolován kombinací ionexové a gelové chromatografie. Interakce je ověřována *in vitro* i *in vivo*. Souběžně s tím je čistý protein použit pro NMR titraci MA proteinu za účelem zjištění interagujících aminokyselin.

Sekce: Struktura a funkce proteinů

Povrchové mapování proteinů v oleosomech *Arabidopsis thaliana*

Autor: Martina Vermachová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav biochemie a mikrobiologie
Školitel: Prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Oleosomy (oil-bodies, lipidová tělíska) jsou lipoproteinové částice, v nichž jsou uloženy zásobní lipidy v semenech rostlin. Skládají se převážně z triacylglycerolů, které jsou obklopeny jednovrstevnou fosfolipidovou "membránou". V ní se nacházejí četné proteiny, které hrají důležitou roli ve stabilizaci oleosomů, při jejich vzniku i degradaci a mobilizaci lipidových zásob při klíčení semene. Informace o jejich prostorovém uspořádání a mechanismu působení jsou velmi kusé a vycházejí především z teoretických výpočtů. Cílem této práce je identifikovat ty části proteinů, které jsou v přímém kontaktu s vodným prostředím. Zvolená metoda povrchového mapování je založena na selektivních chemických modifikacích některých aminokyselin a jejich identifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie. Oleosomy byly izolovány ze semen *Arabidopsis thaliana* a modifikovány činidly specifickými pro argininy, lysiny, tyrosiny a tryptofany. Proteiny byly následně rozděleny SDS elektroforézou a štěpeny přímo v gelu trypsinem nebo chymotrypsinem. Nejlépe se modifikovaly (acetylovaly) postranní řetězce lysinů. Je pravděpodobné, že se nabitý lysinový zbytek nachází ve vodném prostředí; nicméně u některých lysinů k acetylaci nedocházelo. Argininy byly za použitých podmínek modifikovány v menší míře než lysiny. Většina zbytků tryptofanu se nemodifikuje, protože jsou součástí hydrofobních úseků struktur. Modifikace tyrosinů nebyla příliš úspěšná, použitá činidla totiž již při nízkých koncentracích způsobovala nežádoucí prokřížování proteinů.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Vliv netradičních plodin na výrobu pšeničného těsta a pečiva

Autor: Markéta Bachanová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Cílem práce bylo posoudit a vyhodnotit vliv 10 přísad netradičních plodin na vlastnosti pšeničného těsta a pečiva. Byly sledovány skupiny archaických druhů pšenice (špalda, dvouzrnka, jarní tritinaldia, jarní pšenice), odrůdy tritoridií a jarních ječmenů (jarní tritordeum T-46-06, jarní tritordeum T-42-06, jarní ječmen 465-06, jarní ječmen 450-06, jarní ječmen 453-06) a proso. Každý z výše uvedených přísad tvořil desetiprocentní podíl z recepturního množství pšeničné mouky světlé ze sklizně 2006. Technologické vlastnosti fermentovaného těsta byly měřeny pomocí uzančních reologických přístrojů - fermentograf pro sledování změny vlastností těsta v I. fázi fermentace těsta (zrání), maturograf pro hodnocení II. fáze fermentace těsta (kynutí), OTG přístroj pro popis změny objemu těsta ve III. fázi fermentace a I. fázi pečení (zapékání). Pekařský pokus simuluje průmyslovou výrobu pšeničného těsta v laboratorních podmínkách a byla použita uzanční metoda VŠCHT Praha. Výsledky měření ukazují, že pozitivní vliv na pevnost struktury těsta a zlepšení senzoryckého hodnocení těsta měl soubor netradičních druhů pšenice a jarního ječmene. Negativním rysem zvolené fortifikace vybranými plodinami bylo snížení měrného objemu pečiva, avšak lze hodnotit jejich nutriční přínos.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Modifikace metod pokusného pečení

Autor: Veronika Bencová
Ročník: 5.
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Táto práce je věnována pokusnému pečení pšenično-žitného chleba v laboratorních podmínkách a v závislosti na změnách daných podmínek následně vyhodnocován obsah akrylamidu v kůrce i střídce hotového výrobku. Analýzy na obsah akrylamidu prováděli pracovníci ústavu chemie a analýzy potravin. Základem připraveného chleba byla směs mouky pšeničné (95 %) a žitné (5 %), kypřený pak byl tradičním žitným kvasem. Celkový obsah žitné mouky v těstě byl 45 %. Receptura odpovídá chlebu Šumava podle Michelské pekárny. Při pokusném pečení byla měněna doba pečení a měřena povrchová teplota bochníku uvnitř pece. Hlavními limity pro experiment byla v případě teploty a doby pečení požitelnost a standardní vzhled bochníku. Laboratorní pokusné pečení umožňuje dobře modelovat provozní podmínky pečení, ale při použití přirozených kvasů do těsta nelze testovat výrobky s nižším obsahem žitné mouky. Závěrečné vyhodnocení ukázalo, že při teplotách pečení nad 178 °C prudce vzrostl obsah akrylamidu v kůrce na hodnoty dosahující 200 µg/kg sušiny, což přímo souvisí i s krátkou dobou pečení. Naopak delší pečení nemá příliš vliv na množství této látky v kůrce a jeho obsah se pohyboval kolem 100 µg/kg sušiny. Ve střídce bylo množství akrylamidu zanedbatelné.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Vliv přídatku netradičních plodin na vlastnosti pšeničné mouky

Autor: Michala Kubalová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Cílem práce bylo zjistit možnosti využití přídatků mouk z netradičních plodin k nutričnímu obohacení základního pekařského sortimentu z pšeničné mouky. Bylo studováno deset netradičních plodin, které lze z botanického hlediska rozdělit do čtyř základních skupin: speciální druhy pšenice (špalda, dvouzrnka, tritinaldia Denti di Cani a pšenice Abissinskaja arrasajta), potravinářské odrůdy tritordea (jarní tritordeum HTC 1331a (DH) a jarní tritordeum HT 135a (DH)), potravinářské odrůdy ječmene (jarní ječmen Merlin (waxy), jarní ječmen KM 1910 a jarní ječmen KM 2283) a samostatnou skupinu proso.

Hodnocení testovaných směsí bylo prováděno laboratorními zkouškami na reologických přístrojích farinografu, extenzografu, alveografu a amylografu. Byly stanoveny jakostní a technologické charakteristiky pšeničné mouky světlé (sklizeň 2006), které byly následně porovnány se vzorky připravenými z uvedené mouky a 10% přídatku hladké mouky vyrobené z výše vyjmenovaných plodin.

Studium prokázalo individuální změny reologických znaků pšeničného těsta vlivem přídatků netradičních plodin, zejména farinografické vaznosti, doby vývinu těsta, extenzografické energie, indexu elasticity a hodnot amylografického maxima.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Hodnocení struktury výrobků v pekárně JZM

Autor: Barbora Paldusová
Ročník: 5.
Ústav: Chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Josef Příhoda, CSc.

Cílem této práce bylo sledování změn struktury hotového výrobku jemného pečiva v závislosti na teplotě těsta po vymísení. Zkoumanými výrobky byly tuková vánočka s rozinkami a posypem a závin s jablečnou náplní. Byla změřena teplota těsta po vymísení. Následně byly na vychlazených hotových výrobcích změřeny hodnoty průniku. Na penetrometru se pomocí vhodné testovací koncovky vždy měřily tři vzorky v daných časových intervalech. Kvůli strukturní odlišnosti výrobků, pramenící z obsahu jablečné náplně v závinu, byla pro měření obou typů vzorků vybrána vždy odlišná testovací koncovka penetrometru. U jablečných závinů bylo měření velmi zkomplikováno přítomností zmíněné jablečné náplně, která znemožňovala dokonalé odebrání vzorku střídy pro měření a mohla také výrazně ovlivnit přesnost měření. Na měření mělo dále vliv i mnoho neovlivnitelných faktorů způsobených běžným provozem a okolním prostředím. Byla zjištěna určitá závislost struktury hotového výrobku na teplotě po vymísení. V průběhu pracovního týdne závisely výsledky též na jednotlivých dnech podle provozu pekárny.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Kontrola a hodnocení kvality v průmyslovém mlýně

Autor: Ondřej Vagenknecht
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Ve spolupráci s firmou Delta s.r.o., Praha byly v průběhu roku 2006 a 2007 sledovány hodnoty základních znaků pšenice přijímané do mlýna ze sklizně 2006 a expedované mouky typu pšeničná hladká světlá (T 530) a chlebová (T 1000) do průmyslové pekárny. Vzorky pšenice pocházely ze 4 různých, geograficky odlišných lokalit pěstování středních Čech. Pšeničné mouky byly získány mletím veškeré pšenice dodávané do mlýna, včetně vzorků ze sledovaných lokalit. Z těchto primárních dat byly vypočteny průměrné hodnoty pro jednotlivé parametry za příslušné měsíce dodávky po celé období sklizně, s cílem zjistit rozdíly v jakosti způsobené místem pěstování pšenice.

Ze získaných dat byla stanovena tendence kvalitativních znaků pšenice pro jednotlivé lokality pěstování a jednotlivé lokality byly vzájemně porovnány. Dále byla statisticky vyhodnocena závislost vstupních parametrů pšenice na finální vlastnosti získaných hladkých mouk.

Z porovnání jakostních znaků vstupní suroviny ze sledovaných lokalit vyplynulo, že nejvyšší hodnoty obsahu mokrého lepku a N-látek, tedy důležitých pekařských ukazatelů, vykazovaly vzorky pšenice pocházející z oblasti Mladé Boleslavi.

Sekce: Cereální chemie a technologie

Laboratorní výroba těstovin s netradičními přísadami

Autor: Michaela Vítová
Ročník: 1. (navazující magisterské)
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Marie Hrušková, CSc.

Byl navržen optimální režim lisování těstovin na laboratorním těstářenském lisu TR 70 a optimální režim sušení v sušárně Sun 450/2. Tento postup byl aplikován při prověřování vlivu 10% přísadky netradičních surovin do základní receptury těstovin. Těstoviny byly hodnoceny v syrovém, sušeném a vařeném stavu podle doporučených kritérií (vlhkost, sensorická jakost, vaznost a bobtnavost).

Pokusy byly prováděny s použitím polohrubé těstářenské mouky (Unimills a.s.) a 12 druhů netradičních surovin rozdělených do třech skupin. První skupina zahrnovala přísadky archaických druhů pšenice, druhá skupina přísadky odrůd jarního ječmene a tritordeí, třetí skupina přísadky prosa, lupiny a pohanky. Vzorky těstovin byly při hodnocení porovnávány se standardem vyrobeným podle základní receptury.

