



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2020

19. 11. 2020

SBORNÍK ANOTACÍ

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Organizační tým

FAKULTNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Mgr. Blanka Morchová

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOŘI

319 **Ústav biotechnologie**

doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

320 **Ústav biochemie a mikrobiologie**

doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D., Ing. Michaela Marková, Ph.D.

321 **Ústav sacharidů a cereálií**

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

322 **Ústav mléka, tuků a kosmetiky**

doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

323 **Ústav analýzy potravin a výživy**

Ing. Martina Vlčková

324 **Ústav konzervace potravin**

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

342 **Ústav chemie přírodních látek**

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Ústav biotechnologie (319)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

SEZNAM SEKČÍ

1. [Biotechnologie I](#)
2. [Biotechnologie II](#)
3. [Biotechnologie III](#)
4. [Biotechnologie IV](#)

SPONZOŘI

Lonza

MERCK



Pilzeňský Prazdroj

 **vwr**™
part of avantor

Biotechnologie I

MÍSTO: ONLINE

KOMISE

prof. Dr. Ing. Petra Patáková (předseda)

doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Monika Bartalová](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Frakcionace biologicky aktivních metabolitů aktinomycet pomocí preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie

[Bc. Anna Jelínková](#) (M2, Mgr. Zdeněk Kameník, Ph.D.)

Vývoj LC-MS metody pro analýzu polárních látek s využitím chromatografické kolony s kombinovanými retenčními mechanismy

[Bc. Václav Kubík](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Kultivace sinic v eutrofizovaných vodách

[Bc. Jiří Mach](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Produkce chitináz pro použití jako biopesticidu

[Bc. Lukáš Matura](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Studium vybraných derivátů inhibitoru PF74 pomocí termoforézy

[Bc. Kateřina Mazancová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.)

Biologické aktivity polysacharidů fototrofních mikroorganismů

[Bc. Marek Solanský](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Vývoj probiotického přípravku pro psy z hydrolyzátu vedlejších živočišných produktů

[Bc. Miriama Takáčová](#) (M2, prof. Ing. Jan Páca, DrSc.)

Separace jednobuněčných řas Chlorella vulgaris v průtočném elektroflokačním zařízení

[Bc. Kristýna Šírová](#) (M2, Ing. Michala Piklová)

Produkce bioaktivních látek pro kosmetiku suspenzními kulturami rostlinných buněk

vyhlášení výsledků

Frakcionace biologicky aktivních metabolitů aktinomycet pomocí preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie

Bc. Monika Bartalová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Nové infekčné choroby a liečivá odolné voči viacerým ľudským patogénom sa stávajú hlavnou hrozbou pre globálne zdravie. Bez aktívneho prístupu sa infekčné choroby stanú najčastejšou príčinou úmrtí na celom svete. Preto existuje naliehavá potreba nových antimikrobiálnych látok na boj proti vyvíjajúcim sa bakteriálnym infekciám. Naša práca sa zameriava na štúdium mikrobiálnej produkcie nových špecializovaných metabolitov kmeňmi aktinomycét, ktoré sa budú vyznačovať významnou biologickou aktivitou. Veľkú rolu v tom, aké metabolity budú produkované hrajú kultivačné podmienky a hlavne kultivačné médium. Z testovaných médií sme ako výsledné zvolili dve (MS a BG), ktoré sme použili na kultiváciu vyše 30 jedinečných kmeňov aktinobaktérií, ktoré neboli doposiaľ produkčne charakterizované. Tieto médiá dokázali vytvoriť najlepšie kultivačné prostredie, či už pre rast aktinomycét alebo pre produkciu najrozličnejších metabolitov. Na to, aby sme vyextrahovali maximum látok sme použili HLB a MCX extrakciu. Metabolity v surových extraktoch sme testovali proti 7 klinicky dôležitým patogénnym mikroorganizmom. Extrakty boli spracované LC-MS analýzou a získané dáta vizualizované pomocou molekulárnej siete GNPS.

Vývoj LC-MS metody pro analýzu polárních látek s využitím chromatografické kolony s kombinovanými retenčními mechanismy

Bc. Anna Jelínková (M2)

Školitel: Mgr. Zdeněk Kameník, Ph.D.

Kolony využívající kombinované retenční mechanismy jsou v LC-MS analýze využívány především pro schopnost separace široké škály různě polárních látek v relativně krátkém čase. Této vlastnosti lze využít například v metabolomice, kde je snaha detekovat co největší množství tělních metabolitů bez nutnosti derivatizace. V rámci této práce byla testována využitelnost trimodální kolony Scherzo SS-C18 (Imtakt) a dalších čtyř kolon vhodných pro HILIC chromatografii pro analýzu polárních látek, převážně aminokyselin a neurotransmiterů. V první části práce byly kolony využity při LC-MS analýze souboru 44 vybraných standardů. Tyto standardy byly rovněž separovány metodou chromatografie na reverzní fázi za použití C18 kolony (Waters) a výsledné chromatogramy byly vzájemně porovnány. Z hlediska počtu detekovaných metabolitů, intenzity signálů i tvaru píků byla jako nejvhodnější vyhodnocena kolona Scherzo SS-C18. Následně byly vybrané kolony použity při metabolomické analýze reálných biologických vzorků získaných od žen trpících anorexií, především se snahou nalézt specifické metabolické markery či odlišnosti ve složení metabolomu těchto žen při porovnání s kontrolními vzorky získanými od zdravých jedinců.

Kultivace sinic v eutrofizovaných vodách

Bc. Václav Kubík (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Eutrofizace je proces navyšování obsahu anorganických sloučenin P a N (převážně lidskou činností) v povrchových vodách. Fosfor je zde obvykle limitující prvek pro růst řas a sinic, koncentrace P nad 0,03 mg/l vedou k riziku jejich přemnožení. Motivací pro experimenty bylo zjistit, zda záměrnou kultivací sinice neprodukující toxiny lze snížit koncentraci P ve vodě a předejít tak tvorbě „vodního květu“. Vybrali jsme vláknitou sinici, *T. variabilis* schopnou fixovat N_2 s pomocí specializovaných buněk tzv. heterocyst. Zkoumali jsme nárůst biomasy a spotřebu P v průběhu kultivace v různých médiích, a při různé intenzitě osvětlení. Zjistili jsme, že *T. variabilis* nejlépe roste v médiu s nejvyšším množstvím anorganických solí P a N. Po vyčerpání dusíku v médiu, byla pozorována změna barvy biomasy z modrozelené na oranžovou a tvorba heterocyst. Výsledky kultivace při rozdílných světelných intenzitách ukázaly, že s poklesem intenzity světla klesala rychlost nárůstu biomasy a zpomaloval se pokles koncentrace P v médiu. Spotřeba P měla znaky tzv. luxury phosphorus uptake, kdy ze začátku kultivace byl P spotřebován velice rychle (tvorba nitrobuněčných zásob polyfosfátu) a následoval růst v médiu s minimální koncentrací P a využíváním jeho zásob v buňkách.

Produkce chitináz pro použití jako biopesticidu

Bc. Jiří Mach (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Studium aplikace ekologicky nezávadných biopesticidů je zásadní pro omezení množství používaných chemických postřiků. Jejich hlavní složkou jsou intaktní buňky mikroorganismů nebo pouze biologicky aktivní látky. Významnou roli zde zastávají gramnegativní bakterie patřící do rodu *Pseudomonas*. Jejich význam pro potenciální použití jako biopesticidu spočívá v jejich produkci rozmanité směsi biologicky aktivních látek (antibiotika, pigmenty, enzymy). Aplikací těchto přípravků na obhospodařované pole je možné docílit vyšších výnosů. V rámci první části této práce byla studována závislost chitinázové aktivity na použitém zdroji uhlíku a polyuretanovém nosiči. Ve druhé části byla předmětem zájmu aktivita extracelulárních volných a membránově vázaných chitináz a intracelulárních chitináz. Dle výsledných hodnot chitinázových aktivit byl nejvyšší údaj změřen v případě použití glycerolu, jakožto jediného zdroje uhlíku a energie. Přítomnost polyuretanové pěny jako nosiče biofilmu též pozitivně ovlivnila chitinázovou aktivitu. Po downstream processingu a analýze vzniklých vzorků byly stanoveny dílčí hodnoty celkové chitinázové aktivity vsádky. Biopesticidy mají velký potenciál pro udržení nezbytně intenzivní rostlinné produkce při minimalizaci dopadu zemědělské výroby na životní prostředí.

Studium vybraných derivátů inhibitoru PF74 pomocí termoforézy

Bc. Lukáš Matura (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Virus HIV-1 způsobuje globální pandemii onemocnění Syndromem získané imunitní nedostatečnosti. Ačkoli vědci vyvinuli široké spektrum antiretrovirových léků, eliminace viru nebyla dosud úspěšná. Současná antiretrovirová terapie cílí na retrovirové enzymy kombinací inhibitorů, působící na rannou a pozdní fázi replikačního cyklu viru HIV. I přesto, že tento způsob je velmi účinný a dokáže prodloužit a zlepšit kvalitu života pacienta, je stále virus HIV-1 vážným celosvětovým problémem. Dosud ne zcela prozkoumaným krokem životního cyklu HIV-1 je rozpad kapsidy tedy proteinového obalu, zajišťujícího transport a ochranu genetické informace viru do jádra hostitelské buňky. Naše práce se zaměřuje na inhibitor PF74, u kterého bylo experimentálně potvrzeno, že se úspěšně váže do hexamerního rozhraní N-terminální (NTD) a C-terminální (CTD) domény kapsidového proteinu (CA) HIV-1, tím ho stabilizuje a zamezuje rozpadu kapsidy. Cílem našich experimentů bylo najít vhodnější derivát inhibitoru PF74 s nižší vazebnou konstantou (K_d) než původní inhibitor PF74. Pro tento účel byla zvolena metoda MicroScale Termoforesis (MST), která je založena na principu interakce molekul v teplotním gradientu vyvolané IR laserem. Testovali jsme interakce inhibitorů s CTD CA a se složenými pseudokapsidami HIV-1.

Biologické aktivity polysacharidů fototrofních mikroorganismů

Bc. Kateřina Mazancová (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Jednobuněčné řasy a sinice patří mezi fototrofní organismy. Mikroskopické řasy mají v dnešní době veliký potenciál, jelikož představují kvalitní zdroj živin a vykazují řadu různých aktivit, díky čemu mají využití v mnoha různých oblastech. Tyto aktivit jsou v některých případech přisuzovány polysacharidům, které tvoří podstatnou část jejich biomasy. Hlavním cílem této práce je testování biologických aktivit izolovaných polysacharidů z řas, zejména jejich prebiotického efektu, antimikrobní a antioxidační aktivity. Prvotním cílem je však nalézt vhodnou metodu pro izolaci a purifikaci polysacharidů z řas. Taková metoda by měla poskytovat dostatečné množství izolovaných polysacharidů s co největším stupněm čistoty a zároveň by měla být nenáročná z hlediska ekonomického i časového. Práce je zaměřena na jednobuněčnou sladkovodní řasu *Chlorella vulgaris*, jakožto významného zástupce fototrofních mikroorganismů a k testování byla použita dezintegrovaná forma její biomasy.

Vývoj probiotického přípravku pro psy z hydrolyzátu vedlejších živočišných produktů

Bc. Marek Solanský (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Práce je zaměřena na vývoj komerčního probiotického doplňku stravy pro psy vhodného pro průmyslovou výrobu, která by využívala pevnou frakci enzymového hydrolyzátu zbytku po strojovém oddělení masa (ZSOM) jako levný zdroj dusíku pro mikrobiální růst. V první fázi vývoje byly sérií kultivací ověřovány požadavky na složení média u 11 kmenů psích probiotických mikroorganismů. Poté proběhla druhá série kultivací, při které byl testován růst vybraných kmenů v přítomnosti rozdílně upravované pevné fáze enzymového hydrolyzátu ZSOM. Tento pokus prokázal, že materiál lze efektivně využít jako zdroj dusíku pro růst psích probiotických mikroorganismů, mezi jinými i kmeny *Enterococcus faecium* E1705 (NCIMB 10415) a *E. faecium* E1707, jejichž využití jakožto psích doplňků stravy je již v současné době v EU povoleno. Nakonec bylo optimalizováno množství pevné frakce hydrolyzátu přidávaného do růstového média. Na základě získaných dat bylo navrženo finální růstové médium, které bylo následně využito k výrobě surového probiotického preparátu pro psy. Další vývoj bude zaměřen na určení vhodné metody zvýšení údržnosti preparátu a na testování jeho trvanlivosti.

*Separace jednobuněčných řas *Chlorella vulgaris* v průtočném elektroflokačním zařízení*

Bc. Miriama Takáčová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Cieľom práce bolo stanoviť závislosť účinnosti elektroflokulácie od koncentrácie biomasy rias a od veľkosti elektrického náboja. Ďalej bolo cieľom vykonať elektroflokačné experimenty v prietokovom kanálovom reaktore za rôzne zvolených podmienok, a to pri rozdielnom prietoku vzduchu, prietoku suspenzie a odlišnom elektrickom prúde. Taktiež bol stanovený obsah železa v zozbieranej biomase, prepočítaný na $\text{mg}_{(\text{Fe})}/\text{g}_{(\text{biomasy})}$. V rámci stanovenia závislosti účinnosti elektroflokulácie na koncentrácii biomasy v laboratórnom meradle sa experimentálne potvrdilo, že účinnosť procesu klesá so znižujúcim sa obsahom biomasy. Obsah železa v biomase vo všetkých z týchto experimentov bol prijateľný, čo znamená, že nepresahoval $2,8 \text{ mg}_{(\text{železa})}/\text{g}_{(\text{biomasy})}$ (hodnota vypočítaná z doporučenej dennej dávky železa rias *Chlorella*). Taktiež bolo experimentálne preukázané, že so zväčšujúcim sa elektrickým nábojom rastie aj účinnosť separácie. Pokusy uskutočnené v prietokovom kanálovom reaktore potvrdili, že prietok vzduchu 400 L/hod možno považovať za optimálny. Ďalej bolo potvrdené, že so znižujúcim sa elektrickým prúdom klesá účinnosť elektroflokulácie. Pri rozdielnom prietoku suspenzie sa experimentálne nepotvrdilo žiadne optimum ani priama úmera medzi účinnosťou separácie a prietokom suspenzie.

Produkce bioaktivních látek pro kosmetiku suspensními kulturami rostlinných buněk

Bc. Kristýna Šírová (M2)

Školitel: Ing. Michala Piklová

Následující práce popisuje optimalizaci postupu přípravy suspenzních kultur kmenových buněk rostlin. Konkrétně se jedná o konopí seté (*Cannabis sativa*), meduňku lékařskou (*Melissa officinalis*), levanduli francouzskou (*Levandula stoechas*) a šalvěj lékařskou (*Salvia officinalis*). Dále se tato práce věnuje postupu přípravy extraktů těchto druhů rostlin rostoucích v jejich přirozených podmínkách a následné měření antioxidačních aktivit těchto bylin. Antioxidační aktivita je měřena pomocí metody inhibice stabilního syntetického radikálu DPPH.

Biotechnologie II

MÍSTO: ONLINE

KOMISE

prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc (předseda)

doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Ing. Barbora Branská, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Josef Balák](#) (M2, doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.)

Vliv technologie na analytický profil ovocných destilátů

[Bc. Klevinda Fili](#) (B1, Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.)

*Monitoring the expression of the *lboH* gene of the biosynthetic pathway of ibotenic acid from *Amanita muscaria**

[Bc. Natálie Holmanová](#) (M1, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

*Inhibiční účinky pterostilbenu a amfotericinu B na buněčné populace kvasinek rodu *Candida**

[Bc. Kamila Husarčíková](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Povrchové vlastnosti polyuretanových náplňových materiálů a tvorba biofilmu.

[Bc. Marta Kaliaeva](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Chitinázy a chitinázová aktivita

[Bc. Milan Kočí](#) (M1, doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.)

Antibiofilmové účinky derivátů COSANu

[Bc. Ondřej Kyselý](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

*Faktory ovlivňující produkci žádaných látek u bakterie *Clostridium beijerinckii**

[Bc. Michaela Plechatá](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

*Antimikrobní účinky pigmentů houby *Monascus purpureus**

[Bc. Andrea Vostoupalová](#) (M2, prof. Ing. Alena Čejková, CSc.)

Dipeptidylaminopeptidasa 1 jako cílový enzym pro inhibiční léčiva

vyhlášení výsledků

Vliv technologie na analytický profil ovocných destilátů

Bc. Josef Balák (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.

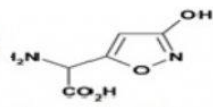
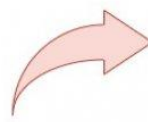
Vliv technologie na analytický profil ovocných destilátů Autor: Bc. Josef Balák
Ročník: M2 Ústav: Biotechnologie Školitel: Doc. Ing. Irena Kolouchová
Ph.D. Konzultant: Doc. Dr. Ing. Marek Doležal, Ing. Vojtěch Ilko Ph.D. Ovocné destiláty jsou alkoholické nápoje vyráběné po celém světě z různých druhů ovoce. Na kvalitu ovocného destilátu mají vliv jednotlivé kroky jeho výroby od výběru surovin, přes podmínky fermentace, způsob vedení destilace až po zrání destilátu. Jelikož jsou organoleptické vlastnosti destilátů důsledkem jejich chemického složení, je možné za účelem podrobnější determinace kvality destilátů provádět chemickou analýzu metodou plynové chromatografie. Cílem práce bylo identifikovat a kvantifikovat co největší množství aromatických látek ve vzorcích destilátů, určit jejich efekt na kvalitu destilátů a poté sledovat vliv jednotlivých výrobních kroků na obsah těchto látek v hotovém nápoji. Sledována byla závislost analytických profilů na použité odrůdě švestek, dále bylo sledováno složení destilátu v průběhu destilace a byl prověřen i vliv zrání na složení destilátů. Identifikace sloučenin byla prováděna pomocí GC-MS a nástřikem laboratorních standardů sloučenin na GC-FID, kvantifikace byla prováděna pomocí GC-FID po předchozí kalibraci laboratorními standardy.

Monitoring the expression of the IboH gene of the biosynthetic pathway of ibotenic acid from Amanita muscaria

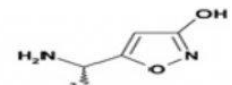
Bc. Klevinda Fili (B1)

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Amanita muscaria, also known as the fly agaric is a basidiomycete of the genus *Amanita*. The history of *Amanita muscaria* is barely credible starting from shamanistic cults, to pharmaceutical laboratories of Europe. Among the active compounds of *Amanita*, the two most important ones are ibotenic acid and muscimol. Muscimol is the most important psychoactive isoxazole from *Amanita muscaria* and related mushrooms and a selective agonist of inotropic receptors for the neurotransmitter γ -aminobutyric acid inhibitors. Muscimol has been the lead compound of the discovery, design and development of important GABA-ergic agents. As a very important metabolite that comes from the decarboxylation of ibotenic acid, recent studies have indicated the pathway of muscimol biosynthesis: starting from the hydroxylation of glutamate catalyzed by IboH, followed by several steps including hydroxylation and adenylation, finished by decarboxylation facilitated by IboD. In this project, we attempt to isolate the correct DNA sequence of the previously characterized IboH hydroxylase, in order to design primers for quantitative PCR, that will allow us to monitor the expression of *IboH* in wild grown *Amanita* caps and mycelia cultures amended with various substances that could increase the production of muscimol.

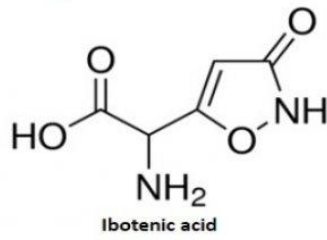
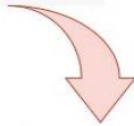


Ibotenic acid

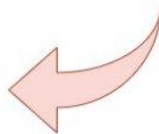
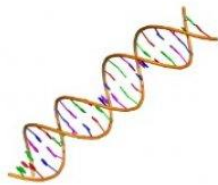
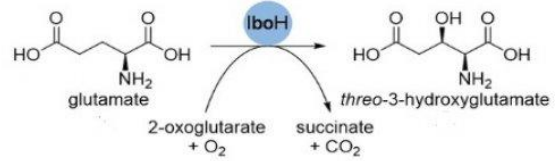
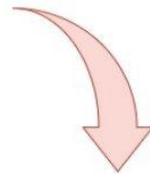


Muscimol

Decarboxylation of Ibotenic acid to muscimol



Ibotenic acid



Inhibiční účinky pterostilbenu a amfotericinu B na buněčné populace kvasinek rodu Candida

Bc. Natálie Holmanová (M1)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Kvasinky rodu *Candida* jsou oportunní patogeny způsobující nebezpečné systémové infekce, které jsou léčeny enormně nefrotoxickým amfotericinem B (AMB). Tato práce je zaměřena na testování antifungálního vlivu pterostilbenu (PTE) na zástupce kvasinek rodu *Candida*, tj. *C. albicans*, *C. krusei* a *C. parapsilosis*. PTE je přírodní polyfenol ze skupiny stilbenů, jehož zdrojem jsou borůvky. Antifungální vlastnosti PTE byly testovány stanovením minimálních inhibičních koncentrací inhibujících suspenzní růst buněk alespoň o 80 % (MIC_{80}) spektrofotometrickým měřením v zařízení Bioscreen C a stanovením minimálních koncentrací inhibujících biofilm alespoň o 80 % ($MBIC_{80}$) pomocí MTT testu. Dále byl testován účinek PTE v kombinaci s AMB za účelem snížení účinné koncentrace tohoto toxického antimykotika. MIC_{80} PTE pro testované kmeny byly stanoveny v rozmezí 5-10 mg/l a $MBIC_{80}$ v rozmezí 30-50 mg/l. PTE působil s AMB aditivně a snižoval jeho účinnou koncentraci až 5x. PTE tedy výrazně inhibuje růst suspenzních buněk i tvorbu biofilmu u všech testovaných kmenů a efektivně snižuje účinnou koncentraci toxického amfotericinu B. I vzhledem k jeho farmakokinetickým vlastnostem by PTE mohl být vhodnou náhradou či doplněním současné antimykotické terapie systémových infekcí způsobených rodem *Candida*.

Povrchové vlastnosti polyuretánových náplňových materiálov a tvorba biofilmu.

Bc. Kamila Husarčíková (M2)

Školiteľ: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Polyuretánové peny sú polymérne materiály, ktoré sú v biotechnologickom priemysle používané ako nosiče mikrobiálneho biofilmu. Potenciál polyuretánových penových nosičov spočíva v tom, že sú zdrojom uhlíka, dusíka a energie pre mikroorganizmy. V experimente boli použité ľahčené biodegradovateľné nosiče na báze polyuretánov. Nosiče boli pripravené vo forme peny na Ústave makromolekulárnej chémie AVČR. Testované typy pien boli dvojakého charakteru : nenapenené peny → TEG, 4EG, 4EG-long, tri-TEG, tri-4EG, DEG, a napenené peny → TEG f, 4EG f, 4EG-long, tri-TEG f, tri-4EG f a DEG f. Mikroorganizmy, ktoré mali tvoriť biofilm na nosičoch boli predstavované eukaryotickou vláknitou plesňou *Fusarium solani* a gramnegatívnou baktériou *Pseudomonas gessardii*. Primárnu adhéziu (prvý krok pri tvorbe biofilmu) je možné predikovať pomocou merania povrchových vlastností (zeta potenciál, kontaktný uhol) nosiča a mikroorganizmov. Slúži k tomu tzv. termodynamický prístup, z ktorého vychádza zložitejšia teória známa pod názvom DLVO. Je to model, a preto je nutné výsledky overiť aj laboratórne.

Chitinázy a chitinázová aktivita

Bc. Marta Kaliaeva (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Tato práce je zaměřená na stanovení enzymové aktivity chitinázy, produkované bakterií *Pseudomonas gessardii* CCM 8663. Ke stanovení chitinázové aktivity je použita fluorometrická metoda. Cílem práce bylo posoudit, pro který z vybraných substrátů (glycerol, ethanol) a induktorů produkce chitináz (chitin, koloidní chitin a odpadní exoskelety krevet) bude nárůst a výsledná chitinázová aktivita nejvyšší. Nejvyšší stanovená hodnota chitinázové aktivity je $0,13 \pm 0,081 \mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{l}^{-1}$ a to je při živění mikroorganismu ethanolem. Nejvyšší stanovená hodnota chitinázové aktivity při použití různých induktorů je $0,347 \pm 0,201 \mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{l}^{-1}$ a to je při použití koloidního chitinu jako induktoru. Dalším úkolem bylo zhodnotit vliv přídavku EDTA z důvodu maskování kationtů důležitých pro chitinázovou aktivitu jako prevence proti jejich vysrážení při autoklávování média a kultivaci *Pseudomonas gessardii* CCM 8663. Přídavek EDTA měl výrazně negativní vliv na růst i aktivitu enzymů a naměřená hodnota chitinázové aktivity je v tomto případě pouze $0,039 \pm 0,066 \mu\text{M}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{l}^{-1}$.

Antibiofilmové účinky derivátů COSANu

Bc. Milan Kočí (M1)

Školitel: doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.

Vzrůstajícím problémem ve zdravotnictví je výskyt mikroorganismů schopných odolávat běžným antibiotikům. Nově poznáním jevem, který k jejich odolnosti nemalou měrou přispívá, je schopnost některých těchto patogenů tvořit biofilm, tedy shluk buněk imobilizovaných (na biologickém či syntetickém povrchu) uvnitř extracelulární polymerní substance, jež jim poskytuje značnou ochranu proti hostitelskému imunitnímu systému a až 1000x zvyšuje účinné koncentrace antibiotik. Cílem tedy je najít takové terapeutikum, které nejen bude schopno zajistit účinnou eradikaci těchto mikroorganismů při koncentracích v hostitelských kompartmentech obvyklých pro běžná antibiotika, ale také působit stejně účinně vůči jejich biofilmům. S tímto záměrem jsme se v této práci rozhodli studovat vliv derivátů karboranového sendvičového komplexu kobalt bis-1,2-dikarbollidu (COSANu) na suspenzní kultury i biofilmy vybraných kmenů oportunně patogenní grampozitivní bakterie *Staphylococcus epidermidis*. Testované deriváty vykazovaly velmi slibné účinky na obě formy růstu *S. epidermidis*, což dokládá velký potenciál COSANu v budoucí léčbě těchto obtížných infekcí.

Faktory ovlivňující produkci žádaných látek u bakterie Clostridium beijerinckii

Bc. Ondřej Kyselý (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Některé druhy bakterií rodu *Clostridium* jsou schopny tvořit rozpouštědla během takzvané aceton-butanol-etanolové (ABE) fermentace. ABE fermentace je dvoufázový proces, při kterém se nejprve tvoří kyseliny, zejména máselná a octová. Následně tvorba rozpouštědel pravděpodobně napomáhá ke snížení metabolického stresu tím, že vytvořené kyseliny se přeměňují na rozpouštědla a tím se zvyšuje pH v médiu. Tyto rozpouštědla, především pak butanol, mají různá využití v průmyslu. Aby byla průmyslová výroba biobutanolu cenově konkurenceschopná, je potřeba snížit náklady na suroviny, které tvoří až 50 % nákladů celého procesu. Cesta, jak toho dosáhnout může být využití odpadních lignocelulosových materiálů.. V této práci byla kultivována bakterie *Clostridium beijerinckii* NRRL B-598 v P2 médiu s glukosou/xylosou nebo oběma sacharidy zároveň. Také byl pozorován vliv přídavku uhličitanu vápenatého, který měl zabránit jevu tzv. acid crash, který vede k částečnému nebo úplnému potlačení solvenogeneze. Nejvyšší koncentrace butanolu 3,41 +- 0,42 g/l byla dosažena při použití média obsahující oba sacharidy a také 10 g/l uhličitanu vápenatého.

*Antimikrobní účinky pigmentů houby *Monascus purpureus**

Bc. Michaela Plechatá (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Monascus purpureus je druh vřeckovýtrusné houby. Rod *Monascus* je známý produkcí široké škály polyketidových pigmentů, které jsou žluté, oranžové a červené. Tyto pigmenty jsou předmětem mnohých studií díky svým biologickým aktivitám. Přisuzují se jim hypolipidemické, protirakovinné a antimikrobní účinky. Tato práce byla zaměřena na zkoumání antimikrobních účinků extraktů obsahujících dané pigmenty. Prvním krokem byla submerzní kultivace *M. purpureus*, a následný zisk etanolových extraktů z mycelia houby. Po stanovení obsahu pigmentů v extraktech pomocí UHPLC, probíhalo testování antimikrobní aktivity, agarovou difúzní metodou nebo v zařízení Bioscreen, vůči sporotvorným bakteriím *Clostridium beijerinckii* a *Bacillus subtilis*. Sledoval se vliv přítomnosti extraktů na klíčení spor a růst vegetativních buněk. Bohužel zvolené extrakční činidlo, 75% vodný roztok etanolu o pH 2, které brání reakci oranžových pigmentů se sloučeninami, obsahujícím primární amino skupinu během extrakce, není pro testování antimikrobní aktivity vhodné. V další práci bude využíván 75% vodný roztok etanolu s neupraveným pH a bude testován antimikrobní účinek pouze žlutých a červených pigmentů.

Dipeptidylaminopeptidasa 1 jako cílový enzym pro inhibiční léčiva

Bc. Andrea Vostoupalová (M2)

Školitel: prof. Ing. Alena Čejková, CSc.

Dipeptidylaminopeptidasa 1 (DPP1) je lysozomální proteasa účastnící se intracelulárního odbourávání proteinů. Má exopeptidasovou aktivitu a odštěpuje dipeptidy z N-konce proteinového nebo peptidového substrátu. Tato práce se zabývá lidskou DPP1 a parazitární DPP1 z krevničky střešní (*Schistosoma mansoni*). (1) Lidská DPP1 hraje důležitou roli při aktivaci protizánětlivých serinových proteas imunitních buněk; její inhibitory jsou vyvíjeny jako potenciální léčiva autoimunitních onemocnění. Byla purifikována z lidských placent podle navrženého schématu s několika chromatografickými kroky. Získaný materiál byl charakterizován měřením enzymové aktivity a analýzou proteinové sekvence. (2) Schistosomální DPP1 je důležitým trávicím enzymem krevničky a představuje cílovou molekulu pro nový typ antiparazitárních léčiv na bázi inhibitorů. Byla připravena jako rekombinantní protein v expresním systému bakterie *Escherichia coli* a prvoka *Leishmania tarantolae*. Lidská a schistosomální DPP1 bude v další fázi projektu použita pro studium inhibiční specifity a navrhování inhibitorů.

Biotechnologie III

MÍSTO: ONLINE

KOMISE

prof. Ing. Alena Čejková, CSc (předseda)

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Ing. Alžběta Dostálková

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Kateřina Heřmanová](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Vliv furfuralu na fyziologii a produkční charakteristiky kmene Clostridium beijerinckii NRRL B-598

[Bc. Marina Kapisheva](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Interaction of C protein with selected segments of Dengue genomic RNA

[Bc. Eva Lakomá](#) (M2, doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.)

Vliv rostlinných extraktů na fyziologický stav a obsah antioxidantů Vitis vinifera

[Bc. Kateřina Litvanová](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Vliv infekce na kvalitu sladu způsobené rodem Fusarium a její potlačení

[Bc. Marie Pichová](#) (M2, doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D.)

Prebiotické účinky biotechnologicky produkováných mikrořas a jejich extraktů

[Bc. Anežka Rajmonová](#) (M2, Mgr. Jan Weber, CSc.)

Role RNA helikáz v životním cyklu viru HIV-1

[Bc. František Szilvási](#) (M2, doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.)

Vliv technologie na senzorický profil ovocných destilátů

[Bc. Kateřina Trávníčková](#) (M2, doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.)

Pterostilben jako potenciální léčivo s antifungálním účinkem na Candida albicans

[Bc. Michaela Ševčíková](#) (M1, Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.)

Produkce rajčatové nukleasy TBN1 v saprotrfní houbě

vyhlášení výsledků

Vliv furfuralu na fyziologii a produkční charakteristiky kmene Clostridium beijerinckii NRRL B-598

Bc. Kateřina Heřmanová (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Cílem této práce bylo zkoumat vliv furfuralu na fyziologii a produkční charakteristiky kmene *Clostridium beijerinckii* NRRL B-598. Tato bakterie může být využívána k produkci rozpouštědel v procesu známém jako aceton-butanol-ethanolová fermentace. Produkce je ale negativně ovlivněna inhibičními látkami, vznikajícími při předúpravě lignocelulózy, levného a obnovitelného odpadního substrátu. Mezi tyto inhibiční látky patří i furfural. Kultivační testy ukázaly, že forma inhibičního účinku je závislá nejen na koncentraci přidaného furfuralu, ale také na provedení a uspořádání vlastního testu. Pozorována byla jak inhibice, tak stimulace růstu, solventogeneze či sporulace. Pro lepší porozumění těmto účinkům se bude další výzkum zaměřovat na to, jak furfural ovlivňuje expresi vybraných genů *C. beijerinckii* NRRL B-598.

Interaction of C protein with selected segments of Dengue genomic RNA

Bc. Marina Kapisheva (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Dengue virus (DENV) is a small, enveloped virus that is a member of the genus *Flavivirus*. It is a mosquito-borne pathogen that causes dengue fever, dengue hemorrhagic fever (DHF), and life-threatening dengue shock syndrome (DSS). DENV represents a major emerging threat, which impacts the lives of millions of individuals and potentially could affect non-endemic areas. To this day, targeted treatment has not been established yet. Detail understanding of various steps of the flavivirus life cycle could lead to a better understanding and discovery of potential antiviral drugs. One of the critical steps of DENV replication cycle represents the incorporation of viral genomic RNA into assembling nucleocapsid core. Although the precise mechanism of these steps is not known, DENV capsid protein (C), one of the three DENV structural proteins (C, prM, and E), plays an important role in both these processes: viral genomic RNA packaging and nucleocapsid core formation. Studying the mechanism of genome recognition and packaging can help discover new anti-flaviviral drugs. Using a combination of methods such as fluorescence anisotropy and microscale thermophoresis (MST), we studied the interactions between DENV C protein and selected segments of viral genomic RNA and determined their specificity.

Vliv rostlinných extraktů na fyziologický stav a obsah antioxidantů Vitis vinifera

Bc. Eva Lakomá (M2)

Školitel: doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.

Vinohradnictví se v posledních letech setkává s problémy způsobenými změnami klimatu. Vinná réva (*Vitis vinifera*) zápasí převážně s nadměrným suchem, které se pojí s vyvíjením stresu na rostlinu. Jeden ze způsobů, jakými se vinaři snaží zvládnout náchylnost *Vitis vinifera* ke stresu je zahrnutí postupů které jsou součástí ekologického vinohradnictví. Tato forma spravování vinice rovněž splňuje dnešní požadavky společnosti na udržitelnější varianty zemědělství převážně tím, že oproti konvenčnímu způsobu využívá postupy šetrnější k přírodě. Součástí principů ekologického vinohradnictví je používání přírodních extraktů z rostlin ke stimulaci růstu a ovlivnění obsahu antioxidantů, což jsou látky produkovány rostlinami jako reakce na stres. Cílem této studie bylo zhodnotit a porovnat vliv postřiků na bázi přírodních extraktů na obsah polyfenolů a antioxidantů v třapínách a letorostech *Vitis vinifera* z vinic vedených ekologicky s vinicemi vedenými konvenčním způsobem.

Vliv infekce na kvalitu sladu způsobené rodem *Fusarium* a její potlačení

Bc. Kateřina Litvanová (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Plísňová kontaminace je vážný problém pro kvalitu ječmene a sladu, a proto jsou využívány různé metody ochrany. Některé metody však mají své nevýhody, jako je přítomnost chemických reziduí po ošetření, vyšší náklady na použití, jež mohou poškodit zrna, a proto je kladen důraz na použití biologické ochrany, která nezatěžuje životní prostředí. Jednou z variant by mohlo být použití *Pythium oligandrum*, což je dobře známý parazit napadající vláknité plísně včetně zástupců rodu *Fusarium*, které jsou jedni z nejčastějších kontaminantů ječmene a produkují mnoho mykotoxinů. Předmětem práce byla identifikace dominantního zástupce plísně rodu *Fusarium*, jimiž byly infikovány vzorky ozimého ječmene. *Fusarium culmorum* bylo identifikováno jako dominantní DON-produkující plíseň v kontaminovaných vzorcích. Dále byl zkoumán vliv druhu *Pythium oligandrum* na množství plísně *F. culmorum*. *Pythium oligandrum* bylo přidáno během několika stádií procesu sladování, po jeho přidání byl zaznamenán pokles *F. culmorum* ve všech stádiích. Také řadě byl zkoumán vliv *Pythium oligandrum* na množství vybraných mykotoxinů. Z předběžných výsledků převažoval pokles, avšak z důvodu nízkých koncentrací mykotoxinů nemohl být pozorován trend, proto bude experiment opakován s použitím více kontaminovaného jarního ječmene.

Prebiotické účinky biotechnologicky produkovanych mikrořas a jejich extraktů

Bc. Marie Pichová (M2)

Školitel: doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D.