Přes větší tvarovou deformaci a pokles některých sensorických vlastností lze přísadku sledovaných netradičních surovin považovat za pozitivní zejména díky přínosu zdraví prospěšných látek.

Sekce: Technologie sacharidů

Plniva používaná do lepidel a jejich vliv na změnu reologických vlastností a pevnost lepeného spoje

Autor: Barbora Bešková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Evžen Šárka, CSc.

Práce spočívala v laboratorní přípravě polymerních lepidel s různými přísadami plniv. Základní receptura lepidla byla průběžně konzultována s výrobcem lepidel, firmou Amylon, a.s. Havlíčkův Brod. Jako první plnivo byl použit kaolín o požadované granulometrii. Vedle původního přísadku složek dle receptury byly připraveny ještě další dva zkušební vzorky s nižším a vyšším obsahem tohoto plniva. Získané vzorky byly proměřeny rotačním viskozimetrem Rheotest2 při teplotách 20 a 25 °C. Takto byly určeny hodnoty tečného napětí a dynamické viskozity a zároveň byly sestrojeny tokové a viskozitní křivky. Globální environmentální a ekologické problémy vyvolávají rostoucí potřebu koordinace mezi různými průmyslovými odvětvími s cílem usnadnit využití vedlejších produktů jednoho odvětví odvětvím jiným. Jednou takovou možností je druhotné využití saturačního kalu, který se získává při epuraci surové šťávy během výroby cukru. Jako druhé plnivo byl proto využit předsušený saturační kal. Byla připravena lepidla podle dané receptury s různými přísadami saturačního kalu a byly sledovány reologické vlastnosti. Přídavek saturačního kalu se příznivě projevil na zkrácení doby přípravy lepidla přibližně o 30 %, přičemž se pravděpodobně projevila odlišná granulace v porovnání s kaolínem.

Sekce: Technologie sacharidů

Studium sorpce cholátu sodného na *N*-oktadecylpektinamid a cholestyramin

Autor: Lucie Fesslová
Ročník : 4.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Mgr. Andriy Synytsya, PhD.

Regulace metabolismu cholesterolu a žlučových kyselin je zajímavá z hlediska léčení řady nemocí. Snížení obsahu žlučových kyselin ve střevech vede k odbourávání cholesterolu v játrech, což zmírňuje hypercholesterolemii. Pro tento účel jsou běžně používány polymerní látky schopné vázat žlučové kyseliny pomocí nepolárních a elektrostatických interakcí. Hydrofobní deriváty polysacharidů jsou zajímavé jako sorbenty žlučových kyselin. Tato práce se zabývala *N*-oktadecylpektinamidem jako potenciálním sorbentem žlučových kyselin v porovnání se sorbentem syntetickým – cholestyraminem, který je dnes běžně používán v lékařské praxi. Cholát sodný byl vybrán jako modelová látka pro sorpční pokusy. Stanovení zbytkového cholátu v roztoku po sorpci bylo provedeno pomocí enzymového setu Trinity Bitech, Ireland. Pro oba sorbenty byla analyzována kinetika sorpce a také sorpční isothermy. Účinnost sorbentů byla diskutována na základě kinetických a sorpčních křivek.

Sekce: Technologie sacharidů

Strukturní analýza β -glukanů hub druhu *Phellinus*

Autor: Gordon Karikoga Gomba
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Anežka Veselá

β -Glukany jsou jednou ze složek rozpustné vlákniny potravy člověka a dále je intenzivně zkoumán jejich podpůrný vliv při léčbě rakovinných onemocnění. Jedná se o lineární nebo větvené polysacharidy tvořené glukosovými jednotkami vázanými $\beta(1\rightarrow3)$, $\beta(1\rightarrow4)$ a $\beta(1\rightarrow6)$ glykosidickými vazbami.

Práce byla zaměřena na analýzu β -glukanů hub druhu *Phellinus*. Z namletých vzorků byly extrahovány polysacharidy, které byly zbaveny bílkovin, přečištěny dialýzou a následně lyofilizovány. Lyofilizované polysacharidy a nerozpustné podíly byly podrobeny kyselé hydrolyze a vzniklé monosacharidy byly stanoveny metodou aniontové chromatografie s pulsní amperometrickou detekcí (HPAEC-PAD) na koloně CarboPac PA1 (Dionex Corporation Sunnyvale, USA) v 16 mM NaOH za isokratických podmínek. Pro strukturní analýzu lyofilizátů byla také využita infračervená spektra ve střední oblasti (FT-IR).

Pomocí HPAEC-PAD bylo zjištěno, že vzorky obsahovaly glukosu, glukosamin, galaktosu a xylosu. FT-IR spektroskopie ukázala, že v lyofilizátech byla přítomná i bílkovinná složka, pravděpodobně se jedná o proteoglykany.

Tato práce vznikla za podpory VŠCHT Praha (vnitřní grant 0016 980).

Sekce: Technologie sacharidů

Strukturní a termická analýza celulosy a jejích derivátů

Autor: Lukáš Krejčík
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Mgr. Andriy Synytsya, PhD.

Celulosa a její deriváty mají široké uplatnění ve farmacii. Práce byla zaměřena hlavně na oxidovanou celulosu, kterou lze využít při výrobě samovstřebatelných materiálů.

Vzorky celulosy a jejích derivátů (prášky i tkaniny) byly proměřeny FT-IR spektroskopií a metodami termické analýzy. Veškeré práškové vzorky byly proměřeny na FTIR-spektrometru ve formě KBr tablet. Byly popsány a přiřazeny nejdůležitější pásy zkoumaných vzorků celulosy a jejích derivátů.

Všechny vzorky celulosy a jejích derivátů (prášky i tkaniny) byly dále proměřeny diferenční scanovací kalorimetrií (DSC) a termogravimetrií (TG). Porovnáním termoanalytických záznamů DSC, TG a derivace TG jednotlivých vzorků je možné stanovit stabilitu materiálu. Na základě DSC měření byla pro vybraný vzorek tkaniny určena aktivační energie rozkladu v inertní atmosféře. Získané výsledky potvrdily, že FT-IR spektroskopie ve spojení s metodami termické analýzy může být užitečným nástrojem při analýze celulosy a jejích derivátů.

Tato práce vznikla za podpory VŠCHT Praha (vnitřní grant 0016 980).

Sekce: Technologie sacharidů

Příprava a charakterizace derivátů celulosy a chitosanu

Autor: Tomáš Lubas
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Doc. Ing. Jana Čopíková
Ing. Jan Tůma

Navázání kationových skupin obsahujících kvaternizovaný dusík na polysacharidy vede ke vzniku produktů které lze použít pro sorpce žlučových kyselin. Účelem této práce byla studována kvaternizace DEAE (diethylaminoethyl) celulosy a chitosanu pomocí reakci s iodomethanem v prostředí methanolu. Byl sledován vliv reakčních podmínek (doba reakce, poměr činidel, teplota, objem reakční směsi) na stupeň kvaternizace polysacharidů. Poměr výchozích a kvaternizovaných aminoskupin byl stanoven pomocí řady analytických metod (organická elementární analýza, pH titrace a FTIR spektroskopie). Na základě výsledků byli zjišťované optimální reakční podmínky pro přípravu derivátů DEAE celulosy a chitosanu s určitým stupněm kvaternizace.

Sekce: Technologie sacharidů

Stanovení sacharidového složení medů s využitím aniontové chromatografie s pulzní amperometrickou detekcí

Autor: Veronika Lukszová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Andrea Hinková, PhD.

V dnešní době představuje falšování potravin celosvětový problém, neboť rivalita obchodních řetězců nezná mezí a za účelem snížení ceny potravin volí někteří dodavatelé nešťastnou cestu - falšování potravin. Falšování medů se provádí ve většině případů přidávkem různých sirupů na bázi škrobu. Touto problematikou se zabývají analytici již řadu let avšak lidé falšující med jsou vždy o krok napřed, a proto je nutné nacházet stále nové způsoby jak tento podvod odhalit.

S pomocí vysoce selektivní, citlivé a spolehlivé metody, čímž aniontová chromatografie s pulsní amperometrickou detekcí bezpochyby je, byly proměřeny vzorky různých druhů medů (např.: lipový, květový, medovicový).

Stanovení sacharidového profilu ve vzorcích medů bylo provedeno na koloně CarboPac PA1 (Dionex Corporation Sunnyvale, USA) za podmínek gradientové eluce hydroxidem sodným jako mobilní fází s přidávkem octanu sodného.

Sekce: Technologie sacharidů

Matematické modelování povrchu a objemu zrn cereálií s využitím počítačové analýzy obrazu

Autor: Alena Sýkorová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Evžen Šárka, CSc.

Rozměrové parametry, objem, hmotnost a měrný povrch zrn obilovin zásadně ovlivňují řadu chemicko-inženýrských operací při jejich zpracování, jako kupř. sušení, fluidní dopravu, desintegraci ad. Stanovení některých uvedených vlastností je poměrně pracné či časově náročné nebo není dostupné, takže se vlastnosti pro návrh inženýrských operací často odhadují. Cílem práce proto bylo navrhnout matematické modely, které by umožnily rychlé stanovení uvedených parametrů. K tomuto účelu byly rozměrové vlastnosti zrn proměřeny pomocí obrazové analýzy na přístroji LUCIA G. Konkrétně šlo o tyto parametry: plocha, ekvivalentní průměr, obvod, max. a min. délka, protáhlost a kruhovitost. Naměřené údaje byly doplněny o třetí a čtvrtý rozměr – výšku zrna a hloubku jeho rýhy. K tomuto měření bylo využíváno digitální posuvné měřítko, které bylo ve školních dílnách konstrukčně upraveno. Bylo proměřeno 800 zrn těchto čtyř odrůd – pšenice jarní-TRISO, GRANNY, CORSO; ječmen jarní- SEBASTINY. Teoretická část detailně probírá modely, které lze využít pro geometrický popis části nebo celých zrn. Některé z použitých modelů byly dále ověřovány porovnáním vypočteného průřezu plochy zrna s naměřenou plochou pomocí image analysis a porovnáním vypočteného objemu s pyknometricky stanoveným objemem zrn.

Sekce: Technologie sacharidů

Diskontní řetězce na českém trhu

Autor: Tereza Žídková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a technologie sacharidů
Školitel: Ing. Vladimír Pour, CSc.

Cílem práce je analyzovat postavení diskontních řetězců na českém maloobchodním trhu, najít jejich charakteristické rysy i to, čím se od sebe snaží diferencovat. První část se zabývá skutečnostmi, které umožňují zajistit nižší ceny, popisuje způsob vystavení zboží, sortiment a rozmístění prodejen. Další část je věnována jednotlivým diskontním řetězcům působícím na českém trhu. Zaměřuje se zejména na to, čím se od sebe jednotlivé diskonty odlišují, popisuje jejich marketingovou komunikaci a srovnává četnost prodejen na českém i evropském trhu. Závěrečná část analyzuje vývoj skladby zákazníků jednotlivých prodejních kanálů a popisuje současný stav českého maloobchodního trhu.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Stanovení captanu a jeho degradačního produktu (1, 2, 3, 6-tetrahydroftalimidu) v jablkách

Autor: Pavlína Hurdová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Ing. Jana Kohoutková, Ph.D., Ing. Markéta Hakenová

Captan je velmi často používaný fungicid, například v ovocnářství. Pro jeho stanovení se obvykle užívá metoda plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS), ale vzhledem k tomu, že se jedná o relativně nestabilní látku, je poněkud obtížné ji stanovit. Jednou z možností řešení tohoto problému je stanovení captanu prostřednictvím jeho degradačního produktu 1,2,3,6-tetrahydroftalimidu, který je ve srovnání s mateřskou látkou dostatečně stabilní. Na ústavu chemie a analýzy potravin byla proto vyvinuta a zvalidována metoda určená právě pro stanovení captanu a jeho degradačního produktu 1,2,3,6-tetrahydroftalimidu. Touto metodou byly zanalyzovány vybrané vzorky jablek, na které byl aplikován postřik, jehož účinnou složkou byl právě captan. Výsledky získané touto metodou byly následně srovnány s nálezy získanými multireziduální metodou běžně užívanou pro stanovení širokého spektra pesticidů, mezi nimi i captanu.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Kritické zhodnocení nového typu HPLC kolon a přepínání polarit u tandemového hmotnostního analyzátoru v analýze reziduí pesticidů

Autor: Eva Průšová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav analýzy potravin
Školitel: Prof. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Ondřej Lacina

Studie se zaměřila na studium vlivu podmínek při separaci a detekci reziduí pesticidů technikou LC-MS/MS s cílem optimalizovat nové postupy. Byla porovnána separace analytů na koloně Ascentis Express (Supelco) s technologií *fused-core* s 2,5 μm částicemi s pevným, neporézním jádrem a tenkou 0,5 μm porézní vrstvou s kolonou Discovery (Supelco) s 5 μm částicemi. Pro posouzení separace jsme sledovali celkovou odezvu, výšku a šířku píků při základně u 190 pesticidů o koncentraci 10 ng/ml.

Pro zjednodušení analýzy bylo testováno přepínání polarit ionizace u hmotnostního detektoru tak, aby látky ionizující v negativním modu (ESI-) nebyly stanovovány odděleně. Byla sledována odezva analytů v závislosti na době, po kterou se měnily podmínky na analyzátoru mezi pozitivní a negativní ionizací (*Interscan-delay*) a to od 20 ms do 100 ms při koncentracích všech pesticidů ve směsném standardu 10 ng/ml a 100 ng/ml. Odezvy všech analytů se při přepínání polarit snížily přibližně o řád a ani pětinašobné prodloužení nejkratšího možného *Interscan-delay* nepomohlo pro výraznější zvýšení odezvy. Přepínání polarit by tedy bylo použitelné pro stanovení pesticidů na hladinách MRL pro běžé komodity, ale u mnoha látek nedovoluje dosáhnout evropský limit pro dětskou výživu 0,01 mg/kg.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Vývoj rychlé LC-MS/MS metody pro stanovení perfluorovaných kontaminantů v rybách a rybích produktech

Autor: Dita Svobodová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Doc. Dr. Ing. Jan Poustka, Ing. Petra Hrádková

Perfluorované sloučeniny (PFC) jsou v současné době stále více sledovanou skupinou organických kontaminantů životního prostředí a řadí se mezi perzistentní polutanty s vysokým bioakumulačním potenciálem. Nejčastěji sledovanými zástupci jsou perfluorooktansulfonát (PFOS), kyselina perfluorooktanová (PFOA) a perfluorooktanamid (PFOSA). Analytická metoda běžně používaná pro stanovení těchto sloučenin je založena na tvorbě relativně hydrofobního iontového páru po přidavku tetrabutylamonnia (TBA) a jeho extrakci do methyl-terc-butyletheru (MTBE). Jelikož je tato metoda časově náročná, byla na Ústavu chemie a analýzy potravin optimalizována a validována nová analytická metoda ke stanovení výše zmíněných látek v živočišných matricích (rybí játra a svalovina). Principem této metody je extrakce vybraných analytů do methanolu a následné přečištění pomocí přidavku aktivního uhlí. Identifikace a kvantifikace PFC je prováděna kapalinovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí (LC-MS/MS). Uvedenou metodou byly stanoveny hladiny PFOS, PFOA, PFOSA v játrech jelce tlouště odloveného v různých lokalitách ČR a v rybích produktech zakoupených v maloobchodních sítích.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Vývoj SPME metody pro analýzu těkavých sloučenin kmínu

Autor: Ivana Šnircová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Kateřina Riddellová

Sušená semena kmínu kořeného (*Carum carvi*) patří mezi nejznámější koření používané při přípravě pokrmů. Kvalita kmínu je dána především intenzitou aroma, které se až z 99 % skládá ze sloučenin D-karvonu a D-limonenu. Aby bylo možné aromatický profil kmínu sledovat, byla vyvinuta a optimalizována analytická metoda sestávající z mikroextrakce analytů na tuhou fázi (SPME), separace jednotlivých složek pomocí plynové chromatografie (GC) a detekce analytů hmotnostním detektorem typu iontová past (MS-IT).

Optimalizace metody probíhala především na úrovni přípravy vzorku, tudíž optimalizací SPME metody. Bylo nutné určit vhodnou navážku, typ vlákna, dobu sorpce a vliv přidavku vody tak, aby opakovatelnost měření (vyjádřená jako RSD z pěti po sobě jdoucích měření) byla co nejlepší.

Takto optimalizovaná metoda SPME-GC-MS byla použita při analýze vzorků kmínu, které se od sebe lišily způsobem sterilace (sterilace za použití suchého tepla a sterilace suchým teplem s navrácením aromatu). Získané výsledky umožnily diskusi o vhodnosti použití sterilačního postupu s navrácením aromatu.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Validace LC-MS/MS metody pro stanovení fumonisinových mykotoxinů a její aplikace při monitoringu cereálních výrobků

Autor: Lenka Štočková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Milena Zachariášová

Fumonisy jsou toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub produkované především druhy *Fusarium moniliformis* a *Fusarium proliferatum*. Nacházejí se zejména v kukuřici a kukuřičných produktech. Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) byly klasifikovány jako pravděpodobné lidské karcinogeny (třída 2B). V souvislosti s potřebou sledování výskytu těchto nebezpečných potravních kontaminantů byla vyvinuta vysoce citlivá LC-MS/MS metoda. Izolace analytů je zde realizována metodou QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) využívající dispersní extrakce na tuhou fázi, která je dobře známá zvláště v oblasti analýzy pesticidů.

Pro fumonisy B1 a B2 vstoupily 1. října v platnost hygienické limity pro vybrané komodity (nařízení EC 1881/2006, jež doplňuje nařízení EC 466/2001). V souvislosti s tím byl realizován monitoring výskytu těchto látek ve výrobcích české maloobchodní sítě a jejich obsah porovnán s hygienickými limity.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Využití SPME pro stanovení furanu ve sladech

Autor: Tereza Valentová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Kateřina Riddellová

Furan patří mezi procesní kontaminanty potravin, jde tedy o sloučeninu vznikající při výrobě a zpracování potravin. Vyskytuje se ve vyšších množstvích převážně v potravinách, které prošly tepelným opracováním. Furan je organizací IARC klasifikován jako možný karcinogen pro člověka (skupina 2B), dále u něj byly pozorovány cytotoxické a hepatotoxické účinky. Předkládaná práce je zaměřena na vývoj a využití metody pro stanovení furanu ve vzorcích sladu a piva, prezentovány jsou dílčí výsledky pro vzorky sladu. Použita byla metoda, kdy byly těkavé látky ze vzorku izolovány mikroextrakcí na tuhou fázi a dále separovány pomocí plynové chromatografie a detekovány hmotnostním detektorem typu iontová past. Optimalizovány byly především parametry extrakce a různé způsoby přípravy vzorku. S ohledem na vysokou těkavost analytu byl také zjišťován vliv chlazení (tekutý dusík) na jeho možný únik v průběhu homogenizace vzorku. U optimalizované metody pro stanovení furanu ve vzorcích sladu byly změřeny základní validační charakteristiky a metoda byla použita pro analýzu vzorků tmavého a světlého sladu dodaných do laboratoře v rámci řešení EU projektu „TRUEFOOD“ (FOOD-CZ-2006-016264). Zjištěné nálezy se pohybovaly v rozmezí 16 – 3726 µg/kg. Metoda pro stanovení furanu ve vzorcích piva je stále ve stádiu vývoje.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Optimalizace přípravy vzorků při stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků metodou GC/MS

Autor: Milan Vanderka
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Marie Suchanová

Některé polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) vykazují karcinogenní a genotoxické účinky a tak představují pro člověka reálné zdravotní riziko. Nejběžnější metody pro stanovení PAU jsou vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorimetrickým detektorem (HPLC/FLD) a plynová chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS).

Při analýze pomocí CG je kritickým bodem přečištění extraktu, respektive minimalizace chemického šumu. Běžně používaná gelová permeační chromatografie, se ukázala jako nedostačující, a proto bylo třeba do metody zahrnout ještě další dočišťovací krok – extrakci na tuhou fázi (SPE). Zařazením tohoto kroku bylo dosaženo výrazného zlepšení chromatografických záznamů. Pro dokumentaci účinnosti čisticího kroku a identifikaci interferujících látek bylo použito analýzy pomocí dvojrozměrné plynové chromatografie (GC x GC) s průletovým hmotnostním detektorem (TOF) a kapalinové chromatografie ve spojení s detektorem Corona™ Charged Aerosol (CAD).

Cílem práce tedy bylo optimalizovat dočišťovací metodu pomocí SPE a pokusit se o identifikaci interferujících látek, které znesnadňují (znemožňují) identifikaci a kvantifikaci cílových analytů.