Mikrořasy jsou mikroskopické, často autotrofní fotosyntetické organismy. Jedná se o jednu z nejstarších forem života na zemi. Díky různým specifickým mechanismům jsou schopny přežít i v nepříznivých a extrémních podmínkách. Mikrořasy se vyznačují vysokým obsahem velice prospěšných, biologicky aktivních látek, které lze využít jako prebiotikum nebo probiotikum. Obecně lze říci, že produkty z mikrořas přispívají k zlepšení rovnováhy střevní mikroflóry, zlepšují imunitu a poskytují ochranu organismu. V této práci bylo cílem připravit extrakty vybraných mikrořas a rostlin a následně pozorování prebiotického vlivu extraktů na kožní bakterii *Staphylococcus epidermidis* 3072, která zajišťuje přirozenou ochranu naší pokožce. Pomocí Bioscreenu C byla měřena růstová křivka *Staphylococcus epidermidis* 3072 s přidavkem extraktů jedné či více řas. Byl pozorován inhibiční či pozitivní vliv na růst bakterie. U převážné většiny extraktů byl pozorován pozitivní vliv na růst bakterie. Velmi zajímavý výsledek byl získán při použití extraktů řas *Dictyosphaerium chlorelloides* a *Porphyridium purpureum* CCALA 416. Tyto dvě řasy, ze zkoumaných řas, jako jediné obsahují velké množství polysacharidů a lze tedy předpokládat, že polysacharidy mohou určitou mírou zvýhodňovat růst *S. epidermidis* 3072.

Role RNA helikáz v životním cyklu viru HIV-1

Bc. Anežka Rajmonová (M2)

Školitel: Mgr. Jan Weber, CSc.

HIV-1 je retovirus, který napadá buňky imunitního systému, čímž způsobuje onemocnění AIDS neboli syndrom získané imunodeficiency. Po vstupu viru do buňky dochází k reverzní transkripci virového RNA genomu a vzniklá DNA je poté integrována do genomu hostitelské buňky. Následně se uvolňují neinfekční viriony, které se po maturaci stávají infekčními. Při maturaci dochází ke vzniku virového core tvořeného kapsidovým proteinem, které obaluje virovou genomovou RNA a je nezbytné pro infektivitu viru. Cílem naší práce je výzkum buněčných interakčních partnerů kapsidového proteinu, který tvoří core HIV-1, v časně fázi životního cyklu viru. Získané informace budou využity ke stanovení potenciálního cíle pro retrovirovou terapii. Na základě předběžných experimentů bylo hmotnostní spektrometrií identifikováno množství interakčních buněčných partnerů kapsidového proteinu, mezi kterými byla mimo jiné skupina enzymů zvaných RNA helikázy. Tři z těchto helikáz, a sice DDX1, DDX3 a DHX9, byly vybrány pro následnou detailnější studii jejich role v životním cyklu HIV-1. Z dosavadních výsledků lze usuzovat, že úroveň exprese zmíněných helikáz v buňce ovlivňuje reprodukční schopnosti viru, ale přímá interakce studovaných helikáz s kapsidovým proteinem bude teprve ověřena následnými experimenty.

Vliv technologie na senzorický profil ovocných destilátů

Bc. František Szilvási (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.

Ovocné destiláty patří mezi nejoblíbenější lihoviny vyrobené z ovoce. Proces výroby těchto destilátů závisí na kvalitě vstupního ovoce, zkušenostech výrobce při vedení fermentace a destilace a koncové harmonizaci destilátu v průběhu jeho zrání. Během fermentace dochází činností mikroorganismů k tvorbě senzoricky aktivních látek a činností kvasinek k tvorbě ethanolu. Destilací se posléze dosáhne zakoncentrování ethanolu a aromatických látek přítomných v ovoci nebo vznikajících během fermentace. Při zrání dochází v destilátech ke sledu chemických reakcí, během kterých se harmonizuje chuť a vůně destilátu. Druhy ovoce a metody produkce těchto destilátů mají velký význam pro kvalitu konečného produktu. Z tohoto důvodu se producenti snaží zapojit do procesu výroby moderní metody analýzy ke stanovení složení těkavých a netěkavých látek v destilátech a analytické výsledky propojit se senzorickým hodnocením. Tím dochází k objevování korelací mezi preferenční senzorickou kvalitou a složením destilátu. Cílem práce byla analýza vzorků ovocných destilátů vyrobených ze švestek lišících se odrůdou, místem původu a dobou zrání prostřednictvím GC-MS a GC-FID, následovaná senzorickým hodnocením za účelem hledání spojitostí mezi složením destilátu a jeho senzorickými vlastnostmi.

Pterostilben jako potenciální léčivo s antifungálním účinkem na Candida albicans

Bc. Kateřina Trávníčková (M2)

Školitel: doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.

Kvasinky rodu *Candida* patří mezi oportunně patogenní organismy, způsobující vážná onemocnění, zejména u imunokompromitovaných pacientů. Vzniklá onemocnění (kandidózy) jsou obtížně léčitelná kvůli zvyšující se rezistenci těchto kvasinek vůči běžným antibiotikům. Vhodnou alternativní léčbou by mohla být přírodní látka pterostilben (PTE) se slibnými farmakologickými účinky. Byly stanoveny minimální inhibiční koncentrace (MIC_{80}) PTE spolu s antifungálními azoly klotrimazolem (CLT) a flukonazolem (FLC) u čtyř kmenů klinických izolátů *Candida albicans*. Dále byl studován vliv těchto látek na metabolickou aktivitu buněk biofilmu a také celkový obsah biomasy biofilmu. MIC_{80} PTE pro *C. albicans* byly nalezeny v rozmezí 60-70 μM , zatímco FLC byl zcela neúčinný ($MIC_{80} > 400 \mu M$). Kombinací PTE a CLT bylo dosaženo synergického působení u kmene *C. albicans* OL-1 při koncentraci 24 μM PTE s 0,313 μM CLT. V případě studia vlivu PTE na biofilm byly minimální koncentrace inhibující tvorbu biofilmu o 50 % ($MBIC_{50}$) u tří kmenů (*C. albicans* 10231, *C. albicans* M-1 a *C. albicans* OL-1) nalezeny při první použité koncentraci 0,2 μM , na rozdíl od antibiotik. PTE je tedy vhodnou antifungální látkou s antibiofilmovým účinkem a lze očekávat, že bude dále studován jako potenciální alternativní léčba kandidóz.

Produkce rajčatové nukleasy TBN1 v saprotrfní houbě

Bc. Michaela Ševčíková (M1)

Školitel: Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

Má práce se soustředí na transformaci saprotrfní houby *Coprinellus bisporus* genem pro rostlinnou nukleasu TBN1 z rajčete (*Solanum lycopersicum*). Transformace je prováděna pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Dále se práce soustřeďuje na vliv různých experimentálních podmínek na tuto transformaci, mezi zkoumané podmínky patří vliv koncentrace Acetosyringonu, množství buněk *A. tumefaciens* přidaných k houbovým myceliím, teploty při kokultivaci *A. tumefaciens* s houbovými mycelii a vliv doby kokultivace.

Biotechnologie IV

MÍSTO: ONLINE

KOMISE

prof. Ing. Karel Melzoch, CSc (předseda)

doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Matěj Danda](#) (M2, doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

In vitro skládání kapsidového proteinu viru klíšťové encefalitidy s využitím chimerních konstruktů

[Bc. Mária Dujčíková](#) (M2, doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D.)

Izolácia kyseliny dokosahehexaenovej z biotechnologicky produkovanej kultúry mikrorias

[Bc. Kristýna Hartlová](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Vizualizace vlivu kobalt bis(dikarbolidu) a pterostilbenu na tvorbu biofilmu S. epidermidis

[Bc. Rudolf Jung](#) (M2, Ing. Marcel Karabín, Ph.D.)

Vývoj metody pro stanovení charakteristických markerů v nakuřovaných sladech

[Bc. Zuzana Pokorná](#) (M2, prof. Ing. Jan Páca, DrSc.)

Vývoj a testování prototypu plovoucího fotobioreaktoru v laboratorním měřítku

[Bc. Natálie Slánková](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Analýza sekundárních metabolitů produkovaných houbou Monascus

[Martina Talabajová](#) (M2, doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.)

Vplyv technologických postupov na obsah polyfenolov v bielych vínach

[Bc Martin Zámečník](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Využití polystyrenových mikročástic v procesu flokulace jednobuněčných řas

[Bc. Marek Šíp](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Vliv inhibitorů, vznikajících při hydrolýze lignocelulózových odpadů, na produkci rozpouštědel pomocí klostridií

vyhlášení výsledků

In vitro skládání kapsidového proteinu viru klíšťové encefalitidy s využitím chimerních konstruktů

Bc. Matěj Danda (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Klíšťová encefalitida je jedním z nejvýznamnějších neurologických onemocnění, pro jehož léčbu neexistují specifická léčiva. Antivirotika mohou být zacílena na inhibici virového enzymu, či na inhibici jednoho z procesů v životním cyklu, kterým může být například vbalování virové RNA a skládání nukleokapsidy. Pro složení viru klíšťové encefalitidy (TBEV) je však nutná asociace C proteinů s membránou endoplazmatického retikula, jenž je virem využívána jako platforma pro organizované složení nukleokapsidy. Proces tedy nelze replikovat *in vitro* pro testování inhibitorů skládání. Retroviry, jako jsou například HIV-1 či MPMV, na rozdíl od TBEV využívají při tvorbě nukleokapsidy protein-protein interakcí virových kapsidových proteinů (CA), čímž vytváří laterální mřížku, která umožňuje skládání retrovirů za podmínek *in vitro*. S využitím chimerních konstruktů, které jsou tvořeny CA proteinem retroviru a C proteinem TBEV, může být dosaženo organizovaného složení C proteinů TBEV pomocí principu retrovirového skládání, čehož lze využít při studiu vbalování virové RNA a testování inhibitorů tohoto procesu. Cílem této práce je zavedení a optimalizace metody pro skládání C proteinu TBEV, která by mohla vést k novému přístupu při hledání léčiv na klíšťovou encefalitidu.

Izolácia kyseliny dokosaheptaenovej z biotechnologicky produkovanej kultúry mikrorias

Bc. Mária Dujčíková (M2)

Školiteľ: doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D.

Experiment je zameraný na izoláciu kyseliny dokosaheptaenovej (DHA) z biotechnologicky produkovanej kultúry mikrorias. Ako produkčný mikroorganizmus bol použitý kmeň *Schizochytrium limacinum* CO3H, ktorý je známy vysokým obsahom DHA. Získavanie oleja z mikrorias sa rozdeľuje do niekoľkých krokov, kedy v prvom kroku dochádza ku kultivácii riasy, za účelom získania mokrej biomasy. V experimente sa používa vlhká biomasa, aby sa predišlo sušeniu, ktoré predstavuje vysoké náklady na spracovanie. Hlavným cieľom práce je optimalizovanie procesu izolácie DHA s použitím jednostupňového procesu, ktoré môže vyriešiť obmedzenia spojené s vysokými nákladmi. V procese priamej transesterifikácie dochádza ku kombinácii kroku extrakcie oleja s transesterifikáciou, čo zlepšuje celkovú ekonomiku výrobného procesu. Úspech procesu priamej transesterifikácie oleja z mokrých rias možno pripísať použitiu vhodných reakčných podmienok. Bol zisťovaný vplyv podmienok spojenej transesterifikácie a extrakcie na výťažky oleja vrátane DHA a na výťažky DHA v oleji.

*Vizualizace vlivu kobalt bis(dikarbolidu) a pterostilbenu na tvorbu biofilmu *S. epidermidis**

Bc. Kristýna Hartlová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Patogenní zástupci rodu *Staphylococcus* jsou schopní tvořit velmi stabilní biofilm i na abiotickém povrchu (např. kloubní náhrady nebo urinární katetry), pomocí něhož jsou odolnější vůči stresovým podmínkám, antibiotikům nebo imunitnímu systému. Léčba takovéto formy infekce je pak velmi komplikovaná. Z těchto důvodů jsou studovány látky, které by sloužily jako alternativa antibiotik. Takovými látkami by mohly být anorganické látky (kobalt bis-1,2-dikarbolidu (SK-1)) nebo látky přírodního původu (pterostilben (PTE)). V předložené práci byl sledován vliv samostatných biologicky aktivních látek (erythromycin (ERM), vankomycin, SK-1, jeho aminoderivát SK-5 a PTE) a jejich kombinací na tvorbu biofilmu bakterie *Staphylococcus epidermidis* DBM 3179 na žetonech ze slitiny Ti6-AL4-V. Byl stanoven jejich vliv na celkové množství biomasy a metabolickou aktivitu buněk biofilmu. Biofilm byl vizualizován fluorescenční a skenovací elektronovou mikroskopií. Kombinace ERM (1 mg/l) s SK-1 (1 mg/l) nebo SK-5 (5 mg/l) mají vysoký inhibiční účinek na metabolickou aktivitu buněk biofilmu (inhibice o cca 80 %). LIVE/DEAD barvení ukázalo, že většina buněk biofilmu je účinkem této kombinace usmrcena. Z provedených experimentů se SK-1 jeví jako vhodný kandidát pro další testování.

Vývoj metody pro stanovení charakteristických markerů v nakuřovaných sladech

Bc. Rudolf Jung (M2)

Školitel: Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

Nakuřované slady, které jsou využívány při výrobě alkoholických nápojů, jsou vyhledávány pro své specifické kouřové a uzené aroma, způsobené především těkavými fenoly. Tyto látky, vznikající termickou degradací ligninu, konkrétně z p-kumarylalkoholu (prekurzor fenolů), koniferylalkoholu (prekurzor guajakolů) a sinapylalkoholu (prekurzor syringolů), byly v této práci izolovány vodnou extrakcí z rozemletého sladu a následně analyzovány pomocí HS-SPME v kombinaci s GC-MS. Pro tuto metodu byla stanovena opakovatelnost pro 10 stanovení, vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou, jejíž hodnoty se pohybovaly v rozmezí 2-10 % s výjimkou ethylguajakolu, jehož odchylka byla přes 12 %. U šesti komerčně dostupných sladů bylo prokázáno, že obsah markerů nakuřování je ovlivněn typem spalovaného materiálu (dřevo, rašelina), úpravou těchto materiálů a technologií nakuřování. V další fázi bylo zjištěno, že extrakce látek ze sladu je ovlivňována pH, teplotou a délkou izolace látek ze sladu. Tyto parametry budou v budoucnu využity pro optimalizaci metody prostřednictvím modelu CCD (Central Composite Design) a výsledná metoda bude aplikována i pro stanovení markerů nakuřování v meziproduktech výroby nakuřovaného piva.

Vývoj a testování prototypu plovoucího fotobioreaktoru v laboratorním měřítku

Bc. Zuzana Pokorná (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Páca, DrSc.

Táto práca sa zaoberá návrhom plávajúceho fotobioreaktora v laboratórnej mierke odstraňujúceho fosfor v eutrofizovaných vodách. Ďalším cieľom práce je overenie hypotetickej možnosti znižovania obsahu fosforu cielenou kultiváciou vhodného fotoautotrofného mikroorganizmu vo vode po hranicu eutrofie. Pri experimentálnom overení bola použitá vláknitá cyanobaktéria *Trichormus variabilis*, ktorá neprodukuje toxíny. Ide o sladkovodnú, vláknitú, modrozelenú riasu, schopnú fixovať vzdušný dusík, ktorá môže rásť v širokom rozmedzí teplôt a svetelných podmienok. Tieto vlastnosti z nej robia vhodný mikroorganizmus pre rast v premenlivých podmienkach. Časť práce je ďalej venovaná výberu vhodného materiálu pre kľúčový prvok plávajúceho fotobioreaktora – separačnú priehradku (polopriepustné dno). Pre tento účel boli použité sieťky z nehrdzavejúcej ocele s rôznou veľkosťou otvorov. Kultúry prosperovali a aktívne spotrebovávali fosfor dodaný v médiu. Pokles fosforu rástol so zväčšujúcimi sa otvormi použitej sieťky. Gravimetricky bol stanovený najvyšší nárast biomasy 0,48g/l po 12 dňoch. Výsledky experimentu budú vhodným podkladom pre nadväzujúci výskum v tejto oblasti.

*Analýza sekundárních metabolitů produkovaných houbou *Monascus**

Bc. Natálie Slánková (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Zástupci rodu *Monascus* byli v asijských zemích už od nepaměti využíváni pro přípravu fermentovaných potravin, výrobě potravinových aditiv a jsou využíváni i v tradiční čínské medicíně. Houba *Monascus* je známá pro své typicky červeně zbarvené mycelium a produkci mnoha různých skupin sekundárních metabolitů. Nejvýznamnější skupinu tvoří polyketidové pigmenty, které mají vysoký potenciál nahradit syntetické pigmenty využívané v potravinářství. Dalším významným produkovaným metabolitem je monakolin K, který přispívá ke snižování hladiny cholesterolu v krvi. Nežádoucí bývá častá produkce mykotoxinu citrininu. Hlavním cílem této práce je nalezení vhodných extrakčních podmínek umožňujících extrakci sledovaných sekundárních metabolitů (monakolinu K, žlutých a oranžových pigmentů, citrininu) při zachování jejich struktury. Zároveň je potřeba najít takové podmínky, aby složení extraktu odráželo skutečné zastoupení látek v myceliu. Vzorky mycelia *Monascus purpureus* byly extrahovány několika extrakčními činidly s různou hodnotou pH a odlišným obsahem etanolu. Nejvyšší obsah všech analyzovaných látek byl získán extrakcí okyseleným 70% etanolem, což byla zároveň nejvyšší testovaná koncentrace, proto bude v dalších experimentech sledován vliv zvyšující se koncentrace na extrakční účinnost.

Vplyv technologických postupov na obsah polyfenolov v bielych vínach

Martina Talabajová (M2)

Školiteľ: doc. Ing. Irena Kolouchová, Ph.D.

Priaznivé účinky vína na ľudské zdravie, najmä v dôsledku prítomnosti fenolových zlúčenín a antioxidantov, sú dobre známe. Keďže dopyt trhu po kvalitných vínach sa čoraz viac zvyšuje, výrobcovia sa snažia inovovať technologické postupy a zvýšiť vo vínach obsah polyfenolových antioxidantov. Konečné zloženie fenolových zlúčenín vo víne závisí od odrody a zrelosti hrozna, faktorov prostredia, extrakčných parametrov, technológie výroby vína, ako aj od chemických reakcií, ktoré prebiehajú počas starnutia vína. Vhodnou kombináciou týchto procesov môže dôjsť k zvýšeniu obsahu polyfenolov a teda aj k zvýšeniu antioxidačnej aktivity vín. Cieľom štúdie bolo zhodnotiť a porovnať vplyv jednotlivých inovovaných technologických postupov pri výrobe bielych vín s ohľadom na zachovanie čo možno najvyššieho obsahu týchto látok z pôvodnej suroviny.

Využití polystyrenových mikročastic v procesu flokulace jednobuněčných řas

Bc Martin Zámečník (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Při sklizení jednobuněčných řas se v dnešní době používá spousta zařízení náročných na počáteční i provozní náklady. Proces flokulace, který se používá ke snížení objemu kapaliny určeného ke zpracování, může sklizení řas výrazně zlevnit, čímž nebude potřeba tak drahého provozu zařízení pro separaci biomasy. Flokulanty se v dnešní době již používají, nicméně jsou drahé a ztěžka se dají regenerovat. Polystyrenové mikročastice skýtají možnost levného a účinného flokulantu, který usnadní agregaci řasových buněk. Pro tuto práci byla použita řasa *Chlorella vulgaris* CCALA 256. Cílem práce bylo zjistit, za jakých podmínek (pH, frekvence otáčení míchadla) je proces flokulace řas nejúčinnější. Byly použity suspenze mikročastic A a B, přičemž se částice lišily svou velikostí. Dávky suspenze mikročastic se vyznačovaly stejným počtem částic A i B. Flokulace byla prováděna v rozmezí pH 3–7. Nejvyšší účinnosti procesu bylo dosaženo při pH 4 a 5, a to až 99 %. Budoucím potenciálem této práce je použití polystyrenových mikročastic s magnetickým jádrem, pro jejich jednoduchou separaci od biomasy, a povrchové modifikace materiálu, které pozitivně ovlivní účinnost při snižování dávky.

Vliv inhibitorů, vznikajících při hydrolýze lignocelulózových odpadů, na produkci rozpouštědel pomocí klostridií

Bc. Marek Šíp (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Solventogenní klostridie, jsou skupinou důležitých průmyslových mikroorganismů díky své schopnosti syntetizovat různé chemické sloučeniny a schopnosti využít širokou škálu sacharidů. V současnosti je v centru pozornosti využití lignocelulózových odpadů, které však jsou využitelné klostridiemi až po hydrolýze. Kromě žádoucího uvolnění fermentovatelných sacharidů dochází při hydrolýze i k tvorbě toxických látek, inhibitorů, jak z celulózy a hemicelulózy (např. furfural), tak z ligninu (např. kyselina ferulová, syringaldehyd). V této práci byl sledován vliv kyseliny ferulové, syringaldehydu a furfuralu na růst, sporulaci a tvorbu rozpouštědel u kmene *Clostridium beijerinckii* NRRL B-598. Vybraný kmen byl kultivován v bioreaktorech, přičemž inhibitory byly přidávány jednorázově nebo postupně. Postupné přidávání inhibitorů vedlo ve všech případech k lepšímu růstu a dosažení vyšší koncentrace butanolu. Veškeré množství furfuralu a kyseliny ferulové byly při kultivaci zcela spotřebovány. Nejlepšího růstu (OD 5,9) i nejvyšší koncentrace butanolu (7,0 g/l) bylo dosaženo při kultivaci kmene *C. beijerinckii* v přítomnosti kyseliny ferulové. V přítomnosti syringaldehydu došlo k nejvyšší inhibici růstu a nejnižší produkci butanolu.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Bioanalytické metody I](#)
2. [Bioanalytické metody II](#)
3. [Enzymologie](#)
4. [Interakce v biologických systémech](#)
5. [Klinická biochemie](#)
6. [Molekulární biologie a biochemie I](#)
7. [Molekulární biologie a biochemie II](#)

Bioanalytické metody I

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D. (předseda)

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Radovan Bakalář](#) (M2, prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.)

Stanovenie 3-nitrotyrosinu (a 3-chlortyrosinu) v plazme pacientov s onkohematologickými chorobami

09:20 [MUDr. Bc. Adéla Hrdličková](#) (M2, prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.)

Stanovení metabolitů Krebsova cyklu a glykolysy a vybraných markerů oxidačního stresu v plasmě pacientů s akutní myeloidní leukémií

09:40 [Bc. Adéla Loukotová](#) (M2, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Proteomické rozlišení krve různých živočišných druhů

10:00 [Bc. Mária Mellová](#) (M2, Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.)

Nové prístupy v lipidomickej analýze krvnej plazmy

10:20 [Bc. Anna Ničová](#) (M2, Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.)

Srovnání metod v rámci label-free kvantifikace a proteomická analýza buněčné linie hFOB.

10:40 [Bc. Kateřina Rosolová](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Vliv inhibitoru FK866 a cytostatik na viabilitu buněčné linie HeLa se zvýšenou expresí genu Nampt

11:00 [Tereza Veverková](#) (B3, Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Příprava oční rohovky in vitro

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOANALYTICKÉ METODY I



Stanovenie 3-nitrotyrosinu (a 3-chlortyrosinu) v plazme pacientov s onkohematologickými chorobami

Bc. Radovan Bakaľár (M2)

Školiteľ: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Oxidačný stres (OS), ktorý sa prejavuje zvýšením hladín reaktívnych oxidačných častíc, je pozorovaný vo viacerých druhoch ochorení, ako aj u onkohematologických chorôb. OS spôsobuje tvorbu látok ako je 3-nitrotyrosin (3-NT) a 3-chlortyrosin (3-CT), ktoré možno použiť ako jeho markery. Parciálnym cieľom diplomovej práce, je vypracovať analytickú metódu pre stanovenie voľného a celkového 3-NT a 3-CT v plazme pacientov s onkohematologickým ochorením. V prítomnosti kyslého pH a dusitanov, môže dochádzať k artificálnemu vzniku 3-NT behom prípravy vzorku. Prítomný 3-NT, je preto pri stanovení vhodné redukovať na 3-aminotyrosin k zabráneniu nadhodnoteniu výsledkov. Celkové koncentrácie 3-NT a 3-CT v plazme budú stanovené po zásaditej, alebo enzýmovej hydrolýze. Vzorky budú analyzované pomocou HPLC s pripojeným tandemovým hmotnostným spektrometrom. Analyty budú rozdelené na kolóne XBridge Amide (Waters, Praha) pracujúcej v režime hydrofilnej interakčnej chromatografie (HILIC). Pre meranie bude použitá plazma pacientov s onkohematologickým ochorením pred a po predtransplantačnej príprave pomocou busulfanu. Metoda, by mohla v klinickej praxi slúžiť k sledovaniu priebehu predtransplantačnej prípravy.

Stanovení metabolitů Krebsova cyklu a glykolysy a vybraných markerů oxidačního stresu v plasmě pacientů s akutní myeloidní leukémií

MUDr. Bc. Adéla Hrdličková (M2)

Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Akutní myeloidní leukémie (AML) tvoří 80% akutních leukémií u dospělých, přičemž velká část pacientů umírá do jednoho roku od stanovení diagnózy. Rakovinné buňky oproti běžným mění svůj metabolismus a to ve prospěch růstu, proliferace a přežívání. Základním znakem je zvýšená utilizace glukosy, která je přednostně přeměněna na laktát anaerobní glykolysou i za normoxie. Z těchto důvodů je vhodné sledovat „cestu“ přeměny látek pomocí stanovení koncentrací jednotlivých metabolitů. Neméně důležitou roli také hraje mutace konkrétního enzymu v nádorové buňce, která následně metabolismus ovlivňuje. Cílem práce je vypracovat a otestovat analytickou, metodou stanovit koncentrace látek ve vzorcích plasmy skupiny pacientů a také sledovat změny koncentrací těchto látek v průběhu léčby AML. Pro stanovení koncentrací metabolitů byla sestavena metoda využívající LC-MS/MS. Pro dělení byla zvolena kolona ZIC-pHILIC, která uplatňuje princip hydrofilní interakční chromatografie. Jako vnitřní standardy byly použity izotopově značené sloučeniny vybraných metabolitů. Soubor vzorků sestává z trojic vzorků: před léčbou, v remisi, po předtransplantační přípravě. Výsledky budou kvantifikovány pomocí programu Analyst. Zjištěné závěry a jejich význam budou diskutovány s ohledem na diagnózu AML.

Proteomické rozlišení krve různých živočišných druhů

Bc. Adéla Loukotová (M2)

Školitel: doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Zjištění původu podezřelého krevního vzorku je důležitou součástí forenzních věd. Určení zvířecího druhu z krevní skvrny se využívá např. při kontrole krve v dovozních a vývozních přístavech, u nelegálního lovu a automobilových nehod či archeologických nálezů. Identifikace zvířecího druhu z krevních vzorků je nejčastěji prováděna pomocí imunochemických metod, které ovšem nejsou příliš citlivé a nejsou známa antiséra pro všechny druhy zvířat, a DNA analýzy, jež bývá značně obtížná především u archeologických nálezů. Další možnou metodou je proteomická analýza krve. Ve své práci se zaměřuji na studium proteinů krve, zejména α a β řetězců hemoglobinu, osmi různých živočišných druhů pomocí hmotnostní spektrometrie. Lipidovaná i delipidovaná forma získaných krevních vzorků byla štěpena trypsinem ve vodném prostředí a v roztoku isopropanolu a následně změřena na přístroji typu MALDI-TOF. Získaná data byla vyhodnocena pomocí analýzy hlavních komponent, kdy se podařilo rozlišit krevní vzorky šesti savců a dvou ptáků. Dalším cílem je analýza vzorků pomocí LC-MS/MS a následné nalezení charakteristických peptidů, které umožní zjistit zvířecí druh. Posledním krokem této studie je určení původu modelových historických krevních nátěrů používaných pro konzervování dřeva v interiérech.

Nové prístupy v lipidomickej analýze krvnej plazmy

Bc. Mária Mellová (M2)

Školiteľ: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Posúdenie zdravotného stavu pacienta je dnes už neodmysliteľne späté s laboratórnym vyšetrením krvi. Analýza lipidov krvnej plazmy, ktorá v súčasnosti nie je rutinnou zložkou krvných testov, môže okrem zhodnotenia porúch lipidového metabolizmu slúžiť k diagnostike a prognostike ochorení, ktoré nemajú priamu spojitosť s metabolizmom lipidov, ako napríklad diabetes mellitus, či Alzheimerova choroba. Extrakcia, ktorá je prvým a kľúčovým krokom lipidomickej analýzy, je umožnená pomocou organických rozpúšťadiel vytvárajúcich dvojfázové systémy. Hoci súčasné extrakčné postupy dosahujú dobrú extrakčnú účinnosť, následná MS analýza býva vplyvom matričných efektov zaťažená chybami. Cieľom tejto práce je eliminovať problémy spojené s matričnými efektmi prostredníctvom vytvorenia viacfázového extrakčného systému. Viacfázový extrakčný systém sľubuje prínos v podobe preseparácie jednotlivých lipidových druhov na základe ich fyzikálno-chemických vlastností ešte v procese prípravy vzorky, čím by mala byť docielená spoľahlivejšia identifikácia a kvantifikácia lipidov vo vzorke.

Srovnání metod v rámci label-free kvantifikace a proteomická analýza buněčné linie hFOB.

Bc. Anna Ničová (M2)

Školitel: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Hmotnostní spektrometrie (MS) je pro svou schopnost analýzy komplexních směsí s obsahem proteinů v řádu až tisíců a svou relativní jednoduchost nejhojněji využívanou metodou v proteomice. Kromě tradičního využití MS pro analýzu kvalitativní je dnes již běžně tato metoda využívána i pro kvantitativní analýzu, a to zejména za aplikace label-free metod (bez značení). Tato práce porovnává tři různé chromatografické přístupy při label-free kvantifikaci v rámci proteomické MS analýzy na směších buněčných lysátů HEK 293 (konstantní pozadí) a E. coli (různá množství). Sledovány byly parametry jako je počet identifikovaných proteinů, přesnost získaných výsledků, časová náročnost práce v laboratoři a strojový čas. Na základě výsledků byla jako nejvhodnější pro proteomickou kvantitativní analýzu biologického vzorku vybrána metoda s jednodimenzionálním chromatografickým rozdělením na reverzní fázi s prodlouženým časem analýzy. Tato metoda bude dále využita k proteomické analýze buněčné linie hFOB 1.19 (human fetal osteoblast cell line) a ověření vhodnosti této linie jako modelu pro studium osteoblastů.

Vliv inhibitoru FK866 a cytostatik na viabilitu buněčné linie HeLa se zvýšenou expresí genu Nampt

Bc. Kateřina Rosolová (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) je klíčový enzym účastnící se biosyntézy nikotinamidadenindinukleotidu (NAD). NAD je stěžejním kofaktorem nejenom v energetickém metabolismu, ale jako substrát se účastní oprav DNA. Z těchto důvodů mají rakovinné buňky vyšší množství Nampt k pokrytí zvýšené potřeby NAD. Nedávno bylo zjištěno, že jaderný transport Nampt pravděpodobně reguluje buněčný cyklus rakovinných buněk. Naším dlouhodobým cílem je bližší objasnění tohoto mechanismu. V rámci této práce jsme sledovali vliv specifického nekompetitivního inhibitoru FK866 a cytotoxických látek poškozujících DNA: 5-fluorouracilu, oxaliplatinu, Tamoxifenu a mitochondriálně cíleného MitoTamu na viabilitu buněčné linie HeLa se zvýšenou expresí genu *Nampt*. Tyto transfekované buňky vykazovaly proti kontrolním netransfekovaným buňkám vyšší odolnost vůči působení inhibitoru FK866. Překvapivě nebyl shledán žádný rozdíl ve viabilitě mezi oběma variantami buněk HeLa po ovlivnění cytostatiky. Možným vysvětlením je vyšší množství Nampt a NAD v kontrolní buněčné linii HeLa, které samo o sobě pokrývá zvýšené potřeby buňky. Další alternativou je, že ani jedna z použitých látek nemá účinek na buňky HeLa ve vztahu k Nampt.

Příprava oční rohovky *in vitro*

Tereza Veverková (B3)

Školitel: Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Mnoho očních onemocnění se léčí aplikací topických přípravků do oka. Pro dosažení účinku je nutný přístup látky skrze rohovku. Biologická dostupnost je dána vrstevnatým charakterem rohovky a také vlastnostmi léčiva. Pro zjištění prostupnosti se v současné době ve velké míře využívají vzorky rohovky z laboratorních zvířat, což přináší problémy jak etické, tak technologické, jelikož zvířecí rohovky se od lidských liší svými vlastnostmi. Cílem této práce je optimalizace podmínek kultivace a pasážování jednotlivých buněčných linií, příprava modelu oční rohovky v transmembránových insertech, diferenciaci předního epitelu pomocí specifického vyzvednutí modelu na rozhraní vzduch-kapalina. Modely budou následně vizualizovány světelnou mikroskopií a využity k testování prostupnosti různých léčiv, získané permeační koeficienty budou porovnány s literaturou. Přínosem tohoto projektu je vytvoření modelu lidské rohovky *in vitro* složeného ze tří buněčných linií, tj. epitel, stroma, endotel, který bude co nejvíce korespondovat s podobou lidské rohovky *in vivo*. Model by mohl být v budoucnu využíván pro testování prostupnosti léčiv rohovkou, pro testování toxicity očních léčiv či kosmetiky.

Bioanalytické metody II

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D. (předseda)

Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Magdalena Čapková](#) (M2, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Vývoj SPR biosenzoru pro detekci tramadolu v pitné vodě

09:20 [Bc. Dominika Egermajerová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Detekce GMO v krmivech pomocí mPCR

09:40 [Bc. Dominika Gluchová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Kvantifikácia SARS-CoV-2 v odpadových vodách

10:00 [Bc. Radka Kolářková](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Filtrační vlastnosti (ne)funkcionalizovaných nanovláknenných materiálů vyrobených technikou electrospinningu

10:20 [Dajana Kolářová](#) (B1, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Příprava matrixového proteinu pro rentgenostrukturní analýzu

10:40 [Bc. Tamara Petříkovová](#) (M2, doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.)

Určování zvířecího původu pergamenů

11:00 [Bc. Martina Radouchová](#) (M2, MUDr. Ivan Šebesta, CSc.)

Validace stanovení hormonů metodou 2D LC/MS/MS

11:20 [Bc. Denisa Trubačová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Radovan Hynek)

Štiepenie proteínov obsiahnutých v kostných tkanivách pomocou chymotrypsínu v prítomnosti vybraných organických rozpúšťadiel.

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOANALYTICKÉ METODY II

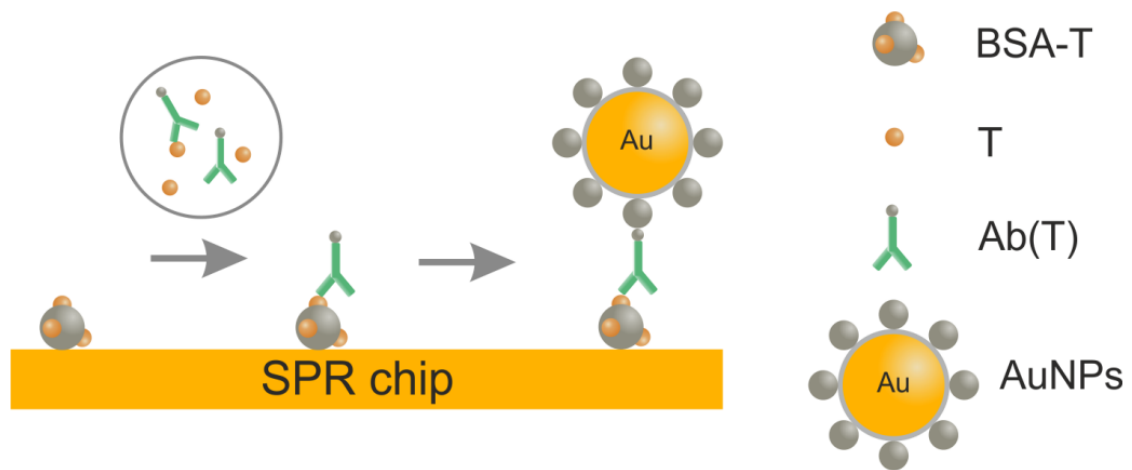


Vývoj SPR biosenzoru pro detekci tramadolu v pitné vodě

Bc. Magdalena Čapková (M2)

Školitel: doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Kvalita pitné vody představuje jeden z nejdůležitějších faktorů ochrany veřejného zdraví, a proto je této problematice v evropských zemích dlouhodobě věnována vysoká pozornost. Aby bylo možné efektivně monitorovat kvalitu pitné vody, je třeba vhodných analytických metod, které umožní rychle a s vysokou citlivostí detekovat vybrané kontaminanty. Tato práce si kladla za cíl vyvinout metodu pro vysoce citlivou detekci léčiva Tramadolu (T) v pitné vodě pomocí biosenzoru s povrchovými plasmony (SPR biosensor). Metoda využívá inhibičního detekčního formátu se zesílením signálu funkcionalizovanými zlatými nanočásticemi (AuNPs) (viz obrázek). V prvním kroku metody je k analyzovanému vzorku přidána protilátka proti T (Ab(T)), která specificky interaguje s T přítomným ve vzorku. Tato směs je následně přivedena na povrch SPR biosenzoru, kde se volná Ab(T) váže na ukotvený analog T (BSA-T). V posledním kroku je pomocí interakce mezi biotinem navázaným na Ab(T) a streptavidinem na AuNPs zvýšena odezva senzoru pro dosažení nízkého detekčního limitu metody. V rámci práce byly optimalizovány jednotlivé kroky metody, např. ukotvení BSA-T na povrch SPR biosenzoru, inkubace analyzovaného vzorku s Ab(T).