Sekce: Chemie a analýza potravin I

Corona CAD – univerzální HPLC detektor

Autor: Zuzana Žáková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Dr. Ing. Věra Schulzová

Bylo studováno možné využití nového detektoru Corona CAD (Charged Aerosol Detector) pro systémy kapalinové chromatografie. Mezi avizované přednosti CAD patří zejména univerzální odezva pro různé analyty, nezávislá na jejich chemické struktuře a tím širší výběr možných analyzovaných látek, bez nutnosti specifických vlastností jako je např. chromofor pro DAD detektor, optická aktivita pro RID apod. Cílem této práce bylo zhodnotit pozitiva i negativa nového detektoru ve srovnání s jinými konvenčními zařízeními.

Analyzováno bylo několik skupin látek - např. cukry, aminokyseliny, glykoalkaloidy, fytoestrogeny a další. Stanovení bylo prováděno pomocí HPLC systému HP 1200, Corona CAD byla zapojena sériově za DAD detektor. Použity byly převážně metody již dříve validované na Ústavu chemie a analýzy potravin. Po identifikaci analytů srovnáním se standardy byla vyhodnocena citlivost stanovení, limit detekce, případně celková odezva přístroje a vyhodnocena vhodnost detektoru ke stanovení daných látek v reálných vzorcích.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Testování stability referenčního materiálu pro stanovení fusariových mykotoxinů

Autor: Petr Dohnal
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Milena Zachariášová

Mykotoxiny, jakožto sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, patří mezi významnou skupinu přírodních toxinů. Mezi nejhojněji se vyskytující mykotoxiny patří skupina trichothecenů, jež jsou produkovány vláknitými houbami rodu *Fusarium*. V rámci zajištění jakosti dat generovaných při analýze potravinových komodit na bázi cereálií jsou používány certifikované referenční materiály. Vývojem takových materiálů se mimo jiné zabývá i projekt BioCop - „New technologies to screen multiple chemical contaminants in foods“. V rámci tohoto projektu byly vyvinuty dva referenční materiály, které byly v loňském roce podrobeny testování homogenity. Dalším krokem ve vývoji referenčních materiálů je ověření stability, které je také předmětem této práce. Referenční materiály „baby food“ a „breakfast cereals“ byly během stabilitního testu skladovány při třech různých teplotách (4; 25 a 40 °C) po dobu jednoho, tří a šesti měsíců. Změny obsahu analytů během skladování byly vztaheny k průměrné hodnotě z 5-ti referenčních vzorků, které byly po celých 6 měsících skladovány při teplotě -18 °C. Vzorky byly analyzovány akreditovanou metodou LC-MS/MS.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Zhodnocení zátěže populace ČR organohalogenovanými polutanty

Autor: Jana Doubková
Ročník: 1. navazující magisterské
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Jana Pulkrabová

Polychlorované bifenylly (PCB) a bromované retardátory hoření (BFR) patří mezi významné perzistentní organické polutanty (POPs). Tyto látky se obecně vyznačují značnou rezistencí vůči degradaci, vysokou lipofilitou a schopností bioakumulace v tukové tkáni živočichů i člověka. Hlavními zdroji kontaminace jsou vedle dietárního příjmu, i vstupy jiné, jako např. inhalace a dermální příjem. Tato práce sledovala hladiny vybraných perzistentních organochlorových kontaminantů a BFR v mateřském mléce a v lidské tukové tkáni. Byly sledovány indikátorové kongenery PCB, 11 kongenerů polybromovaných bifenyl etherů (PBDE) a suma izomerů hexabromocyklohexanu (HBCD). Pro izolaci analytů ze vzorků lidské tukové tkáně byla použita Soxhletova extrakce, z mateřského mléka extrakce kapalina-kapalina. Získaný extrakt byl přečištěn gelovou permeační chromatografií. Identifikace a kvantifikace PCB byla provedena plynovou chromatografií s využitím dvou detektorů elektronového záchytu. Pro BFR byla použita technika plynové chromatografie s hmotnostně selektivním detektorem využívajícím negativní chemickou ionizaci. Posouzena byla nejenom zátěž populace jednotlivými skupinami xenobiotik při zohlednění vybraných faktorů (věk, váha, dietární zvyklosti atd.), ale také byly zhodnoceny časové trendy hladin sledovaných polutantů (porovnání s předchozími studiemi).

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Výskyt fusariových mykotoxinů v celozrnných pekařských výrobcích

Autor: Kamila Kalachová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Marta Kostelanská

Fusariové mykotoxiny jsou sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, k jejichž producentům patří především rod *Fusarium*. Jedná se o významné kontaminanty cereálií a z nich vyráběných potravin. V nedávné době byl prokázán výskyt různých forem konjugátů fusariotoxinů, souhrnně označovaných jako „maskované“ mykotoxiny, které unikají rutinním analýzám. Jejich biologická dostupnost a toxicita není doposud známa. Otevřenou otázkou tedy zůstává vliv potravinářských technologií na hladiny jednotlivých forem mykotoxinů. V rámci této práce byl studován vliv pekařských technologií na konečný obsah fusariových mykotoxinů v celozrnném pečivu. Pozornost byla zaměřena na majoritní trichothecen DON a jeho vázanou formu, deoxynivalenol-3-glukosid. Pomocí metody LC-MS/MS byly vyšetřeny vzorky pečiva, které se lišily nastavením hlavních pekárenských parametrů, tj. složením těsta, dobou zrání a dobou pečení. Experimenty neprokázaly významnou redukci DON za podmínek zpracování kontaminované suroviny.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Sledování kvality ekologicky a konvenčně pěstovaných brambor

Autor: Petra Krejčová
Ročník: 1. magisterský
Ústav: Chemie a analýza potravin
Školitel: Dr. Ing. Věra Schulzová

V současnosti stále vzrůstá poptávka po produktech ekologického zemědělství. Vzhledem k tomu, že se konvenční zemědělství v dnešní době potýká s řadou problémů, přistupuje k ekologickému pěstování i stále více zemědělských organizací. Ekologický způsob hospodaření přispívá k ochraně důležitých složek životního prostředí a přispívá k rozvoji a údržbě krajiny.

Cílem předkládané práce je srovnání obsahu významných a zdraví prospěšných látek stejně jako sloučenin představujících hygienicko – toxikologické riziko v hlízách brambor pěstovaných ekologickým a konvenčním způsobem. Pozornost byla zaměřena především na sledování obsahu volných aminokyselin, vitamínu C, kyseliny chlorogenové jako zástupce fenolických látek a jednotlivých cukrů. Pro stanovení uvedených látek byla použita metoda HPLC s využitím různých způsobů detekce (UV, FLD, RID, CAD). Byla porovnávána citlivost detekce s použitím konvenčních HPLC detektorů a detektoru Corona CAD (charged aerosol detection). Analyzováno bylo 5 odrůd brambor pěstovaných ekologickým i konvenčním způsobem ve dvou lokalitách.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Sledování distribuce reziduí vybraných pesticidů v jablkách a porovnání jejich hladin v závislosti na obsahu kutikulárních vosků

Autor: Šárka Přinosilová
Ročník: 1., navazující magisterské
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Ing. Markéta Hakenová

Cílem předkládané studie bylo porovnat distribuci vybraných reziduí pesticidů (captan, chlorpyrifos-methyl, trifloxystrobin, tetraconazol a tolylfluanid) v jablkách. Tyto pesticidy pokrývají relativně širokou skupinu fyzikálně-chemických vlastností. Distribuce reziduí byla sledována v odrůdách jablek Melrose a Golden Delicious (i)lišících se velikostí (malá/velká) a (ii)v lokalizaci odběru plodů v koruně jabloně.

Součástí studie bylo i porovnání kontaminace ve čtyřech odrůdách jablek (*Golden Delicious*, *Melrose*, *Idared* a *Gloster*) lišících se obsahem kutikulárních vosků. Práce zároveň podává stručný přehled analytických metod vhodných ke stanovení obsahu kutikulárních vosků a jejich použitelnost v běžných laboratorních podmínkách.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Stanovení flavonoidů chmele v pivě a potravinových doplncích

Autor: Mája Štědrá
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: Doc. Dr. Ing. Jan Poustka

Chmelové flavonoidní látky jsou pro své estrogení účinky v současné době předmětem širokého vědeckého zájmu. Jejich hormonální působení může být využito např. při prevenci problémů, které u žen navozuje menopauza. K těmto účelům jsou na trhu přípravky (tablety) obsahující např. 8-prenylnaringenin nebo tzv. piva pro ženy s navýšeným obsahem flavonoidních látek. Vzhledem k charakteru flavonoidních látek lze pro jejich analýzu využít vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii na reverzní fázi ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS), což umožňuje stanovení cílových analytů vedle makrosložek matrice bez časově náročného přečišťování vzorků. Vybrané látky byly analyzovány v jednotlivých frakcích výroby piva a ve vybraných potravinových doplncích.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Stanovení akrylamidu v tradičním českém chlebu

Autor: Kateřina Valenzová
Ročník: 4.
Ústav: Analýza potravin
Školitel: Prof. Ing. Hajšlová Jana, CSc., Ing. Veronika Bartáčková

Jednou z významných komodit, ve které vzniká akrylamid, nedávno objevený potravinový karcinogen, jsou pekárenské výrobky. Hlavním faktorem, který v tomto typu výrobku ovlivňuje hladinu akrylamidu je koncentrace aminokyseliny asparaginu. Zdrojem tohoto prekurzoru je mouka.

V naší studii, realizované v rámci projektu Národního programu výzkumu (NPV II.) ve spolupráci s ústavem technologie sacharidů, jsme se zaměřili na klasický český chléb. Akrylamid se tvoří během pečení za teplot vyšších než 120°C, proto jsme analyzovali akrylamid v chlebové kůrce. Teploty uvnitř bochníku během jeho pečení totiž nedosahují ani 100°C. Ve spolupráci s průmyslovou pekárnou jsme monitorovali hladiny akrylamidu ve vzorcích chleba odebraných během deseti po sobě jdoucích dnů – „desetidenní monitoring“. Dále jsme měli k dispozici chleby odebrané v několika pekárnách s různým režimem pečení. Akrylamid se ze vzorku extrahuje vodou za využití extrakční techniky „QuEChERS“. Jako analytická koncovka byla použita metoda kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Ke kvantifikaci analytu byla použita technika izotopového zředování, která jako vnitřní standard používá ¹³C₃-akrylamid.