Detekce GMO v krmivech pomocí mPCR

Bc. Dominika Egermajerová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Geneticky modifikované organismy (GMO) mají cíleně změněný dědičný materiál a připravují se za účelem zlepšení jejich vlastností. Neustálý vývoj nových odrůd GM rostlin, povinnost značit produkty obsahující GMO a nulová tolerance nepovolených GMO v zemích regulujících GMO zvyšují potřebu metod pro jejich stanovení. Nejpoužívanější je PCR a její multiplexní modifikace amplifikující více sekvencí v jedné reakci (mPCR). Stanovení GMO pomocí molekulárně-biologických metod začíná izolací DNA. V experimentální části byla provedena metodou využívající ionogenní detergent cetyltrimethylamoniumbromid (CTAB) a poté byla ověřena druhová specifita primery amplifikující chloroplastový gen specifický pro rostliny. Cílem této práce je další krok analýzy, tzn. detekce screeningových elementů pomocí mPCR. Těmito elementy jsou selekční nebo regulační sekvence (promotory/terminátory) využívající se při modifikacích nejčastěji. Současnou detekcí několika elementů cílíme na více druhů GMO v jedné reakci a dosáhneme tak efektivnější detekce. Účelem je rozšířit mPCR protokol používaný v ZL ÚBM o další element a detekovat GMO ve vzorcích z tržní sítě ČR. Výrobci využívají označení „bez GMO“, proto u vybraných vzorků vedle ověření protokolu mPCR pro detekci GMO zjistím, zda nesou označení oprávněně.

Kvantifikácia SARS-CoV-2 v odpadových vodách

Bc. Dominika Gluchová (M2)

Školiteľ: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Čeľaď *Coronaviridae* je rozsiahla skupina vírusov, ktoré môžu spôsobovať choroby živočíchov i ľudí. Vírus SARS-Cov-2 (z angl. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) je obalený vírus patriaci do tejto čeľade a obsahujúci jednovláknovú RNA s pozitívnou polaritou. Patrí do rodu *Betacoronavirus*, jeho mutačná rýchlosť je podobná iným ľudským RNA vírusom a má schopnosť napadnúť široké spektrum hostiteľov. Vírus spôsobuje chorobu COVID-19, ktorá bola zaznamenaná koncom roku 2019 vo Wuhane. Používané metódy detekcie SARS-CoV-2 sú všeobecne založené na PCR po reverznej transkripcii, izotermálnej amplifikácii (LAMP) alebo na detekcii antigénov. Vzhľadom na súčasnú pandémiu sa rešeršná časť zaoberá porovnaním metód stanovenia vírusu SARS-CoV-2 v odpadových vodách s nami používanou metódou v ZL ÚMB VŠCHT. Najviac používaná metóda detekcie SARS-CoV-2 v odpadových vodách je založená na reverznej transkripcii a kvantitatívnej PCR = RT-qPCR. Vo vzorkách odpadových vôd prebehne skoncentrovanie vírusu, izolácia RNA a následne detekcia a kvantifikácia vírusu pomocou RT-qPCR.

Filtrační vlastnosti (ne)funkcionalizovaných nanovláknenných materiálů vyrobených technikou electrospinningu

Bc. Radka Kolářková (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Díky zvýšenému zájmu o nanomateriály se neustále vyvíjí nové metody jejich průmyslové výroby. Jednou je i výroba nanovláknenných materiálů metodou elektrostatického zvlákňování tzv. electrospinningu. Nanomateriály vyrobené touto metodou se vyznačují vysokým měrným povrchem, vysokou porozitou s malými póry a nízkou hmotností. Pro tyto vlastnosti jsou využívány v energetice, textilním průmyslu a především v biomedicině. Zde se nanomateriály mohou uplatnit jako efektivní obvazový materiál. Pro tuto aplikaci bylo ve spolupráci s TUL vyrobeno 13 nanomateriálů z polyamidu 6, které se různí v morfologii a (ne)funkcionalizaci - přidavku antimikrobiální látky. Cílem práce bylo sledovat filtrační vlastnosti nanomateriálů pro bakteriální buňky, případné antimikrobiální vlastnosti a následná vizualizace filtrů pomocí SEM. Jako modelový mikroorganismus byl vybrán *Staphylococcus aureus*, běžný kožní komenzál a nejčastější původce infekcí. Bylo zjištěno, že nanomateriály zabraňují průniku bakteriálních buněk v rozmezí 96-100% v závislosti na jejich struktuře. Funkcionalizované nanomateriály navíc zamezují i následnému bakteriálnímu růstu.

Příprava matrixového proteinu pro rentgenostrukturní analýzu

Dajana Kolářová (B1)

Školitel: doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Mason-Pfizerův opičí virus (MPMV) je modelový biologický systém, který je využíván ke studiu jednotlivých kroků replikačního cyklu retrovirů. Předmětem našeho zájmu je matrixový protein (MA), jeden z hlavních strukturních proteinů retrovirů, který je důležitý pro transport virových částic na cytoplasmatickou membránu. Určené struktury by měly objasnit vliv myristoylace a délky M-PMV MA na jeho strukturu a na mechanismus jeho multimerizace. Pro tento účel jsme se rozhodli připravit a krystalizovat tři různé konstrukty MA M-PMV: MA prodloužený o N-terminální část následujícího fosfoproteinu s histidinovou kotvou (MAPP-His), myristoylovaný MA prodloužený o N-terminální část následujícího fosfoproteinu ((+)myr MAPP-His) a myristoylovaný MA prodloužený o N-terminální menší část následujícího fosfoproteinu ((+)myr MA5PP-His). Úspěšně jsem připravila plazmidy pro produkci daných proteinů v bakteriálním expresním systému *E. coli*. Připravila jsem dané proteiny, purifikovala je pomocí chromatografických technik a zahustila na koncentraci potřebnou pro krystalizaci. Doposud se nám podařilo vykrytalizovat a určit strukturu MAPP. Krystalizace (+)myr MAPP-His a (+)myr MA5PP-His stále probíhá.

Určování zvířecího původu pergamenů

Bc. Tamara Petříková (M2)

Školitel: doc. Mgr. Ing. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Pergameny jsou oboustranně opracované zvířecí kůže, které zvláště ve středověku sloužily ke psaní a vazbě knih. Jejich živočišný původ závisel na lokální dostupnosti zvířat. Nejčastěji byly vyrobené z telecí a ovčí kůže. Určení jejich zvířecího původu je zásadní pro správnou volbu metody konzervace a restaurování. V současné době se rozlišení původu provádí mikroskopickou analýzou, kdy se zkoumá vzor vlasových folikul. Dále je možné využít i analýzu DNA. Nevýhodou této metody je ale častá kontaminace vzorku exogenní DNA nebo degradace DNA, ke které dochází působením jak vnějších podmínek, tak i vnitřními degradačními procesy. Proteomická analýza se proto jeví jako vhodná technika k určení živočišného původu pergamenu. Nejčastěji zastoupenými proteiny v pergamenech jsou kolageny, a to především kolagen α (I). Určení původu je založeno na jejich proteomické analýze za použití hmotnostně spektrometrických technik MALDI-TOF a LC-MS/MS. Vzorky pergamenů jsou štěpeny trypsinem a získaná hmotnostní spektra jsou zpracována metodou analýzy hlavních komponent. Nejprve bylo nutné nalézt vhodné podmínky pro enzymové štěpení, např. délku štěpení a vliv organických rozpouštědel. Cílem do budoucna je analýza historického vzorku pergamenu a určení jeho živočišného původu také pomocí LC-MS/MS.

Validace stanovení hormonů metodou 2D LC/MS/MS

Bc. Martina Radouchová (M2)

Školitel: MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Stanovení hormonů v lidském krevním séru je důležitým nástrojem pro diagnostiku endokrinních onemocnění. V současnosti se v klinických laboratořích pro tyto účely nejvíce využívají automatické imunochemické analyzátory s chemiluminiscenčním typem detekce. Nevýhodou těchto analyzátorů je poměrně vysoká variabilita mezi laboratorními výsledky. Dalším problémem je jejich citlivost na nespecifické (křížové) reakce, kdy metoda poskytuje nepřesné či falešně pozitivní výsledky, například během choroby nebo při těhotenství. Kapalinová chromatografie ve spojení s detektorem typu trojitý kvadrupól (LC/MS/MS) představuje univerzální analytickou instrumentaci vhodnou pro široké spektrum aplikací nejen z oblasti klinické biochemie. Charakteristické vlastnosti LC/MS/MS jsou vysoká citlivost, selektivita, rychlost a univerzálnost. Tato práce zahrnuje validaci metody stanovení steroidních a tyroidních hormonů, jejich prekurzorů a metabolitů na systému kapalinové chromatografie s tandemovou hmotností spektrometrií (2DLC/MS/MS) bez extrakce.

Štiepenie proteínov obsiahnutých v kostných tkanivách pomocou chymotrypsínu v prítomnosti vybraných organických rozpúšťadiel.

Bc. Denisa Trubačová (M2)

Školiteľ: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Proteomická analýza kostných tkanív je z medicínskeho hľadiska dôležitou súčasťou štúdia rôznych patologických stavov. Doposiaľ najpoužívanejšími technikami sú histologické metódy, ktoré ale trvajú dlhší čas a preto cieľom tejto práce je vyvinúť časovo menej náročnú a jednoduchšiu metódu. V prípade, že je na analýzu použitá metóda proteolytického štiepenia kosti, zvyčajne je pre tento účel použitý enzým trypsín. Z rôznych dôvodov niekedy tento enzým ale nie je vhodné použiť a preto boli v tejto práci vzorky prasacej čeľuste (v pôvodnom stave) podrobené pôsobeniu proteolytického enzýmu chymotrypsínu. V rámci pokusov bola vytvorená modifikácia klasických zaužívaných postupov pridaním organických rozpúšťadiel do procesu štiepenia kosti a to za rôznych podmienok (koncentrácia daných činidiel, doba štiepenia, teplota atď.). Organické látky boli pridané buď do samotného procesu štiepenia alebo boli použité len na premytie kosti od kontaminujúcich krvných proteínov. Analýza prebiehala pomocou hmotnostne spektrometrickej techniky LC-ESI-Q-TOF, následne boli výsledné dáta spracované a porovnané. Ďalším krokom bude upravovanie podmienok použitia organických látok a pravdepodobne aj použitie iných alternatívnych enzýmov.

Enzymologie

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D. (předseda)

Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Olivie Běhounková](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

Charakterizace asparaginas z mořské bakterie Microscilla sp. PRE1

09:20 [Bc. Monika Čížková](#) (M2, Ing. Michaela Marková, Ph.D.)

Úloha inosin-5'-monofosfátdehydrogenasy v purinovém metabolismu u mykobakterií

09:40 [Bc. Tomáš Engl](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Chitinasa z psychrofilní kvasinky Cryptococcus victoriae

10:00 [Bc. Jakub Švéda](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Anammox bakterie Brocadia fulgida - subcelulární organizace a prvotní screening proteinů metabolismu lipidů

10:20 [Bc. Veronika Urbánková](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

Identifikace a charakterizace L-asparaginy z Paenibacillus thiaminolyticus

10:40 [Bc. Klára Zemanová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Vliv funkcionalizovaných nanomateriálů na tvorbu biofilmu Cutibacterium acnes

11:00 [Bc. Martin Zmuda](#) (M2, Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Význam efluxních pump pseudomonas u multirezistentních klinických izolátů.

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ENZYMOLOGIE



Charakterizace asparaginas z mořské bakterie *Microscilla* sp. PRE1

Bc. Olivie Běhounková (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Tato práce se zabývá charakterizací L-asparaginas z mořské bakterie *Microscilla* sp. PRE1. L-Asparaginasy můžeme najít v různých mikroorganismech, rostlinách, některých živočiších a také v lidském těle. Tyto enzymy katalyzují hydrolýzu L-asparaginu za vzniku kyseliny L-asparagové a amoniaku. Většina L-asparaginas má však zároveň i schopnost v určitém rozsahu štěpit L-glutamin, a to za vzniku kyseliny L-glutamové a amoniaku. L-Asparaginasy mají největší uplatnění v medicíně a v potravinářském průmyslu. V potravinářském průmyslu se využívají například L-asparaginasy z *Aspergillus niger* a *Aspergillus oryzae*, a to ke snížení obsahu karcinogenního akrylamidu ve smažených a pečených potravinách. V medicíně se L-asparaginasy používají v léčbě akutní lymfoblastické leukémie. Konkrétně se v současné době jedná o L-asparaginasy pocházející z *Escherichia coli* a z *Dickeya dadantii*. Tyto enzymy mají však mnoho nežádoucích vedlejších účinků (dysfunkce CNS a jater, tvorba protilátek a další), a proto se stále hledají nové zdroje L-asparaginas. Slibným zdrojem nových enzymů s unikátními a pro humánní medicínu vhodnějšími vlastnostmi by mohly být mořské mikroorganismy.

Úloha inosin-5'-monofosfátdehydrogenasy v purinovém metabolismu u mykobakterií

Bc. Monika Čížková (M2)

Školitel: Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Inosin-5'-monofosfátdehydrogenasa (IMPDH) je enzym vystupující v prvním kroku syntézy purinů, který katalyzuje přeměnu inosinu na xantin (XMP) a následnými kroky je XMP konvertováno až na GTP. Tento krok syntézy purinů *de novo* je pro bakterie esenciální a stal se zajímavým cílem pro léčbu onemocnění vyvolaných lidskými patogeny. Mezi významné lidské patogeny patří *Mycobacterium tuberculosis*, která způsobuje onemocnění tuberkulózu. Léčba antibiotiky je velmi zdlouhavá a komplikuje ji i výskyt multirezistentních kmenů bakterií, což vede k potřebě neustálého vývoje nových léčiv. Pro studium IMPDH *in vivo* byl použit modelový nepatogenní organismus *Mycobacterium smegmatis*. Pro biochemickou charakterizaci IMPDH *in vitro* využíváme protein získaný heterologní expresí v *E. coli*. V této práci jsme se dále zaměřili na regulační doménu IMPDH, která vazbou nukleotidů může významně regulovat aktivitu enzymu. Pochopení alosterické regulace může pomoci návrhu a testování potenciálních nových inhibitorů IMPDH použitelných při léčbě perzistentních mykobakteriálních infekcí.

*Chitinasa z psychrofilní kvasinky *Cryptococcus victoriae**

Bc. Tomáš Engl (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Organismy jsou schopné adaptace na jakékoliv prostředí. Jedním z příkladů takové adaptace jsou psychrofilní organismy, které se přizpůsobily životu při teplotách často i pod bodem mrazu. Chladově aktivní enzymy z psychrofilních mikroorganismů si za těchto nízkých teplot uchovávají vysokou specifickou aktivitu a stabilitu. Tato práce se zabývá chitinase z psychrofilní kvasinky *Cryptococcus victoriae*. Nejprve bylo potřeba ověřit, zda se jedná o konstitutivní nebo indukovatelný enzym, proto byla porovnána schopnost růstu této kvasinky v bohatém mediu a minimálním mediu, kde byl jediným zdrojem uhlíku chitin nebo chitosan. Následně byla stanovena chitinasová aktivita v buňkách a v koncentrovaném mediu. Paralelně s tímto klasickým postupem byly použity i bioinformatické nástroje (UniProt, GenBank a Silva) k získání informací o genech kódujících chitinasy z fylogeneticky podobných mikroorganismů. S využitím nástroje Clustal Omega byly navrženy genově specifické primery, které byly použity pro PCR. Templátem byla izolovaná cDNA z buněk po kultivaci v bohatém mediu. Amplifikovaný fragment byl purifikován a sekvenován. Získaná sekvence byla porovnána s nukleotidovými i proteinovými databázemi pomocí nástroje BLAST, ale nejednalo se o chitinasu, proto bude nutné navrhnout nové primery.

Anammox bakterie Brocadia fulgida - subcelulární organizace a prvotní screening proteinů metabolismu lipidů

Bc. Jakub Švéda (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Anammox bakterie hrají významnou roli v globálním cyklu dusíku díky svému unikátnímu metabolismu konverze NH_4^+ a dusitanu na dusík. Tyto mikroorganismy se dnes využívají při čištění odpadních vod jako náhrada za denitrifikaci. Anammox metabolismus probíhá uvnitř buňky na membráně speciálního kompartmentu, anammoxosomu. Všechny membrány těchto bakterií obsahují unikátní ladderánové lipidy. Jedná se o fosfolipidy, které na svém acylovém konci nesou cykloalkany. Membránové vezikuly složené z ladderánů by mohly sloužit jako dopravní prostředky pro léky v tělech pacientů. Ve své práci se zabývám izolací anammoxosomů z *Brocadia fulgida*. Pro purifikaci nemůže být použit stejný postup jako u příbuzné bakterie *Kuenenia stuttgartiensis*, neboť buňky rodu *Brocadia* tvoří agregáty. Úspěšná izolace zahrnuje delikátní dezintegraci buněk, při které se nerozruší kýžené organely. K přečištění je používána centrifugace v gradientu Percollu. Prozatím se však nepodařilo nalézt vhodnou koncentraci Percollu, aby došlo k správnému rozdělení. Dále se v této práci zabývám identifikací proteinů, odpovědných za syntézu ladderánů v *Brocadia fulgida*. Byla izolována frakce membránových proteinů pro analýzu na hmotnostním spektrometru. Získaná data budou analyzována a vyhodnocena srovnáním s online databází.

Identifikace a charakterizace L-asparaginasy z *Paenibacillus thiaminolyticus*

Bc. Veronika Urbánková (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

L-Asparaginasa je enzym ze třídy hydrolas, který katalyzuje hydrolýzu aminokyseliny L-asparaginu na L-aspartát a amoniak. Tento enzym je v lékařské praxi používán jako bioléčivo v protinádorové terapii kléčbě akutní lymfoblastické leukémie a dalších nádorových onemocnění spojených s lymfatickým systémem. Jeho protirakovinná aktivita využívá skutečnosti, že některé typy rakovinných buněk nemají, na rozdíl od zdravých buněk, enzym L-asparaginsynthetasu, který by jim umožnil syntetizovat L-asparagin *de novo*. Po aplikaci L-asparaginasy, jejímž účinkem dochází k selektivnímu štěpení extracelulárního L-asparaginu, je tudíž inhibována proteosyntéza v rakovinných buňkách a následně dochází k jejich apoptóze. Tato práce je zaměřena na identifikaci a charakterizaci L-asparaginasy z bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus*. V prvním kroku bylo nutné nalézt vhodnou metodu pro stanovování L-asparaginasové aktivity. V následujícím kroku byly pomocí bioinformatických nástrojů nalezeny geny kódující L-asparaginasy v bakterii *Paenibacillus thiaminolyticus*. Vybraný gen byl amplifikován a vložen do vhodného produkčního plasmidu, který umožní produkci L-asparaginasy v rekombinantní podobě ve formě fúzního proteinu s histidinovou kotvou v bakterii *Escherichia coli*.

Vliv funkcionalizovaných nanomateriálů na tvorbu biofilmu *Cutibacterium acnes*

Bc. Klára Zemanová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Grampozitivní bakterie *Cutibacterium acnes* je za fyziologických podmínek kožním komenzálem, avšak může být i oportunním patogenem způsobujícím invazivní chronické infekce. Patogenita je kromě produkce různých faktorů virulence dána i schopností tvorby biofilmu. Biofilm zvyšuje odolnost bakterií, což může značně komplikovat léčbu infekcí souvisejících s touto bakterií. Mezi nejznámější onemocnění spojené s *Cutibacterium acnes* patří Acne vulgaris; klinicky významná je však i souvislost s celou řadou dalších chorob, např. infekce kloubních náhrad, degenerativní onemocnění disku, ateroskleróza či rakovina prostaty. Stále zvyšující se hrozba ztráty účinnosti antibiotik nás inspiruje k hledání nových inovativních způsobů léčby bakteriálních infekcí. Polyamidové nanomateriály funkcionalizované dusičnanem stříbrným a chlorhexidinem by se mohly stát vhodnou alternativou pro omezení vzniku biofilmu a tím i zamezení rozvoje zdravotních komplikací. Cílem této práce je zkoumání vlivu funkcionalizovaných nanovlákných materiálů na tvorbu biofilmu *Cutibacterium acnes* s využitím mikrobiologických kultivačních metod. Bylo zjištěno, že tyto nanomateriály účinně potlačují tvorbu biofilmu, což by mohlo být využito při prevenci nebo léčbě výše zmíněných onemocnění.

Význam efluxních pump *Pseudomonas* u multirezistentních klinických izolátů.

Bc. Martin Zmuda (M2)

Školitel: Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Gram negativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* je oportunní patogen způsobující závažné chronické infekce u pacientů s cystickou fibrózou a popáleninami kůže s vysokou mortalitou. Tato bakterie se vyznačuje značnou rezistencí na antibiotika, kdy u některých kmenů můžeme hovořit až o panrezistenci. V této práci je pozornost věnována mechanismům rezistence na antibiotika se zaměřením na efluxní pumpy *Pseudomonas*. Ke studiu jsou použity tři kmeny izolované ze vzorků od nemocničních pacientů vyznačující se odolností k pěti třídám antibiotik. Cílem práce je sledování vlivu flavonolignanů a jejich derivátů na expresi dvou klinicky významných efluxních pump MexAB a MexXY pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce (PCR). Dosud jsme prokázali přítomnost výše zmíněných efluxních pump u kmenů klinických izolátů i sbírkového kmenu na úrovni DNA. Byla také provedena antibiotická citlivost všech testovaných kmenů na gentamicin, ciprofloxacin, tetracyklin, chloramfenikol, penicilin G a erythromycin. Byly navrženy referenční geny *proC* a *rpsL* pro kvantitativní PCR a byla izolována mRNA ze všech kmenů. Na základě předešlých výsledků v laboratoři, předpokládáme, že by zvolené biologicky aktivní látky mohly inhibovat expresi efluxních pump a tím zvýšit účinnost léčby a snížení mortality.

Interakce v biologických systémech

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D. (předseda)

Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.

Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Eliška Alexová](#) (M2, Ing. Hana Stiborová, Ph.D.)

Využití biocharu pro zlepšení vlastností půd a vyhodnocení jeho vlivu na složení rhizosferních mikrobiálních populací

09:20 [Bc. Simona Bellová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Radovan Hynek)

Proteomika organelových frakcí pšenice vystavené suchu

09:40 [Lucie Hrdá](#) (M2, prof. Dr. Ing. Radovan Hynek)

Hodnocení vlivu vybraných rostlinných extraktů na kulturu kostních buněk

10:00 [Bc. Vendula Pavelková](#) (M2, doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.)

Charakterizace biologických aktivit extraktů rostlinných adaptogenů

10:20 [Bc. Markéta Petličková](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Forenzní analýza DNA rostlin metodou qPCR

10:40 [Bc. Kamila Pluhařová](#) (M2, Ing. Martin Janda, Ph.D.)

„SA kolekce“: nový nástroj pro studium role kyseliny salicylové v rostlinách

11:00 [Bc. Lucie Staňková](#) (M2, Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Biologické účinky extraktů orientálních rostlin

11:20 [Bc. Eliška Suchopárová](#) (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

*Analýza mikrobiomu rostlin slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.)*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - INTERAKCE V BIOLOGICKÝCH SYSTÉMECH



Využití biocharu pro zlepšení vlastností půd a vyhodnocení jeho vlivu na složení rhizosferních mikrobiálních populací

Bc. Eliška Alexová (M2)

Školitel: Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Biochar, pevný mikroporézní materiál bohatý na uhlík, vzniká tepelným zpracováním jakéhokoliv typu organické biomasy bez přítomnosti kyslíku, tzv. pyrolýzou. Biochar se využívá v zemědělství za účelem zvýšení kvality a úrodnosti půdy. Může být také různorodou nikou pro mikroorganismy a mesobioty a tak zvýšit biologickou rozmanitost půdy. Účinek biocharu závisí na jeho fyzikálně–chemických vlastnostech, které jsou ovlivněny typem použité biomasy a teplotou pyrolýzy. Cílem diplomové práce je zhodnotit vliv biocharu na půdní mikrobiální aktivitu a druhové zastoupení rhizosferních a endofytních mikroorganismů v kořenech. Biochary byly připraveny z bukových štěpků a ze zbytků po separaci masa při teplotě pyrolýzy 500 °C a aplikovány do půd typu Luvizem a Kambizem v poměru 5 % hmot. V takto připravených rhizoboxech byly pěstovány rostliny *Triticum aestivum* a po 3 měsících byly odebrány vzorky kořenů rostlin a půd ve vzdálenostech 2 mm, 4 mm a 6 mm od kořenového systému a z oblasti mimo rhizosféru. Pomocí fluorescenčně značených substrátů byly ve vzorcích půd měřeny aktivity půdních enzymů, které hrají důležitou roli v cyklech základních živin. Složení mikrobiálních populací bude následně testováno pomocí sekvenační analýzy Illumina Miseq. Projekt je financován GAČR č. 19-02836S.

Proteomika organelových frakcií pšenice vystavenej suchu

Bc. Simona Bellová (M2)

Školiteľ: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Zjednodušená obranná odpoveď rastlín pozostáva z takmer rovnakých krokov, preto je k rozlíšeniu tolerance k suchu veľmi podobných odrôd zásadné porovnanie odpovedí až na úrovni organelového proteomu. Zmenené proteíny vybraných organel by mali slúžiť ako ukazovatele zmien súvisiacich so stresom a pomôcť k jednoduchšiemu screeningu suchovzdorných odrôd. Táto práca sa zaoberá štúdiom odpovedi dvoch rôzne odolných odrôd pšenice na stres spôsobený suchom na úrovni proteomu z obohatenej frakcie jaderných proteínov spolu s chloroplastovými. V rámci experimentu boli pestované kontrolné rastliny a rastliny vystavené suchu. Vzorky listov boli odobrané v rôznych fázach pôsobenia stresu: na začiatku pôsobenia, po dlhodobom pôsobení, kedy by rastliny mali byť aklimatizované na stres a po 12 hodinách a následne po 3 dňoch zalievania na optimálnu hodnotu využiteľnej vody v pôde, kedy by mala nastať regenerácia. Súčasťou postupu bola modifikácia a testovanie metódy pre izoláciu vybraných proteínov, vrátane kontroly na kontamináciu cytosolickými proteínmi. Na overovanie metódy bol používaný imunoblot s primárnymi protilátkami proti vybraným organelovým proteínom. Po izolácii proteínov budú vzorky analyzované pomocou LC-MS/MS s následným porovnaním určitých proteínov medzi pestovanými odrodami.

Hodnocení vlivu vybraných rostlinných extraktů na kulturu kostních buněk

Lucie Hrdá (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Kost je dynamická metabolicky aktivní tkáň. Po celý život podstupuje remodelaci, tedy proces odbourávání staré či poškozené kosti a formování nové kosti. V některých případech probíhá remodelace ve zvýšené míře: Takovým příkladem může být hojení zlomenin kostí, či regenerace augmentace kosti, kdy je chirurgicky zvětšen objem kosti pro efektivní zavedení zubního implantátu. V obou případech je průběh pro pacienta nepříjemný a zdlouhavý. Tato závěrečná práce si klade za cíl proces hojení kosti urychlit. Za tím účelem byly vybrány dva rostlinné extrakty - kotvičník zemní a kostival lékařský. Obě byliny jsou známy například pro svůj antimikrobiální, protizánětlivý či analgetický účinek. Jak si ale tyto rostliny vedou v procesu remodelace kosti? Účinek extraktů je studován na lidské osteosarkomatské buněčné kultuře proteomickým přístupem, který cílí na markery syntézy nové kosti.

Charakterizace biologických aktivit extraktů rostlinných adaptogenů

Bc. Vendula Pavelková (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Adaptogeny jsou přírodní (většinou rostlinné) i umělé látky, které zlepšují schopnost překonat zátěž a jsou neškodné. Prakticky jsou to dnes hlavně léčivé rostliny, houby a řasy, které napomáhají tělu odolávat stresorům všeho druhu, ať už se jedná o stres fyzický, chemický nebo biologický. Vyznačují se tím, že usnadňují proces adaptace. Mezi nejznámější adaptogeny patří ženšen pravý, klanopraška čínská, lékořice lysá a spousty dalších léčivých rostlin. Ke studiu biologických aktivit v práci byly vybrány extrakty připravené různými postupy z rozchodnice růžové, parchy saflorové a břeslence dávivého. Pro charakterizaci adaptogenních vlastností byly vybrány testy – antimikrobiální aktivity, cytotoxicity pro savčí linie, antidiabetické, antioxidační a protizánětlivé aktivity. Z provedených antimikrobiálních testů vyplývá, že aktivita je nejvyšší u vzorku břeslence získaného vysokotlakou extrakcí (PLE) a vzorků parchy získané výluhem a PLE. Antioxidační aktivita je nejvyšší u vzorků břeslence získané vysokotlakou a superkritickou fluidní extrakcí.

Forenzní analýza DNA rostlin metodou qPCR

Bc. Markéta Petličková (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

V posledních letech se zvýšil počet geneticky modifikovaných organismů (GMO), a proto je důležité, aby se jimi zabývaly také forenzní vědy. Tyto organismy jsou v EU legislativně regulovány, je tedy nutné sledovat nejen jejich přítomnost, ale také obsah v potravinách a krmivech. Pro tyto účely se v dnešní době využívá především metoda polymerázové řetězové reakce (PCR). Aby bylo možné GMO kvantifikovat, je potřeba použít referenční gen, díky kterému lze určit podíl GMO v produktu získaný vydělením počtu kopií transgenu počtem kopií referenčního genu. Jako reference se používá DNA jak genomová, tak i chloroplastová. Dosud běžně používané referenční geny jsou specifické pro daný rostlinný druh. Cílem této práce je nalézt vhodný genomový referenční gen, který by mohl být využit univerzálně pro všechny rostliny, nebo alespoň pro běžně pěstované GM plodiny, a navrhnout a experimentálně ověřit podmínky jeho kvantifikace pomocí kvantitativní qPCR. V experimentální části této práce byla izolována DNA z několika druhů rostlin pomocí CTAB pufru (cetyltrimetylammonium bromid) s následným elektroforetickým ověřením kvality a kvantity izolované DNA. Tato DNA byla poté amplifikována pomocí qPCR s primery navrženými na nekódující úsek chloroplastové DNA.

„SA kolekce“: nový nástroj pro studium role kyseliny salicylové v rostlinách

Bc. Kamila Pluhařová (M2)

Školitel: Ing. Martin Janda, Ph.D.

Kyselina salicylová (SA) hraje významnou roli v imunitním systému rostlin a jako signální molekula je zapojena do boje proti nepříznivým podmínkám (napadení patogeny, sucho atd.). V této práci představujeme unikátní kolekci 17 mutantů *Arabidopsis thaliana* s různým obsahem SA, která odkrývá nástroj pro studium kompromisů mezi růstem a obranou rostlin. Kolekci jsme sestavili na základě dostupných publikací a pro její zavedení jsme studovali mutanty při růstu v půdě a *in vitro* za různých světelných podmínek. Analyzovali jsme základní charakteristiky fotosyntézy a sledovali jsme vztah růstu, obsahu SA (HPLC-MS/MS) a exprese genů souvisejících s SA (RT-qPCR). Pozorovali jsme pozitivní korelaci obsahu SA s expresí genů *PR1* a *ICS1* a naopak negativní korelaci hladiny SA a velikosti nadzemní části rostlin. Také jsme zjistili, že mutant *pmr4*, v literatuře považovaný za nadměrně akumulujícího SA, má obsah SA podobný jako WT. Výsledkem práce je kolekce mutantů použitelná pro další výzkum role SA v reakcích rostlin na stres. Pluhařová et al. (2019): "Salicylic Acid Mutant Collection" as a Tool to Explore the Role of Salicylic Acid in Regulation of Plant Growth under a Changing Environment. *IJMS*. vol. 20(24), 6365. doi:10.3390/ijms20246365. Tento projekt byl podpořen z projektu GAČR 17-05151S.

Biologické účinky extraktů orientálních rostlin

Bc. Lucie Staňková (M2)

Školitel: Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Tradiční léčitelství je stále nevyčerpaným zdrojem medicínsky zajímavých rostlin. Biologicky aktivní látky orientálních rostlin nejsou ještě příliš popsány, a jsou tedy zajímavým tématem pro bioprospekci. Cílem práce je zjistit biologické účinky čtyř orientálních rostlin, jež se používají např. proti zánětům a respiračním či kožním onemocněním. Jsou to: mořská cesmína (*Acanthus ilicifolius*), filipínská fialka (*Barleria cristata*), právenka (*Andrographis alata*) a ašoka (*Saraca asoca*). U rostlin se testovaly nadzemní části extrahované v dichlormethanu a methanolu spojené do jednoho vzorku. Následně byly extrakty rozděleny do pěti frakcí. Aktivita se zjišťovala u hrubých extraktů a jejich frakcí. Z biologických aktivit se testovaly antimikrobiální aktivita proti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans*, antioxidační aktivita a cytotoxicita. Antimikrobiální účinky se prokázaly u mořské cesmíny a ašoky a to proti *P. aeruginosa*. Všechny hrubé extrakty a většina frakcí inhibovala růst zejména u tkáňových liniích rakoviny děložního čípku a rakoviny slinivky. Největší antioxidační kapacitu měl hrubý extrakt ašoky a mořské cesmíny. Dále se práce zaměří na stanovení antioxidační a cytotoxické aktivity a izolaci sloučenin zodpovědných za dané aktivity těchto rostlin.

*Analýza mikrobiomu rostlin slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.)*

Bc. Eliška Suchopárová (M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Mikroorganismy asociované s rostlinami často vykazují aktivity prospěšné pro hostitelskou rostlinu, a tudíž potenciál pro biotechnologické aplikace. Pro studium těchto mikroorganismů a jejich biotechnologické využití je nezbytná jejich kultivace a izolace v čisté kultuře. Více než 90% rostlinné mikrobioty nebylo však doposud kultivováno a je tedy nutná modifikace standardních kultivačních technik. Cílem této práce je popsat mikrobiotu rhizosféry a endosféry (kořenů, listů a semen) významné plodiny slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.) pomocí modifikovaných kultivačních technik a otestovat, zda tyto modifikace umožní zvýšit diverzitu kultivovaných bakterií. Použita byla média založená na (i)rostlinných extraktech, jež lépe simulují trofické poměry v jednotlivých rostlinných kompartmentech, a (ii)přídavku signálních molekul: cAMP, cGMP a acylhomoserinlaktónů, vystupujících v regulaci buněčného cyklu. Po kultivaci byla provedena izolace celkové genomové DNA z kolonií rostoucích na jednotlivých plotnách a následná PCR-amplifikace bakteriálního taxonomického markeru genu pro 16S rRNA. Získané amplikony budou sekvenovány na platformě Illumina MiSeq, získaná data budou analyzována s ohledem na diverzitu kultivovaných bakterií v závislosti na modifikacích ve složení kultivačních médií.

Klinická biochemie

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Igor Hocheľ, CSc. (předseda)

Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

Ing. Anna Macůrková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Michaela Blažková](#) (M2, prof. Ing. Martin Fusek, CSc.)

Mapování neuroinflammace jako součásti neurodegenerace in vitro a in vivo

09:20 [Bc. Jana Bláhová](#) (M1, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Stanovení vazebné afinity derivátů tetrahydropyridinu na muskarinových receptorech

09:40 [Vendula Fícelová](#) (M2, MUDr. Ivan Šebesta, CSc.)

Functional investigation of non-cannonical glycosylation of T-type calcium channels

10:00 [Bc. Michaela Horáková](#) (M2, prof. Ing. Jan Evangelista Dyr, DrSc.)

Pharmacological evaluation of new modulators of voltage-gated calcium channels

10:20 [Bc. Gabriela Janíková](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Vliv deficiencie tryptofanu ve stravě matky na rozvoj úzkostných poruch v dospělosti potomka

10:40 [Zuzana Lenertová](#) (M2, Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Terapeutické cílení na mitochondrie nádorových buněk

11:00 [Bc. Anna Rumlerová](#) (M2, Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Polymerní konjugáty shikoninu využitelné v protinádorové terapii

11:20 [Bc. Kristýna Šilhavá](#) (M2, prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.)

Detekce poškozeného subproteomu v plasmě pacientů s kardiovaskulárním onemocněním

11:40 [Bc. Tereza Turnovská](#) (M2, prof. Ing. Martin Fusek, CSc.)

Identifikace a ADME charakterizace nových antagonistů adrenergických receptorů α 2A

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - KLINICKÁ BIOCHEMIE



Mapování neuroinflamace jako součásti neurodegenerace *in vitro* a *in vivo*

Bc. Michaela Blažková (M2)

Školitel: prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

Obezita, diabetes, neurodegenerativní a kardiovaskulární nemoci patří k nejčastějším příčinám morbidity a mortality na světě. Ukazuje se, že obezita, diabetes 2. typu a neurodegenerace mají společnou etiopatogenezi, která zahrnuje subklinický zánět a insulinovou rezistenci. V rámci našeho projektu jsou zkoumány markery chronického zánětu a neurodegenerace v mozku myšího kmene THY-Tau22 (*in vivo*) a na buněčných modelech (*in vitro*). Hlavním cílem *in vivo* části je studium signálních molekul insulinové kaskády a některých markerů neuroinflamace na myším modelu tau patologie (jednoho ze dvou hlavních znaků Alzheimerovy choroby) u samců i samic na vysokotukové a standardní dietě. *In vitro* část si klade za cíl studium buněčné linie imortalizovaných myších neonatálních mikroglíí, neuroblastomu a směsi těchto linií, u nichž byla pomocí lipopolysacharidu indukována inflamace. Dále je sledován vliv tří peptidů (liraglutidu, ghrelinu a LiPR31) na tyto buněčné kultury a potencionální antiinflamační a antiapoptotický efekt těchto látek.