Sekce: Chemie a analýza potravin II

Monitoring pesticidů v uzavřených prostorech

Autor: Jana Zikmundová
Ročník: 3.
Ústav: Ústav chemie a analýzy potravin
Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., Mgr. Milan Souček

Cílem této studie bylo zpracovat a vyhodnotit výsledky jednoho ze série experimentů, orientovaných na monitoring reziduí insekticidů po aplikaci dýmavnice Ultimate Super SG obsahující účinné složky pirimiphos-methyl (71,3 g/kg) a cypermethrin (13,1 g/kg). Aplikace přípravku, používaného k ochraně skladovaného obilí, byla realizována v uzavřené experimentální buňce. Metody monitorující vzdušnou koncentraci těchto insekticidů po jejich aplikaci jsou založeny na sorpci na polyuretanovou pěnu (PUF), kterou prochází za podmínek nucené cirkulace vyšetřovaný vzduch. Pro zjištění množství insekticidů sorbovaných na pevné částičky ve vzduchu byly extrahovány i filtry před vlastními PUF. Současně byly v experimentální buňce, ve třech různých pozicích od dýmavnice, umístěny vzorky mouky, ve dvou odlišně silných vrstvách a vzorky dřeva. K vyšetření extraktů vzorků byla použita technika GC/MS.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Sledování potravin v chladicím řetězci

Autor: Jana Augustinová, Hana Vallová
Ročník: 5. a 3. ročník
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Hana Opatová, CSc.

Během letních měsíců roku 2006 a 2007 byly sledovány podmínky prodeje hluboce zmrazených potravin a mražených krémů. Byl sestaven jednoduchý dotazník zaměřený na dodržování předepsaných podmínek a získané údaje pak byly graficky zpracovány pro devět největších obchodních řetězců a skupinu dalších menších prodejen z různých částí České republiky. Průzkum probíhal ve spolupráci s několika výrobci hluboce zmrazených potravin a mražených krémů. Byla zpracována data z 280 (2006), resp. 550 (2007) navštívených prodejen, pro 697 (2006), resp. 1391 (2007) hodnocených mrazicích boxů. Nejvýznamnějším sledovaným parametrem je dodržení požadované minimální teploty -18°C . Z porovnání výsledků vyplývá, že dodržování teploty v mrazicím řetězci se meziročně zlepšilo o 12 %, přesto však zůstává 13 % z celkového počtu sledovaných boxů nevyhovujících.. Posuzovala se celková kvalita prodeje výrobků související s jejich skladováním v mrazírenských boxech.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Využití ochranných kultur pro stabilizaci studených omáček

Autor: Dita Dúbravčíková
Ročník: 4.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský

V potravinářském průmyslu se dosud pro prodloužení údržnosti studených omáček často používají tradiční chemické konzervační látky, sorban draselný a benzoan sodný. V současné době se však od jejich používání ustupuje, protože mohou vyvolávat u citlivých osob alergie a mohou negativně působit na mikroflóru zažívacího traktu.. Jednou z alternativ chemické konzervace potravin je využití tzv. ochranných kultur, které prodlouží dobu jejich použitelnosti aniž ovlivní jejich smyslové vlastnosti.

Cílem práce bylo izolovat ze vzorků tatarské omáčky přítomné kmény mléčných bakterií, popsat jejich vlastnosti a diskutovat možnost využití vybraných izolátů pro stabilizaci tatarské omáčky. Ve vzorcích tatarské omáčky byly zjištěny dvě skupiny mléčných bakterií s rozdílnou citlivostí k sorbanu draselnému, s rozdílnou růstovou odezvou na změny teploty a s antagonistickým vzájemným vztahem. Zjištěné vlastnosti jednoho z izolátů jsou slučitelné s požadavky na ochranné kultury.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Obaly potravin uvolňující natamycin a nisin

Vypracovala: Kristýna Hanušová

Ročník: 5.

Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa

Školitel: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc.

Funkcí aktivních obalů je především prodloužení údržnosti a zajištění zdravotní nezávadnosti potravin. Jednou z možností aktivního balení potravin je použití obalu s antimikrobní funkcí, který je schopen zabránit mikrobiální zkáze potravin. Cílem práce bylo ověřit fungicidní vlastnosti polyenového antibiotika natamycinu, naneseného v laboratorních podmínkách ve vrstvě laku na LDPE fólii, proti plísním *Fusarium culmorum* a *Penicillium sp. DMF 0006*. Dále byl experimentálně stanoven průběh migrace tohoto činidla za různých podmínek do destilované vody metodou HPLC. Stejným způsobem byla testována i LDPE fólie s lakem obsahujícím nisin a natamycin připravená na provozním zařízení ve firmě INVOS a.s. V tomto případě byly pro ověření inhibičního účinku natamycinu a nisinu použity plísně *Fusarium culmorum*, *Penicillium expansum* a bakterie *Lactobacillus helveticus*.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Stanovení kyseliny ferulové v ječmeni

Autor: Michaela Jirušková

Ročník: 5.

Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa

Školitel: Doc. Ing. František Kvasnička CSc.

V ječmeni jsou obsaženy fenolové kyseliny, z nichž je nejvýznamněji zastoupena kyselina ferulová. Byl studován její obsah v závislosti na odrůdě plodiny, jejím ošetření a případném mikrobiálním napadení. Obsah kyseliny ferulové byl stanoven po extrakci methanolem metodou kapalinové chromatografie s gradientovou elucí za použití UV detektoru. Dále byla určována celková antioxidační kapacita metodou s ABTS. Výsledky byly vzájemně porovnány.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Vliv tiskových barev na bezpečnost obalů potravin

Autor: Daniel Knobloch
Ročník: 5.
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Doc. Ing. Jaroslav Dobiáš, CSc., Ing. Zdeňka Dupáková

Barvy používané pro potisk obalových materiálů obsahují mnoho látek, které se obecně nesmí v potravinách vyskytovat, ale jejich aplikace při úpravě obalů potravin není legislativně regulována. Složky potisku se mohou do potravin uvolňovat dvěma způsoby, a to přímo pronikáním vrstvou obalu nebo takzvaným set-off transferem.

Hlavním cílem této práce je ověření reálné možnosti kontaminace potravin složkami tiskových barev. Doposud bylo analyzováno více než 50 vzorků obalových materiálů s potiskem. Separace a identifikace složek byla prováděna extrakcí do diethyletheru a následnou plynovou chromatografií v kombinaci s hmotnostně spektrometrickým detektorem. Jako potenciálně rizikové látky, takto izolované, jsou například estery kyseliny ftalové, 1-chloro-2,3-epoxypropan, 2-ethylhexyl-4dimethylaminobenzoát, isoprophyl thioxanthon a benzophenon. Získané výsledky prokázaly riziko uvolňování nežádoucích složek z potisků obalů. Jeho možné praktické důsledky budou v práci diskutovány.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Změny textury sterilovaných okurek

Autor: Mik Vítězslav
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Změknutí sterilovaných okurek během skladování, distribuce a uchování u spotřebitele může mít řadu příčin. Zelenina se může poškodit již během sklizně, dopravy a výroby, při nedodržení technologického postupu, například při zpracovávání mikrobiálně napadené suroviny nebo pokud je při záhřevu vystavena teplotě dobu delší, než doporučenou. K poškození plodů může dojít ještě před sklizní, a to napadením mikroorganismy např. z půdy, z napadených plodů nebo přenosem hmyzem. Při mikrobiální kontaminaci suroviny může docházet k tvorbě enzymů, které narušují povrchové vrstvy plodu a po zakonzervování v kyselém nálevu dojde k jejich porušení. Jde zejména o enzymy celulolytické a pektolytické. Ze vzorků půdy, okurek a zbytku rostlin bylo izolováno 20 druhů různých plísňů. U těchto plísňů byla sledována jejich celulolytická a pektolytická aktivita. Na základě těchto testů byly vybrány plísně z největší aktivitou a ty byly identifikovány. U plísňů z největší celulolytickou a pektolytickou aktivitou byly prováděny další testy na potlačení těchto aktivit.

Sekce: Technologie zpracování potravin I

Hmotnostní ztráty vepřových půlek během zchlazování

autor: Jan Pavlíček
ročník: 5.
ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
školicitel: Prof. Ing. Petr Pipek, CSc., Ing. Bc. Bo-Anne Bělková

Při zchlazování jatečně upravených vepřových půlek dochází k hmotnostním ztrátám odkapem masové šťávy a odparem vlhkosti z povrchu masa. Cílem práce bylo najít teplotu rychlozchlazovacího tunelu za relativně konstantní vlhkosti vzduchu, při které by byly vepřové půlky dostatečně vychlazené a hmotnostní ztráty byly minimální.

Jatečně upravené vepřové půlky byly po porážce označeny, zváženy a umístěny do rychlozchlazovacího tunelu na cca 2 hodiny. Poté byly skladovány v chladárně při teplotě 4 °C a přibližně 24 hodin po porážce byla vpichovým teploměrem změřena teplota v jádře kůže. Vepřové půlky byly následně zváženy. Z podílu hmotností zjištěných po porážce a po vychlazení byla určena hmotnostní ztráta v závislosti na teplotě rychlozchlazovacího tunelu. Teploty v rychlozchlazovacím tunelu byly nastavovány v rozmezí od -12 °C do -6 °C, vždy po 2 °C.

S klesající teplotou tunelu se snižují hmotnostní ztráty. S ohledem na optimální zchlazení vepřových půlek byla navržena teplota -10 °C v rychlozchlazovacím tunelu. Při nastavení nižších teplot se hmotnostní ztráty významně nemění, ale vepřové půlky jsou přechlazené.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Obsah laktosy v různých typech sýrů

Autor: Bc. Jana Krausová
Ročník: 1. navazující magisterské
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků
Školitel: Doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Byl zjišťován obsah laktosy v různých druzích tvarohu, přírodních a tavených sýrů (kde je maximální 5-ti% obsah laktosy dán legislativou - Vyhláška Mze č. 77/2003 Sb.). Obsah laktosy v potravinách je významný zejména pro konzumenty trpící nesnášenlivostí laktosy. Cílem bylo vypracovat a vyzkoušet různé postupy přípravy vzorků pro analýzu metodou HPLC (kolona kopolymer styren-divinylbenzen ve vápenaté formě) s ELS detektorem. Jako vnitřní standard byl použit roztok fruktosy o koncentraci 100 g/l. Kvůli nízké koncentraci laktosy v sýrech (při výrobě převážná většina přechází do syrovátky) a tím i nízké odezvě na detektoru byla později dána přednost metodě 10-ti násobného zakoncentrování roztoku vzorku pomocí lyofilizace. Rovněž byly u jednoho druhu taveného sýru sledovány ztráty laktosy během paralelní přípravy dvou vzorků (jeden s 5% standardním přídatkem laktosy). Podle výsledků provedené analýzy byl průměrný obsah laktosy v sýru Veselá kráva 5,36 %, což znamená, že byl mírně překročen limit povoleného obsahu laktosy v tavených sýrech. U ostatních analyzovaných vzorků tavených sýrů byl obsah laktosy asi 0,8-1,9 %, u přírodních sýrů 0,5-1,1 % a u tvarohu 3,7 %. Výsledky stanovení byly srovnatelné s hodnotami uvedenými v literatuře.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Hodnocení mechanických vlastností gelů κ -karagenanu v mléce

Autor: Bc. Jaroslava Šilhavá
Ročník: 1. navazující magisterské
Ústav: Ústav technologie mléka a tuků
Školitel: Ing. Jiří Štětina, CSc.

Byly sledovány mechanické vlastnosti vyjadřující texturní vlastnosti (tuhost, pevnost, deformovatelnost, přilnavost, tvrdost a elasticita) modelových vzorků mléčných dezertů metodami stlačování mezi deskami a vtlačování válcové sondy. Modelové vzorky byly připraveny rozpuštěním 0,5 % směsi κ -karagenanu s různým podílem doplňkového hydrokoloidu (konjaková, lokusová, guarová, tara guma a xanthan, 5 – 50 %) v obnoveném odstředěném mléce při teplotě 90°C. Po vychladnutí vznikl gel s různými vlastnostmi v závislosti na typu doplňkového hydrokoloidu.

Konjaková guma zvyšovala všechny sledované mechanické vlastnosti, s narůstajícím podílem obsahu ostatních hydrokoloidů ve vzorku se mechanické vlastnosti snižovaly. Byla nalezena statisticky významná korelace ($r = 0,969 - 0,898$, $n=65$) mezi odpovídajícími veličinami hodnocenými metodou stlačování a vtlačování, s výjimkou přilnavosti ($r = 0,002$). Řada statisticky významných korelací byla zjištěna i mezi rozdílnými mechanickými vlastnostmi stanovenými stejnou metodou (u metody vtlačování nejvyšší mezi tuhostí a přilnavostí, $r = -0,824$; u metody stlačování mezi elasticitou tvrdostí, $r = 0,948$).

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Kyselina hydroxycitrónová v doplňcích stravy

Autor: Lucie Kořínková
Ročník: 3.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: doc. Ing. František Kvasnička CSc.

Kyselina hydroxycitronová (HCA) je získávána z extraktu asijské rostliny *Garcinia Cambogia*. V posledních letech se často vyskytuje jako významná součást doplňků stravy. Předpokládá se, že HCA plní funkci inhibitoru enzymů podílejících se na genezi lipidů. Ve své práci se zaměřuji na stanovení výše zmíněné kyseliny v několika vybraných doplňcích stravy metodou kapilární isotachoforesy. Získané výsledky budou diskutovány v souvislosti s deklarovaným obsahem HCA.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Validace pasteračního procesu v podmínkách výroby kojenecké výživy

Autor: Petra Kovářová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Doc. Ing. Michal Voldřich, CSc.

Pasterace představuje tepelné ošetření potravin záhřevem s nižším inaktivačním účinkem, při použití teplot do 100 °C. Používá se k redukci ve vegetativních formách mikroorganismů, požadovanou úroveň, která zaručuje zdravotní nezávadnost dané potraviny, ale obvykle není dostatečný pro inaktivaci bakteriálních spór.

Cílem validačního procesu bylo ověřit, že pasterační proces redukuje dostatečný počet mikroorganismů a zaručuje tak bezpečnost vyráběných produktů. Účinnost pasteračního záhřevu vyjadřuje požadovaný inaktivační účinek F_s - potřebná doba záhřevu v minutách při konstantní (referenční) teplotě t_r , která povede k požadovanému snížení počtu přítomné mikroflóry. Účinnost závisí na termorezistenci přítomných mikroorganismů, resp. na jejich hodnotách D a z .

Pro validaci pasteračního procesu byla jako referenční mikroorganismus vybrána plíseň *Byssochlamys bulva*. Protože kojenecká výživa patří do kategorie kyselých potravin, které mají pH pod 4,2, byla tato plíseň stanovena jako nejvhodnější. Snáší dobře kyselé prostředí, je schopna produkovat toxin a je termorezistentní. Na základě počáteční kontaminace surovin bylo zjištěno, že pro dosažení bezpečného produktu musí minimální hodnota F_s pro referenční mikroorganismus odpovídat 15 min, tzn. pasterační proces musí probíhat minimálně 15 minut.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Optimalizace sterilačních režimů

Autor: Lenka Kroupová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský

Sterilační režimy používané v konzervářské praxi při sterilaci nekyselých potravin mohou být předimenzované, takže sice poskytují značnou míru zdravotní bezpečnosti, ale současně poskytují méně uspokojivé výsledky ve vztahu k jakosti a energetické náročnosti. Cílem práce bylo na základě poskytnuté výrobní dokumentace analyzovat průběh používaných sterilačních režimů a posoudit možnosti jejich optimalizace. V práci byly posuzovány a srovnávány záznamy o průběhu teplot v prostředí autoklávu a uvnitř konzerv. Ze záznamů teplot v konzervách byly vypočteny hodnoty sterilačního účinku. Zjištěné hodnoty reálně dosahovaných sterilačních účinků přesahují až pětinasobně hodnoty požadované vyhláškou 375/2003 Sb. a umožňují tak optimalizaci smyslových vlastností výrobků i úsporu nákladů.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Možnosti využití prediktivní mikrobiologie při optimalizaci sanitačního procesu

Autor: Eva Kufřerová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Jan Pivoňka

Prediktivní mikrobiologické modely jsou jedním z nástrojů pro hodnocení mikrobiologických rizik při výrobě a distribuci potravin. Tyto matematické modely umožňují předpovídat chování mikroorganismů za různých podmínek a optimalizovat tak jednotlivé procesy včetně stanovování trvanlivosti výrobků nebo navrhování sanitačních postupů. Správný postup sanitace a stanovení vhodné frekvence sanitačních procedur jsou klíčovými aspekty bezpečné výroby potravin. V této práci byla ověřována možnost využití prediktivních mikrobiologických modelů při optimalizaci sanitace v lahůdkářských provozech. Byly provedeny rozborů suroviny a výrobků zaměřené na parametry klíčové pro posouzení chování mikroorganismů a za pomoci prediktivního mikrobiologického modelu byly navrženy optimální prodlevy mezi jednotlivými sanitacemi. Bylo zjištěno, že pro stroje na kterých jsou zpracovávány různé suroviny a produkty se může maximální prodleva mezi sanitacemi lišit až čtyřnásobně. Vzhledem k různorodosti vlastností potravin je však vhodné ověřovat predikovaná data mikrobiologickými rozborů.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Metodika testování schopnosti potravinářských výrobků podporovat růst *Listeria monocytogenes*

Autor: Eva Pařilová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Dr. Ing. Miroslav Čeřovský

Platné Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny rozlišuje u potravin určených k přímé spotřebě dvě kategorie výrobků: ty, které nepodporují růst *L. monocytogenes* a je proto možné v nich tolerovat její přítomnost v množství do 100 ktj./g a ty ostatní, které jej podporují (nebo u nichž není výrobce schopen prokázat opak) a nesmí v nich být zjištěna přítomnost *L. monocytogenes* v pěti vzorcích po 25 g. V zájmu výrobců je obě skupiny výrobků rozlišit.

Cílem práce bylo navrhnout vhodnou metodiku testování schopnosti potravinářských výrobků podporovat růst *Listeria monocytogenes*, jejíž výsledky by byly akceptovány inspekčními úřady. Navržená metodika zahrnuje celý postup od popisu vlastností výrobků přes výběr testovacích kmenů, metody přípravy inokula, metody inokulace vzorků, četnost odběru vzorků a metody jejich vyšetřování.

Sekce: Technologie zpracování potravin II

Využití prediktivního software PMP7 v analýze rizik při výrobě pečené masové sekané

autor: David Pokorný
ročník: 5.
ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
školitel: Doc. Ing. Michal Voldřich, CSc.

V práci jsou popsány reálné podmínky, teploty a maximální doby prodlevy při výrobě pečené sekané od příjmu a skladování surovin, přes přípravu díla, tepelné opracování, chlazení, balení a expedici. Byly posouzeny potenciální zdroje mikrobiální kontaminace včetně křížové kontaminace v podmínkách reálného výrobního závodu. Byly rovněž proměřeny hodnoty základních parametrů ovlivňující stabilitu výrobku: pH, aktivita vody, obsah soli. Pro popsanou teplotní historii výrobku byl proveden výpočet růstové odezvy *Listeria monocytogenes*. Na základě modelových výpočtů jsou formulována doporučení k úpravě stávajícího technologického postupu a je diskutována možnost provedení takových úprav receptury a technologického postupu, aby výrobek mohl být zařazen mezi potraviny nepodporující růst *Listeria monocytogenes* podle nařízení ES 2073/2005.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Studium vlivu podmínek přípravy na kvalitu hovězích dršťek

Autor: Růžena Kudrnová
Ročník: 3.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Helena Čížková Ph.D.

Dršťky jsou upravené hovězí žaludky. Před vlastní konzumací se musí dršťky několikrát převařit v čisté vodě, aby se zbavily nečistot a hlavně typického dršťkového zápachu. Tato procedura je však značně náročná na čas, spotřebu vody a energie. Práce byla zaměřena na posouzení vlivu alternativy ke konvenčnímu vaření dršťek, tlakového vaření, na jejich kvalitu.

Dršťky byly zakoupeny v maloobchodní síti, pečlivě homogenizovány a upraveny. Následně byly různými způsoby vařeny a analyzovány na obsah tuku (extrakčně), sušiny, indolu a skatolu (metodu SPME/GC/MS) a byla provedena hmotnostní bilance.

Byly hledány rozdíly: v syrových dršťkách; dršťkách vařených za atmosférického tlaku s výměnou vody po předvaření; v dršťkách vařených za zvýšeného tlaku bez vakuových cyklů; a v dršťkách vařených za zvýšeného tlaku s vakuovými cykly.