Stanovení vazebné afinity derivátů tetrahydropyridinu na muskarinových receptorech

Bc. Jana Bláhová (M1)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Celá řada neurologických a psychiatrických onemocnění je spojena se zvýšenou aktivací muskarinových receptorů M_1 - M_5 . Terapeutický potenciál má především vývoj selektivních látek s dlouhodobým působením, které by umožňovaly používání nižších dávek a také minimalizaci vedlejších účinků léčiva. Bylo prokázáno, že za prodloužení účinku některých látek je zodpovědná *O*-hexylová skupina. Deriváty tetrahydropyridinu 1-[2-(4-(hexyloxy)benzoyloxy)ethyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ium a 1-[2-(4-(hexyloxy)benzoyloxy)ethyl]-1-methyl-3,6-dihydro-2H-tetrahydropyridin-1-ium působí jako antagonisté muskarinových receptorů s dlouhodobým účinkem. Pro zvýšení afinity a prodloužení účinku byly syntetizovány deriváty těchto látek s různou polohou *O*-hexylové skupiny a deriváty s vnesenou chinuklidinylovou skupinou. Naším cílem bylo sledovat, jak tyto modifikace ovlivní afinitu k jednotlivým podtypům muskarinových receptorů. Analýza byla provedena na linii buněk CHO produkující jednotlivé podtypy M_1 - M_5 . Vazebná afinita byla stanovena kompetičními vazebnými pokusy za použití tritiovaného antagonisty *N*-methylskopolaminu jako kompetitoru. Z výsledků vyplývá, že poloha *O*-hexylové skupiny neovlivnila afinitu. Naopak vnesení chinuklidinylové skupiny přineslo až stonásobné zvýšení afinity k receptoru.

Functional investigation of non-cannonical glycosylation of T-type calcium channels

Vendula Fichelová (M2)

Školitel: MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Low voltage activated T-type calcium channels are important modulators of the nervous system function. Their post-translational modification is known to be the key mechanism that regulates the channel's activity. This study is dedicated specifically to asparagine (N)-linked glycosylation which is responsible for correct expression, trafficking and maturation of the protein. It also has effect on protein sorting, its participation in the secretory pathway and integration to the plasma membrane. Normally, there is a consensus motif N-X-S/T that determines the place of N-glycosylation. Nevertheless, using electrophysiological recordings, we have been able to identify two new asparagine residues within non-canonical sequences that, upon glycosylation, are essential for expression and correct function of calcium channels in plasma membrane.

Pharmacological evaluation of new modulators of voltage-gated calcium channels

Bc. Michaela Horáková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Evangelista Dyr, DrSc.

Ca^{2+} kanály aktivované napětím generovaným akčním potenciálem na membráně vzrušivých buněk zahrnují nervové buňky. Pro porozumění role T-typu kanálů v neuronech byl v předchozí práci určen jejich expresní profil a v této práci provádím expresi všech třech isoform (Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3) napětově řízených vápenatých kanálů typu T v HEK buňkách. Analýza genomu pacienta s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) odhalila, že ALS souvisí s CACNA1H mutací, která způsobuje opakovanou ztrátu funkce kanálů. Moje práce je zaměřená na měření aktivity napětově řízených vápenatých kanálů s využitím aktivátoru 5AV. Provádím expresi a následně aktivaci všech třech isoform pro porovnání vlivu aktivátoru na jednotlivé z nich. Cílem je najít nový aktivátor vápenatého kanálu typu T, který bude schopný překonat sníženou funkci kanálů způsobenou ALS mutací. Neuronovou vzrušivost ověřuji měřením aktivity Ca^{2+} kanálů, jako odezvu na negativní akční potenciál metodou patch-clamp. Cílem této práce je identifikovat nové aktivátory Ca^{2+} kanálů typu T s potenciálním řešením defektu kanálu typu T spojené s nemocí ALS a potenciálně s dalšího typu neurologických onemocnění.

Vliv deficiencie tryptofanu ve stravě matky na rozvoj úzkostných poruch v dospělosti potomka

Bc. Gabriela Janíková (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Na mozek v embryonálním stádiu působí četné vlivy, které mohou významně ovlivnit rozvoj psychických poruch dospělého jedince. S úzkostnými a kompulzivními poruchami je spojován nedostatek serotoninu. Ten vzniká přeměnou tryptofanu za pomoci tryptofanhydroxylasy 2 (TPH2) přímo v mozku. Zajímalo nás, zda nedostatek tryptofanu ve stravě matky může ovlivnit expresi genu *TPH2* serotogenními neurony, a také způsobit změny v chování potomků. Behaviorální testy (Y-maze, Elevated Plus Maze, Nestlet Shredding, Marble Burying, Open field) neprokázaly výrazné rozdíly ve změně chování mezi Trp-deficientní a kontrolní skupinou. Výzkumem se snažíme zjistit bezpečnost užívaných antidepresiv, které jsou blokátory TPH2, a také nebezpečí malnutrice, ve vztahu matka-dítě.

Terapeutické cílení na mitochondrie nádorových buněk

Zuzana Lenertová (M2)

Školitel: Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Podle světové zdravotnické organizace je rakovina druhou nejčastější příčinou úmrtí ve světě. V rozvoji nádorů hraje důležitou roli nádorová hypoxie a zvýšená tvorba laktátu, a to jak při propagaci nádoru, tak při rezistenci k radioterapii. Proto by mohlo být dobrou alternativou pro budoucí terapii zaměřit se na hypoxické oblasti nádoru. Tato práce se věnuje ovlivňování nádorového mikroprostředí použitím médií o různém složení, především okyselených a obohacených laktátem sodným. Dále je sledován vliv efektorových sloučenin ovlivňujících mitochondriální metabolismus a energetiku. Jednou ze zkoumaných látek je karbonyl cyanid 4-(trifluorometoxy) phenylhydrazon (FCCP), tzv. odpřahovač, který blokuje syntézu ATP oxidační fosforylací tak, že transportuje protony přes vnitřní mitochondriální membránu zpět do matrix. Pro zesílení jeho efektu je k buňkám přidáván spolu s peroxidem vodíku. Testování probíhá na buněčných liniích typu PaTu pocházejících z lidského nádoru pankreatu a vyhodnocení viability buněk je prováděno resazurinovým testem. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že nižší pH napomáhá účinkům efektorových sloučenin a výsledná životaschopnost buněk je nižší.

Polymerní konjugáty shikoninu využitelné v protinádorové terapii

Bc. Anna Rumlerová (M2)

Školitel: Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Shikonin je přírodní látka, používána po staletí v tradiční čínské medicíně a to zejména pro své hojivé, protizánětlivé a protinádorové účinky. Jde o jednoduchou sloučeninu, patří do skupiny naftochinonů. Díky své struktuře vykazuje pozoruhodné biologické účinky, avšak je díky ní i poměrně nestálá. Právě labilita a nerozpustnost brání plnému využití protinádorového potenciálu shikoninu. Tato skutečnost by mohla být potlačena navázáním Shikoninu na vodorozpustný, biokompatibilní polymerní nosič na bázi HPMA kopolymerů. K přípravě polymerního konjugátu Shikoninu bylo nutné léčivo převést na vhodný derivát. Ten byl připraven esterifikací Shikoninu a azidopentanové kyseliny s využitím vodorozpustného karbodiimidu. Struktura derivátu byla ověřena pomocí NMR. Připravený ester nese reaktivní azidové skupiny, umožňující reakci s DBCO skupinami (aktivovaný alkyn), navázanými na polymerní prekursor. Výchozí látkou pro syntézu prekursoru byl HPMA- β -Ala-TT (7,0 mol%TT). Po reakci s DBCO-aminem vznikl polymerní prekursor nesoucí 4,5 mol% DBCO skupin. Polymerní konjugát je výsledkem reakce DBCO skupin prekursoru s azidovými skupinami derivátu. U takto připraveného konjugátu byla stanovena cytotoxicita na dvou nádorových liniích, MCF7 (IC₅₀= 15,92 μ g/ml) a MDA-MB231 (IC₅₀= 4,47 μ g/ml).

Detekce poškozeného subproteomu v plasmě pacientů s kardiovaskulárním onemocněním

Bc. Kristýna Šilhavá (M2)

Školitel: prof. RNDr. Milan Kodíček, CSc.

Celosvětový nárůst průměrné délky života vede k rostoucí prevalenci kardiovaskulárních onemocnění (KVO). KVO jsou hlavní příčinou úmrtí moderní doby. Je dobře známo, že mechanismy stáří mají za následek selhání systému kontroly kvality proteinů kardiomyocytů. Kardiomyocyty jsou vzhledem ke své metabolické aktivitě k narušení integrity proteomu náchylnější než ostatní buňky. Postupná akumulace špatně složených nebo poškozených proteinů působí proteotoxicky a zrychluje stárnutí kardiomyocytů. Cílem práce je detekce poškozeného subproteomu krevní plasmy u vybraných KVO pomocí nové „HSP70 trap“ metody založené na rezonanci povrchových plasmonů (SPR) využívající různé subcelulární chaperony (rodiny HSP70 a HSPB) a identifikace poškozeného subproteomu hmotnostní spektrometrií. Pro zpracování vzorků plasmy byla vytvořena rychlá metoda využívající imunodepleci 14-ti nejzastoupenějších proteinů krevní plasmy. Pomocí SPR metody byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi kontrolními vzorky a pacienty před infarktem a po infarktu. Navržený přístup by mohl odhalit poškozený subproteom uniklý z buňky a přispět k hlubšímu pochopení procesů probíhajících během nástupu nemoci. Skupina specifických poškozených proteinů by mohla představovat „proteinový podpis“ daného stavu KVO onemocnění.

Identifikace a ADME charakterizace nových antagonistů adrenergických receptorů $\alpha 2A$

Bc. Tereza Turnovská (M2)

Školitel: prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

GPCR (G-protein coupled receptors) jsou početnou skupinou membránových proteinů zajišťujících svou aktivitou široké spektrum životně důležitých fyziologických funkcí. Jejich zásadní funkci v organismu dokazuje i fakt, že jsou cílem více než 50% všech léčiv a mnohé jejich ligandy figurují na seznamu sta nejprodávanějších farmaceutických produktů. Adrenoceptory patří do této skupiny receptorů. Zprostředkovávají buněčnou odpověď při působení endogenních katecholaminů. Zásadní jsou pro funkci nervové, urogenitální a kardiovaskulární soustavy, také ale jater nebo svalů. Ligandy $\alpha 2$ skupiny adrenoceptorů působí jako sedativa, svalové relaxanty, analgetika, antihypertenziva, používají se při léčbě závislosti na opiátech a poruch pozornosti. Problémem těchto ligandů užívaných jakožto léčiv je jejich nedostatečná selektivita a specifita k jednotlivým typům adrenoceptorů, která vede k projevu vedlejších účinků léků. Proto je snaha o identifikaci nových ligandů adrenergických receptorů potenciálně využitelných jakožto léčiv. Cílem této práce je zhodnocení farmakologického potenciálu nových antagonistů $\alpha 2A$ adrenoceptorů. V prvním kroku identifikují ligandy v buněčném systému overexprimujícím $\alpha 2A$ adrenoceptor, následně stanovují jejich základní parametry *in vitro* ADME a jejich cytotoxicitu.

Molekulární biologie a biochemie I

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Lukáš Bláha](#) (M2, Ing. Petra Junková, Ph.D.)

Vazba matrixových proteinů retrovirů na fosfolipidovou membránu pro studium jejich strukturního uspořádání.

09:20 [Bc. Hana Čermáková](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Fluorescenční značení retrovirového cytoplasmatického ocasu.

09:40 [Kinga Hajduk](#) (M2, Ing. Jan Prchal, Ph.D.)

Studium mutantů ovlivňujících oligomerizaci matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru

10:00 [Bc. Radka Ježíšková](#) (M2, Ing. Petra Junková, Ph.D.)

Strukturní analýza interakce mezi lidskou helikasou DHX15 a retrovirovou doménou bohatou na glyciny pomocí proteinového zesíťování

10:20 [Bc. Jakub Kaňka](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Optimalizace systému pro detekci časně umlčených provirů

10:40 [Bc. Zuzana Kůtová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

RNA helikázy a jejich interakce s vybranými proteiny Mason Pfizer opičího viru.

11:00 [Bc. Jana Nedzelská](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Využití parvalbuminového genu pro identifikaci štiky obecné

11:20 [Bc. Lucie Prokopová](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

*Studium mutantů matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru
ovlivňujících myristoylový přepínač*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A BIOCHEMIE I



Vazba matrixových proteinů retrovirů na fosfolipidovou membránu pro studium jejich strukturního uspořádání.

Bc. Lukáš Bláha (M2)

Školitel: Ing. Petra Junková, Ph.D.

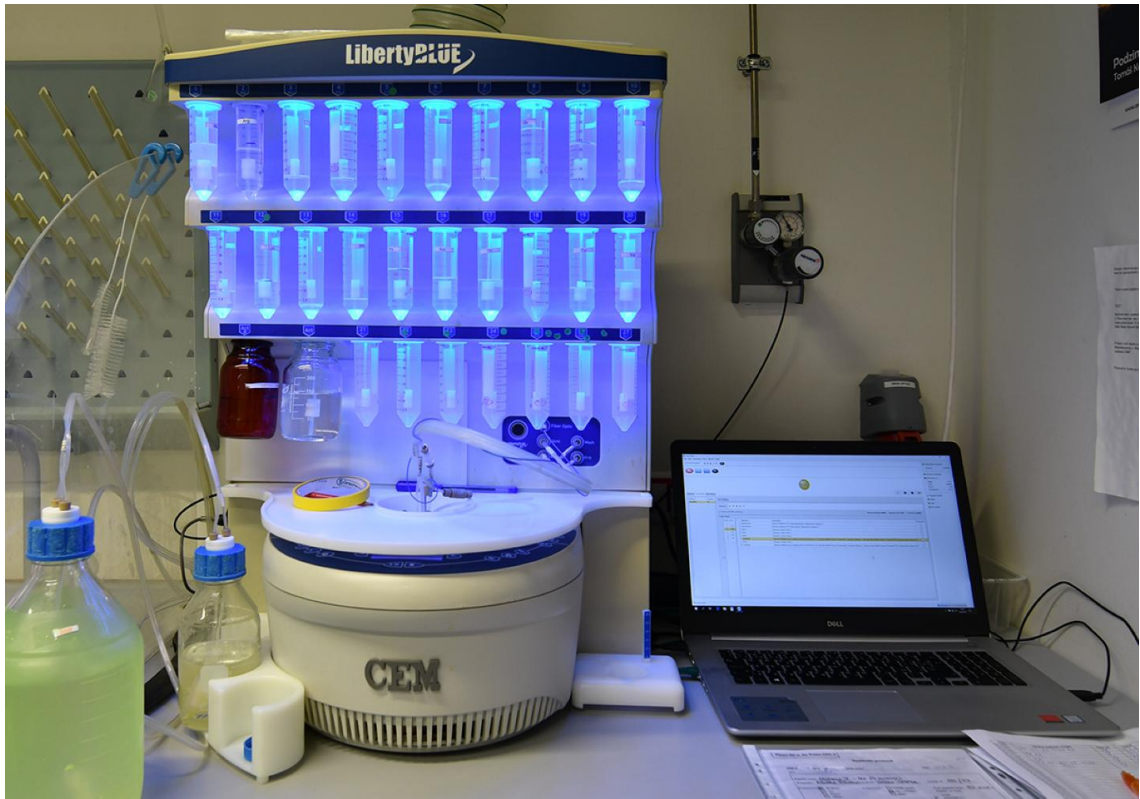
Matrixové proteiny hrají důležitou roli v životním cyklu retrovirů. Jakožto N-terminální část polyproteinového prekurzoru Gag jsou zodpovědné za cílení Gag do místa skládání nových virových částic, specificky rozpoznávají plazmatickou membránu (PM) hostitelských buněk a interagují s obalovým glykoproteinem Env. K vazbě na PM využívají N-terminálně vázaný zbytek kyseliny myristové a vysoce bazickou oblast poblíž N-konce. Předpokládá se, že pro správné plnění jejich funkcí je nezbytné jejich homotrimerní uspořádání, které však nebylo doposud v blízkosti PM detailně popsáno. Náplní této práce je proto studium strukturního uspořádání matrixových proteinů Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV) a viru lidské imunodeficiency 1 (HIV-1) vázaných na fosfolipidovou membránu. Nejprve byla u obou proteinů testována jejich afinita k liposomům o rozdílném složení fosfolipidů, přičemž u liposomů imitujících složení PM byl též testován vliv cholesterolu. Tento vliv však nebyl ani u jednoho ze zkoumaných proteinů prokázán. Poznatky o afinitě budou následně využity při detailním zkoumání vzájemné orientace matrixových proteinů M-PMV a HIV-1 vázaných na membránu pomocí metody proteinového zesíťování, což by mohlo napomoci odhalení strukturních motivů, které jsou nezbytné pro proliferaci retrovirů.

Fluorescenční značení retrovirového cytoplasmatického ocasu.

Bc. Hana Čermáková (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Retroviry jsou skupina obalených jednovláknových RNA virů se schopností reversní transkripce, mající společné obecné znaky. Mezi jejich zástupce se řadí i některé lidské patogeny, konkrétně virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) a lidský T-lymfotropní virus 1 (HTLV-1). Cytoplasmatický ocas je doména obalového retrovirového glykoproteinu. Interakce této C-terminální domény s matrixovým proteinem retroviru je pro jeho nakažlivost esenciální. Moje práce pojednává o přípravě retrovirového cytoplasmatického ocasu a jeho následném fluorescenčním značení. Toto značení je nezbytné pro zkoumání interakcí s matrixovým proteinem pomocí metody zvané termoforéza. Peptid o 38 aminokyselinách, který je odvozen z cytoplasmatické domény obalového glykoproteinu Mason-Pfizerova opičího viru, byl připraven metodou syntézy peptidů na pevné fázi pomocí syntetizátoru CEM-LibertyBlue s možností urychlit kondenzační reakce působením mikrovln. Fluorescenční značka (fluorescein isothiokyanát), byla navázána na N-terminální konec peptidu a produkty byly analyzovány pomocí LC/MS. Bylo zjištěno, že čistota produktu je velmi nízká a že v průběhu odštěpování došlo patrně k rozfragmentování produktu na N-terminálním konci, kam se navazovala značka (Jullian et al., 2009).



Studium mutantů ovlivňujících oligomerizaci matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru

Kinga Hajduk (M2)

Školitel: Ing. Jan Prchal, Ph.D.

Retroviry jsou infekční patogeny napadající širokou škálu organismů. Mason-Pfizerův opičí virus (M-PMV) je modelovým organismem pro výzkum této čeledi. Matrixový protein (MA) se nachází na N-konci polyproteinového prekursoru Gag. Během zrání je od Gag uvolněn štěpením virovou proteásou. MA je N-konci kontrastně modifikován pomocí kyseliny myristové, která umožňuje přichycení k membráně. Schopnost oligomerizace retrovirových MA hraje důležitou roli při skládání virových částic a jejich interakci s buněčnou membránou. U HIV-1 myrMA se myristová skupina nachází ve dvou konformacích, schovaná uvnitř jádra proteinu nebo vystavená venku, což je spojeno s reorganizací struktury a následnou oligomerizací tohoto proteinu, který se nachází v monomer-trimer rovnováze. Tento jev se nazývá myristoylový přepínač. U M-PMV myrMA se předpokládá obdobný mechanismus, avšak bylo prokázáno, že v roztoku i ve vysokých koncentracích multimery nevytváří. M-MPV myr(-)MA v roztoku vytváří dimery, ve vyšších koncentracích i trimery. Tato práce se zabývá zkoumáním MA mutantu T69C, který stabilizuje vzniklé oligomery tvorbou disulfidového můstku a kontrolního mutantu Y66A/Y67A/T69C, kde je narušeno oligomerizační rozhraní a oligomery se netvoří.

Strukturní analýza interakce mezi lidskou helikasou DHX15 a retrovirovou doménou bohatou na glyciny pomocí proteinového zesíťování

Bc. Radka Ježíšková (M2)

Školitel: Ing. Petra Junková, Ph.D.

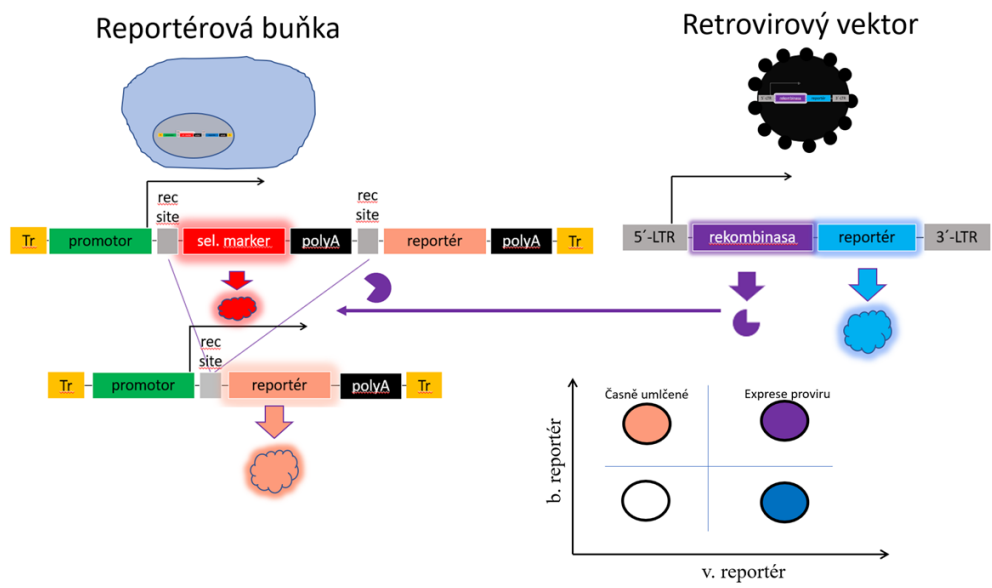
Jedním z možných přístupů výzkumu nových antivirových se jeví identifikace hostitelských proteinů, které retrovirus během životního cyklu „zneužívá“ ve svůj prospěch. Mezi tyto hostitelské proteiny patří též buněčná RNA helikasa DHX15, která byla již pomocí proteomické analýzy detekována ve virionech Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV). M-PMV obsahuje unikátní, na glyciny bohatou doménu (GPD), nezbytnou pro virovou infektivitu, jejíž přítomnost v genové výbavě viru koreluje s přítomností DHX15 ve virionech. To naznačuje jejich vzájemnou interakci. Cílem této práce je strukturní analýza komplexu DHX15-GPD pomocí proteinového zesíťování. Za tímto účelem byly proteiny DHX15 a GPD exprimovány, izolovány a purifikovány pomocí afinitní chromatografie. Oba proteiny byly dále podrobeny zesíťování a tvorba komplexu *in vitro* byla ověřována pomocí imunochemické detekce. Interakční rozhraní proteinů v zesíťovaném komplexu bude dále studováno pomocí hmotnostně-spektrometrických přístupů. Využití poznatků ze strukturní analýzy interakce mezi hostitelskou helikasou DHX15 a GPD M-PMV by mohlo významně přispět nejen k objasnění role DHX15 v retrovirových částicích, ale i potenciálnímu snížení infekivity retrovirů.

Optimalizace systému pro detekci časně umlčených provirů

Bc. Jakub Kaňka (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Retroviry se vyznačují schopností vkládat svojí genetickou informaci do buněčného genomu. Integrací retrovirového genomu do hostitelské chromosomální DNA vzniká provirus. V infikované buňce mohou být provirové geny exprimovány, nicméně často dochází k jejich cílenému transkripčnímu umlčování. Cílem této práce je příprava detekčního systému pro studium provirů umlčených časně po infekci. Pro tento účel byl naklonován vektor s reportérovou kazetou na basi Cre-Lox rekombinasového systému (Obr. 1). Testy na buněčných kulturách prokázaly indukci exprese reportéru vyvolanou rekombinací LoxP míst vlivem Cre rekombinasy. Reportérová kazeta byla vložena do transposonů a takto připravené konstrukty byly vpraveny do buněčných kultur. U těchto kultur byla sledována stabilita exprese reportérové kazety pomocí průtokové cytometrie. Dále budou buňky s reportérovou kazetou sortovány. Získané buněčné populace se stabilní expresí reportérové kazety budou dále infikovány vybranými retroviry a následně bude sledována dynamika jejich umlčování průtokovou cytometrií. Připravený detekční systém může být dále použit pro porovnání integračních profilů provirů s cílem identifikovat společné chromatinové determinanty určující rozdílnou dynamiku jejich umlčování.



RNA helikázy a jejich interakce s vybranými proteiny Mason Pfizer opičího viru.

Bc. Zuzana Kůtová (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

RNA helikasy hrají důležitou roli v reakci na virovou infekci. DHX15 je buněčná RNA helikasa podílející se na sestřihu mRNA molekul a rozvolňování RNA duplexů. Její role v rozpoznání virové RNA však není známa. Tento enzym byl identifikován jako jeden z buněčných proteinů, inkorporujících se do retrovirových částic Mason Pfizerova opičího viru (M-PMV). Během studia M-PMV bylo zjištěno, že přítomnost, či absence části jeho polyproteinu s vysokým obsahem konzervovaných glycinů, označované jako G-patch doména (GPD), ovlivní přítomnost DHX15 ve virionech. M-PMV, nesoucí mutace těchto konzervovaných glycinů či delecí celé GPD, není schopen provést reversní transkripci své genomové RNA do DNA a není tedy infekční. Na základě našich dat se domníváme, že buněčná helikasa DHX15 se prostřednictvím GPD (a zřejmě i virové RNA) dostává do částic M-PMV, kde se pravděpodobně podílí na průběhu reverzní transkripce. Během mé práce byla optimalizována metoda pro purifikaci GPD. Tento peptid byl metabolicky, neradioaktivně označen, a byl připraven v dostatečném množství a kvalitě umožňující strukturní analýzu pomocí NMR spektroskopie. V dalších krocích bychom rádi využili NMR spektroskopii pro testování interakčního rozhraní a potvrdili předpokládanou interakci mezi GPD a DHX15.

Využití parvalbuminového genu pro identifikaci štiky obecné

Bc. Jana Nedzelská (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Ryby a výrobky z nich jsou příkladem stále častěji falšovaných potravin. Moje práce se zabývá konkrétně identifikací štiky obecné, která patří mezi nejvýznamnější dravé ryby chované v České republice. Roční produkce odlovem z jezer a řek z volné přírody činí 140–180 tun za rok. Štika jako další ryby obsahuje zdraví ohrožující alergeny, z tohoto důvodu je vhodné mít nástroje pro její identifikaci. Tato práce je zaměřena na výběr nejvhodnějších primerů pro identifikaci štiky obecné pomocí klasické i kvantitativní polymerázové řetězové reakce (PCR). Pro analýzu je využit gen proteinu parvalbuminu, konkrétně jeho druhý intron. Jedná se o často využívaný nízkomolekulární jaderný marker. V genomu štiky obecné existuje celkem 7 genů kódujících různé isoformy parvalbuminu. Součástí experimentální části byla také izolace DNA ze svaloviny štiky obecné, spektrofotometrické stanovení koncentrace a kvality izolované DNA a její elektroforetická kontrola. Mezi mé další cíle patří navrhnout specifickou fluorescenčně značenou sondu (komplementární úsek nukleové kyseliny) pro qPCR identifikaci štiky obecné.

Studium mutantů matrixového proteinu Masonova-Pfizerova opičího viru ovlivňujících myristoylový přepínač

Bc. Lucie Prokopová (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Retroviry, v čele s virem lidské imunodeficiency 1 (HIV-1), jsou předmětem intenzivního výzkumu, jehož cílem je porozumět jednotlivým krokům jejich životního cyklu. Masonův-Pfizerův opičí virus (M-PMV) je vhodným modelem pro tyto studie, protože má časově a prostorově oddělené skládání nezralé virové částice od pučení na cytoplazmatické membráně. Významnou roli v transportu nezralé částice k cytoplazmatické membráně buňky a v interakci s touto membránou hraje matrixový protein (MA), který je na N-konci myristoylován. U HIV-1 bylo zjištěno, že zbytek kyseliny myristové přechází pomocí takzvaného myristoylového přepínače mezi dvěma stavy: myristoyl je buď schován do hydrofobní kapsy MA nebo je vystaven na povrch proteinu. U M-PMV zatím myristoylový přepínač nebyl *in vitro* pozorován. V rámci této práce byl připraven matrixový protein M-PMV s mutacemi I51A anebo I86A pro studium role myristoylového přepínače při maturaci M-PMV. Tyto mutace snižují hydrofobicitu myristoylové kapsy a mohly by usnadnit myristoylové přepnutí. Dále pak byly připraveny vektory pro produkci M-PMV (delta Env – neinfekční) v tkáňových buňkách obsahující tyto mutace a následně jimi byly transfekovány buňky Cos-1. Cílem je zjistit vliv vnesených mutací na stabilitu nezralé virové částice v hostitelské buňce.

Molekulární biologie a biochemie II

MÍSTO: ONLINE - MS TEAMS

KOMISE

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná (předseda)

Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Ing. Martin Janda, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Aleksandra Atanasova](#) (M2, Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.)

Detekce genů bakteriálních efluxních pump způsobujících rezistenci k antibiotikům v potravinovém řetězci

09:20 [Bc. Patrik Horna](#) (M2, Ing. Hana Michova, Ph.D.)

Diferenciace exprese genů stresové odpovědi Campylobacter jejuni v prostředí hostitele a mimo něj

09:40 [Anna Chaloupecká](#) (M1, Ing. Jan Sácký, Ph.D.)

Identifikace genetických a biologických aspektů akumulace Cd a Zn v Amanita muscaria

10:00 [Bc. Lýdie Jakobová](#) (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

Izolace a charakterizace bakteriálních populací podílejících se na degradaci ligninu

10:20 [Bc. Veronika Kočárková](#) (M2, prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.)

Studium jedno- a více-druhových biofilmů

10:40 [Bc. Anna Košinová](#) (M2, doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.)

Využití biomarkerů ke studiu diverzity endofytních mikroorganismů révy vinné

11:00 [Bc. Lenka Lasoňová](#) (M2, Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.)

*Transportní systémy patogenních kvasinek: klonování genu TRK1
Candida parapsilosis a charakterizace jeho produktu*

11:20 [Bc. Václav Peroutka](#) (M2, Ing. Sabina Purkrtová, Ph.D.)

Vliv kovových nanočástic na transkripci genů tvorby biofilmu u Salmonella spp.

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A BIOCHEMIE II

MERCK



Detekce genů bakteriálních efluxních pump způsobujících rezistenci k antibiotikům v potravinovém řetězci

Bc. Aleksandra Atanasova (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Antibiotika jsou nepostradatelná při léčbě bakteriálních onemocnění, proto bakterie odolné vůči působení antibiotik představují velmi závažný problém. Rezistence na antibiotika se navíc v bakteriálních populacích dále šíří. Tato situace výrazně komplikuje antibiotickou léčbu, neboť se zvyšuje počet bakteriálních onemocnění, na které antibiotická léčba není použitelná. Mezi významné zdroje šíření rezistentních bakterií patří poté i potraviny a celý potravinový řetězec. Mezi významné mechanismy rezistence patří odstranění antibiotika z bakteriální buňky pomocí efluxních pump. Tato práce je zaměřena právě na detekci genů efluxních pump způsobujících rezistenci k antibiotikům v potravinovém řetězci metodou PCR. Teoretická část práce je věnována popisu těchto efluxních pump. Pro experimentální práci byly použity již dříve získané bakteriální izoláty z potravinového vzorku, kdy predikce výskytu genů efluxních pump byla získána metodou nanopórového sekvenování. Pro vybrané geny efluxních pump byly na základě *in silico* analýz vybrány z literatury a databází (ARGA, LCPDb) vhodné primery a navrženy PCR protokoly. Tyto protokoly umožní potvrdit výskyt predikovaných genů u izolátů čeledi *Enterobacteriaceae*, u kterých bude zároveň stanoven jejich fenotypový profil rezistence k antibiotikům.

Diferenciace exprese genů stresové odpovědi Campylobacter jejuni v prostředí hostitele a mimo něj

Bc. Patrik Horna (M2)

Školitel: Ing. Hana Michova, Ph.D.

Campylobacter jejuni je považován za komenzála mnoha živočichů, u lidí je ovšem původcem závažných průjmových onemocnění, v některých případech s dohrou v podobě rozvinutí paralytické neuropatie. Podobně jako jiné druhy rodu *Campylobacter* je tento velmi citlivý na podmínky, za kterých je kultivován. V návaznosti na ně upravuje svou genovou expresi, přechází do nekultivovatelného stavu, či hyne. Cílem práce je sledování změn exprese několika vybraných genů pod vlivem oxidativního, kyselého a chladového stresu metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce, a to v podmínkách mimikujících prostředí uvnitř hostitele a mimo něj. Dle dostupných dat z literatury byly pro experiment vybrány geny *tpx*, *dps*, *p19*, *dnaK*, *ahpC*, *luxS*, *katA*, *hrcA* a *grpE*. Za účelem nalezení nejvhodnějších referenčních genů pro qPCR byly dále vybrány geny *rpoA*, *lpxC*, *glyA*, *gyrA* a *slyD*. Na základě *in silico* PCR byly pro tyto geny navrženy páry primerů. Po otestování jejich specifity a efektivity bude prováděna lyse buněk *C. jejuni* vystavených stresovým podmínkám v médiu imitujícím hostitelské prostředí, izolace přítomné RNA, její reverzní transkripce a následně semikvantitativní analýza genové exprese pomocí qPCR. Výsledky budou porovnány s buňkami, které byly za stejných podmínek kultivovány na běžném médiu.

Identifikace genetických a biologických aspektů akumulace Cd a Zn v *Amanita muscaria*

Anna Chaloupecká (M1)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Ektomykorhizní houba *Amanita muscaria* se řadí mezi akumulátory kadmia a zinku. Cílem této práce bylo zjistit biologické a genetické aspekty akumulace Zn a Cd v jejích myceliích a plodnicích. K zjištění intracelulárních forem Zn a Cd byla použita gelová permeační chromatografie s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou. Z těchto analýz bylo zjištěno, že v plodnicích byla největší část intracelulárního Zn a Cd navázána na peptidy o velikosti zhruba 6 kDa. Naopak u mycelií byla podstatná část Zn a Cd přítomna v nízkomolekulárních frakcích odpovídajících glutathionu. Tyto poznatky poukazují na jinou strategii detoxikace Zn a Cd v myceliích a v plodnicích. Další částí práce bylo porovnání tolerance a akumulace Zn a Cd u dvou ekotypů mycelií *A. muscaria* z různých lokalit (z čisté a kontaminované lokality). Z výsledků těchto studií vyplývá, že oba izoláty vykazují stejnou toleranci k Zn, ale izolát z kontaminované lokality je tolerantnější k Cd. Navíc se ukázalo, že ekotyp z čisté lokality akumuluje více Zn než ekotyp z kontaminované lokality, avšak akumulace Cd byla u obou ekotypů téměř stejná. Nakonec byl izolován a charakterizován gen *AmMT1* zodpovědný za vazbu Zn a Cd. U tohoto peptidu byl zkoumán účinek histidinového zbytku a C-koncové domény na vazbu Zn.

Izolace a charakterizace bakteriálních populací podílejících se na degradaci ligninu

Bc. Lýdie Jakubová (M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Mezi kontaminanty životního prostředí řadíme především látky ze skupiny perzistentních organických polutantů (POPs). Jejich odstraňování fyzikálními nebo chemickými metodami je složité, invazivní a nákladné, proto se klade důraz na rozvoj bioremediačních metod in-situ. Široká substrátová specifita mnohých degradačních enzymů nabízí možnost využít k rozkladu POPs enzymatický aparát půdních konsorcií, původně zprostředkovávajících degradaci přírodních aromatických látek. Zásobárnou těchto látek je např. rostlinný heteropolymer lignin, při jehož rozkladu vzniká široké spektrum sloučenin strukturně podobných některým POPs. Nabohacovací kultivací byla v této práci izolována bakteriální konsorcia, schopná rozkládat lignin a jeho meziprodukty degradace. Po cca 10 pasážích byla získána konsorcia využívající lignin, acetosyringon, vanilin, pinoresinol, guaiacylglycerol- β -guaiacyl ether a kyseliny ferulovou, p-kumarovou, p-hydroxybenzoovou a 6,6'-dihydroxy-5,5'-dimethoxybifenyl-3,3'-dikarboxylovou. Tato konsorcia budou z hlediska druhové diverzity charakterizována pomocí amplikonového sekvenování genu pro 16S rRNA. Následně bude testována jejich schopnost degradovat vybrané polutanty, a to konkrétně inkubací konsorcia s polutantem a následným měřením úbytku polutantu pomocí HPLC.

Studium jedno- a více-druhových biofilmů

Bc. Veronika Kočárková (M2)

Školitel: prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Rezistence k antibiotikům trvale narůstají a představují jednu z největších hrozeb současného zdravotnictví. Tento závažný problém je navíc umocňován existencí bakterií, které jsou schopné tvořit odolný biofilm. Biofilm, strukturované konsorcium mikrobiálních buněk pevně adherovaných k povrchu a obalených extracelulární matricí, patří mezi nejúspěšnější způsoby života na Zemi. Díky své struktuře a pozměněným vlastnostem bakterií vykazují biofilmy zvýšenou toleranci k antimikrobiálním látkám či složkám imunitního systému hostitele. Zmiňovaná skutečnost je hlavním důvodem problematické a často neúspěšné léčby infekcí způsobených biofilmy. V neposlední řadě představují biofilmy ideální podmínky pro šíření antibiotické rezistence mechanismem horizontálního genového transferu a jsou považovány za hlavní rezervoár genů kódujících rezistenci k antibiotikům. Nalezení účinné strategie v boji proti chorobám způsobeným biofilmy je tak jednou z nejnaléhavějších výzev současného výzkumu. Cílem této práce je metodou qPCR analyzovat jedno- a více- druhové biofilmy bakterií *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Bude sledován vliv vybraných antibiotik na zastoupení jednotlivých bakteriálních druhů v biofilmech a dále budou kvantifikovány vybrané geny rezistence.

Využití biomarkerů ke studiu diverzity endofytních mikroorganismů révy vinné

Bc. Anna Košinová (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Veškerá rostlinná pletiva jsou kolonizována mikroorganismy. Mohou to být mikroorganismy epifytní na povrchu nebo endofytní uvnitř rostliny. Obvykle se endofyty rozumí mikroorganismy, které obývají prostor mezi buňkami rostliny nebo vnitřek buněk, a které nezpůsobují viditelné symptomy onemocnění. Endofyté mohou produkovat metabolity prospěšné pro růst a výživu rostliny nebo chránit rostlinu proti napadení patogenem. Skladba a množství endofytů se liší například v závislosti na rostlině, rostlinném orgánu nebo jejím věku a je ovlivněna i řadou vnějších faktorů jako je použití pesticidů, roční období a další. Naším cílem je popsat rozdíly ve skladbě a množství endofytních mikroorganismů v listech a stoncích ekonomicky významné plodiny, révy vinné, a to z různých odrůd, různých vinic během čtyř ročních období. Jako nástroj pro porovnání diverzity mikroorganismů byla zvolena analýza metylesterů mastných kyselin (FAME). Další plánovanou metodou studia rozdílů ve skladbě mikroorganismů je repetitivní PCR.

Transportní systémy patogenních kvasinek: klonování genu TRK1 Candida parapsilosis a charakterizace jeho produktu

Bc. Lenka Lasoňová (M2)

Školitel: Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.

Kvasinky rodu *Candida* patří mezi nejčastější původce kvasinkových infekcí. I přesto, že se ve většině případů jedná o neškodné zástupce lidské mikrobioty, u imunosuprimovaných pacientů mohou vyvolávat závažné systémové infekce, jejichž mortalita dosahuje řádově desítek procent. Virulence jednotlivých druhů kandid závisí na mnoha faktorech, jedním z nich je i schopnost odolat vnějším stresujícím podmínkám, jako je třeba nízká koncentrace draselných iontů na sliznicích či v krevní plazmě. Draselné ionty jsou pro buňku nezbytné z mnoha důvodů: kompenzují negativní náboj makromolekul, regulují vnitrobuněčné pH, membránový potenciál a také buněčný objem. Kvasinky jsou nuceny soupeřit o draslík s buňkami hostitele, proto se u nich vyvinuly efektivní draselné transportéry. Mezi tyto transportéry patří i rodina Trk proteinů, která nemá v lidském genomu žádný homolog, a tudíž by se potenciálně mohla stát novým cílem antimykotických léčiv. Práce se tedy zaměřila na klonování TRK1 genu *C. parapsilosis* a jeho heterologní expresi v kmeni *Saccharomyces cerevisiae*, jenž postrádá vlastní transportní systémy draslíku. Tento mutant byl následně charakterizován za různých stresových podmínek. Jeho sekvence byla taktéž srovnána s homologními proteiny dalších patogenních kvasinek.

Vliv kovových nanočástic na transkripci genů tvorby biofilmu u *Salmonella* spp.

Bc. Václav Peroutka (M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrtová, Ph.D.

Bakterie rodu *Salmonella* patří do čeledi *Enterobacteriaceae* a některé jejich sérotypy jsou původci salmonelózy, závažného alimentárního onemocnění. V České republice i dalších zemích je salmonelóza druhým nejčastějším gastrointestinálním onemocněním. Tyto bakterie jsou schopné na biotických i abiotických površích tvořit biofilmy, tedy mnohobuněčná společenstva ukotvená v extracelulární matrici. Biofilm bakteriím propůjčuje značnou chemickou i mechanickou odolnost a usnadňuje např. i horizontální přenos genů. Důsledkem tvorby biofilmu dochází mimo jiné ke kontaminacím výrobků v potravinářských provozech. Mezi značné problémy současnosti patří rostoucí rezistence bakterií ke klasickým antibiotikům, proto jsou zkoumány nové antibakteriální látky, mimo jiné nanočástice. Teoretická část této práce se zabývá charakteristikou biofilmu rodu *Salmonella*, geny zahrnutými v regulaci jeho tvorby a mechanismy interakce nanočástic s planktonickými buňkami a biofilmem. Praktická část zahrnuje stanovení vlivu nanočástic stříbra, platiny a palladia na tvorbu a eradikaci biofilmu u 2 kmenů *Salmonella enterica* sérotyp Typhimurium. Následně bude pomocí qPCR metody stanoven vliv kovových nanočástic na relativní míru transkripce genů klíčových pro tvorbu biofilmu s využitím vybraných referenčních genů.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Sacharidy a Cereálie](#)

Sacharidy a Cereálie

MÍSTO: ON LINE MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D. (předseda)

doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.

doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

Ing. Pavel Skřivan, CSc.

Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Kristýna Caltová](#) (M2, doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.)

Ekologická adsorpce těžkých kovů na modifikovaných materiálech na bázi škrobu

[Bc. Klára Jirásková](#) (M2, Ing. Pavel Skřivan, CSc.)

Vliv parametrů dezintegračního procesu na strukturu a vlastnosti speciálních celozrnných mouk

[Bc. Karolina Jiříčková](#) (M2, Ing. Ivan Švec, Ph.D.)

Vliv různých konopných produktů na reologické vlastnosti a těstářenskou kvalitu pšeničné mouky

[Bc. Kristýna Panušková](#) (M1, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Využití léčivých hub v reformulaci receptur fondánů a karamel typu Toffee a Fudge.

[Bc. Eliška Petříková](#) (M2, Ing. Ivan Švec, Ph.D.)

Vybrané reologické vlastnosti suspenzí a těst ze speciálních celozrnných mouk

[Bc. Anastasia Skrynnikova](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Strukturní analýza polysacharidů hub rodu Ganoderma

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SACHARIDY A CEREÁLIE



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY

AAK



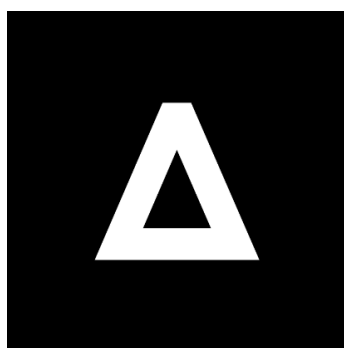
HELAGO[®] CZ



SHIMADZU

Excellence in Science

Melvia↑



P-LAB



Ekologická adsorpce těžkých kovů na modifikovaných materiálech na bázi škrobu

Bc Kristýna Caltová (M2)

Školitel: doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.

Ke snížení koncentrací těžkých kovů z roztoků se dají využít různé techniky, jako je reverzní osmóza, iontová výměna nebo chemické srážení. Všechny tyto techniky mají jeden společný problém, většina z nich vytváří sekundární odpad. Adsorpci na modifikované škroby lze využít pro zachytávání těžkých kovů z vod z důvodu dostupnosti, nízké investice a recyklovatelnosti škrobu. Cílem práce je modifikovat škrob na materiál s vysokou adsorpční kapacitou. První syntéza byla provedena pomocí kyseliny citrónové a ethanolu za vzniku porézního škrobového citrátu. Dále se provádělo zesíťování kukuřičného škrobu za vzniku dithiokarbamátu škrobu pomocí epichlorhydrinu, kyseliny chloristé, ethylentriaminu a sirouhlíku.

Vliv parametrů dezintegračního procesu na strukturu a vlastnosti speciálních celozrnných mouk

Bc. Klára Jirásková (M2)

Školitel: Ing. Pavel Skřivan, CSc.

Obiloviny tvoří již po několik staletí významnou složku potravy. V současné době je snaha obiloviny využít nejen jako energetický zdroj, ale také pro jejich nutriční benefity. Pozornost je tak zaměřena na celozrnné mouky, které na rozdíl od standardních mouk obsahují i vnější vrstvy obilného zrna neboli otruby. Významnou složkou otrub je zejména vláknina. Vláknina ovlivňuje chování těsta při zpracování a má vliv na sensorické vlastnosti výrobku. Z tohoto důvodu jsou inovovány technologie mletí obilných zrn, jejichž cílem je vyrobit celozrnné mouky, které by měly vzhledem ke svým vlastnostem poskytovat sensoricky přijatelnější produkty. Zároveň by se mouky měly vyznačovat vyšším obsahem jemněji granulované vlákniny, čímž by měla být zvýšena dostupnost nutričně významných složek. Naopak riziko poškození škrobu a s tím spojená hodnota glykemického indexu by měly být nižší. V rámci práce byly testovány celozrnné mouky (pšeničná, žitná, špaldová) vyrobené inovativní mlýnskou technologií a chlebové mouky (pšeničná, žitná) vyrobené standardním způsobem. U sledovaných mouk byla provedena analytická měření jako stanovení vlhkosti, obsahu vlákniny, retenční kapacity a čísla poklesu.

Vliv různých konopných produktů na reologické vlastnosti a těstářenskou kvalitu pšeničné mouky

Bc. Karolina Jiříčková (M2)

Školitel: Ing. Ivan Švec, Ph.D.

Těstoviny patří mezi základní sytící potraviny a jejich spotřeba se po celém světě neustále zvyšuje. Základní surovinou pro výrobu evropského typu těstovin je pšeničná mouka, která se vyznačuje nízkým obsahem esenciální aminokyseliny lysinu a relativně nízkým obsahem vlákniny. Proto se vývoj v této oblasti cereální chemie věnuje zvýšení nutriční hodnoty přídavky netradičních surovin. Cílem práce bylo vyrobit 5 druhů jednovaječných těstovin s 10 % přídavky konopných produktů (mouky, neloupaných semen, sušených listů a dvou proteinových koncentrátů) a porovnat jejich kvalitu se standardními pšeničnými v čerstvém a sušeném stavu. Při výrobě byla hodnocena lisovatelnost, kromě varianty těstovin s přídavkem pudru ze sušených konopných listů byl přídavek vody ve všech případech nižší. Senzorické znaky těstovin v sušeném stavu jako např. celkový vzhled a barva odpovídaly přidaným surovinám. Inovativně pro sušené těstoviny byla provedena měření viskozitního chování pomocí přístroje RVA za účelem posouzení změn složení a celkového podílu polysacharidové složky. Studium uvedených těstovin bude pokračovat jejich hodnocením v uvařeném stavu včetně měření RVA profilů a analytickém potvrzení očekávaného nárůstu obsahu vlákniny a bílkovin, případně i rezistentního škrobu.

Využití léčivých hub v reformulaci receptur fondánů a karamel typu Toffee a Fudge.

Bc. Kristýna Panušková (M1)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Pleurotus je třetím nejvíce pěstovaným rodem hub na světě. Používá se pro obsah esenciálních a biologicky aktivních látek, které se podílejí na prevenci mnoha onemocnění. K těmto sloučeninám patří také β -glukany, které jsou součástí buněčné stěny hub. Cílem této práce bylo izolovat frakce polysacharidů z plodnic hub *Pleurotus ostreatus*, kmene 3009. Nejprve byly rozemleté a homogenizované plodnice promyty pomocí organických rozpouštědel, čímž byly odstraněny nízkomolekulární látky. Poté byly izolovány polysacharidové frakce pomocí studené a vroucí vody, dále byla provedena extrakce za podpory mikrovlnného záření. Získané extrakty byly charakterizovány pomocí spektroskopických a chromatografických metod. U horkovodného extraktu byla provedena analýza monosacharidového složení. V neposlední řadě byl optimalizován proces extrakce za podpory mikrovlnného záření. Homogenizovaný vzorek hub byl přidán do receptur tří druhů cukrovinek - fondánů a karamel typu Fudge a Toffee. Byla provedena jejich senzorická analýza. Vzorky byly hodnoceny podle předpřipraveného dotazníku s 9 kritérii, která byla posuzována podle 5 bodové stupnice. Dále byly hodnoceny přítomné pachuti a jiné texturní nedostatky.

Vybrané reologické vlastnosti suspenzí a testy ze speciálních celozrnných mouk

Bc. Eliška Petříková (M2)

Školitel: Ing. Ivan Švec, Ph.D.

Pšenice je hlavní surovinou pro výrobu pečiva, které patří k nejvíce konzumovaným komoditám potravinářského průmyslu. Hlavním nedostatkem pšeničné mouky je nižší obsah vlákniny, která má pozitivní vliv na zdraví člověka. V celozrnných moukách je obsah vlákniny vyšší, proto je v současné době snaha zvýšit produkci pekárenských celozrnných výrobků. Reologické vlastnosti charakterizují chování vodné suspenze a těsta při mechanickém a tepelném namáhání, kdy vyšší obsah vlákniny ovlivní průběh měření. Cílem mé práce je porovnat reologické vlastnosti vybraných pšeničných a žitných mouk pomocí amylografu, rotačního viskozimetru RVA a farinografu. Stejně je popsáno reologické chování směsí 50:50 a 70:30 mouky pšeničné hladké T530 s moukou žitnou chlebovou, resp. moukou žitnou celozrnnou. Metody měření na amylografu a RVA simulují mazovatění škrobu v průběhu zahřívání suspenze, ale obě zkoušky se liší v technickém provedení – proto se v práci zaměřím i na porovnání shody těchto dvou metod. Cílem farinografického měření je predikce vaznosti pšenično-žitných směsí.

Strukturní analýza polysacharidů hub rodu Ganoderma

Bc. Anastasia Skrynnikova (M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Cílem práce bylo vypracovat teoretickou část o dřevokazných houbách rodu *Ganoderma* a na jejich základě postupovat v rámci experimentální části. Literární rešerše zahrnuje obecné informace o využití hub rodu *Ganoderma* v tradiční medicíně, jejich polysacharidovém složení, způsobech extrakce a biologicky aktivních látkách. Experimentální část je věnována zpracování vzorků hub rodu *Ganoderma lingzhi*, izolaci polysacharidových frakcí, ověření jejich čistoty a složení za využití vhodných analytických metod. Jako první byla provedena homogenizace vzorku, následovalo promývání hub organickými rozpouštědly pro odstranění nízkomolekulárních látek, které by mohly negativně ovlivnit výsledky extrakce. Hexanem byly odstraněny lipidy a látky lipidické povahy a pomocí 96% EtOH část polyfenolů. Zbytek polyfenolů byl odstraněn okyseleným 0,2M HCl EtOH. Pro vymývání kyseliny do neutrálního pH a vzniklých malých molekul byl použit 80% a 96% EtOH. V posledním kroku byl použit aceton pro snadnější vysušení vzorku. Dále bude tato práce pokračovat extrakcí polysacharidů studenou, vroucí vodou a alkalickou extrakcí. K určení čistoty a složení extraktů budou použity vhodné spektroskopické a chromatografické metody.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Chemie, mikrobiologie a technologie mléka](#)
2. [Chemie, mikrobiologie a technologie tuků a kosmetiky](#)

Chemie, mikrobiologie a technologie mléka

MÍSTO: MS TEMS 322-O365-SVK

KOMISE

doc. Ing. Jiří Štětina, CSc. (předseda)

Ing. Lenka Bobková

doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Ing. Šárka Horáčková, Ph.D.

Ing. Štěpán Marhons

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Anežka Nováková](#) (M2, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Vliv elektrodialýzy na funkční vlastnosti syrovátkových bílkovin

09:20 [Bc. Irina Shakirzianova](#) (M1, doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.)

Příprava galaktooligosacharidů s využitím permeabilizovaných buněk kvasinek.

09:40 [Bc. Elizaveta Ushakova](#) (M2, Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Vliv kokultivace bakterií mléčného kvašení na jejich antimikrobiální aktivitu

10:00 [Bc. Ema Umlaufová](#) (M2, doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.)

Izolace mléčných imunoglobulinů

10:20 [Bc. Nikola Durkačová](#) (M2, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Faktory ovlivňující modifikaci mléčných bílkovin mikrobiální transglutaminasou

10:40 [Bc. Boris Leshko](#) (M2, doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.)

Vliv mikrobiální transglutaminasy na sýření mléka a vlastnosti sýřeniny

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - CHEMIE, MIKROBIOLOGIE A TECHNOLOGIE MLÉKA



Vliv elektrodialýzy na funkční vlastnosti syrovátkových bílkovin

Bc. Anežka Nováková (M2)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Uplatnění syrovátky je v řadě potravinářských produktů limitováno vysokým obsahem minerálních látek. Využitelnost syrovátky může být zvýšena demineralizací elektrodialýzou. Vlivem tohoto procesu může docházet ke změně charakteristických vlastností. Tato práce se zabývá vlivem demineralizace syrovátky elektrodialýzou na základní funkční vlastnosti syrovátkových bílkovin. V rámci práce byla provedena elektrodialýza sladké syrovátky, kdy odsolování bylo ukončeno při dosažení vodivosti diluátu $2 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$. V první fázi probíhalo testování s obnovenou syrovátkou, ve druhé fázi s čerstvou syrovátkou zakoncentrovanou reverzní osmózou. Pro charakterizaci funkčních vlastností bylo použito hodnocení sedimentační stability, emulgačních vlastností a tvorby gelu získaných vzorků. Z měření Sauterova průměru částic emulze pro hodnocení emulgačních vlastností lze u čerstvé syrovátky pozorovat velmi mírné zvýšení hodnot u demineralizovaných vzorků, což by mohlo naznačovat zhoršení emulgační aktivity po demineralizaci. Výsledky hodnocení indexu nestability u čerstvé syrovátky byly srovnatelné pro naturální i demineralizovanou syrovátku, po denaturaci při 85°C výsledky poukazují na zlepšení sedimentační stability u demineralizovaných vzorků. Pro potvrzení výsledků bude třeba experimenty opakovat.

Příprava galaktooligosacharidů s využitím permeabilizovaných buněk kvasinek.

Bc. Irina Shakirzianova (M1)

Školitel: doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Galaktooligosacharidy lze připravit z laktosy pomocí transgalaktolyzační aktivity β -galaktosidasy. Pokud se použije β -galaktosidasa obsažená v permeabilizovaných buňkách, není nutná nákladná izolace a čištění enzymu. V práci jsou porovnány výsledky syntézy galaktooligosacharidů pomocí permeabilizovaných buněk kvasinek. Buňky tří vybraných kultur kvasinek (*Kluyveromyces marxianus* DBM 259, *Kluyveromyces lactis* DBM 2150 a *Kluyveromyces lactis* var. *lactis* CCDM 271) byly permeabilizovány ethanolem a následně použity pro syntézu galaktooligosacharidů ve třech substrátech – ve sterilovaném roztoku laktosy, roztoku laktosy ve fosfátovém pufru a v permeátu po ultrafiltraci syrovátky. Průběh reakce byl sledován pomocí kapalinové chromatografie. Výsledkem práce je výběr optimální kombinace zkoumaných kultur a substrátů poskytující nejvyšší výtěžek galaktooligosacharidů. Touto kombinací je kultura *Kluyveromyces lactis* DBM 2150 a substrát roztok laktosy ve fosfátovém pufru s výtěžkem galaktooligosacharidů 38,1 g l⁻¹.

Vliv kokultivace bakterií mléčného kvašení na jejich antimikrobiální aktivitu

Bc. Elizaveta Ushakova (M2)

Školitel: Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Bakterie mléčného kvašení produkují antimikrobiální látky a používají se jako ochranné kultury, jelikož inhibují patogeny, prodlužují trvanlivost výrobků a zároveň co nejméně ovlivňují senzorické vlastnosti výrobků. Cílem této práce je ověření vlivu kokultivace bakterií mléčného kvašení na jejich antimikrobiální aktivitu. V práci byly použity tři různé kmeny *Lactobacillus plantarum* BLIV2, CCDM 181 a VT2. Jejich antimikrobiální aktivita byla testována agarovou difuzní metodou vůči podmíněně patogenním mikroorganismům *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* při jejich koncentraci 10^4 a 10^5 KTJ/ml agaru. Všechny kmeny laktobacilů potlačovaly růst patogenů, ale jejich zjištěná inhibiční zóna byla rozdílná. Jedním z hlavních cílů bylo zhodnotit, zda se jejich aktivita liší, pokud působí samostatně a pokud byly kultivovány společně. Při kokultivaci kmenů laktobacilů došlo ke zvýšení jejich antimikrobiální aktivity, ale rovněž bylo zjištěno, že se ve svém růstu potlačují i navzájem. Antimikrobiální aktivita vybraných laktobacilů byla testována i vůči kvasinkám *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* a *Kluyveromyces lactis* var *lactis*. Laktobacily byly schopny snížit nárůst kvasinek cca o 1 řád.

Izolace mléčných imunoglobulinů

Bc. Ema Umlaufová (M2)

Školitel: doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Mléčné imunoglobuliny jsou minoritními syrovátkovými bílkovinami, jsou součástí přirozeného antimikrobiálního systému mléka a jejich primární funkcí je pasivní imunizace mláďete. Díky své biologické aktivitě představují cennou ingredienci do funkčních potravin pro podporu lidského zdraví, ale i pro výrobu léčivých preparátů proti specifickým chorobám. Jejich biologická aktivita je ale závislá na jejich nativním stavu a ten zase na podmínkách izolace. Tato práce je zaměřena na separaci imunoglobulinů ze syrovátky z mleziva i ze zralého mléka za pomoci afinitní chromatografie a chromatografie na reverzní fázi. Pro afinitní chromatografii byla použita kolona s proteinem G a při sledování vlivu 10min zahřevu byla prokázána nižší odezva u vzorků až po tepelném zahřevu na 80 °C a více. Pomocí chromatografie na reverzní fázi byl posuzován účinek vysrážení imunoglobulinů ze syrovátky samotným síranem amonným a v kombinaci s kyselinou kaprylovou.

Faktory ovlivňující modifikaci mléčných bílkovin mikrobiální transglutaminasou

Bc. Nikola Durkačová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Táto práca sa zaoberá faktormi ovplyvňujúcimi modifikáciu mliečnych bielkovín mikrobiálnou transglutaminázou. Jednou z možností modifikácie funkčných vlastností mliečnych bielkovín je ošetrovanie mlieka alebo kaseinátu účinkom mikrobiálnej transglutaminázy (protein-glutamin gama-glutamyltransferasa), kde sa vytvárajú nové inter i intramolekulárne izopeptidové väzby. Teoretická časť sa venuje transglutamináze vo všeobecnosti a ďalej konkrétnejšie podmienkam, ktoré sa menia pri ošetrovaní účinkom mikrobiálnej transglutaminázy. Druhá časť teoretickej časti stručne a jednoducho popisuje princípy Gélovej permeačnej chromatografie, využitie v potravinárstve a mliekarenstve. Experimentálne merania sú vykonané na Gélovej permeačnej chromatografii, je to typ kvapalinovej chromatografie, pri ktorej sa látky prítomné vo vzorke delia predovšetkým podľa veľkosti svojich molekúl. Analyzované vzorky sú kaseinát (3%) do ktorého sa pridáva vypočítané množstvo mikrobiálnej transglutaminázy a tiež mlieko (pasterizované). Hlavným cieľom je overiť a sledovať vplyv podmienok pôsobenia mikrobiálnej transglutaminázy a ošetrovania surovín na priebeh transglutaminačnej reakcie a vlastnosti mliečnych bielkovín a charakterizovať a porovnať namerané spektrá.

Vliv mikrobiální transglutaminasy na sýření mléka a vlastnosti sýřeniny

Bc. Boris Leshko (M2)

Školitel: doc. Ing. Jiří Štětina, CSc.

Mikrobiální transglutaminasa (mTG, protein-glutamin gama-glutamyltransferasa, EC 2.3.2.13) vytváří isopeptidové vazby mezi amidovou skupinou lysinu a karboxylovou skupinou glutaminu. Ošetření mléka těmto enzymem ovlivňuje funkční vlastnosti mléčných bílkovin a tvorbu gelu při sýření. Cílem této práce je sledování vlivu působení transglutaminasy na průběh tvorby gelu, vzniklého z odstředěného termizovaného kravského mléka enzymatickým srážením. V práci byly použity vzorky s následujícími parametry: mléko s hodnotami pH 6,7 a 6,0 s ošetřením mTG 30 min před sýřením, současně se syřidlem a 10 min po přidavku syřidla. Průběh tvorby gelu byl sledován dynamickou oscilační reometrií; pevnost vzniklého gelu – rotačním viskozimetrem; synereze gelu byla sledována podle závislosti množství uvolněné syrovátky na čase po rozkrojení. Na základě třech metod byl posouzen celkový účinek mTG na proces sýření mléka. Ze zjištěných hodnot vyplývá, že transglutaminasa má zjevný vliv na čas začátku tvorby gelu tím, že prodlužuje tuto periodu o několik minut. Zároveň došlo ke snížení tuhosti a pevnosti gelu a současně též k potlačení synereze.

Chemie, mikrobiologie a technologie tuků a kosmetiky

MÍSTO: MS TEMS 322-O365-SVK

KOMISE

prof. Vladimír Filip, CSc. (předseda)

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

prof. Ing. Jan Šmidrkal, CSc.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Anna Jirsová](#) (M2, Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Vliv emulgátorů na povrchové vlastnosti laktobacilů

09:20 [Bc. Petra Šimicová](#) (M2, prof. Ing. Vladimír Filip, CSc.)

Antioxidační a antimikrobiální vlastnosti minoritních lipidických složek kožního filmu.

09:40 [Bc. Kateřina Macháčková](#) (M2, Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Permeace lipofilních sloučenin prasečí kůže a složení kožních lipidů

10:00 [Bc. Veronika Kronusová](#) (M2, Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Účinek antioxidantů během oxidace methylesterů mastných kyselin slunečnicového oleje

10:20 [Bc. Lucie Nováková](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Enzymová příprava strukturovaných triacylglycerolů

10:40 [Bc. Karin Kletečková](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Strukturanty modifikovaných rostlinných olejů pro přípravu oleogelů.

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - CHEMIE, MIKROBIOLOGIE A TECHNOLOGIE TUKŮ A KOSMETIKY



Vliv emulgátorů na povrchové vlastnosti laktobacilů

Bc. Anna Jirsová (M2)

Školitel: Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Laktobacily jsou grampozitivní bakterie kmene *Firmicutes*. Jedná se o ubikvitně se vyskytující mikroorganismy, používané cíleně při výrobě potravin a doplňků stravy, které mj. kolonizují trávicí a urovaginální trakt lidí. Schopnost adheze a kolonizace sliznic lidského těla je jedním z kritérií při posuzování probiotických vlastností mikroorganismů. V této práci byl sledován vliv emulgátorů (lecithinu a Tweenu 80) běžně používaných v potravinářském průmyslu na vybrané povrchové vlastnosti laktobacilů (*L. plantarum* LP01, *L. paracasei/rhamnosus* JN). Byla sledována schopnost růstu laktobacilů a oportunního patogenu *E. coli* CCM 4517 v kultivačních médiích s přidavkem emulgátorů. Dále byla měřena schopnost autoagregace a koagregace buněk s *E. coli*. Hydrofobicita povrchu buněk byla zjišťována pomocí měření adheze buněk k organickým rozpouštědlům (xylen, hexan). Přídavek emulgátorů neměl významný vliv na růst buněk v MRS bujónu v porovnání s kontrolním vzorkem. Přídavek Tweenu 80 významně ovlivnil hydrofobicitu buněk.

Antioxidační a antimikrobiální vlastnosti minoritních lipidických složek kožního filmu.

Bc. Petra Šimicová (M2)

Školitel: prof. Ing. Vladimír Filip, CSc.

Kůže je největší orgán lidského těla. Skládá ze dvou hlavních vrstev, a to epidermis a dermis. Tyto vrstvy jsou doplněny kožními adnexy, které jsou tvořeny žlázami mazovými, potními, mléčnými. Pevná a pružná kůže poskytuje mechanickou bariéru proti účinkům vnějšího prostředí např. pronikání škodlivých látek, vliv mikroorganismů, působení UV záření apod., hraje důležitou roli v termoregulaci a pomáhá snižovat ztrátu vody. Informace o podrobném složení lipidů kožního mazu a zastoupení unikátních mastných kyselin jsou klíčové při hledání sloučenin s antimikrobiální aktivitou. Budou připraveny klíčové deriváty a testovány proti potenciálním patogenům lidské pokožky. Zároveň je důležité získání informací o obsahu tokoferolů v kožním mazu, jelikož se jedná o přírodní antioxidant, který se také podílí na ochraně pokožky proti vnějším vlivům.

Permeace lipofilních sloučenin prasečí kůže a složení kožních lipidů

Bc. Kateřina Macháčková (M2)

Školitel: Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Kožní maz je směs lipidů, které jsou vylučovány mazovými žlázami. Pro každého živočicha je kožní maz charakteristický. Lidský kožní maz obsahuje triacylglyceroly, volné mastné kyseliny, vosky, skvalen a cholesterol a jeho estery v sestupném pořadí. Pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID) bylo analyzováno složení kožního mazu u pěti dobrovolníků věku 23 – 25 let a byly určeny jednotlivé lipidické třídy. Dále byl zkoumán ethyloleát z hlediska penetrace do pokožky a jeho distribuce v jednotlivých vrstvách rohových buněk epidermis. Franzovy difuzní komůrky se využívají k hodnocení propustnosti kůže. Pomocí těchto cel byla měřena propustnost ethyloleátu spařenou vepřovou kůží. Po 48 a 72 hodinách byla odebrána receptorová tekutina. Získaný ethyloleát byl extrahován hexanem a analýza proběhla pomocí GC-FID. Technika stripování se provádí za pomoci adhezivní stripovací pásky, která odtrhává vrstvy rohových buněk z povrchu pokožky. Slouží k testování distribuce látky v různých vrstvách epidermis.

Účinek antioxidantů během oxidace methylesterů mastných kyselin slunečnicového oleje

Bc. Veronika Kronusová (M2)

Školitel: Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

a-Tokoferol je nejčastěji se vyskytujícím antioxidantem rozpustné v tucích, používá se také jako aditivum v potravinářském a kosmetickém průmyslu. Přidáním antioxidantů do vzorku dochází ke zpomalení oxidační reakce lipidů. Množství produktů oxidace tokoferolu závisí na teplotních podmínkách a na oxidačním stavu oleje. Cílem práce je připravit vhodné medium pro sledování rozsahu oxidace lipidů, což budou methylestery mastných kyselin slunečnicového oleje (MEMK SO). Následně budou přidány antioxidanty – a-tokoferol a methylkaféát v různém stupni oxidace MEMK SO a bude sledován rozsah oxidace, úbytek výchozích antioxidantů a detekce oxidačních produktů různými metodami. Výsledky jsou ovlivněné mimořádným opatřením Ministerstva zdravotnictví ČR. Z části proběhla analýza oxidačních produktů a-tokoferolu, oxidační stabilita MEMK SO a příprava a-tokoferylchinonu.

Enzymová příprava strukturovaných triacylglycerolů

Bc. Lucie Nováková (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Enzymová příprava strukturovaných triacylglycerolů
Vypracovala: Bc. Lucie Nováková
Vedoucí práce: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.
Tuky jsou zdrojem energie a esenciálních látek jako jsou esenciální mastné kyseliny, vitaminy a antioxidanty. Pro získání tuků o požadovaných funkčních a technologických vlastnostech a konzistenci se uplatňuje příprava strukturovaných triacylglycerolů. Struktura triacylglycerolu bývá upravena procesem interesterifikace, při které si estery mastných kyselin vyměňují pozice v rámci stejného glycerolového základního řetězce nebo s jinými molekulami glycerolu. Cílem práce je optimalizace průběhu enzymové interesterifikace s využitím různých enzymů a rozpouštědel a molekulových sít. V první části byla upravena metoda ČSN EN ISO 6800 pro stanovení složení mastných kyselin v triacylglycerolech vázaných v poloze *sn*-2. Pro úpravu bylo vybráno použití TL IM lipozymu, třepáno 10 minut při 70 °C a pankreatické lipázy s přídavkem n-hexanu, třepáno 60 minut při 50 °C. Ve druhé části byla porovnána enzymová interesterifikace v klasickém uspořádání a akustická kavitace. Ve vzorcích odebraných při reakci v určitém čase byl stanoven obsah tuhých podílů, bod tání a číslo kyselosti. Došlo k poklesu bodů tání a obsahu tuhých podílů. Akustická kavitace proběhla rychleji.

Strukturanty modifikovaných rostlinných olejů pro přípravu oleogelů.

Bc. Karin Kletečková (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Oleogel je definován jako organická kapalina (rostlinný olej) zachycená v termo-reverzibilní trojrozměrné síti. Tato trojrozměrná síť je tvořena oleogelátorem (strukturantem), který může být nízkomolekulární (n-alkany, vosky, mastné kyseliny a alkoholy) nebo vysokomolekulární (deriváty celulózy, bílkoviny). V této práci byly připraveny oleogely na bázi slunečnicového oleje a nasycených mastných kyselin (C16:0, C18:0, C22:0 a 12-hydroxystearové) a na bázi mastných alkoholů (C16, C18 a C22). U připravených oleogelů o různé koncentraci oleogelátoru byl stanoven bod tání a zhodnocena schopnost tvorby gelu. S rostoucí délkou řetězce mastné kyseliny i mastného alkoholu, narůstají body tání oleogelů. Taktéž s vyšší koncentrací strukturantu rostou body tání oleogelů. Zavedením hydroxyskupiny do mastné kyseliny se mění vlastnosti vzniklého oleogelu. V práci se budeme dále zabývat syntézou strukturantů. Pro syntézu delších mastných kyselin a mastných alkoholů lze využít syntézu v laboratoři, v plánu je připravit kyselinu lignocerovou a cerotovou. Zatím byl touto syntézou syntetizován mastný alkohol od kyseliny behenové, behenylalkohol. Výtěžek této syntézy byl 87 %.

Ústav analýzy potravin a výživy (323)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Martina Vlčková

SEZNAM SEKČÍ

1. [Sekce 1](#)

2. [Sekce 2](#)

3. [Sekce 3](#)

4. [Sekce 4](#)

5. [Sekce 5](#)

SPONZOŘI



 **CHROMSERVIS**



MERCK

Sekce 1

MÍSTO: ON-LINE MS TEAMS

KOMISE

prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D. (předseda)

Ing. Monika Tomaniová, Ph.D.

Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Anežka Bartoňová](#) (M2, Ing. Beverly Bělková, Ph.D.)

Vznik procesních kontaminantů a možnosti jejich prevence během tepelného zpracování potravin

09:20 [Bc. Adam Behner](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Využití metabolomiky pro charakterizaci hlavních změn révy vinné v rámci vegetačního cyklu a při různých způsobech kultivace

09:40 [Bc. Lucie Beránková](#) (M1, Ing. Vít Kosek, Ph.D.)

Změny lipidomu plasmy související s dietární a pohybovou intervencí

10:00 [Bc. Hana Bártová](#) (M1, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Studium markerů expozice člověka organofosfátovým retardérům hoření

10:20 [Bc. Viktória Fabianová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Karel Cejpek)

Problematika alfa-dikarbonylových sloučenin v nápojích

10:40 [Bc. Alice Hořeňovská](#) (M2, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Využití metabolomiky pro autentikaci kávy: arabica vs robusta

11:00 [Tereza Jaegerová](#) (M2, Ing. Marie Fenclová, Ph.D.)

Studium bioaktivních látek v různých odrůdách kosatců

11:20 [Bc. Petr Jakeš](#) (M2, Ing. Vít Kosek, Ph.D.)

Vývoj metody pro posouzení transferu fotoiniciátorů barev z obalů do potravin

Vznik procesních kontaminantů a možnosti jejich prevence během tepelného zpracování potravin

Bc. Anežka Bartoňová (M2)

Školitel: Ing. Beverly Bělková, Ph.D.

Toustování chleba je v mnoha ohledech žádoucím krokem, kterým lze zlepšit jeho chuť, vůni, barvu a texturu. Tyto senzorické vlastnosti jsou úzce spojeny s Maillardovou reakcí, během níž dochází také, reakcí redukujících sacharidů a asparaginu, ke vzniku procesního kontaminantu akrylamidu (klasifikovaný IARC jako pravděpodobný lidský karcinogen třídy 2A). Během toustování mohou vznikat také 3-MCPD (klasifikovaný IARC jako potenciální lidský karcinogen třídy 2B) a jeho estery. Vznikají reakcí glycerolu nebo acyl glycerolů s chloridovým iontem. Jejich zdrojem v toustovém chlebu mohou být mimo jiné i rafinované oleje / tuky, které se pro jejich přípravu používají. Cílem této práce bylo sledovat vliv toustování chleba na vznik akrylamidu a 3-MCPD esterů. Celkem bylo zakoupeno z maloobchodní sítě 9 druhů chlebů, které byly toustovány po dobu 3,5 a 4,5 min. Detekce akrylamidu byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS) a detekce 3-MCPD esterů pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS). S prodlouženou dobou toustování došlo k významnému navýšení jak akrylamidu (až o 362 %), tak 3-MCPD esterů (až o 112 %).