Bylo sledováno zda se nepříjemné aromatické lipofilní látky jako je indol a skatol uvolňují spolu s vytaveným tukem, či nikoliv. V závěru bylo zhodnoceno zdali je významný rozdíl v obsahu těchto látek při různém způsobu tepelné úpravy dršťek.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Oxidace játrových paštik

Autor: Miroslava Podrová
Ročník: 5.
Ústav: Konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Prof. Ing. Petr Pipek, CSc., Ing. Bc. Bo-Anne Bělková

Vzhledem k vysokému obsahu tuku podléhají játrové paštiky snadno oxidaci. V nich přítomný tuk obsahuje velké množství nenasycených mastných kyselin a jeho oxidace iniciuje oxidaci hemových barviv, která se projevuje změnou růžové barvy na šedou. Cílem práce bylo sledovat, jak ve výrobě ovlivňuje změnu barvy paštik doba od namíchání po tepelné opracování a zároveň se zjišťoval vliv doby skladování paštik na barvě.

Pro měření byla použita obrazová analýza a reflexní spektrofotometrie. Ke snímání vzorků byl použit scanner a pro vlastní obrazovou analýzu program LUCIA 5.20. Pomocí tohoto programu byly změřeny hodnoty světlosti (L^*) a souřadnice pro červenou (a^*) a žlutou (b^*) barvu. Při reflexní spektrofotometrii byl použit přístroj Minolta CM2600d a softwarem Spectramagic byla naměřena světlost L^* a barevné souřadnice a^* a b^* . V obou případech byla sledována změna hodnoty souřadnice pro červenou barvu a^* . Z naměřených hodnot získaných ihned po otevření balení vzorků a po dvou dnech skladování při 4°C bylo zjištěno, že hodnota a^* klesá s časovou prodlevou jak mezi namícháním a tepelným opracováním, tak s dobou skladování.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Porovnání metod úpravy a sušení vzorků salámů pro extrakci a následnou analýzu pomocí HPLC

Autor: Tomáš Potůček
Ročník: 3.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Jarmila Vernerová, PhD., Ing. Michaela Petrová

Cílem této práce bylo vyvinout vhodnou metodiku sušení a úpravy vzorků trvanlivých salámů pro extrakci a následnou analýzu jednotlivých triacylglycerolů a jejich oxidačních produktů pomocí HPLC.

Bylo porovnáváno několik způsobů homogenizace (krájení nožem, použití kuchyňského robotu s různou rychlostí otáček nožů, strouhání na kuchyňském struhadle) a několik způsobu sušení vzorků: přidání síranu sodného a ponechání v exsikátoru v temnu při teplotě 20 °C a 5°C, promíchání s mořským pískem a sušení v zatemněném exsikátoru při pokojové teplotě, sušení s předsušeným mořským pískem v sušárně při 105 °C, v mikrovlnné troubě při režimu rozmrazování a na vakuové odparce. Tuk z jednotlivých vzorků byl extrahován do chloroformu na ultrazvukové lázni a pomocí přístroje Soxtec, poté byly extrakty analyzovány na kapalinovém chromatografu. Bylo sledováno poškození vzorku během předúpravy srovnáním množství oxidačních produktů viditelných na chromatogramu.

Jako nejvhodnější způsob homogenizace se ukázalo použití ručního struhadla a následné sušení smícháním homogenizovaného vzorku se síranem sodným v poměru 1:2 a uchování v otevřené kádince v zatemněném exsikátoru pod dobu 2 dnů.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Měření barvy pražené kávy.

Autor: Anastassiya Shinkaruk
Ročník: 2.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Lenka Votavová, Ph. D.

Barva je důležitým kvalitativním ukazatelem kávy. Během pražení při teplotách kolem 200 °C se původně modro nebo šedo zelená, někdy i žlutohnědá barva kávových zrn mění na různé odstíny hnědé barvy. Na barvu pražené kávy má zejména vliv teplota a doba pražení. Barva kávy byla měřena jednak reflexním spektrofotometrem Minolta CM-2600d jednak tzv. analýzou obrazu. Cílem práce bylo osvojit si metodiku měření, způsoby vyhodnocování naměřených parametrů barvy a porovnat obě metody z hlediska vhodnosti měření barvy pražené kávy.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Izolace tuku z masných výrobků pro HPLC

Autor: Radka Svěrková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Jarmila Vernerová, PhD., Ing. Michaela Petrová

Cílem práce bylo najít vhodnou metodiku izolace tuků ze vzorků trvanlivých salámů pro analýzu triacylglycerolů a jejich oxidačních produktů pomocí HPLC. Pro izolaci tuku byl použit postup dle Folche, extrakce podle Soxhleta a extrakce tuku prostým vylouhováním do chloroformu nebo hexanu. Pro extrakci podle Folche byla jako rozpouštědlo použita směs chloroform : methanol v poměru 3:1. Extrakty byly promývány vodou, vzniklá emulze byla rozrážena chloridem sodným a po oddělení vodné fáze byly extrakty dosušeny síranem sodným. Pro extrakci podle Soxhleta byly vzorky vysušeny pomocí síranu sodného v exsikátoru a extrahovány do petroletheru. Pro extrakci do chloroformu a hexanu byly vzorky rovněž předsušeny a po vylouhování tuku bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové odparce. Jednotlivé extrakty byly po vizuálním zhodnocení pachu, barvy a obsahu nečistot zanalyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Bylo porovnáváno rozdělení píků triacylglycerolů a jejich oxidačních produktů a množství nečistot. Nejlepší rozdělení píků bylo viditelné na chromatogramu extraktu získaného metodou podle Soxhleta, nejhorší byly chromatogramy extraktů v hexanu a chloroformu. Extrakt získaný metodou podle Soxhleta byl také nejčistší a nejlépe hodnocen vizuálně; tato metoda měla také nejvyšší výtěžnost.

Sekce: Technologie zpracování potravin III

Kvalita a skladovatelnost instantních nápojů

Autor: Marcela Vojtková
Ročník: 3.
Ústav: Ústav konzervace potravin a technologie masa
Školitel: Ing. Helena Čížková PhD.

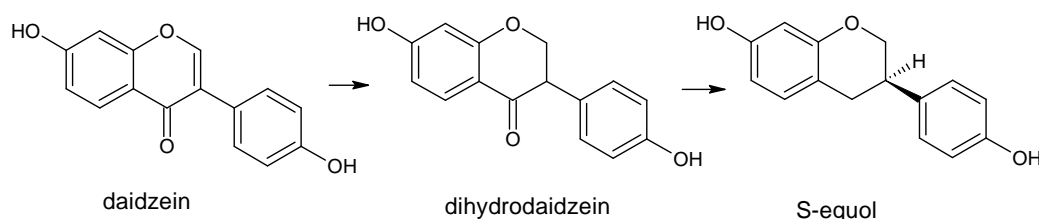
Současný trh nabízí celou škálu instantních nápojů. Patří sem například instantní čaj a káva, ovocné sušené šťávy a sušené mléčné výrobky, jejichž hlavní výhodou je snadná příprava a dávkování. Pro výrobce je důležité na základě složení konkrétního výrobku určit minimální trvanlivost tak, aby během celé doby skladování bylo zaručeno zachování hygienické nezávadnosti a kvality výrobku. Cílem práce bylo ověření změn sensorických vlastností a kvality vybraných instancích nápojů (nápoje v prášku s obsahem sušeného ovoce, instantní kávová specialita) během celého období skladovatelnosti. Sensorické hodnocení chuti, vůni a barvy nápoje bylo provedeno trojúhelníkovým testem. Kvalita výrobků byla posuzována na základě stanovení zastoupení a obsahu těkavých látek metodou SPME/GC/MS.

Sekce: Chemie přírodních látek

Vývoj imunochemických metod pro stanovení equolu

Autor: Lucie Bukáčková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Doc. RNDr. Oldřich Lapčík, Dr.

Equol je fyziologicky významný metabolit isoflavonoidů, jenž vzniká působením střevních bakterií na daidzein a formononetin – látky přítomné v některých bobovitých rostlinách. Equol je schopen se vázat na estrogenové receptory a vykazuje antioxidační účinky.



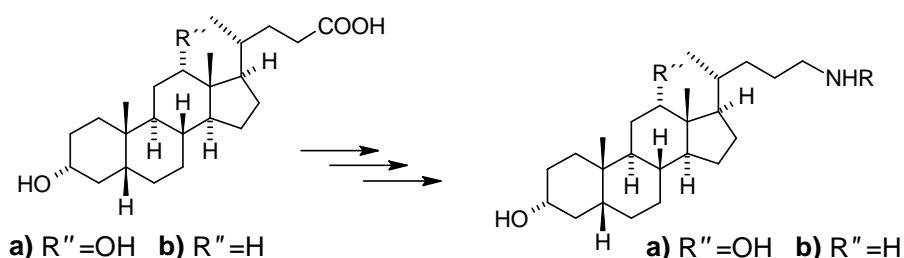
Pro detekci a kvantifikaci equolu v tělních tekutinách a dalším biologickém materiálu je vyvíjena nepřímá kompetitivní enzymová imunoanalýza na pevné fázi (ELISA). Principem metody je kompetice analytu ze vzorku a analytu imobilizovaného v jamce polystyrenové mikrotitrační destičky o vazebná místa na protilátce. Budou využity polyklonální králičí protilátky proti konjugátům equolu s hovězím sérovým albuminem (BSA), pro imobilizaci budou testovány a konjugáty equolu s hovězím sérovým albuminem (BSA) a s ovalbuminem (OVA).

Sekce: Chemie přírodních látek

Redukce amidové vazby steroidních derivátů

Autor: Beata Jonsztová
Ročník: 1. magisterský
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Cílem naší práce je syntéza amidů žlučových kyselin a následná redukce jejich amidické vazby. Příprava vychází z kyseliny lithocholové (b) a deoxycholové (a). Syntéza byla zjednodušena použitím činidla TOTU a redukce na aminy byla prováděna pomocí různých redukčních činidel.



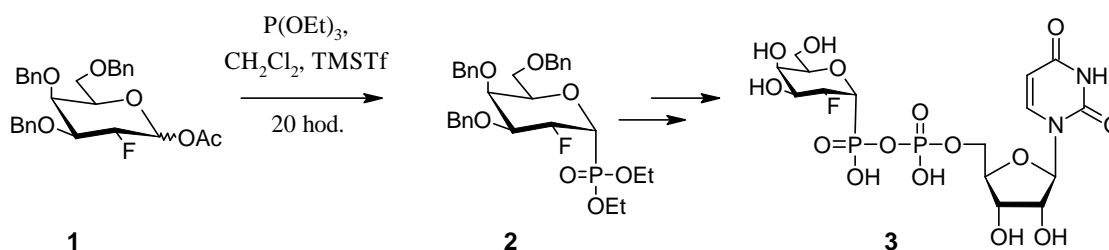
Sekce: Chemie přírodních látek

Inhibitory galaktosyltransferas

Autor: Kateřina Kulová
 Ročník: 5.
 Ústav: Ústav chemie přírodních látek
 Školitel: Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.