Využití metabolomiky pro charakterizaci hlavních změn révy vinné v rámci vegetačního cyklu a při různých způsobech kultivace

Bc. Adam Behner (M2)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Vinná réva (*Vitis vinifera*) je historicky jednou z nejdéle kultivovaných rostlin. Díky produkci hroznů patří mezi celosvětově ekonomicky významné plodiny. V kulinářství nebo v tradiční medicíně se však také využívají i ostatní části této rostliny, například listy (balkánská kuchyně). Chemické složení vinné biomasy je silně ovlivňováno vnějšími faktory, jako je lokalita pěstování, zemědělské agropraktiky, odrůda, vegetační období nebo přírodní podmínky. Rozdíly v chemickém složení lze také pozorovat v jednotlivých částech rostliny (stonek/list). Tato práce se zabývá studiem metabolomu rostliny révy vinné za využití pokročilých nástrojů moderní analytické chemie – ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Metabolomickému fingerprintingu byl podroben biomateriál z rostliny vinné révy (listy a stonky). Celkem bylo analyzováno cca 520 vzorků reprezentujících čtyři různé odrůdy odebrané ze dvou českých vinic. Odběr vzorků probíhal ve všech čtyřech ročních obdobích, díky čemuž mohl být prozkoumán celý vegetační cyklus rostliny. Cílem této studie bylo demonstrovat potenciál metody metabolomického fingerprintingu pomocí U-HPLC-HRMS/MS, která by sloužila jako nástroj pro autentizaci listů/stonků révy vinné.

Změny lipidomu plasmy související s dietární a pohybovou intervencí

Bc. Lucie Beránková (M1)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Za poslední roky silně vzrostl počet lidí s nadváhou nebo obezitou na celém světě. Obezita je chronické onemocnění definované zvýšenou hodnotou BMI a zvýšeným obsahem tuku v lidském těle. Stává se jedním z hlavních problémů vyspělých zemí. Právě zvýšený obsah tuku v lidském těle je totiž příčinou výskytu některých dalších chorob, jako jsou například kardiovaskulární choroby, diabetes mellitus 2. typu, zvýšený krevní tlak nebo zvýšené hladiny cholesterolu a triacylglycerolů v krvi. To vše jsou faktory, které snižují kvalitu života a mohou zapříčinit i předčasné úmrtí. Správná výživa a dostatečná fyzická aktivita jsou jedním z hlavních způsobů, jak těmto chorobám nejen předcházet, ale zároveň je i léčit. Tato práce se zaměřuje na posouzení vlivu nízkosacharidové diety a fyzické aktivity samostatně nebo v jejich kombinaci na zdraví jedinců trpících nadváhou nebo obezitou se sedavým způsobem života. Pro toto posouzení byla použita lipidomická analýza krevní plasmy intervenovaných jedinců. Vzorky plasmy byly měřeny technikou hmotnostní spektrometrie ve spojení s kapalinovou chromatografií a získaná data byla zpracována vícerozměrnými statistickými metodami.

Studium markerů expozice člověka organofosfátovým retardérům hoření

Bc. Hana Bártová (M1)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Organofosfátové retardéry hoření (OPFR) patří mezi nejvíce používané skupiny retardérů hoření (FR), které jsou přidávány do materiálů za účelem zpomalení anebo zabránění hoření. V ošetřeném materiálu (elektronika, nábytek, textil...) nejsou pevně vázány, dochází k jejich uvolňování do prostředí. Po vstupu do organismu (inhalace prachu, kontaminovaná voda) jsou OPFR rychle metabolizovány na diestery a hydroxylované sloučeniny, které jsou vyloučeny z těla močí. Cílem této práce byl vývoj a validace extrakčního postupu pro stanovení osmi metabolitů OPFR v moči. Prvním z postupů (A) byla extrakce acetonitrilem s následným vysolením za podpory minerálních solí. V druhém postupu (B) byly látky izolovány extrakcí na tuhou fázi (SPE). Instrumentální technikou byla ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Při použití postupu B bylo díky vyššímu stupni přečištění možné detekovat širší spektrum látek. Např. bis(2-chloretyl)fosfát (BCEP), jehož pík v MS/MS chromatogramu získaného analýzou extraktu A byl překryt matriční interferencí. Výtěžnost postupu A byla 79 – 106%, opakovatelnost 3 – 6% a limity kvantifikace (LOQ) 0,05 – 0,94 ng/ml. Pro postup B byla výtěžnost 88 – 107 %, opakovatelnost 2 – 8 % a LOQ 0,02 – 0,42 ng/ml.

Problematika alfa-dikarbonylových sloučenin v nápojích

Bc. Viktória Fabianová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Reaktivné karbonylové zlúčeniny hrajú významnú úlohu ako v chémii potravín, tak v biochémií. α -Dikarbonylové zlúčeniny patria medzi kľúčové medziprodukty Maillardovej reakcie a autooxidácie monosacharidov. V potravinách vznikajú predovšetkým skladovaním, tepelnou úpravou a sú taktiež dôležitými prekursorami farebných a aromatických zložiek. Hromadením α -dikarbonylov v tele môže dochádzať ku karbonylovému stresu, ktorý vedie k vzniku produktov pokročilej glykácie, čo prispieva k zmene technologickej funkčnosti a nutričnej či biologickej hodnoty potraviny. Medzi chemické činidlá schopné reagovať adične alebo redukčne s reaktívnymi karbonylovými zlúčeninami a znižovať tak rozsah glykácie patria fenolové látky a ďalšie antioxidanty. Práca bola zameraná na α -dikarbonylové zlúčeniny v pive a nealkoholických nápojoch. Venovala som sa vývoju metódy pre stanovenie α -dikarbonylových zlúčenín, vplyvu fenolových látok, siričitanov a iných nukleofilných činidiel na vznik α -dikarbonylových zlúčenín v modelovej Maillardovej reakcii a taktiež zhodnoteniu bilancie reaktívnych karbonylových zlúčenín v limonádach kolového typu osladenými rôznymi sladidlami a porovnaním vplyvu skladovania.

Využití metabolomiky pro autentikaci kávy: arabica vs robusta

Bc Alice Hořeňovská (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Falšování potravin je celosvětový problém a vědci se stále zaměřují na vývoj nových metod, které umožní odhalení tohoto nezákonného chování. Káva je druhou nejvíce obchodovanou komoditou světa. Je řazena mezi dražší potraviny, a právě z těchto důvodů bývá padělána. Falšována může být různými způsoby, například záměnou kávy jinou složkou, nedeklarovaným přídavkem levnější robusty do dražší arabiky či nedodržením uvedeného poměru zmíněných druhů káv ve směsích. Zejména odhalení posledního typu falšování je velmi náročné. Metoda kapalinové chromatografie ve spojení s UV detekcí, která se v současnosti k rozlišení arabiky a robusty používá, zahrnuje komplikovaný a zdoluhavý proces přípravy vzorků. Cílem této práce bylo vyvinout jednoduchou analytickou strategii založenou na metabolomickém přístupu s využitím kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií a statistického zpracování „chemických fingerprintů“ pro nález vhodných markerů arabiky a robusty. Prozatím se povedlo optimalizovat extrakční postup a pomocí analýzy hlavních komponent rozdělit oba druhy kávy a nalézt jejich charakteristické markery. Dalším úkolem bude analýza připravených směsí arabiky a robusty o různých poměrech a hledání markerů vhodných pro kontrolu deklarovaného obsahu těchto druhů ve směsích.

Studium bioaktivních látek v různých odrūdách kosatců

Tereza Jaegerová (M2)

Školitel: Ing. Marie Fenclová, Ph.D.

Kosatce (*Iris*) se pěstují nejen jako okrasné květiny, ale také za účelem využití v medicíně a kosmetice, a to zejména jako bohatý zdroj fenolických látek. Mezi ně se řadí například fenolkarboxylové kyseliny, (iso)flavonoidy či chinony a jejich biologický význam spočívá především v silné antioxidační aktivitě. Spektrum účinků látek obsažených v kosatcích je však široké, mimo jiné se zkoumá jejich antibakteriální, protizánětlivý či antikarcinogenní potenciál. Cílem této práce bylo na základě literární rešerše vytvořit databázi bioaktivních látek dosud identifikovaných v kosatcích (více než 300) a následně provést cílený screening těchto látek v souboru vzorků kosatců pomocí metody ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Analýze byly podrobeny různé části 7 druhů kosatců, konkrétně se jednalo o 19 vzorků listů, kořenů a oddenků. Nejvíce látek bylo detekováno v oddencích (85) a kořenech (78) *Iris germanica*, naopak nejméně v listech (21) *Iris Brassica*. Získané informace o profilu bioaktivních látek, společně s dále zkoumanou biologickou aktivitou, budou v budoucnu následně využity pro výběr odrūd a částí rostlin vhodných pro výrobu různých kosmetických produktů.

Vývoj metody pro posouzení transferu fotoiniciátorů barev z obalů do potravin

Bc. Petr Jakeš (M2)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Fotoiniciátory jsou fotoaktivní látky schopné absorbovat UV záření a nastartovat polymerační reakci. Používají se při vytvrzování laků pomocí UV záření. Fotoiniciátory jsou používány během výroby potisků obalů pro potraviny, kde slouží k zesíťování barvy. Z obalu mohou nezreagované zbytky těchto látek migrovat do potravin. U velkého množství fotoiniciátorů nemůže být vyloučena toxicita a z těchto důvodů je důležité monitorovat jejich přítomnost v potravinách. V rámci této práce byla provedena validace metody pro stanovení fotoiniciátorů a diethylhexyl maleátu v ovesných vločkách. K extrakci byla použita modifikovaná metoda QuEChERS následovaná analýzou pomocí ultravysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Validovány byly vybrané pracovní charakteristiky metody, a to relativní výtěžnost, opakovatelnost, lineární rozsah, mez detekce a mez stanovitelnosti. Zhodnocen byl i vliv matrice na ionizaci látek. Výtěžnost jednotlivých analytů se pohybovala kolem 80 % a relativní směrodatná odchylka byla menší než 10 %. Zvýšení signálu matričními efekty bylo sledováno u všech analytů až na diethylhexyl malát. Metodu se povedlo úspěšně validovat pro tři hladiny koncentrací (5 ng/ml, 50 ng/ml a 100 ng/ml) a je tak vhodná k analýze reálných vzorků ovesných vloček.

Sekce 2

MÍSTO: ON-LINE MS TEAMS

KOMISE

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc. (předseda)

Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Ing. Marie Fenclová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Magdaléna Juziková](#) (M1, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Osud mykotoxinů v průběhu sladovnické a pivovarské technologie

09:20 [Bc. Eliška Kopecká](#) (M1, Ing. Kateřina Urbancová, Ph.D.)

*Monohydroxylované polycyklické aromatické uhlovodíky v moči českých dětí -
zhodnocení expozice*

09:40 [Bc. Alexandra Lacinová](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Hodnocení kvality a autenticity rostlinných olejů

10:00 [Bc. Michal Lazárek](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

*Zhodnocení efektivity pulzního elektrického pole při redukci obsahu mykotoxinů
ve sladovnickém ječmeni*

10:20 [Bc. Dita Leštinová](#) (M2, Ing. Michal Stupák, Ph.D.)

Analýza terpenických látek v různých odrůdách konopí a konopných olejích

10:40 [Bc. Lenka Libenská](#) (M2, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Optimalizace stanovení lipofilních vitaminů v biologických matricích

11:00 [Bc. Anna Loučková](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Charakterizace biologicky aktivních látek v řepíku lékařském

vyhlášení výsledků

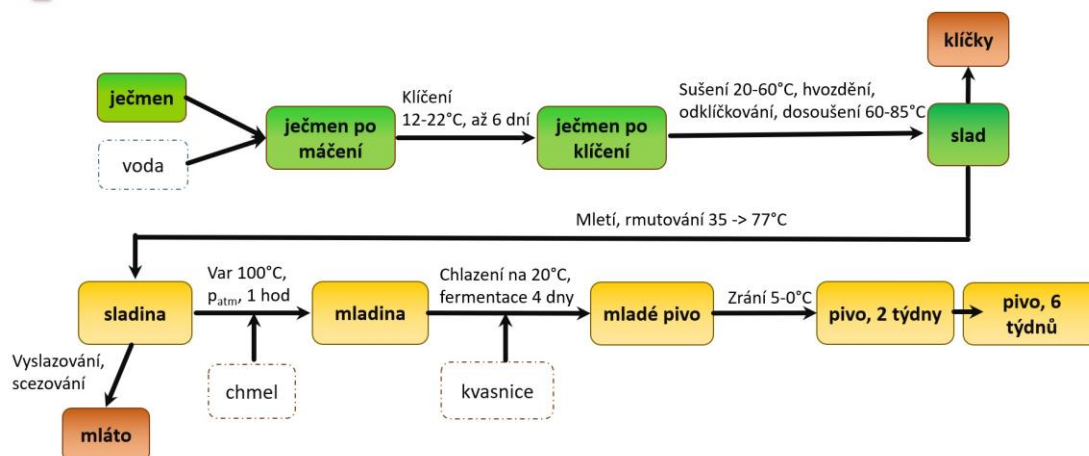
Osud mykotoxinů v průběhu sladovnické a pivovarské technologie

Bc. Magdaléna Juziková (M1)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Mykotoxiny, toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, představují jedny z hlavních kontaminantů potravin. Řada mykotoxinů vykazuje značnou stabilitu během technologického zpracování, mohou tedy přecházet z kontaminovaných potravinářských surovin až do finálních produktů. Takovým produktem je i pivo, u kterého je nejčastěji sledován přestup trichothecenových mykotoxinů, zejména deoxynivalenolu (DON), z kontaminovaného ječmene. Cílem této práce bylo zhodnocení osudu mykotoxinů méně prostudovaných než DON během celého procesu sladovnictví a pivovarnictví. Pro účely studie byl použit uměle infikovaný ječmen (inokulace *Fusarium sporotrichioides*), obsahující fusariové mykotoxiny nivalenol, neosolaniol, T-2 a HT-2 toxin, dále enniatiny, beauvericin a alternáριοvé mykotoxiny. Obsah mykotoxinů v ječmeni a (mezi)produktech sladařství a pivovarnictví byl stanoven pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie a tandemové vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (U-HPLC-HRMS/MS). V (mezi)produktech jednotlivých technologií byl pozorován nárůst i pokles mykotoxinů, a to v závislosti na jejich termostabilitě, polaritě a vzniku či degradaci modifikovaných forem. V celkové bilanci došlo u všech sledovaných mykotoxinů k poklesu jejich obsahu v pivu oproti vstupnímu ječmeni.

Proces sladovnictví a pivovarnictví



Monohydroxylované polycyklické aromatické uhlovodíky v moči českých dětí - zhodnocení expozice

Bc. Eliška Kopecká (M1)

Školitel: Ing. Kateřina Urbancová, Ph.D.

Po vstupu polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) do lidského organismu z nich vznikají nejen monohydroxylované metabolity (OH-PAH), ale i metabolity s karcinogenními a mutagenními účinky. Pro zhodnocení expozice člověka PAU jsou však nejčastěji využívány právě OH-PAU, protože je lze spolehlivě stanovit v moči. V rámci této práce bylo sledováno 11 OH-PAU v moči pětiletých dětí z Karviné (71 vzorků) a Českých Budějovic (115 vzorků) z roku 2019. Analytická metoda se skládala z enzymatické hydrolýzy moči, extrakce ethylacetátem, přečištění pomocí sorbentu Z-Sep a ultra účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Většina metabolitů byla detekována alespoň v 97 % vzorků, s výjimkou látky pyren-1-ol, který byl detekován pouze v 83 % vzorků z Českých Budějovicích a fenanthren-4-ol, který byl detekován v 83 % vzorků z Českých Budějovicích a v 73 % vzorků z Karviné. Metabolity chrysen-6-ol a benzo(a)pyren-3-ol nebyly detekovány v žádném vzorku. Analyt s nejvyšší zjištěnou koncentrací v obou zkoumaných lokalitách byl naftalen-2-ol (medián 6,90 µg/g kreatininu v Karviné a 3,91 µg/g kreatininu v Českých Budějovicích). V moči pětiletých karvinských dětí byl nalezen 1,4× vyšší medián koncentrace sumy 11 OH-PAU oproti moči pětiletých dětí z Českých Budějovic.

Hodnocení kvality a autenticity rostlinných olejů

Bc. Alexandra Lacinová (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Rostlinné oleje lisované za studena jsou konzumenty stále více žádané s ohledem na vysoký obsah bioaktivních látek, jako jsou esenciální mastné kyseliny, lipofilní vitamíny, rostlinné steroly či různé fenolické antioxidanty. Za studena lisované oleje nacházejí uplatnění také v kosmetickém nebo farmaceutickém průmyslu, bohužel někdy jsou tyto cenné komodity předmětem falšování. Cílem této práce bylo zhodnocení kvality a autenticity vybraných semenných olejů. Analyzovány byly jak autentické (spolupracující firmou dodané a v laboratoři pomocí stolního lisu vyrobené) vzorky olejů z višňových, švestkových a hroznových jader a ze semen černého rybízu, tak i komerční vzorky. Sledováno bylo nejen spektrum triacylglycerolů, sterolů, tokoferolů a tokotrienolů, ale i charakteristické složky polární frakce; využita byla ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií, a také mastné kyseliny, které byly stanoveny pomocí plynové chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem. Pro autentikaci komerčních vzorků byly použity jak námi naměřená data, tak i údaje z literatury; v případě olejů z višňových a hroznových jader byly využity i dva identifikované polární markery, apigenin resp. resveratrol.

Zhodnocení efektivity pulzního elektrického pole při redukci obsahu mykotoxinů ve sladovnickém ječmeni

Bc. Michal Lazárek (M2)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Technologie pulzního elektrického pole (PEF) je již řadu let s úspěchem využívána jako moderní způsob konzervace potravin. Tento způsob ošetření efektivně snižuje obsah patogenních bakterií a má minimální dopad na sensorickou hodnotu ošetřeného produktu. Účinky PEF na mykotoxiny, sekundární metabolity vláknitých hub, se však zatím zabývalo jen několik málo studií. Cílem této práce je zhodnocení efektivity PEF z hlediska redukce obsahu mykotoxinů ve vodném roztoku mykotoxinů a v reálném vzorku výluhu pšenice. Tyto vzorky byly v rámci ošetření vystaveny PEF o napětí 10 kV/cm (vodný roztok mykotoxinů) a 7 kV/cm (cereální výluh) a dále analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie spojené s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Při analýze byly kromě vybraných molekul aflatoxinů, fusariových, alternariových a dalších mykotoxinů sledovány a identifikovány také jejich degradační produkty. Zhodnocení efektivity ošetření bude prezentováno pomocí procentuálních bilancí obsahu mykotoxinů před a po ošetření. Výsledky poukazují na možný potenciál použití PEF pro redukci a prevenci mykotoxinové kontaminace v cereáliích a cereálních produktech.

Analýza terpenických látek v různých odrůdách konopí a konopných olejích

Bc. Dita Leštinová (M2)

Školitel: Ing. Michal Stupák, Ph.D.

V současné době se na trhu významně rozšiřuje nabídka výrobků z konopí. Tyto výrobky se uplatňují nejen v kosmetickém a potravinářském průmyslu, ale jsou ceněny i pro jejich léčebný potenciál. Kromě fytoKANABINOIDŮ jsou významnými biologicky aktivními látkami v konopí také terpenické látky. Tyto látky jsou zodpovědné za organoleptické vlastnosti a také přispívají právě k jeho terapeutickým účinkům. Vzhledem k postupné legalizaci a stále stoupající popularitě konopných produktů je nutné monitorovat jejich složení. V rámci této práce bylo analyzováno 45 vzorků konopí různých odrůd a 10 vzorků konopných olejů pomocí rychlé izolační metody založené na ethylacetátové extrakci. Následně byla použita technika plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (GC-HRMS). V konopných rostlinách byly nejvíce zastoupeny α -pinen, myrcen a β -karyofylen a v konopných olejích karyofylen-oxid, fytol a opět β -karyofylen. Obsah sledovaných analytů byl v konopí vyšší než v konopných olejích. Například koncentrace zmíněného β -karyofylenu se ve vzorcích konopí pohybovala v rozmezí 142 - 3685 mg/kg, zatímco v olejích <LOQ - 1597 mg/kg. Rozdíl v obsahu terpenů je vidět také na nejvyšší koncentraci α -pinenu, která byla ve vzorcích konopí 24670 mg/kg a v olejích jen 65 mg/kg.

Optimalizace stanovení lipofilních vitaminů v biologických matricích

Bc. Lenka Libenská (M2)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Vitaminy jsou esenciální organické biokatalyzátory, které jsou potřebné pro správný růst a vývoj organismu. Tato práce byla zaměřená na optimalizaci nové metody pro stanovení lipofilních vitaminů (A, D a E) v krevním séru a v mateřském mléce pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Pro stanovení lipofilních vitaminů v mateřském mléce byla otestována extrakční metoda pro stanovení lipofilních vitaminů v kojenecké výživě, která už je na našem ústavu zavedená. Metoda je založená na opakované extrakci vzorku extrakční směsí *n*-hexan:ethylacetát (8:2, v/v). Výtěžnost této metody je v rozmezí od 62 do 83 %. Metoda byla také úspěšně ověřena pomocí standardního referenčního materiálu SRM 1849a (sušená kojenecká výživa). V případě séra bylo provedeno několik prvotních experimentů za účelem otestování limitů kvantifikace pro jednotlivé sledované analyty a jejich porovnání vzhledem k reálným nálezům publikovaným v odborné literatuře. Dále byl otestován vybraný extrakční postup na vzorku hovězího séra. V prvním kroku přípravy vzorku byla provedena precipitace bílkovin pomocí methanolu, poté následovala opakovaná extrakce hexanem. Ze získaných výsledků se tento postup jeví jako vhodný k použití na stanovení lipofilních vitaminů v séru.

Charakterizace biologicky aktivních látek v řepíku lékařském

Bc. Anna Loučková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Řepík lékařský (*Agrimonia eupatoria*) je rostlina hojně využívaná v tradiční medicíně pro své široké spektrum léčivých účinků. Mezi ně se řadí např. pozitivní vliv na hojení chronických ran, který je přisuzován obsahu různých bioaktivních látek, ale není znám přesný mechanismus tohoto účinku řepíku. V rámci prezentovaného projektu byly analyzovány dva odlišně připravené vodné extrakty řepíku lékařského za účelem popisu rozdílů mezi jejich obsahy bioaktivních látek. Jednalo se o výluh, připravený zalitím řepíku horkou vodou a následným louhováním, a odvar, který byl připraven povařením řepíku ve vodě. Analýza byla provedena metodou kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS) a byl proveden cílový screening látek v extraktech dle vytvořené databáze z literatury. Databáze látek obsahovala 36 sloučenin ze skupin tanninů, flavonoidů a fenolových kyselin. Na základě analýzy a identifikace látek byla potvrzena přítomnost 25 látek z 36. Extrakty vykazovaly minimální odlišnosti v zastoupení látek, lišily se pouze v jejich celkové intenzitě, která byla vyšší u extraktu připraveného louhováním.

Sekce 3

MÍSTO: ON-LINE MS TEAMS

KOMISE

prof. Dr. Ing. Jan Poustka (předseda)

Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Matěj Malý](#) (M2, Ing. Marie Fenclová, Ph.D.)

Rychlá odstředivá dělicí chromatografie: vývoj metody pro separaci a izolaci fytokanabinoidů

09:20 [Bc. Petr Máslo](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Vývoj analytické metody pro stanovení organofosfátových retardérů hoření a chlorovaných parafínů v prachu

09:40 [Chi Mai Nguyenová](#) (B3, Ing. Michal Stupák, Ph.D.)

Analýza ovocných destilátů pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

10:00 [Bc. Kateřina Pavlová](#) (M1, Ing. Beverly Bělková, Ph.D.)

Zhodnocení kvality potravin ošetřených pulsním elektrickým polem

10:20 [Bc. Jana Petrová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Jan Poustka)

Profilová analýza fosfolipidů pomocí infračervené spektrometrie

10:40 [Bc. Anna Průšová](#) (M1, Ing. Beverly Bělková, Ph.D.)

Procesní kontaminanty v potravinách určených pro 'zdravou' výživu

11:00 [Bc. Stanislava Rakušanová](#) (M2, prof. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.)

Odhalování ilegální aplikace pesticidů v ekologickém zemědělství

Rychlá odstředivá dělicí chromatografie: vývoj metody pro separaci a izolaci fytoKANABINOIDŮ

Bc. Matěj Malý (M2)

Školitel: Ing. Marie Fenclová, Ph.D.

Rychlá odstředivá dělicí chromatografie (FCPC) představuje metodu preparativní chromatografie založenou na interakci dvou nemísitelných směsí rozpouštědel. FCPC se využívá zejména k separaci a izolaci biologicky aktivních látek. V rámci této práce byla vytvořena metoda pro separaci a izolaci fytoKANABINOIDŮ, biologicky aktivních látek rostliny *Cannabis sativa* L. Primárním cílem bylo odseparování pozitivně působícího KANABIDIOLU (CBD) a jeho prekursoru kyseliny KANABIDIOLOVÉ (CBDA) od psychotropních látek ze skupiny tetrahydroKANABINOLŮ (Δ^9 -THC, Δ^9 -THCA-A, Δ^8 -THC) v konopném extraktu. Na základě literatury bylo vybráno 46 modelových směsí rozpouštědel. Pro každou směs byly vypočteny rozdělovací koeficienty (K_D) a separační faktory (α) na základě obsahu fytoKANABINOIDŮ, který byl stanoven pomocí metody UHPLC-HRMS. Jako nejvhodnější byly vybrány následující 2 systémy; (1) Heptan:Ethyl-acetát:Ethanol:Voda (1,5:0,5:1,5:0,5; v:v:v:v) a (2) Hexan:Ethyl-acetát:Methanol:Voda (1,8:0,2:1,8:0,2; v:v:v:v), které splňují cíl práce - umožňují separaci CBD/CBDA od látek ze skupiny tetrahydroKANABINOLŮ. Systémy se mezi sebou liší separační účinností v rámci jednotlivých skupin látek, což může být dále využitelné v závislosti na konkrétní aplikaci.

Vývoj analytické metody pro stanovení organofosfátových retardérů hoření a chlorovaných parafínů v prachu

Bc. Petr Máslo (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Cílem této práce bylo vyvinout a validovat metody pro stanovení organofosfátových retardérů hoření (OPFR) a chlorovaných parafínů (CP) s krátkým (SCCP) a středním řetězcem (MCCP) v prachu, zejména s ohledem na jejich toxické účinky. Pro izolaci CP byla zvolena metoda extrakce disperzní tuhou fází (Florisil) s eluční směsí n-hexan: dichlormethan (15:85, v/v). Analýza byla provedena pomocí plynové chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. OPFR byly extrahovány methanolem s přečištěním pomocí sorbentu ENVI-Carb a analyzovány pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Obě metody byly testovány na certifikovaném referenčním materiálu prachu SRM 2585, který má certifikované hodnoty pro 4 OPFR. Tris(1-chloro-2-propyl) fosfát měl výtěžnost 115 %. Pro zbylé 3 OPFR byly dosažené výtěžnosti nízké (<50 %). Koncentrace CP, pro které není stanovena certifikovaná hodnota, byly porovnány se zahraničními studiemi a výsledky byly mírně vyšší. Postup pro stanovení SCCP a MCCP byl úspěšně validován na uměle kontaminovaných vzorcích na hladině 10 µg/g (výtěžnost: 95 % a 108 %, opakovatelnost: 12 % a 21 %, LOQ: 0,025 a 0,050 µg/g). Postup pro stanovení OPFR musí být dále optimalizován (extrakční rozpouštědlo, sorbent pro přečištění extraktu).

Analýza ovocných destilátů pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

Chi Mai Nguyenová (B3)

Školitel: Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Ovocné destiláty jsou populární na celém světě, zejména pak v České republice. Jedná se o lihoviny, které se vyrábějí z různých druhů ovoce, např. švestky, meruňky, hrušky a višně. S ohledem na kvalitu jednotlivých destilátů je potřeba co nevíce popsat těkavé látky přítomné v jednotlivých lihovinách. Tato práce se zaměřuje na analýzu právě těchto látek pomocí metody mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (SPME-GC-HRMS). Během experimentů bylo analyzováno 20 vzorků pálenek pocházející z různých oblastí, které nám poskytla firma RUDOLF JELÍNEK a.s. Následně byla naměřená data zpracována pomocí chemometrických metod (analýza hlavních komponent – PCA, diskriminační analýzy nejmenších čtverců), pomocí kterých bylo dosaženo rozdělení jednotlivých skupin destilátů podle původu a následně byly detekovány látky, které jsou charakteristické pro jednotlivé skupiny.

Zhodnocení kvality potravin ošetřených pulsním elektrickým polem

Bc. Kateřina Pavlová (M1)

Školitel: Ing. Beverly Bělková, Ph.D.

Tato práce se zabývá vlivem metody pulzního elektrického pole (PEF) při různých intenzitách elektrického pole a frekvencích pulsů na kvalitu vybraných potravin. Pro hodnocení vlivu metody PEF byly vybrány vzorky rakytníkového sirupu odrůdy Botanika a Leikora a mandlového nápoje. Byly stanoveny a porovnány profily flavonoidů a obsahy bioaktivních látek (kyselina askorbová, karotenoidy a tokoferoly) v neošetřených vzorcích a vzorcích ošetřených metodou PEF a tepelnou pasterací. Ošetření vzorků metodou PEF při různých intenzitách elektrického pole (15 a 30 kV/cm) a pasterací má podobný vliv na obsahy bioaktivních látek. Během skladování vzorků rakytníkového sirupu a mandlového nápoje byl zjištěn pokles relativního zastoupení glykosidicky vázaných flavonoidů.

Profilová analýza fosfolipidů pomocí infračervené spektrometrie

Bc. Jana Petrová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Jan Poustka

Infračervená spektrometrie ve střední oblasti s technikou měření zeslabeného totálního odrazu (FTIR-ATR) poskytuje velmi rychlou a komplexní kvalitativní analýzu s minimální přípravou vzorku. Je tedy vhodnou metodou pro účely screeningových testů doplňků stravy, u kterých se často můžeme setkat s pokusy o falšování. Ve své práci jsem se věnovala aplikaci této metody na analýzu doplňků stravy na bázi fosfolipidů. Konkrétně se jednalo o charakterizaci a vzájemné porovnávání naměřených profilů sójových olejů a doplňků stravy s obsahem lecitinu ve formách granulovaných a v kapslích. Ve spektrech lecitinu jsem našla všechny důležité charakteristické pásy odpovídající vibračním vazeb v molekulách triacylglycerolu. Při porovnání se spektry olejů jsem pak našla významné rozdíly ve formě nových pásů, které jsem přiřadila vibračním vazeb různých částí fosfatidové struktury, velmi zajímavé byly také rozdíly v intenzitách charakteristického pásu vibrace karbonylové skupiny v esterech. Dále je zhodnocena opakovatelnost metody, která byla velmi dobrá, a na závěr jsou prezentovány ukázky použití multivariační analýzy hlavních komponent v grafickém zobrazení.

Procesní kontaminanty v potravinách určených pro 'zdravou' výživu

Bc. Anna Průšová (M1)

Školitel: Ing. Beverly Bělková, Ph.D.

Zdravá výživa je ve společnosti velmi častým tématem k diskuzi, a proto existuje mnoho různých názorů, které výrobky bychom měli považovat za zdravé a které naopak nikoli. V očích spotřebitele jsou výrobky označené slovem „zdravý“, případně výrobky zakoupené v takzvané zdravé sekci, přitažlivější. I přes to, že jsou tyto výrobky vyrobené převážně ze surovin, které lze považovat za zdravé, mohou obsahovat procesní kontaminanty, které vznikají při jejich výrobě a mohou mít při dlouhodobé konzumaci negativní vliv na lidské zdraví. Cílem práce bylo zhodnotit kvalitu jedenácti výrobků zakoupených v sekci „zdravá výživa“ na obsah procesních kontaminantů – akrylamidu, 3-MCPD esterů a glycidyl esterů. Akrylamid a glycidyl estery, u nichž jsou již vydány porovnávací hodnoty nebo legislativní limity, u dvou výrobků hodnoty překročily. V případě 3-MCPD esterů, kde jsou limity zatím v přípravě, je stanoven tolerovatelný denní příjem (TDI) na 2 µg/kg tělesné hmotnosti za den. V tomto případě by TDI, při konzumaci ani jednoho z analyzovaných výrobků, nebyl překročen.

Odhalování ilegální aplikace pesticidů v ekologickém zemědělství

Bc. Stanislava Rakušanová (M2)

Školitel: prof. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.

Práce se zabývá problematikou ilegální aplikace pesticidních látek a možností jejich stanovení v obilovinách pocházejících z ekologické produkce pomocí plynové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (GC-MS/MS). Práce vymezuje základní pojmy z oblasti ekologického zemědělství a související významné právní předpisy, a dále také časté cesty kontaminace životního prostředí a plodin, včetně přehledu nálezů pesticidů v produktech ekologického zemědělství v ČR a EU. Je zde popsána použitá analytická technika a jsou podrobněji charakterizovány pesticidy, které byly detekovány v praktické části, jejich využití, toxicita a dopady na organismy a životní prostředí. V experimentální části jsou prezentovány výsledky měření a popsány možné zdroje kontaminace vzorků potravin. V závěru práce jsou zmíněny plány do budoucna a varianty rozšíření studie na další komodity.

Sekce 4

MÍSTO: ON-LINE MS TEAMS

KOMISE

prof. Ing. Vladimír Kocourek, CSc. (předseda)

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

09:00 [Bc. Michaela Schreibmeierová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Stabilita karotenoidů v potravinách a doplňcích stravy

09:20 [Bc. Adéla Sedláčková](#) (M2, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Optimalizace instrumentální metody pro simultánní detekci mykotoxinů a pesticidů

09:40 [Bc. Kateřina Smoláková](#) (M2, Ing. Andrea Poláchová, Ph.D.)

Vývoj metody na stanovení ftalátů ve výrobcích z plastu a textilu

10:00 [Bc. Vít Svatoš](#) (M2, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Stanovení pesticidů v koření pomocí plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií

10:20 [Bc. Sára Šedivá](#) (M1, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Sledování různých skupin organochlorových polutantů v mateřském mléce v ČR

10:40 [Bc. Tereza Šoutová](#) (M2, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Mykotoxiny v krmivech pro domácí mazlíčky

11:00 [Bc. Marie Špetová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Důkaz nepovoleného přídavku syntetických aditiv do potravin

vyhlášení výsledků

Stabilita karotenoidů v potravinách a doplňcích stravy

Bc. Michaela Schreibmeierová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Karotenoidy jsou rozmanitá skupina přírodních barviv. Jsou to látky s antioxidačními schopnostmi a některé z nich působí jako prekurzory vitamínu A. Mohou degradovat vlivem světla, kyslíku a při vyšších teplotách může dojít ke vzniku cis isomerů. Pro stanovení hladin karotenoidů byl použit postup extrakce po alkalické hydrolýze, analyty byly detekovány metodou HPLC-DAD/FLD po separaci na koloně C18. Experiment je zaměřen na stanovení hladiny α -karotenu, β -karotenu a lykopenu v mrkvovém pyré po ošetření vysokým tlakem při různých teplotách a v přesnídávkových kapsičkách z tržní sítě. Výsledky ukázaly, že vysokotlaké ošetření je šetrnější způsob sterilace než pouze ošetření vysokou teplotou, u kterého došlo k vyšší degradaci karotenoidů. U kapsiček bylo zdrojem jednotlivých karotenoidů ovoce a zelenina použité jako surovina pro jejich výrobu. V případě analýzy doplňků stravy byla sledována hladina luteinu (suma luteinu a zexantinu) a β -karotenu. Stanovená množství karotenoidů v kapslích vyhovovala deklarovaným hodnotám na obalu. V případě doplňku Lutein Complex Premium bylo stanovené množství luteinu vyšší než deklarované. U doplňku Ocutein Brillant byla navíc sledována degradace luteinu po dvou letech skladování.

Optimalizace instrumentální metody pro simultánní detekci mykotoxinů a pesticidů

Bc. Adéla Sedláčková (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Potraviny a doplňky stravy mohou obsahovat různé toxikologicky významné cizorodé látky. Mezi jejich časté kontaminanty patří mykotoxiny, toxické sekundární metabolity vláknitých mikromycet a také rezidua pesticidů, jež jsou používána na ochranu plodin před škůdci. Vzhledem k častému simultánnímu výskytu těchto kontaminantů jsou vyvíjeny tzv. multi-detekční metody, které umožňují stanovit stovky analytů v rámci jedné analýzy. Jednou z těchto metod je i metoda pro stanovení 57 mykotoxinů a 422 pesticidů využívající ultra-účinnou kapalinovou chromatografii spojenou s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC–HRMS/MS), která byla vyvinuta na Ústavu analýzy potravin a výživy na VŠCHT Praha. Po rozšíření této metody o 33 pesticidů realizované v rámci předchozí studentské práce byla cílem této studie její modifikace. Nejdříve byla nahrazena stávající chromatografická kolona za kolonu rozdílných rozměrů a vlastností. Následně byl optimalizován gradient mobilní fáze v obou polaritních módech (ESI+/-) s různými mobilními fázemi, aby bylo dosaženo rovnoměrné distribuce eluce analytů s ohledem na fragmentaci a vhodných elučních profilů, především pro polárnější analyty. Optimalizovaná metoda je v současné době využívána pro analýzy doplňků stravy z vietnamského trhu.

Vývoj metody na stanovení ftalátů ve výrobcích z plastu a textilu

Bc. Kateřina Smoláková (M2)

Školitel: Ing. Andrea Poláchová, Ph.D.