Glykosyltransferasy jsou klíčové enzymy zodpovědné za biosyntézu oligosacharidů a hledání jejich inhibitorů má velký význam při vyvíjení nových terapeutických agens.

Cílem mé práce je syntéza uridin-5'-[(2-deoxy-2-fluor- α -D-galaktopyranosyl)fosfonyl] fosfátu (3), potenciálního inhibitoru galaktosyltransferas. Fosfonát 2 je klíčovým meziproductem celé syntézy, a proto jsem se věnovala optimalizaci jeho přípravy.

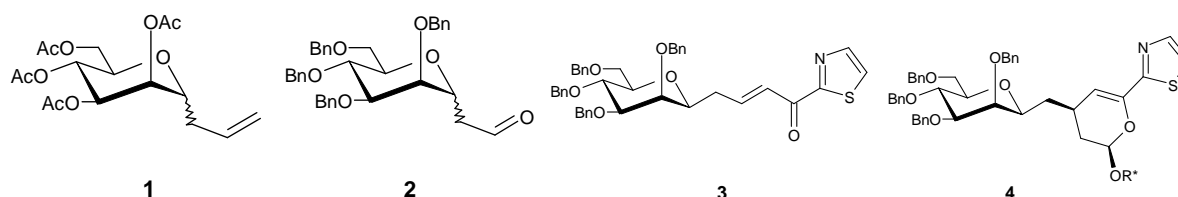


Sekce: Chemie přírodních látek

Syntéza prekursoru β -C-(1 \rightarrow 3)-disacharidu

Autor : Zuzana Lövyová
 Ročník: 5.
 Ústav: Chemie přírodních látek
 Školitel: Doc. Ing. Ladislav Kniežo, CSc.

C-disacharidy se díky možnému terapeutickému využití staly v poslední době předmětem mnoha zkoumání. Konečným cílem této práce je syntéza β -C-(1 \rightarrow 3)-disacharidu, který obsahuje na neredukujícím konci mannosu. Jako výchozí látka byla použita peracetylovaná mannosu, která byla převedena na směs anomerních allylderivátů 1. Následovala Zemplénova deacetylace a mannosu byla poté chráněna jako benzylether. Ozonolýzou dvojných vazeb vznikla směs chráněných mannopyranosyl acetaldehydů 2, která následnou epimerizací poskytla téměř čistý β anomer (α : β = 1:9). Wittigovou reakcí byl β -mannopyranosylacetaldehyd převeden na derivát oxadienu 3. Jeho reakcí s chirálním vinyletherem stereoselektivně vznikl cykloadukt 4, který je prekursorem finálních C-disacharidů.



Sekce: Chemie přírodních látek

Ab initio a DFT výpočty NMR spekter bicyklických methylerythrofuranosidů s tříčlenným heterocyklickým kruhem

Autor: Lukáš Novotný
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

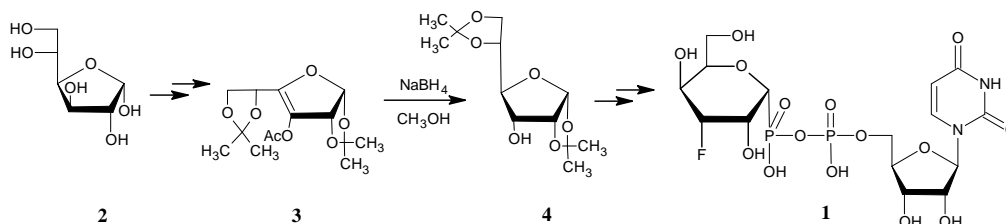
Práce se zabývá výpočty NMR spektrálních vlastností (chemických posunů, resp. stínících tenzorů, a spin-spinových interakčních konstant) a jejich srovnáním s experimentálními údaji pro methyl- α - a β -L-erythrofuranosidy s oxiranovým, thiiranovým a aziridinovým kruhem. Spektrální údaje pro $^1\text{H-NMR}$ a $^{13}\text{C-NMR}$ spektra jsou počítány s využitím programu Gaussian 03W. Časově náročné výpočty byly pro každou látku prováděny ve třech krocích. Nejprve byly geometrickými optimalizacemi 18 resp. 54 výchozích konformací nalezeny zastoupené konformery, které byly ve druhém kroku ověřeny frekvenčními výpočty a pomocí Boltzmannova vztahu byly určeny jejich populace. Konečně třetím krokem byly kalkulace výše uvedených spektrálních parametrů. Všechny výpočty byly prováděny jednak v plynné fázi, jednak v solvovaném stavu s implicitně definovaným rozpouštědlem. Z kvantově-chemických metod byly využity Mollerův-Plessetův perturbační model a hybridní DFT funkcionály (B3LYP, B3PW91).

Sekce : Chemie přírodních látek

Inhibitory galaktosyltransferas

Autor: Simona Sillingová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.

Cílem mé práce je připravit uridin-5'-[(3-deoxy-3-fluor)-D-galaktopyranosyl] fosfonoyl]fosfát (1). Výchozí látkou je D-glukosa (2), která reaguje s acetonem v kyselém prostředí za vzniku 1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-glukofuranosu. Ta je dále oxidována pyridinium dichromátem (PDC) v acetanhydridu a dichlormethanu na 1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-ribohexofuranos-3-ulosu, která v prostředí vodného etheru poskytuje příslušný diol. Acetylací vzniká enol-acetát 3, jehož stereoselektivní redukcí NaBH_4 v methanolu se získá 1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-gulofuranosa (4).



Sekce: Chemie přírodních látek

Steroidní deriváty biologicky aktivních alkoholů

Autor: Hana Svobodová
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc., Doc. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

Některé z biologicky aktivních látek, jimiž se zabývám, obsahují ve své molekule hydroxylovou skupinu. Její vhodnou derivatizací lze usnadnit transport biologicky aktivní látky fyziologickým prostředím k cílovým receptorům. Výsledné komplexní molekuly se vyznačují změněnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Jako vhodné molekuly pro derivatizaci biologicky aktivních alkoholů jsem použila v přírodě se vyskytující steroidy a jejich deriváty. Za modelový příklad biologicky aktivního alkoholu jsem si vybrala syntetické analogy juvenilních hormonů, tzv. juvenoidy, které ovlivňují morfologii a fyziologii vybraných druhů hmyzu. $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -triformyl- 5β -cholan-24-ová kyselina byla reakcí s oxalychloridem převedena na chlorid kyseliny, který reakcí s biologicky aktivním alkoholem poskytl žádaný ester. Po selektivním odstranění formylových chránících skupin je možná další derivatizace. V této práci jsem se pokusila navázat předem připravený hemisukcinát stigmasterolu převedený na reaktivnější chlorid na hydroxyskupinu v poloze C(3). K identifikaci produktů a meziproductů byly použity analytické metody $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR a MS. Komplexní struktury obsahující vedle žlučových kyselin i fytosteroly představují zcela nový přístup k modifikaci fyzikálně-chemických vlastností biologicky aktivních látek.

Sekce: Chemie přírodních látek

Predikce optické otáčivosti jednoduchých monosacharidů

Autor: Kateřina Tomčáková
Ročník: 4.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Dr. Ing. Ivan Raich

Optická otáčivost se v chemii přírodních látek využívá k charakterizaci chirálních látek a k určení jejich absolutní konfigurace. Tradičně se studium optické otáčivosti rozšířilo u sacharidů kvůli jejich vysokému počtu chirálních center. Studované bicyklické methylethrythofuranosidy s tříčlennými heterocyklickými kruhy byly v solvovaném stavu zoptimalizované na úrovni B3PW91/6-311++G(2d,p). Použitým rozpouštědlem byl chloroform, který byl implementován pomocí solvatačního modelu CPCM. Nalezená minima zastoupených konformerů byla verifikována pomocí frekvenčního výpočtu na stejné úrovni. Populace konformerů, které byly použity pro výpočet optických otáčivostí, se počítaly podle Boltzmannova vztahu. Optické otáčivosti byly počítány s využitím hybridních funkcionalů B3LYP a B3PW91 a bázemi aug-cc-pVTZ, aug-cc-pVDZ a 6-311++G(2d,p). Všechny výpočty byly prováděny v programu Gaussian 03W.

Sekce: Chemie přírodních látek

Studium polyfenolů vybraných rostlin čeledi Apiaceae

Autor: Lucie Vaníčková
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Doc. RNDr. Oldřich Lapčík

Rostliny produkují množství organických látek, které se nezapojují přímo do procesů výstavby struktur a energetického metabolismu. Tyto látky označujeme jako sekundární metabolity. Můžeme je rozdělit do tří hlavních skupin: terpenoidy, alkaloidy a fenylypropanoidy a další fenolické sloučeniny. Jedno z nejvýznamnějších skupin fenolických sloučenin jsou flavonoidy. Významnou podskupinou flavonoidů jsou isoflavonoidy.

V čeledi Apiaceae byly Isoflavonoidy zatím nalezeny pouze v druhu *Bupleurum chinense*. Cílem mé práce je ověřit výskyt isoflavonoidů v širším spektru rostlin čeledi Apiaceae. Semena kmínu kořeného (*Carum cavi*), fenyklu obecného (*Foeniculum vulgare*) a bedrníku anýzu (*Pimpinella anisum*) rozemletá na tříštivém mlýnku byla preextrahována hexanem a poté extrahována 70% methanolem. Extrakty byly podrobeny imunoafinitní chromatografii na sorbentech s protilátkami proti jednoduchým isoflavonoidům, jmenovitě genisteinu, daidzeinu a biochaninu A. Extrakty po imunoafinitní separaci byly analyzovány technikou HPLC-MS.

Sekce: Chemie přírodních látek

Syntéza derivátů monosacharidů s navázaným fluoresceinem

Autor: Petr Vinš
Ročník: 5.
Ústav: Ústav chemie přírodních látek
Školitel: Prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Cílem práce bylo syntetizovat deriváty monosacharidů D-galaktosy a L-fukosy, označené fluoresceinem, navázaným přes raménko tvořené triethylglykolem. Oba hrají roli ve výzkumu specifických receptorů monosacharidů v buněčných membránách. Výchozími látkami byla peracetylovaná D-galaktosa, volná L-fukosa, triethylglykol a isothiokyanát fluoresceinu. Oba cílové produkty byly připraveny šesti kroky.

Práce probíhala na zahraničním pracovišti v rámci programu Erasmus.