Ftaláty jsou estery kyseliny ftalové používající se zejména jako změkčovadla plastů (především PVC). Použití některých ftalátů je regulováno zákonem například v měkčených plastových materiálech, hračkách nebo v plastových předmětech určených pro styk s potravinami. Tyto legislativně omezené ftaláty mohou být endokrinními disruptory nebo poškozovat reprodukční systém. Cílem této práce bylo vyvinout a validovat metodu pro stanovení 10 ftalátů ve vzorcích materiálů z plastů a v textiliích. Jako nejvhodnější izolační metoda byla zvolena opakovaná extrakce podpořená ultrazvukem s použitím rozpouštědla dichlormethanu a následným přečistěním pomocí gelové permeační chromatografie (GPC, BioBeds S-X3). Analytickou koncovkou byla technika plynové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií v módu elektronové ionizace (GC-EI-MS/MS). Bylo zjištěno, že ftaláty jsou obsaženy i v laboratorním vybavení a v použitých chemikáliích. Průměrná koncentrace sumy nalezených ftalátů byla v isooktanu 45 ng/ml (nejvíce byl zastoupen di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP) a dicyklohexyl ftalát (DcHP)), ve slepých pokusech pak 154 ng/ml (zde byl nejvíce zastoupen di-*n*-butyl ftalát (DnBP)). Ve vzorku textilií byla koncentrace sumy nalezených ftalátů rovna 2084 ng/g vzorku.

Stanovení pesticidů v koření pomocí plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií

Bc. Vít Svatoš (M2)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Pesticidy se dnes používají globálně, a to především k ošetření zemědělských plodin. Pro množství jejich residuí v potravinách a krmivech existují maximální limity, které je nutno kontrolovat. To provádí analytické laboratoře. Cílem práce bylo zjištění matričních efektů vybraných matric (zázvor, chilli) na velkou škálu těkavých analytů měřených metodou plynové chromatografie spojené s hmotnostní detekcí. Druhá část práce byla věnována validaci metody pro analýzu těchto analytů ve stejných matricích. Nakonec byla validovaná metoda použita pro analýzu vzorků chilli a zázvoru zakoupených na českém trhu.

Sledování různých skupin organochlorových polutantů v mateřském mléce v ČR

Bc. Sára Šedivá (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Perzistentní organické polutanty (POP) jsou látky schopné akumulace v živých tkáních, jen velmi zvolna podléhají degradaci a byl u nich prokázán toxický efekt nejen na člověka, ale i další organismy. Jejich monitoring v biologických vzorcích, jako je například mateřské mléko, je způsob indikace, že dochází k expozici lidí těmito látkám. Na základě těchto výsledků si probíhající studie ve spolupráci s Ústavem experimentální medicíny AV ČR klade za cíl zhodnotit úroveň expozice populace ČR vybraným polutanty. Celkem bylo analyzováno 141 vzorků mateřského mléka pomocí plynové chromatografie ve spojení s tandemově hmotnostní detekcí. Tato práce představí výsledky biomonitoringu tří sledovaných skupin POP: 8 kongenerů polychlorovaných bifenyly (PCB) (#28, 52, 101, 118, 153, 138, 170, 180), 10 organochlorovaných pesticidů (OCP) a 15 kongenerů polychlorovaných naftalenů (PCN). V získaných vzorcích byl medián koncentrace sumy všech sledovaných PCB 155,7 ng/g tuku (minimum 16,6 a maximum 1551,9 ng/g tuku). Z OCP byl v téměř všech vzorcích stanoven hexachlorbenzen (HCB), β -hexachlorcyklohexan (β -HCH) a DDT včetně jeho metabolitů. Koncentrace jednotlivých OCP se pohybovala mezi 1,3 a 188,1 ng/g tuku. Suma detekovaných PCN (#1, 20, 52, 66) se pohybovala mezi 0,15 – 1,19 ng/g tuku.

Mykotoxiny v krmivech pro domácí mazlíčky

Bc. Tereza Šoutová (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

V evropských domácnostech jsou chovány téměř 3 miliardy domácích zvířat. Komerčně dostupná krmiva jsou v dnešní době nejpoužívanějším zdrojem jejich výživy, díky nutriční vyváženosti i jednoduchosti využití. Prostřednictvím obilovin, které jsou často součástí výrobní receptury, mohou být krmiva kontaminována mykotoxiny, toxickými sekundárními metabolity mikroskopických vláknitých hub, které pro zdraví domácích mazlíčků představují riziko. V první řadě bylo cílem práce validovat analytickou metodu pro stanovení 57 mykotoxinů, následně jejich stanovení v krmivech pro kočky (n = 10) a hlodavce (n = 10) z českého trhu a zhodnocení získaných výsledků. Pro stanovení mykotoxinů byla využita zavedená analytická metoda kombinující extrakci modifikovanou metodou QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) a instrumentální analýzu pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC–HRMS). Ve vzorcích bylo detekováno široké spektrum 39 mykotoxinů, nejčastěji se vyskytovaly enniatiny B a B1, beauvericin, zearalenon, alternariol a tentoxin. Jeden ze vzorků obsahoval pouze jediný mykotoxin na úrovni limitu kvantifikace, ovšem ostatní vzorky pak minimálně 9 zástupců.

Důkaz nepovoleného přídatku syntetických aditiv do potravin

Bc. Marie Špetová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Přídatné látky neboli aditiva jsou látky, které jsou v potravinách využívány pro zachování či zlepšení jejich kvality. Jednou ze skupin přídatných látek jsou barviva, která potravinám dodávají barvu nebo ji obnovují. Syntetická barviva jsou často využívána při výrobě cukrovinek a dodávají jim výrazné barvy, díky kterým lépe dokážou upoutat pozornost spotřebitele. Používání syntetických barviv je však spojeno s různými negativními účinky na lidské zdraví a je proto regulováno Nařízením (ES) č. 1333/2008, kde je vymezeno, v jakých potravinách lze dané barvivo použít a v jakém množství. Porušením těchto legislativních předpisů může dojít k ohrožení zdraví člověka, proto je důležité neustále kontrolovat jejich dodržování. Tato práce byla zaměřena na stanovení devíti syntetických barviv (tartrazin, žluť SY, azorubin, ponceau 4R, červeň Allura AC, patentní modř V, indigotin, brilantní modř FCF, zeleň S) ve vzorcích cukrovinek. K detekci a kvantitativnímu stanovení těchto barviv byla využita metoda ultra účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS). Ve sledovaných vzorcích byla detekována pouze barviva deklarována na etiketě výrobku a v žádném ze vzorků stanovený obsah nepřekročil daný legislativní limit.

Sekce 5

MÍSTO: ON-LINE MS TEAMS

KOMISE

doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D. (předseda)

doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Ing. Beverly Bělková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Kristýna Šteflová](#) (M2, Ing. Kamila Hůrková, Ph.D.)

Studium složení za studena lisovaných rostlinných olejů

09:20 [Bc. Elena Šulcová](#) (M2, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Hodnocení expozice PFAS konzumací pitné vody v ČR

09:40 [Bc. Martina Trepková](#) (M1, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Vývoj metody pro stanovení glyfosátu metodou LC-MS/MS

10:00 [Bc. Tereza Vedrová](#) (M1, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Osud mykotoxinů v průběhu tepelného zpracování potravin

10:20 [Bc. Štěpán Vojáček](#) (M2, Ing. Beverly Bělková, Ph.D.)

Monitoring procesních kontaminantů v tepelně ošetřených potravinách

10:40 [Bc. Aneta Walterová](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Chlorované parafíny v doplňcích stravy

11:00 [Bc. Markéta Zedníková](#) (M1, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Změny hladin hydrofilních vitaminů při zpracování rostlinných nápojů

vyhlášení výsledků

Studium složení za studena lisovaných rostlinných olejů

Bc. Kristýna Šteflová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Hůrková, Ph.D.

V posledních letech roste zájem spotřebitelů o za studena lisované oleje, které si zachovávají většinu bioaktivních látek (fytoosteroly, tokoferoly, fenolické látky). Během lisování za studena se nepoužívá vysokých teplot a chemikálií, proto je výtěžnost těchto olejů malá, což vede k vysoké ceně a častému falšování. Cílem tohoto projektu je vylisování vlastních za studena lisovaných olejů, jejich analýza a nalezení charakteristických markerů jednotlivých druhů olejů. Tyto vzorky by mohly v budoucnu sloužit jako referenční vzorky pro zhodnocení autenticity komerčních za studena lisovaných olejů a zjednodušit ověření autenticity. V rámci projektu byly vylisovány následující druhy oleje: sezamový (n=10), z ostropestřce (n=5), meruňkový (n=5), moringový (n=4) a dýňový (n=4). Vylisované oleje byly extrahovány směsí methanol:voda (80:20, v:v) a následně analyzovány pomocí U-HPLC-HRMS/MS. Získaná data byla podrobena statistické analýze hlavních komponent (PCA) a diskriminační analýze (PCA-DA). Jednotlivé vzorky se rozdělily v obou ionizačních modech podle typu oleje, nejvíce odlišné od ostatních byly vzorky moringového a dýňového oleje. Vytipované markery pro jednotlivé druhy olejů patřily např. do skupiny lignanů nebo triterpenoidů.

Hodnocení expozice PFAS konzumací pitné vody v ČR

Bc. Elena Šulcová (M2)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované látky (PFAS) jsou uměle syntetizované látky s unikátními vlastnostmi, využívané ve škále komerčních i průmyslových aplikacích. U řady z nich jsou potvrzeny toxikologické účinky, na což v roce 2020 zareagoval Evropský úřad pro bezpečnost potravin stanovením nového, přísnějšího tolerovatelného týdenního příjmu (TWI) 4,4 ng/kg těl. hm./týden pro Σ4 PFAS (perfluoroktanová, perfluornonanová, perfluorhexansulfonová a perfluoroktansulfonová kyselina). Cílem práce bylo zhodnotit expozici populace konzumací pitné vody. Odhad plnění TWI byl realizován pro data získaná vyšetřením souboru 57 vzorků kohoutkové vody z ČR, ze kterých byly PFAS izolovány extrakcí na tuhou fázi ve spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Pro komplexní hodnocení expozice byla diskutována data publikovaná v podobných světových studiích. Zjištěné naplnění TWI člověka pro medián Σ4 PFAS se pohybovalo v rozmezí 1–36 %, kdy konzumace kohoutkové vody v ČR naplnila TWI z 9 %. V Praze byl pozorován rozdíl ve výskytu PFAS ve vodě ve dvou různých zdrojích pitné vody, a to 8 resp. 32 % TWI. Z diskutovaných dat bylo zjištěno, že nedochází k překročení TWI. K celkové expozici PFAS však přispívají i další zdroje a je nutné pokračovat v jejich monitoringu.

Vývoj metody pro stanovení glyfosátu metodou LC-MS/MS

Bc. Martina Trepková (M1)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

V dnešní době permanentního růstu populace a poptávky po potravinách je důležitá vysoká produkce zemědělských plodin. Z tohoto důvodu je použití pesticidů, přesněji herbicidů, nevyhnutelné. Tyto látky mají však i negativní účinky na lidské zdraví. Pro omezení dopadu na organismus byly stanoveny maximální limity reziduí. Jedny z nejvíce celosvětově využívaných jsou herbicidní přípravky na bázi glyfosátu. Cílem této práce je vývoj a optimalizace metod pro stanovení glyfosátu, a dalších polárních pesticidů. Většina metod pro stanovení glyfosátu je založena na využití kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Největší rozdíly však najdeme v přípravě vzorku. Experimentální část této práce je zaměřena na využití metodiky pro stanovení polárních pesticidů – QuPPE, dále postupu využívajícím extrakci tuhou fází (SPE) a teoreticky i na přípravu vzorku spojenou s derivatizací glyfosátu. První metoda (QuPPE) byla provedena v 6 opakování na použité matrice červené víno a pivo. Např. u vína byla stanovena výtěžnost glyfosátu 114 % a opakovatelnost 7 % na koncentrační hladině 50 µg/l, což znamená, že podle dokumentu SANTE/12682 /2019 byla metoda validována pro tuto matrici. Metoda pomocí SPE se prokázala jako užitečná pro stanovení glyfosátu v pitné vodě.

Osud mykotoxinů v průběhu tepelného zpracování potravin

Bc. Tereza Vedrová (M1)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Obiloviny patří mezi významné složky našeho jídelníčku a jejich chemická bezpečnost je pro zdraví konzumenta velmi důležitá. Během jakékoliv fáze jejich růstu, zpracování i skladování může docházet ke kontaminaci mykotoxiny, toxickými sekundárními metabolity vláknitých mikroskopických hub neboli plísní. Expozice těmto fungálním toxinům se v organismu člověka může projevovat hepatotoxicky, karcinogenně nebo mutagenně. Ve své práci jsem se zabývala chemickou bezpečností 20 vzorků různých druhů mouk z českého trhu s ohledem na kontaminaci mykotoxiny. Po výběru mouk s dodatečnou kontaminací jsem se zaměřila také na osud vybraných zástupců mykotoxinů během tepelného zpracování těchto mouk jako na jednu z možností jejich částečné eliminace. Pomocí zavedené analytické metody založené na modifikované extrakci QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) a ultra-účinné kapalinové chromatografii ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostně-spektrometrickou detekcí (U-HPLC–HRMS/MS) jsem provedla stanovení 57 mykotoxinů, z nichž bylo kvantifikováno 31, a to především fusariotoxinů a ergotových alkaloidů v jednom případě přesahující maximální limit. Při pekařských experimentech bylo zjištěno pouze částečné snížení kontaminace.

Monitoring procesních kontaminantů v tepelně ošetřených potravinách

Bc. Štěpán Vojáček (M2)

Školitel: Ing. Beverly Bělková, Ph.D.

Projekt byl zaměřen na monitoring procesních kontaminantů (3-MCPD estery, estery glycidolu a akrylamid) v tepelně ošetřených cereálních výrobcích. Pozornost byla věnována výrobkům obsahující náplň a polevu, neboť oleje a tuky použité pro jejich přípravu mohou být primárním zdrojem 3-MCPD esterů a glycidyl esterů v těchto výrobcích. Obsah výše uvedených procesních kontaminantů v potravinách je velmi důležité sledovat, protože dle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) patří akrylamid a glycidol mezi pravděpodobné karcinogeny skupiny 2A vykazující genotoxické účinky a 3-MCPD potenciální karcinogen skupiny 2B. K analýze byla využita ultra-účinná kapalinová chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostně-spektrometrickou detekcí (UHPLC-HRMS) a ultra-účinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostně-spektrometrickou detekcí (UHPLC-MS/MS). U žádného z 10 vzorků nebyla překročena porovnávací hodnota určená pro akrylamid ani legislativní limit pro glycidyl estery. Obsah 3-MCPD v žádném vzorku nenaplnil tolerovatelný denní příjem (2mg/kg tělesné hmotnosti/den) u dospělého člověka. U vzorku s nejvyšší kontaminací 3-MCPD byl proveden modelový příklad konzumace tohoto výrobku dětmi a sledováno procentuální naplnění tolerovatelného denního příjmu.

Chlorované parafíny v doplňcích stravy

Bc. Aneta Walterová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Chlorované parafíny (CP) jsou průmyslové kontaminanty, které unikají do životního prostředí při výrobě, používání a likvidaci produktů, které je obsahují. Chemicky se jedná o polychlorované *n*-alkany, které působí toxicky na ledviny, játra a štítnou žlázu. Cílem této studie bylo vyvinout a validovat analytickou metodu pro stanovení chlorovaných parafínů s krátkým (SCCP) a středním řetězcem (MCCP) v doplňcích stravy a zhodnotit úroveň kontaminace těchto výrobků na českém trhu. Analyty byly ze vzorků izolovány pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE), jako sorbent byl použit silikagel a jako eluční rozpouštědlo směs hexan:dichlormethan (3:1, v/v). Pro stanovení byla zvolena metoda plynové chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií s analyzátozem doby letu. Opakovatelnost a výtěžnost metody byly pro SCCP 7–14 % a 74–129 % a pro MCCP 17–23 % a 60–129 %. Validovaná metoda byla následně použita pro analýzu 48 vzorků potravních doplňků. CP nebyly nalezeny pouze v jediném vzorku, u některých vzorků byla zjištěna velmi vysoká úroveň kontaminace. Nálezy SCCP se pohybovaly od <10 do 85 930 ng/g tuku (medián 31 ng/g tuku) a nálezy MCCP byly v rozpětí od <25 do 43 997 ng/g tuku (medián 208 ng/g tuku).

Změny hladin hydrofilních vitaminů při zpracování rostlinných nápojů

Bc. Markéta Zedníková (M1)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Cílem práce bylo zjistit vliv technologické úpravy mandlového mléka na obsah niacinu a riboflavinu. V rámci práce byla optimalizována metoda pro stanovení těchto vitaminů v mandlovém nápoji pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Byl proveden výběr vhodného extrakčního postupu, zahrnující kyselou hydrolýzu, enzymovou hydrolýzu a jejich kombinaci. Vzhledem k očekávaným přirozeným nálezům se jako nejvhodnější jevil postup kyselé hydrolýzy kombinované s enzymovou hydrolýzou. Tento postup byl následně úspěšně validován. Výťažnost optimalizovaného postupu se pohybovala v rozmezí 98 – 135 %. Opakovatelnost, vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka v %, byla 8 – 12 %. Validovaný postup byl následně využit pro vyšetření souboru 20 reálných vzorků neošetřeného a ošetřeného mandlového nápoje technologií pulsního elektrického pole. Ve vzorcích byl detekován obsah riboflavinu od 0,35 µg/ml do 2,50 µg/ml vzorku a niacinu od 3,20 µg/ml do 3,90 µg/ml vzorku. Na hladinu niacinu nemělo ošetření vliv, u riboflavinu došlo po ošetření k výraznému zvýšení hladin tohoto vitaminu ve vzorku.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Ústav konzervace potravin I](#)
2. [Ústav konzervace potravin II](#)

Ústav konzervace potravin I

MÍSTO: MS TEAMS: 324-O365-SVK-2020-ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN I

KOMISE

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D. (předseda)

Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

PROGRAM

08:30 **zahájení**

08:30 [Bc. Ondřej Bláha](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Optimalizace výroby a balení celosvalových masných výrobků

08:45 [Bc. Tereza Fiantoková](#) (M2, Ing. Adéla Grégrová, Ph.D.)

Využití plynové chromatografie s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem pro hodnocení potravinářských výrobků se sníženým obsahem soli

09:00 [Bc. Gabriela Kuncová](#) (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)

Ošetření nápojů pomocí pulzního elektrického pole

09:15 [Bc. Kateryna Miasnikova](#) (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)

Využití bakteriofágů při výrobě potravin

09:30 [Bc. Zuzana Moravcová](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Hodnocení možností měření sorpčních izoterm

09:45 [Tereza Vrbová](#) (M2, Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.)

Fyzikálně-chemická charakterizace lipových a akátových medů původem z České Republiky

10:00 [Bc. Kateřina Říhová](#) (M2, doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Hodnocení spolehlivosti markerů autenticity výrobků z ovoce a zeleniny

vyhlášení výsledků

Optimalizace výroby a balení celosvalových masných výrobků

Bc. Ondřej Bláha (M2)

Školitel: doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Celosvalové masné výrobky jsou nutričně významné potraviny, které jsou pro mnoho spotřebitelů nedílnou součástí jídelníčku a jejich spotřeba celosvětově roste. Jejich nevýhodou je však nízká údržnost s možným výskytem patogenních mikroorganismů a chemická nestabilita. Výrobky podléhají nežádoucím procesům, a to zejména oxidaci bílkovin a tuků. Dosáhnout mikrobiální či chemické stability výrobků, a tak prodloužit jejich údržnost je zásadní otázkou v masné výrobě. Zajištění kvality a bezpečnosti lze dosáhnout, kromě správného technologického postupu výroby, použitím vhodného obalového materiálu ve spojení s optimálním typem balení. V úvahu také přichází aplikace inovativních aktivních či inteligentních obalových prvků, které mohou zásadně ovlivnit údržnost a kvalitu masného výrobku. Další možností je zdokonalení výrobních postupů od příjmu suroviny až po expedici, a také optimalizace složení nezbytných aditivních látek. Pro zhodnocení kvality a porovnání několika typů krájených celosvalových masných výrobků byl hodnocen obsah reziduálních dusitanů, sodíku, draslíku a chloridů. A dále byla posuzována změna barvy, vnitřní modifikované atmosféry a mikrobiální kontaminace v průběhu chladírenského skladování za specifických podmínek (teplota a definované osvětlení).

Využití plynové chromatografie s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem pro hodnocení potravinářských výrobků se sníženým obsahem soli

Bc. Tereza Fiantoková (M2)

Školitel: Ing. Adéla Grégrová, Ph.D.

Předkládaná práce je zaměřena na zhodnocení vlivu snížení obsahu soli na změny profilů těkavých a senzoricky aktivních látek u vybraných reformulovaných mléčných výrobků (čerstvých a zrajících sýrů). Ke zmíněnému účelu byla využita metoda mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem (GC-O/MS). Analyzován byl předběžný soubor modelových vzorků sýrů (předpoklad: ovlivnění trvanlivosti a chuťového profilu v případě nakládání sýru do solné lázně o různé koncentraci na odlišně dlouhou dobu). Bylo provedeno kritické zhodnocení vlivu způsobu zpracování, receptury a obsahu soli na zastoupení těkavých látek a s tím spojený chuťový a vonný profil reformulovaných výrobků. Dále je plánováno posouzení vlivu snížení obsahu soli na změny profilů těkavých látek reformulovaných pekařských výrobků (např. běžné pečivo – chlebičkové večky s přídavkem kvasu; předpoklad: chuťový profil sníženého přídavku soli je kompenzován bohatým profilem látek pocházejících z chuťově vyváženého a vhodného kvasu připraveného pomocí speciálních startovacích kultur).

Ošetření nápojů pomocí pulzního elektrického pole

Bc. Gabriela Kuncová (M2)

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Tato práce si klade za cíl představit novou nontermální metodu ošetření potravin – pulzní elektrické pole. Věnuje se základnímu principu, na němž je účinnost této metody založena. Popisuje možné soudobé aplikace PEF v potravinářství a účinky této metody na nutričně hodnotné látky stejně jako na procesní kontaminanty a mikroorganismy. V experimentální části jsou zkoumány vlivy metody pulzního elektrického pole na suspenze mikroorganismů (kvasinky). Je zkoumána účinnost při různém nastavení hlavních parametrů, jako je intenzita elektrického pole a frekvence pulzů.

Využití bakteriofágů při výrobě potravin

Bc. Kateryna Miasnikova (M2)

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Cílem práce je ověření účinnosti prostředků biologické ochrany plodin, zejména využití bakteriofágů proti fytopatogenním bakteriím. Cílovými bakteriemi jsou *Dickeya dianthicola* *Pectobacterium carotovorum*, které způsobují hnilobu brambor a jiných plodin. Tyto fytopatogeny se vrací zpět do oběhu a kontaminují další plodiny tím, že prací vody a hlína jsou vraceny zpět na pole, proto je třeba tyto materiály ošetřit, aby došlo k zabránění cirkulace nákazy. Účinnost bakteriofágů byla testována v tekutých médiích pomocí bioreaktoru Biosan, kde byl kontinuálně měřen nárůst bakterií při různých teplotách (růstové křivky) a byl také sledován nárůst bakterií s přidavkem bakteriofágů. Další testy byly prováděny na pevných agarových půdách, kde byl vizuálně sledován nárůst bakterií a porovnán s nárůstem bakterií inhibovaným pomocí bakteriofágů. Podobné pokusy byly také provedeny přímo na plátcích brambor.

Hodnocení možností měření sorpčních izoterm

Bc. Zuzana Moravcová (M2)

Školitel: doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Znalost sorpční izotermy, která vyjadřuje závislost mezi obsahem vody a její aktivitou, je důležitým parametrem při skladování a údržbě potravin. Práce se zabývá možnostmi měření sorpčních izoterm v potravinách. Sorpční izotermy byly naměřeny u vzorků fermentovaných masných produktů pomocí generátoru izoterm Aqualab Vapor Sorption Analyzer metodou Dynamic Dewpoint Isotherm – DDI. Experimentálně získaná data byla následně zpracována pomocí šesti izotermických modelů. Použity byly modely podle Halseyho, China, Hendersona, Oswina, Smitha a model GAB.

Fyzikálně-chemická charakterizace lipových a akátových medů původem z České Republiky

Tereza Vrbová (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D.

V rámci projektu bylo měřeno deset vzorků akátových medů a patnáct vzorků lipových medů. Změřenými parametry jsou obsah vody, vodivost, aktivita diastázy, obsah HMF a titrační kyselost. Dále byla prováděna pylová analýza a je v plánu měření barvy a obsahu sacharidů. Výsledky byly porovnány s popisnými listy hlavních evropských jednodruhových medů.

Hodnocení spolehlivosti markerů autenticity výrobků z ovoce a zeleniny

Bc. Kateřina Říhová (M2)

Školitel: doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.

V rámci loňského ročníku SVK bylo cílem prezentace obeznámení s problematikou deklarace 100% citronových šťáv na 10-ti vzorcích. Analýza vybraných markerů autenticity sloužila jako podklad pro výpočet ovocného podílu, jehož hodnota korelovala s mírou autenticity těchto vzorků. Získaná data byla následně porovnána s daty naměřenými u čerstvě vylisovaných šťáv z různých odrůd citronů. Pokud je pro daný vzorek i přes nejistotu měření zjištěna neodpovídající hodnota ovocného podílu či byly u určitých markerů získány atypické hodnoty, je třeba si klást otázku, zda je příčinou například jen vliv odrůdy nebo zda byl nějakým způsobem vzorek falšován. Náhrada suroviny levnějším ovocným druhem či přídavek tzv. pulp wash mohou být u citrusových šťáv odhaleny na základě profilu a stanovení fenolických sloučenin, konkrétně charakteristických flavonoidů. Ve spolupráci s pražským inspektorátem SZPI byla optimalizována metoda HPLC pro stanovení flavonoidů v citrusových šťávách. Tato metoda byla aplikována na soubor 10-ti vzorků 100% citronových šťáv, na čerstvě vylisované šťávy z různých odrůd citronů, na čerstvě vylisované šťávy z dalších druhů citrusů (limetka, pomeranč, grapefruit a mandarinka) a na závěr také na soubor 5-ti vzorků citronových koncentrátů se sníženým obsahem ovocné složky.

Ústav konzervace potravin II

MÍSTO: MS TEAMS: 324-O365-SVK-2020-ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN II

KOMISE

doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D. (předseda)

Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

PROGRAM

08:30 **zahájení**

08:30 [Bc. Eliška Makrlíková](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků

08:45 [Bc. Michaela Pelikovská](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

Posouzení vlivu snížení obsahu cukru na trvanlivost džemů

09:00 [Bc. Karolina Rolková](#) (M1, Ing. Lenka Votavová, Ph.D.)

Testování integrity obalu

09:15 [Bc. Aneta Thérová](#) (M2, Ing. Lenka Votavová, Ph.D.)

Vývoj nových metod testování celkové migrace z obalových materiálů do rostlinného oleje

09:30 [Veronika Valerová](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

Využití moderních analytických technik pro hodnocení kvality potravinářských surovin

09:45 [Bc. Pavel Čakarov](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

Validace metody HPLC/DAD pro stanovení folacinu (vitaminu B9) ve vybraných potravinách

10:00 [Adéla Švihlíková](#) (M2, Ing. Václav Pohůnek, Ph.D.)

Vliv koncentrace soli na míru tepelné inaktivace mikroorganismů během pasterace

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN II

Zde vložte loga sponzorů, nebo stránku smažte!!!

Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků

Bc. Eliška Makrlíková (M2)

Školitel: doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Na trhu je mnoho produktů se sníženým obsahem přidaného cukru, nicméně je nutné tento sortiment nadále rozšiřovat, a to především z důvodu stoupající prevalence nadváhy a obezity u lidí. Například tradiční džemy obsahují velké množství přidaného cukru a je zde tak prostor pro jejich reformulaci. Tato práce se zabývá vlivem obsahu cukru na stabilitu anthokyanů. Červená barva jahod, které tyto rostlinné flavonoidní pigmenty poskytují, je jedním z kvalitativních parametrů, podle kterých se může spotřebitel rozhodovat při nákupu výrobků z jahod. Je tedy žádoucí, aby při výrobě a skladování džemů nedocházelo k degradaci pigmentů a výrobek si zachovával charakteristickou červenou barvu po delší dobu. Stabilita anthokyanů závisí na řadě faktorů jako je například pH prostředí, teplota při výrobě džemů a skladování, přítomnost enzymů a kyslíku, záření, jakému je produkt vystaven, obsah cukrů ve výrobku atd. Některé studie uvádí, že snížením obsahu cukrů v ovocných džemech by mohlo dojít k rychlejší degradaci anthokyanů při výrobě a skladování. V rámci této práce byla zatím provedena optimalizace extrakce anthokyanů z jahod a stanovení anthokyanů metodou HPLC se spektrofotometrickou detekcí při 518 nm. Pro další měření byla jako nejvhodnější zvolena vícekroková extrakce destilovanou vodou.

Posouzení vlivu snížení obsahu cukru na trvanlivost džemů

Bc. Michaela Pelikovská (M2)

Školitel: doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Nároky konzumentů a poptávka po reformulovaných výrobcích se stále zvyšuje. Velká část populace má vyšší energetický příjem z potravin než je výdej, což vede k nadváze a obezitě. Pro snížení zdravotních rizik souvisejících s obezitou, jako je například *diabetes 2. typu*, je nutné reformulovat výrobky tak, aby měli nižší energetickou hodnotu. Mezi vysoce energetické výrobky patří i ovocné pomazánky, kde byla výroba džemu v historii tradicí za účelem uchování ovoce na dlouhou dobu a pro možnost konzumovat ovoce v každém ročním období. Principem této konzervace je osmoanabióza, rozumí se tím, že se snižuje aktivita vody a zvyšuje osmotický tlak, který inhibuje růst a vývoj mikroorganismů, které mohou výrobek znehodnotit. Obsah cukru v ovocných pomazánkách má kromě vlivu na údržnost vliv na texturu a antioxidační schopnost či na stabilitu anthokyanů a fenolových látek. V rámci řešení diplomové práce budeme posuzovat vliv obsahu cukru na růst vybraných mikroorganismů, přesněji plísně *Botrytis cinerea* na modelových a reálných vzorcích za použití alternativní želírovací látky karagenanu a jahodového džemu s různým obsahem cukru.



Testování integrity obalu

Bc. Karolina Rolková (M1)

Školitel: Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

V oblasti balení potravin se opakovaně diskutuje téma maximální bezpečnosti a prodloužení údržnosti potraviny s ohledem na použitý obal. Důraz je kladen zejména na funkční parametry obalového materiálu a jeho hermetičnost, avšak zkoušky různých obalových materiálů a jejich spojů jsou popsány vždy jen ve velmi úzkém intervalu podmínek měření. Bylo by přínosné rozšířit dosavadní testování o nové situace, ze kterých by mohla vzejít například optimalizace výroby, nové kritické kontrolní body systému HACCP, či další poučení spotřebitele o zacházení s výrobkem. Cílem práce bylo zhodnotit výsledky měření na přístroji Lippke 4500, který slouží k detekci netěsností v polymerních obalech. V hermeticky uzavřených sáčkách z polymerních fólií byl u každého vytvořen za definovaných podmínek (teplota, průměr perforačního drátku) jeden otvor. Pomocí Leak testu byly změřeny hodnoty tlaku v jednotlivých sáčkách a na základě jejich výsledků byly vypočítány teoretické velikosti (průměry) otvorů způsobující netěsnost obalu. Byla potvrzena schopnost přístroje Lippke 4500 detekovat průměr netěsnosti (otvoru) v obalu v řádu desítek mikrometrů.

Vývoj nových metod testování celkové migrace z obalových materiálů do rostlinného oleje

Bc. Aneta Thérová (M2)

Školitel: Ing. Lenka Votavová, Ph.D.

Migrace látek z obalů do potravin je jedním z hlídaných parametrů u materiálů určených pro styk s potravinami. Měření celkové migrace z obalových materiálů do rostlinného oleje, jakožto simulantu tučných potravin, je však z mnoha pohledů problematické. Mezi hlavní problémy patří časová a finanční náročnost, dále velké množství operací se vzorkem, které dává prostor pro vznik velkého množství chyb. Práce je zaměřena na testování migrace u předmětů pro opakované použití, vliv složení olejů na celkovou migraci a použití predikčních modelů pro celkovou migraci. Pro testování byly vybrány dopravníkové pásy vyrobené z polymerních materiálů (TPU a PVC). Při testování celkové migrace do rostlinných olejů byla zjištěna různá úroveň migrace pro řepkový a olivový olej. Zároveň byla zjištěna i jiná úroveň sorpce oleje do testovaných vzorků dle délky uhlovodíkového řetězce příslušných mastných kyselin. Pro vytvoření spolehlivých predikčních modelů migrace je zapotřebí více experimentálních dat, která dostatečně popisují migrační křivku v počáteční fázi migrace a určují hodnotu uvolněného množství migrujících složek v rovnovážném stavu.

Využití moderních analytických technik pro hodnocení kvality potravinářských surovin

Veronika Valerová (M2)

Školitel: doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Unikátní sada 21 vzorků arašídů dovezených z Bolívie byla analyzována na DART-TOF-MS. V rámci optimalizace byla nalezena ideální rozpouštědla a teplota pro jednotlivé módy. Data byla zpracována pomocí PCA – analýzy hlavních komponent. V teoretické části práce byly nalezeny látky typické pro syrové arašídové (především fenolické sloučeniny), produkty žluknutí arašídů a produkty pražení. U látek byly nalezeny molární hmotnosti a jejich typické ionty.

Validace metody HPLC/DAD pro stanovení folacinu (vitaminu B9) ve vybraných potravinách

Bc. Pavel Čakarov (M2)

Školitel: doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Vitamin B9, někdy také označován jako folacin či kyselina listová, patří mezi vitaminy rozpustné ve vodě. Jedná se o nestálou účinnou látku zejména na světle a v přítomnosti kyslíku. Vitamin B9 je v lidském organismu nezbytný při tvorbě koenzymů pro syntézu nukleových kyselin a aminokyselin. Významně se podílí také na vývoji plodu, proto představují gravidní ženy rizikovou skupinu a je nutný zvýšený příjem této biologicky aktivní látky. Zejména z toho důvodu najdeme na trhu řadu suplementů a fortifikovaných potravin vitaminem B9. V potravinách jsou však obsaženy foláty – biologicky aktivní deriváty kyseliny listové. Folát je obecný název užívaný pro jakoukoli formu tohoto vitaminu bez ohledu na stav redukce, typ substituce a stupeň polyglutamylace. Tyto deriváty jsou méně stabilní a mají nižší biologickou účinnost. Cílem této práce bylo popsat a zhodnotit dostupné metody stanovení tohoto vitaminu a vybranou metodu ověřit v podmínkách laboratoře. V dalším pokračování práce je plánováno využít tuto metodu například k ověřování obsahu vitaminu B9 ve vybraných potravinách nebo při vývoji vlastních fortifikovaných potravin.

Vliv koncentrace soli na míru tepelné inaktivace mikroorganismů během pasterace

Adéla Švihlíková (M2)

Školitel: Ing. Václav Pohůnek, Ph.D.

Příjem soli potravinami je v dnešní populaci obecně vyšší než doporučené množství. Ionty sodíku zajišťují důležité fyziologické funkce v lidském těle. Naopak vysoké množství sodíku zvyšuje krevní tlak, který má za následek rozvoj kardiovaskulárních chorob. Tato práce je zaměřena na tepelně opracované masné výrobky. Snaha posledních let je reformulovat potraviny tak, aby došlo ke snížení příjmu sodíku. Sůl v masném výrobku neslouží pouze k ochucení. Ovlivňuje technologické vlastnosti výrobku, kde funguje jako konzervační činidlo a současně váže vodu. Cílem práce bylo porovnat vliv tepelného opracování na růst bakterií vyskytující se v mase. Pro účely experimentu byli vybráni zástupci různých morfologických skupin bakterií. Posuzoval se vliv soli v různých koncentracích na bakterie. Bujóny s přísadami 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 % soli byly zaočkovány mikroorganismy. Následovalo tepelné ošetření ve vodní lázni při 70 °C po dobu 15 minut a zchlazení. Kultivace probíhala na plotnách 3 dny v termostatech při 37 °C a při 30 °C. Výsledky z této práce budou poté aplikovány na poloproduční podmínky pro ověření získaných experimentálních dat v reálných podmínkách výroby masných výrobků.

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Ústav chemie přírodních látek - I](#)
2. [Ústav chemie přírodních látek - II](#)
3. [Ústav chemie přírodních látek -III-analytická](#)

SPONZOŘI

vesmír



L'ORÉAL

Ústav chemie přírodních látek - I

MÍSTO: MS TEAMS 342-O365-SVK-I

KOMISE

doc. Dr. Ing. Ivan Raich (předseda)

RNDr. Miroslav Ledvina, CSc.

Ing. Petr Štěpánek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Jan Malý](#) (B3, prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.)

Příprava multivalentních galektinových inhibitorů na bázi karbosilanových glykodendrimerů

[Bc. Kateřina Novotná](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza S-oligosacharidů pro inhibici HIV infekitivity

[Bc. Wahid Tattan](#) (M2, prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.)

Multifunkční karbosilanové dendrimery pro biomedicínské využití

[Bc. Pavel Trousil](#) (M2, Ing. Michal Jurášek, Ph.D.)

Syntéza a studium mitotických inhibitorů odvozených od estradiolu

[Bc. Kateřina Váchalová](#) (M1, Ing. Michal Jurášek, Ph.D.)

Fluorescenční sondy pro zobrazování lipidních látek na živých buňkách

[Bc. Hedvika Češková](#) (M1, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Syntéza vybraných metabolitů nové psychoaktivní látky 2CB-Fly-NBOMe

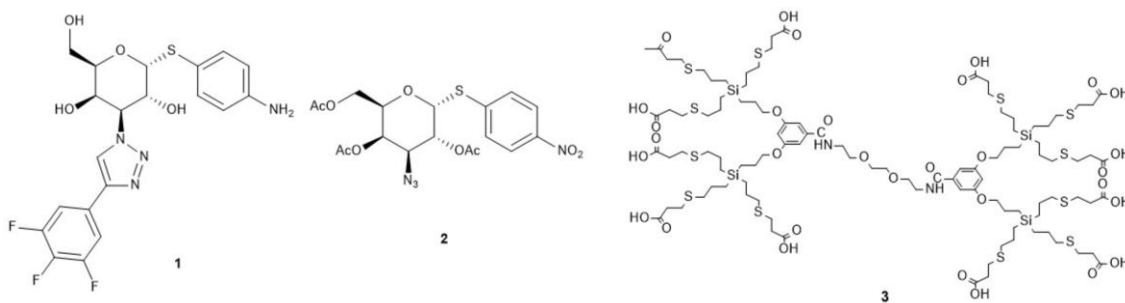
vyhlášení výsledků

Příprava multivalentních galektinových inhibitorů na bázi karbosilanových glykodendrimerů

Jan Malý (B3)

Školitel: prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Lektiny jsou velkou skupinou proteinů schopných vázat sacharidy pomocí nekovalentních interakcí. Velmi důležitá skupina lektinů jsou galektiny, proteiny schopné specificky rozpoznávat galakto-konfigurované sacharidy. Galektiny hrají významnou roli v mnoha biologických procesech jako například: apoptóze, buněčné migraci či imunitní odpovědi. Z tohoto důvodu je o studium těchto látek vzrůstající zájem, a to v různých biomedicínských odvětvích. V nedávné době bylo zjištěno, že α -D-thioaryl galaktosidy nesoucí aryltriazolovou funkční skupinu vykazují vysokou afinitu k širokému spektru lidských galektinů. Cílem této práce je syntéza multivalentních inhibitorů lidských galektinů. Tyto látky budou připraveny navázáním thioaryl glykosidu **1** na multivalentní nosiče založené na karbosilanových dendrimerech. Navržená příprava thioglykosidu **1** vychází z levoglucosanu, sledem deseti syntetických kroků byl prozatím připraven p-nitrophenyl-3-azido-3-deoxy- α -D-thio-galactopyranosid **2**. Syntéza prvního dendritického nosiče **3** vycházela z 3,5-dihydroxybenzoové kyseliny, která byla derivatizována pomocí triallyl-propylsilanu. Allylové funkční skupiny byly následně modifikovány navázáním kyseliny 2-sulfanyloctové. Po dokončení syntézy bude thioglykosid následně připojen na nosič pomocí amidové vazby.

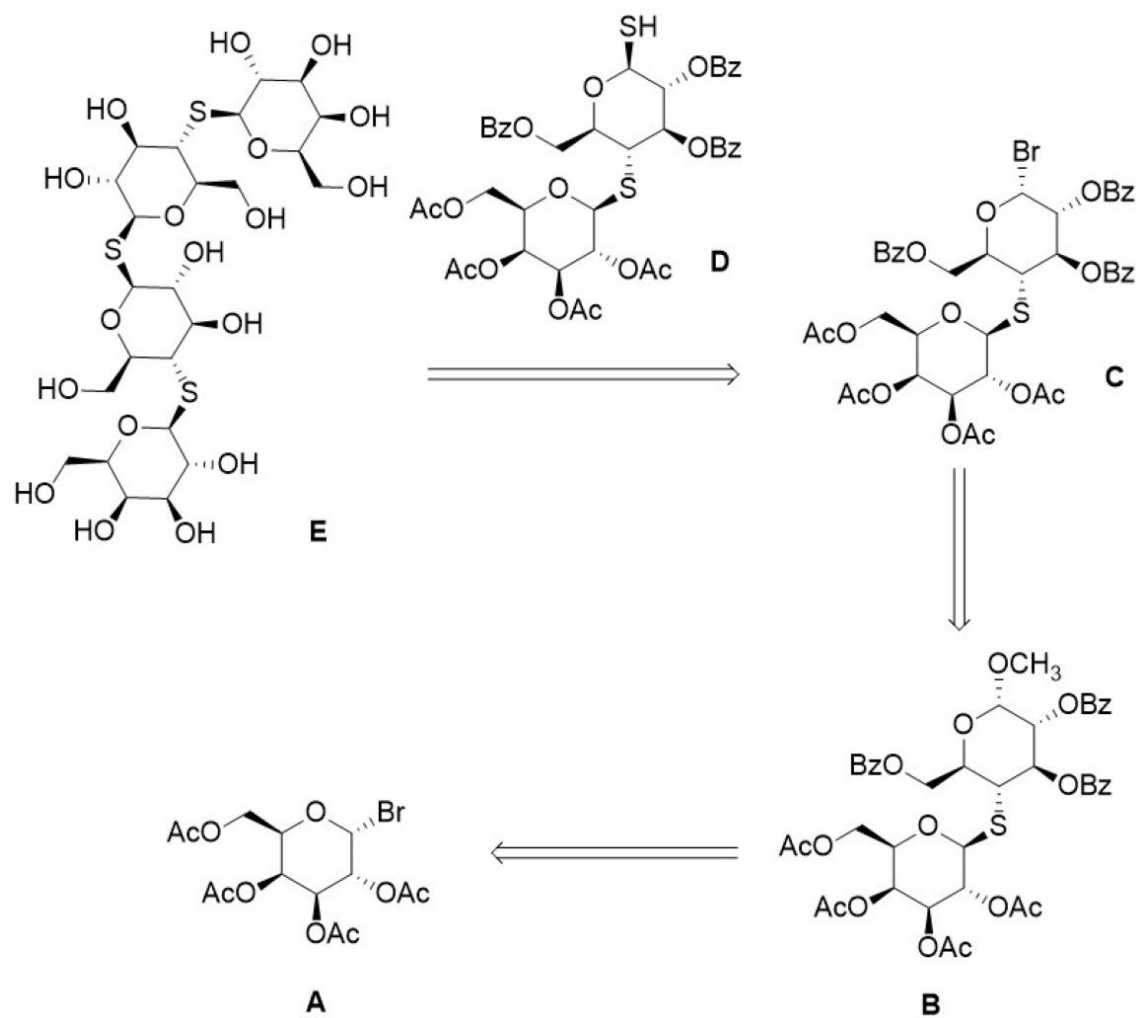


Syntéza S-oligosacharidů pro inhibici HIV infekitivity

Bc. Kateřina Novotná (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Sacharidy, jakožto přírodní látky lze najít ve všech živých organismech. Hrají důležitou roli v komunikaci mezi buňkami (vazba receptor – ligand). V procesu posttranslačních modifikací dochází k postupné glykosylaci koncových částí proteinů, ty jsou exprimovány na povrchu buněk a slouží buňkám ke komunikaci s jejím okolím. Jednou ze skupin specifických ligandů, které se sacharidy interagují, jsou lektiny (proteiny bez enzymatické aktivity). Ve spojitosti s onemocněním AIDS a infekcí HIV jsou zajímavé galektiny, které napomáhají viru uchytit se na povrch hostitelské buňky, a tak proniknout skrze její obal. Inhibicí těchto galektinů by bylo možné znemožnit viru jeho adhezi a zastavit rozvoj či samotný vznik infekce. Inhibitory, které by mohly mít tuto schopnost, jsou β -D-galaktosidy s vysokou afinitou k výše zmíněným galektinům. Takovými ligandy jsou v přírodě například laktosa, *N*-acetyl laktosamin (LacNAc), ale i další β -galaktosové zbytky. Samotná laktosa či LacNAc jsou kyselé i enzymaticky hydrolyzovatelné, což znemožňuje transport na místo účinku bez degradace. Nahrazením *O*-glykosidické vazby vazbou *S*-glykosidickou lze docílit vyšší stability. Proto je cílem mé práce připravit dimer *S*-laktosy, který by mohl sloužit jako potenciální inhibitor.

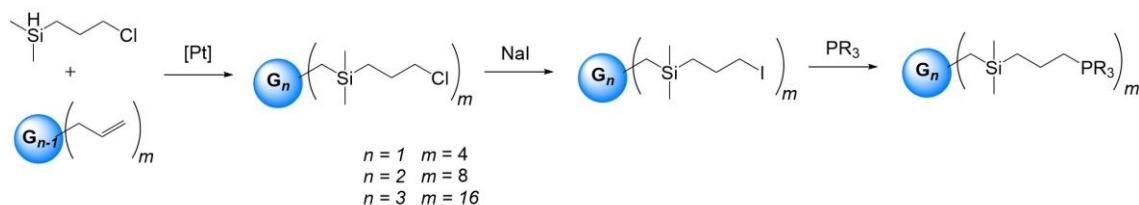


Multifunkční karbosilanové dendrimery pro biomedicínské využití

Bc. Wahid Tattan (M2)

Školitel: prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Karbosilanové dendrimery jsou trojrozměrné, větvené makromolekuly s křemíkem jako větvicím prvkem, jasně definovanou strukturou a molární hmotností. Díky svým výhodným vlastnostem jsou karbosilanové dendrimery nesoucí kationtové funkční skupiny (např. amoniové či fosfoniové soli) studovány pro biomedicínské využití, a to především pro cílený transport léčiv a genové terapie. Díky nevazebným interakcím mohou kationtové karbosilanové dendrimery interagovat s biologickými strukturami (biomembrány, receptory, nukleové kyseliny, aj.) a sloužit tak jako přenašeče terapeutického materiálu. Takové přenašeče však musí být efektivní, specifické, bezpečné a netoxické. V naší laboratoři jsme připravili sérii karbosilanových dendrimerů s fosfoniovými skupinami na periferii, které se vyznačují nižší toxicitou a vyšší transfekční účinností v porovnání se svými amoniovými analogy. Tato práce navazuje a zásadně rozšiřuje dříve provedenou studii. V rámci této práce bude prezentována syntéza, charakterizace a chemicko-fyzikální vlastnosti čtyř sérií kationtových karbosilanových dendrimerů 1. – 3. generace, které se liší povahou periferních fosfoniových skupin (substituované arylfosfoniové skupiny a skupiny s fluorovanými řetězci).



Syntéza a studium mitotických inhibitorů odvozených od estradiolu

Bc. Pavel Trousil (M2)

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

2-alkoxy deriváty 17β -estradiolu (methoxy a ethoxy) jsou známými mitotickými inhibitory s poměrně vysokou selektivitou a odbouranou rezistencí vůči rezistentním proteinům. Samotný 2-methoxyestradiol byl v široké míře sledován a vyhodnocován v rámci klinických studií. Nedávno popsáný C-17 dimer estradiolu syntetizovaný s využitím 1,3-dipolární cykloadice (CuAAC reakce) se ukázal být novým motivem mitotických inhibitorů. Farmakologické charakteristiky tohoto dimeru jsou velmi blízké nokodazolu. E2 Dimer je toxický v sub-mikromolárních koncentracích na řadě rakovinných modelů, bohužel však bez výrazné selektivity na nádorové buňky. Rovněž bylo také ověřeno, že tento ligand je pravděpodobně substrátem pro rezistentní p-glykoprotein (P-gP). Dimerizace 2-alkoxy derivátů estradiolu by mohla vést ke zlepšení selektivity a odbourání rezistence vůči MVP a P-gp proteinům.

Fluorescenční sondy pro zobrazování lipoidních látek na živých buňkách

Bc. Kateřina Váchalová (M1)

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

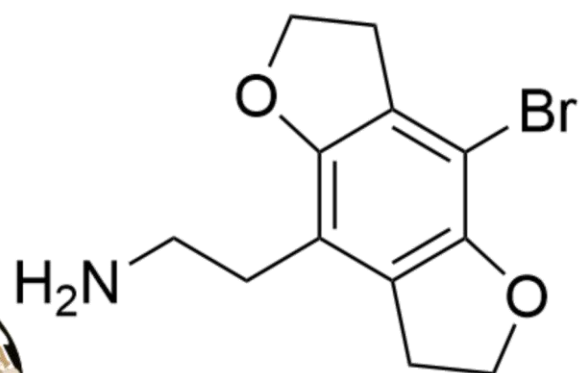
Lipoidní látky mají nezastupitelnou roli v živých organismech. Jsou lokalizovány v mnoha buněčných kompartmentech. Pro sledování těchto kompartmentů je nezbytná jejich vizualizace. Cílem práce bylo připravit vhodné fluorescenční sondy, které by se podle svého hydrofobního charakteru a specifity měly začlenit do konkrétní membrány a tím ji zviditelnit. Takto zviditelněné buněčné kompartmenty mohou být pozorovatelné pomocí fluorescenční mikroskopie. Připravené fluorescenční sondy jsou tvořené fluoroforem, spojovacím můstkem a lipoidní látkou. Fluorescence sond se liší v závislosti na konkrétní struktuře fluoroforu. Zvolené fluorofory pro aplikaci patří do tříd BODIPY, xanthenových, cyaninových a squarainových barviv. Jako spojovací můstek byla použita delší alifatická kyselina. Nejprve byly připraveny karboxyderiváty BODIPY, karboxyderiváty squarainu, karboxyderiváty cyaninů a aktivované NHS estery xanthenových barviv. Nové fluorescenční látky byly použity ke konjugaci s lipoidní látkou. Použitou lipoidní látkou byl derivát kardiotonického steroidu, 3-deoxy-3-aminodigitoxigenin. Připravené konjugáty byly charakterizovány a testovány.

Syntéza vybraných metabolitů nové psychoaktivní látky 2CB-Fly-NBOMe

Bc. Hedvika Češková (M1)

Školitel: Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Nové psychoaktivní látky jsou syntetická strukturní analoga již známých a zákonem regulovaných drog, která jsou syntetizována za účelem vyhnutí se legislativním regulacím. 2C-B-FLY-NBOMe, *N*-(2-methoxybenzyl) derivát látky 2C-B-FLY jejíž název byl odvozen od struktury vizuálně připomínající létající hmyz – vážku, je jednou z těchto látek. 2C-B-FLY-NBOMe vykazuje díky své afinitě k serotoninovému 5-HT_{2A} receptoru halucinogenní účinky, dále způsobuje změny sluchového a vizuálního vnímání, euforii, pocity strachu či nevolnost. Vzhledem k nedostatku informací o jeho toxicitě a farmakokinetice však může být pro uživatele velmi nebezpečný. Cílem této práce bylo připravit potenciální metabolity psychoaktivní drogy 2C-B-FLY-NBOMe, které budou využity v rámci farmakokinetických a toxikologických studií ve spolupráci s Národním ústavem duševního zdraví. V rámci práce byly syntetizovány dva potenciální metabolity a jeden deuteriem značený potenciální metabolit této látky. Všechny tři připravené sloučeniny jsou v současnosti používány jako analytické standardy v rámci probíhajících farmakologických a behaviorálních studií na potkanech. Získané výsledky prohlubují znalostní základnu neuropsychofarmakologického výzkumu psychedelik z pohledu potenciální léčby psychických onemocnění.



Ústav chemie přírodních látek - II

MÍSTO: MS TEAMS 342-O365-SVK-II

KOMISE

Drašar Pavel, prof. RNDr., DSc. (předseda)

Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Mgr. Edita Kofroňová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Lea Bartoňová](#) (M1, doc. Dr. Ing. Ivan Raich)

Modelování interakcí nových syntetických drog s receptory

[Bc. Terézia Hladká](#) (M1, Ing. Robert Kaplánek, Ph.D.)

Štruktúrne analógy inhibítora HIV-1 typu PF74 a príprava nového HIV systému

[Rostislav Kleveta](#) (B3, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza stabilních N-glykosidů jako potenciálních inhibitorů galektinů

[Bc. Dana Králová](#) (M1, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Příprava S-oligosacharidů a glykosidů s využitím fotochemické radikálové reakce

[Bc. Michaela Polanecká](#) (M2, RNDr. Miroslav Ledvina, CSc.)

Problematika chránění argininu v syntéze peptidů na pevné fázi

[Markéta Sušická](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza C-glykofuranosidových mimetik s potenciálním bakteriostatickým účinkem

vyhlášení výsledků

Modelování interakcí nových syntetických drog s receptory

Bc. Lea Bartoňová (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Ivan Raich

Cílem práce bylo prostudovat interakce mezi novou syntetickou drogou – extází (MDMA) a serotoninovým receptorem 5-HT_{2B} *in silico*, určit přesné pozice a nevazebné interakce tohoto ligandu v aktivním centru receptoru a získaná data porovnat s publikovanými experimentálně získanými výsledky. Ty však v případě MDMA nejsou k dispozici, proto byly pro srovnání použity pozice diethylamidu kyseliny lysergové (LSD), které jsou dostupné v literatuře. K výpočetní studii byla využita metoda molekulového dokování, konkrétně semi-flexibilní a realitě více odpovídající flexibilní dokování. Takto vypočtené pozice MDMA byly srovnány s pozicemi LSD v aktivním centru téhož receptoru. Porovnávány byly slabé nevazebné interakce mezi ligandy a receptory a hodnoty volné vazebné energie komplexů MDMA-receptor a LSD-receptor. Dle hodnot volné vazebné energie uvedených komplexů bylo zjištěno, že LSD se k receptoru váže silněji a tvoří tak pevnější komplex.

Štruktúrne analógy inhibítora HIV-1 typu PF74 a príprava nového HIV systému

Bc. Terézia Hladká (M1)

Školiteľ: Ing. Robert Kaplánek, Ph.D.

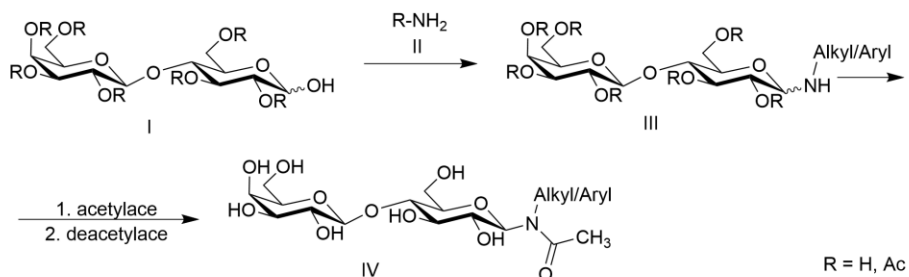
Kapsid vírusu HIV-1 predstavuje zaujímavý cieľ pre vývoj nových látok pôsobiacich ako inhibítory HIV-1. Jednou z najviac študovaných látok je molekula PF74 zabraňujúca rozpadu kapsidu. Jej pomerne nízka inhibičná aktivita a metabolická stabilita vedú k snahám o vytvorenie štruktúrnych analógov, ktoré by boli vhodné ako antiretrovirotikum. Cieľom práce bola príprava nových štruktúrnych analógov s fluorescenčným substituentom, ktorý má potenciál uľahčiť biologické testovanie inhibičnej aktivity pripravených látok. Dansyl chlorid bol zvolený ako vhodná látka aj vďaka aromatickému charakteru podobnému indolovej časti PF74. Pri vyhodnocovaní inhibičného účinku pomocou lentivírusového systému boli emisné a excitačné maximá látok veľmi blízke s tými pre proteín GFP, ktorý odráža mieru účinnosti látok s inhibičným efektom; z toho dôvodu bol pripravený nový lentivírusový systém so sekvenciou pre odlišný markerový proteín – mScarlet. Tento nový lentivírusový systém bol použitý pre testovanie pripravených štruktúrnych analógov PF74 a ich vplyvu na infektivitu HIV-1. *In vitro* boli tieto nové analógy PF74 testované pomocou termoforézy.

Syntéza stabilních N-glykosidů jako potenciálních inhibitorů galektinů

Rostislav Kleveta (B3)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Postup použitý v mé práci pro syntézu stabilních inhibitorů galektinů využívá reaktivity redukujícího konce sacharidu I, který v protickém prostředí za zvýšené teploty reaguje s aminem II za vzniku hemiaminalu III. Tato reakce je však vratná¹ a pro získání stabilního produktu je třeba zabránit zpětné reakci modifikací dusíku na vzniklém hemiaminalu III karbonylovou skupinou (např. acetylem). Tímto postupem získáme stabilní deriváty N-glykosidů IV, u kterých je ve spolupráci s ÚOCHB zjišťována a kvantifikována jejich inhibiční aktivita vůči galektinům.¹Gokhale, M. Y.; Kirsh, L. *Adv. Pharm. Sci.* 2009, 98, 4616–4628.

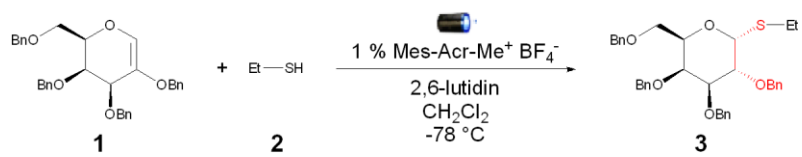


Příprava S-oligosacharidů a glykosidů s využitím fotochemické radikálové reakce

Bc. Dana Králová (M1)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Tradičně se S-oligosacharidy a glykosidy připravují nukleofilní substitucí thiolů, thiolátů či jiných sirných derivátů s různorodými substráty obsahující dobře odstupující skupinu, například s glykosylhalogenidy nebo cukernými trifláty¹. Z důvodu anomerního efektu na sacharidech je však poměrně obtížné touto cestou připravit produkty s α -konfigurací S-glykosidové vazby, které by potenciálně vykazovaly vyšší selektivitu při jejich terapeutickém využití, např. při inhibici galektinů. Jednou z možností přípravy α -S-glykosidů je tzv. thiol-enová reakce probíhající mechanismem radikálové adice thiolu na nenasycený substrát. Její selektivita je však do značné míry ovlivněna charakterem nenasyceného reakčního partnera. Cílem této práce bylo skrze thiol-enovou reakci připravit S-oligosacharidy a glykosidy a ověřit regio- a stereoselektivitu této reakce na jednotlivých derivátech 2-hydroxyglykalů. Příkladem může být reakce 2-benzyloxyglykalu 1 s ethanthiolem (2) v přítomnosti 1 mol% radikálového iniciátoru Mes-Acr-Me⁺BF₄⁻ aktivovaného modrým viditelným zářením s $\lambda_{\text{max}} = 456 \text{ nm}$. 1. Pachamuthu, K.; Schmidt, R. R. *Chem. Rev.* 2006, 106, 160-187.



Problematika chránění argininu v syntéze peptidů na pevné fázi

Bc. Michaela Polanecká (M2)

Školitel: RNDr. Miroslav Ledvina, CSc.

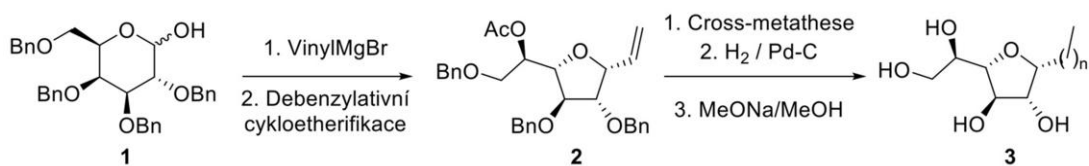
Reaktivita aminokyselinových vedlejších řetězců je základním faktorem biologické specifity proteinů a peptidů. Pro peptidové chemiky, každá aminokyselina může mít za následek specifické problémy během syntézy jejích derivátů. Guanidinová skupina argininu je silně bazická (12,48) a zůstává ve většině podmínek používaných v syntéze peptidů na pevné fázi protonována, což způsobuje problémy během odstranění chránicí skupiny. V současné době se používají nejčastěji chránicí skupiny labilní v trifluoroctové kyselině (TFA). Všechny tyto komerčně dostupné skupiny vyžadují vysoké koncentrace TFA a dlouhé doby zpracování, což může být pro některé peptidy kritické. Cílem této práce je navrhnout vhodnou chránicí skupinu, která by splňovala podmínku ortogonalitu k dalším skupinám přítomným v peptidu a umožnila by mírnější podmínky deprotektce. Další možností je vystavět peptid obsahující ve své sekvenci ornithin, coby prekurzor argininu, a jeho následná guanidace. Obě možnosti jsou předmětem zkoumání v této práci.

Syntéza C-glykofuranosidových mimetik s potenciálním bakteriostatickým účinkem

Markéta Sušická (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Tuberkulóza, vysoce infekční onemocnění způsobené *Mycobacterium tuberculosis complex*, je dle statistik WHO řazena mezi deset celosvětově nejčastějších příčin úmrtí. Každoročně je registrováno více než deset milionů nově nakažených a s ohledem na mortalitu dosahující téměř 15 %, jde o nemoc s nejvyšší úmrtností způsobenou mikrobiálním původcem (WHO 2020). Vzhledem k nesprávnému užívání současných antituberkulotik dochází ke vzniku mnohočetné lékové rezistence, která významně ovlivňuje léčbu a v řadě případů i přežití pacientů. Z tohoto důvodu je nezbytná nejen edukace správného užívání léčiv, ale také vývoj nových antituberkulotik, kterému se věnuji v této práci. Potenciální mykobakteriostatika na bázi alkyl D-galaktofuranosidů, inhibují biosyntézu galaktanu, polysacharidu, který je nezbytnou součástí glykokalyxu mykobakterií. Současné O-glykosidické inhibitory však vykazují nízkou hydrolytickou stabilitu. V této práci se proto zabývám syntézou analogických alkyl C-galaktofuranosidů s ortogonálně chráněnou hydroxylovou skupinou na uhlíku C-5. Nejprve byl z D-galaktosy 1 připraven vinyl C-galaktofuranosid 2, který byl následně využit pro syntézu alkyl C-galaktofuranosidů 3 cross-metathesí.



Ústav chemie přírodních látek -III-analytická

MÍSTO: MS TEAMS 342-O365-SVK-III

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík (předseda)

Ing. Lukáš Huml

PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Denisa Adamcová](#) (M2, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Vývoj in vitro metody pro transkorneální přenos kanabinoidů

[Bc. Lenka Horáčková](#) (M2, prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.)

Vývoj LC-MS/MS metody stanovení steroidních hormonů v moči

[Bc. Kristýna Hubatková](#) (M2, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci THC

[Bc. Petr Lexa](#) (M1, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Cunninghamella elegans jako in vivo model metabolismu deschlorketaminu

[Bc. Anna Marešová](#) (M2, Ing. Michal Jurášek, Ph.D.)

Isomer TZ6019 značený I^{123} a I^{125} pro zobrazování P2X7 receptoru

[Bc. Leona Palbuchtová](#) (M2, Mgr. Edita Kofroňová, Ph.D.)

Stanovení nových typů dopingových látek metodou HPLC/MS

[Bc. Angelika Beata Pelc](#) (M2, Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Vývoj metodiky pro identifikaci syntetických kanabinoidů s využitím pokročilých technik vibrační spektrometrie

vyhlášení výsledků

Vývoj in vitro metody pro transkorneální přenos kanabinoidů

Bc. Denisa Adamcová (M2)

Školitel: Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Preparáty s kanabinoidy pomáhají při léčbě drobných poranění, ekzémů, chronické bolesti nebo při epilepsii. Díky jejich pozitivnímu účinku na lidské tělo by mohly být v budoucnosti použité pro léčbu glaukomu. Glaukom je stav, kdy se v oku hromadí komorová voda, čímž dochází ke zvýšení nitroočního tlaku. Pokud nedojde k včasné léčbě, může dojít až ke ztrátě zraku. Nejúčinnějším způsobem podání by byly oční kapky, které by působily pouze na nitrooční tkáň, na rozdíl od přímé inhalace, která není vhodná pro lidi se srdečními problémy. Problém spočívá ve špatné rozpustnosti a vysoké lipofilitě kanabinoidů. Aby byly kanabinoidy dopraveny do hlubších očních tkání, je zapotřebí použít specializované látky zajišťující průchod skrz rohovku. Cílem práce je charakterizace čisté rohovky před a po průchodu přípravku s kanabinoidy. Jako model jsou použity prasečí rohovky aplikované na Francovy cely, kde jsou vhodnými podmínkami nasimulována oční prostředí. Zkušební přípravky obsahují kanabidiol a vhodné posilovače průchodu. In vitro experimenty probíhají po dobu 24 hodin. Pro sledování změn chemického složení rohovky před a po ošetření je použit FTIR spektrometr s ATR nástavcem. Naměřená spektra jsou zpracována více rozměrnými statistickými metodami.

Vývoj LC-MS/MS metody stanovení steroidních hormonů v moči

Bc. Lenka Horáčková (M2)

Školitel: prof. RNDr. Pavel Drašar, DSc.

Steroidní hormony mají zásadní vliv na mnohé fyziologické děje. Jejich stanovení je proto nezbytné pro správné určení diagnózy a vhodné nastavení léčby. Nejčastěji se jejich koncentrace stanovují z krevní plazmy, slin a moči. Tato práce je zaměřena na vývoj metody analýzy steroidních hormonů v moči pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) a na optimalizaci preanalytického zpracování vzorků. V moči se steroidní hormony vyskytují zejména ve formě konjugátů; sulfátů a glukuronidů. Pro jejich LC-MS/MS analýzu jsou nejdříve konjugáty hydrolyzovány, například s využitím trimethylchlorsilanu nebo enzymu β -glukuronidasy izolovaného z *Helix pomatia*. Získané volné steroidy jsou následně extrahovány a pro zvýšení odezvy detektoru hmotnostního spektrometru jsou jejich vybrané funkční skupiny derivatizovány. Vzhledem ke složitosti matrice byla preanalytická fáze za účelem purifikace rozšířena i o „in-house“ vyvinutou metodu extrakce tuhou fází.

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci THC

Bc. Kristýna Hubatková (M2)

Školitel: Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Hlavní psychoaktivní látkou rostlin rodu *Cannabis* je Δ^9 -tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC, zkráceně THC). Δ^9 -THC, stejně jako kanabidiol (CBD), patří do skupiny fyto-kanabinoidů působících prostřednictvím endokanabinoidního systému. Na rozdíl od CBD vykazuje Δ^9 -THC mimo léčebných vlastností také psychoaktivní účinky. Dokáže měnit tělesnou, fyziologickou i psychickou stránku organismu. Vzhledem k nepříznivým dopadům Δ^9 -THC na lidské zdraví byla Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovena akutní referenční dávka. Výrobci konopných olejů, mastí a medů propagují řadu jejich léčivých účinků, které by měly příslušet pouze legálnímu CBD nebo polynenasyceným mastným kyselinám obsažených v konopných semenech. Přesto však dochází k jejich obohacování o nelegální Δ^9 -THC. Z toho důvodu je potřeba vyvinout rychlou, snadnou, citlivou a levnou metodu na detekci Δ^9 -THC, případně také CBD, ze složitých matric. Jelikož má Δ^9 -THC povahu haptenu, byl pro stanovení zvolen imunochromatografický test (LFIA) v kompetitivním uspořádání. Prvním krokem k funkčnímu testu byla příprava imobilizačního konjugátu (Δ^9 -THC-BSA) pro testovací linii. Dalšími kroky bude optimalizace vhodných koncentrací jednotlivých imunoreagencií s cílem dosáhnout nejnižšího možného detekčního limitu.

Cunninghamella elegans jako *in vivo* model metabolismu deschlorketaminu

Bc. Petr Lexa (M1)

Školitel: Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

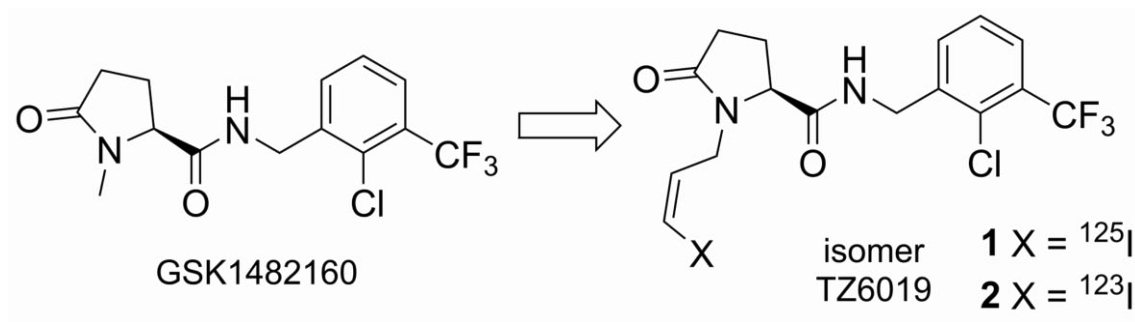
Deschlorketamin je látka patřící do skupiny disociativních anestetik. Jedná se o strukturní analog ketaminu, ale na rozdíl od něj jeho účinky trvají déle a předběžné studie ukazují, že má nižší cytotoxicitu oproti parentální látce. Tyto vlastnosti z něho činí nadějného kandidáta pro použití ve farmacii. *C. elegans* je vláknitá houba, jejíž procesy biotransformace toxických látek vykazují podobnost se savčími. Vlastnost houby takto metabolizovat xenobiotika skýtá potenciál nahradit animální testy, modelem představovaným houbou a sloužícím pro *in vitro* testování a screening metabolitů léčiv a nových psychoaktivních látek. Další možností využití houby je v biotechnologii, kde by houba představovala biologický činitel při přípravě analytických standardů metabolitů. Cílem práce byla příprava racemického deschlorketaminu, který byl podán houbě kultivované submerzně, a následný vývoj metody separace metabolitů z média. Cílenou analýzou extraktu superkritickou fluidní chromatografií s hmotnostní detekcí byla poté zjišťována přítomnost tří nejvíce zastoupených metabolitů deschlorketaminu nalezených již dříve v moči a mozku laboratorních potkanů, kterým byl podán deschlorketamin subkutáně. Ve vzorcích z houby jsme našli shodu u dvou ze tří hledaných potkaních metabolitů.

Isomer TZ6019 značený I^{123} a I^{125} pro zobrazování P2X7 receptoru

Bc. Anna Marešová (M2)

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

P2X7 receptor se účastní regulace apoptózy, zánětu a je spojován s řadou neurologických (Alzheimer, Parkinson) a kardiovaskulárních poruch. Antagonisté P2X7 receptoru (jako např. GSK1482160, Obr. 1) jsou vyvíjeny jako potenciální léčiva stavů s ním spojených. P2X7 receptor je rovněž vhodný pro zobrazování, detekci a kvantifikaci neuroinflamace prostřednictvím jedno-fotonové emisní tomografie (SPECT) či pozitronové emisní tomografie (PET). Obr. 1. Ligandy pro P2X7 receptor. Práce se zabývá syntézou analogu GSK1482160 (isomery TZ6019, Obr. 1) a optimalizací postupu radiosyntézy pro jeho efektivní značení jódem



Stanovení nových typů dopingových látek metodou HPLC/MS

Bc. Leona Palbuchtová (M2)

Školitel: Mgr. Edita Kofroňová, Ph.D.

Prohormony jsou v posledních letech oblíbenou praxí. Hranice mezi prohormony a syntetickými anabolickými steroidy je velice úzká a často nelze přesně určit, do které skupiny látka patří. Za účelem analýzy bylo objednáno celkem 11 potravinových doplňků pro sportovce. Byla provedena necílová analýza steroidních hormonů, aby bylo zjištěno, zda výrobky neobsahují zakázané nebo škodlivé látky. Pro tuto analýzu byl použit hmotnostní spektrometr Agilent 6550 Q-TOF. U jednoho vzorku byla potvrzena přítomnost anabolických steroidů testosteronu a androstendionu. U látek, které nebyly nalezeny v knihovně byla navržena struktura a dle molekulární hmotnosti pravděpodobná látka. Přesná identifikace látek však bude předmětem dalšího výzkumu. Spektrum neznámé látky bude porovnáno se spektrem standardu a informace o látce budou použity pro rozšíření knihovny spekter.

Vývoj metodiky pro identifikaci syntetických kanabinoidů s využitím pokročilých technik vibrační spektrometrie

Bc. Angelika Beata Pelc (M2)

Školitel: Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Syntetické kanabinoidy jsou nové, pro konzumenty atraktivní, omamné a psychotropní látky. Jejich poptávka na trhu rok od roku roste, což neodvratně nutí producenty k vymýšlení nových cest, jak obcházet legislativní systém. Vznikají tak zcela nové látky o neznámých strukturách a biologických vlastnostech. Jedním z prvních kroků v boji proti těmto substancím je nalézt spolehlivou a rychlou metodu, jak syntetické kanabinoidy identifikovat. Práce se zaměřuje na analýzu dvou syntetických kanabinoidů, konkrétně se jedná o kanabinoidy AB-PINACA a JWH-073, pomocí techniky SERS (Surface enhanced Raman spectroscopy). SERS, neboli povrchem zesílený Ramanův rozptyl, je metoda umožňující detekci látek o stopových koncentracích, které je možné zachytit v terénu. K zesílení signálu analytu dochází díky jeho adsorpci na povrch plasmonických nanostruktur kovu. Práce se nejprve snaží nalézt nejvhodnější experimentální podmínky, především se jedná o výběr účelného plasmonického substrátu (plasmonického kovu) a excitační vlnovou délku budícího záření. Dále jsou v práci diskutovány výsledky měření získané z laboratorního a mobilního spektrometru, který je možné využít přímo ve forenzní praxi na místě činu.